



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour – Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

En

Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Thème

Caractérisation chimique et évaluation « *in vitro* » des activités antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de quelques plantes du genre *Thymus*

Présenté par : MAILBI Faiza Leila

MANSOUR Rania

Membres du jury :

Président : Pr. LAHRECH MOKHTAR BOUALEM.

Examineur : Pr. NEDJIMI B.

Examineur : M. BENZAAD R.

Promoteur : M. KASSIMI MOHAMED ELHASSANI.

A.U 2017/2018

REMERCIEMENTS :

On exprime notre gratitude à notre promoteur :

M. KACIMI MOHAMED ELHASSANI

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, et d'avoir contribué par son aide et encouragement pour avancer et bien accomplir ce travail.

Nos vifs remerciements vont à M. LE PROFESSEUR LAHRECH MOKHTAR BOUALEM. Mr. NEDJIMI B. et Mr. BENZAAD R. qui ont bien voulu examiner ce mémoire.

Aussi, nous est-il particulièrement agréable d'adresser nos remerciements à Monsieur GUIT B. pour nous avoir aidés dans la détermination botanique des espèces étudiées.

On tient à remercier les responsables des laboratoires du département de biologie de l'université Ziane Achour de Djelfa.

Enfin, on remercie tous ceux et celles qui nous ont guidés à bien réaliser cette recherche.

Dédicaces

Je dédie ce Mémoire ...

À mon père, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude

À ma mère, qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie

À mes sœurs et mes frères

À toute ma famille

À tous mes amis qui ont été là pour moi quand j'en avais besoin

À mes deux amies Imane & ma binôme Rania qui ont été plus comme des sœurs pour moi que des amies

*À mon encadreur **KACIMI ELHASSANI Mohamed** qui a consacré son temps et ses efforts à la réalisation de cette recherche.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Pour tous leurs sacrifices, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A ceux que j'aime beaucoup :

A ma chère sœur Lidia pour ses encouragements permanents, et son soutien moral,

A mes chers frères, Mustapha, Koussila et Nassim pour leur appui et leur encouragement,

A mes aimables amis, collègues d'étude, et frères de cœur, Imane, Moussa et Leila, et tous mes amis et ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Sans oublier ma belle et ma petite nièce ALICE.

Et bien sûr à mon encadreur Mr. KACIMI ELHASSANI Mohamed pour ses conseils, aides, et encouragements.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

LISTE DES ABRÉVIATIONS :

ADN :	Acide Désoxyribonucléique ;
AFNOR :	Association Française de Normalisation ;
ANOVA :	Analyse de la Variance ;
ARN ;	Acide Ribonucléique ;
BLSE :	Bétalactamases a Spectre élargi ;
CC :	Chromatographie Conventiennelle ;
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince ;
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse ;
CMB :	Concentration Minimale Inhibitrice ;
CMI :	Concentration Minimale Bactéricide ;
CO ₂ :	Dioxyde de Carbone ;
C3GR :	Céphalosporines de 3 ^{ème} Génération ;
DPPH :	Diphénylpicrylhydrazyl;
GN :	Gélose Nutritive ;
HE :	Huile essentielle ;
HEBBD :	Huile Essentielle Botaniquelement et Biochimiquement définie ;
HPLC :	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance ;
IE :	Impact Électrique ;
IK :	Indice de Kovats ;
IRTF :	Infra-Rouge par Transformé de Fourier ;
LO :	Lipoxygénase ;
m :	Masse en gramme de l'HE ;
MH :	Gélose Mueller Hinton ;
m ₀ :	Masse en gramme de la matière végétale ;
NDVI :	Indice de Végétation par Différence Normalisée
NF :	Norme Française ;
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé ;
PAM :	Plantes Aromatiques et Médicinales ;
R :	Rendement en HE exprimée en pourcentage% ;
REACH :	Enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des produits chimiques ;
RMN (¹³ C) :	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone13 ;
SARM :	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline ;
SM :	Le Spectromètre de masse ;
UV :	Ultra-Violet.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La distillation par entrainement à la vapeur.....	18
Figure 2: Schéma d'un montage d'hydrodistillation.....	19
Figure 3: Schéma d'hydro-diffusion.....	20
Figure 4: Schéma d'un montage d'hydro-diffusion assistée par micro-ondes.....	21
Figure 5: Schéma d'extraction par pression à froid ou expression.....	22
Figure 6: Schéma d'extraction par solvant.....	23
Figure 7: Schéma d'extraction au CO2 supercritique.....	24
Figure 8: L'extraction par enfleurage et La macération.....	24
Figure 9 Composés produits par les plantes du genre <i>Thymus</i>	39
Figure 10 Labélisation et codification des échantillons.....	42
Figure 11 Montage d'hydrodistillation.....	44
Figure 12 Extraction liquide/liquide.....	44
Figure 13 Evaporation rotative.....	45
Figure 14 Chromatographe.....	47
Figure 15 Shéma du test de l'activité antioxydante sur microplaque.....	49
Figure 16 Détermination des traits fonctionnels de trente feuilles de la plante P1.....	50
Figure 17 ANOVA des surfaces foliaires.....	51
Figure 18 ANOVA des périmètres.....	51
Figure 19 Carte géographique représentant l'INDV.....	53
Figure 20 Composition chimique des huiles essentielles de la saison hivernale.....	55
Figure 21 Composition chimique des huiles essentielles de la saison printanière.....	56

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION :	1
I. Historique :	3
II. Les PAM dans le monde :	4
II.1. HERBE AROMATIQUE :	5
II.2. PLANTE MÉDICINALE :	5
II.3. Importance des plantes médicinales et aromatiques dans les pays du Maghreb	6
III. Généralités sur les métabolites secondaires :	7
III.1 Définition :	7
III.2 Fonction :	7
III.3 Classification :	7
III.3.1 Composés phénoliques : POLYPHENOLS.....	8
III.3.2 Alcaloïde :	9
III.3.3 Les terpènes :	10
IV. Les huiles essentielles :	10
IV.1. Définition des huiles essentielles :	10
IV.2. Répartition et localisation des huiles essentielles :	11
IV.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante.	12
IV.4. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles	13
IV.5. Composition chimique des huiles essentielles :	13
Les terpènes ou terpénoïdes :	14
Les composés aromatiques ou phénylpropanoïdes :	15
Composés d'origine variée :	15
IV.6. Contrôle de qualité.....	15
IV.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	16
V. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :	18
V.1. L'entraînement à la vapeur d'eau :	18
V.2. L'hydrodistillation	19
V.3. La distillation à vapeur saturée :	19
V.4. L'hydro diffusion :	20
V.5. Extraction par micro-ondes :	20
V.6. L'expression à froid :	21
V.7. Extraction par solvant :	22
V.8. Extraction par du CO ₂ supercritique :	23
V.9. L'extraction par enfleurage :	24

V.10. La macération :	24
VI. Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité :	25
VII. Identification des constituants d'un mélange :	26
VII.1. L'analyse structurale :	26
VII.2 Méthodes de détermination des huiles essentielles :	27
VII.2.1. La CPG et les indices de rétention :	27
VII.2.2. Le couplage CPG- SM :	28
VII.2.3. Méthodes d'analyse des extraits de plantes :	28
VII.2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) :	28
VII.2.3.2 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :	29
VIII. Les activités biologiques des huiles essentielles :	30
VIII.1. L'activité biologique :	30
VIII.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles :	31
VIII.3. Activité bactéricide et bactériostatique :	32
VIII.4. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles :	33
VIII.5. Toxicité :	33
VIII.6. Activité liée à la composition chimique :	34
IX. Caractère botanique :	35
X. Présentation de la famille des lamiacées :	35
IX.1. Le genre <i>Thymus</i>	36
IX.1.1 Distribution géographique :	36
IX.1.2. Classification :	37
II.1.3. Principes actifs du Thym :	38
I. Échantillonnage :	40
II. Cartographie :	40
Détermination de l'indice de végétation :	41
III. Traitement des échantillons :	42
IV. Étude des traits fonctionnels :	43
V. Extraction des huiles essentielles :	43
V.1. Hydrodistillation :	43
V.2. Extraction liquide-liquide :	45
V.3. Élimination des traces d'eau de la phase organique :	45
V.4. Élimination du solvant organique :	45
V.5. Calcul du rendement :	46

VI. Caractérisation chimique par GC/MS.....	46
VII. Évaluation du pouvoir antibactérien :	48
VIII. Évaluation de l'activité antioxydante sur microplaque :	48
I. Étude des traits fonctionnels :	50
II. NDVI :.....	53
III. Rendement en huile essentielle :	54
IV. Composition chimique des huiles essentielles :	55
a. Composition chimique des huiles essentielles de la saison hivernale :	55
b. Composition chimique des huiles essentielles de la saison printanière :.....	56
V. Évaluation de l'Activité antimicrobienne :	56
VI. Activité antioxydante :.....	59
CONCLUSION :.....	60
Références Bibliographiques	61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Localisation des principales espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie.....	27
Tableau 2 Rendement en huile essentielle	54
Tableau 3 Rendement en HE.des espèces du genre <i>Thymus</i> cités dans des travaux antérieurs	54
Tableau 4 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T1 par la technique d'aromatogramme	57
Tableau 5 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T2 par la technique d'aromatogramme	57
Tableau 6 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T3 par la technique d'aromatogramme	57
Tableau 7 Résultats des aromatoigrammes des huiles essentielles du genre thymus dans les travaux antérieurs	58

Introduction

INTRODUCTION :

Le thème du présent mémoire de master s'inscrit dans le cadre des recherches menées sous l'intitulé « ressources naturelles ». Il est lui-même un volet du programme d'investigations structurant les activités du laboratoire de « chimie organique et de substances naturelle », dépendant de l'université de Djelfa.

À cet effet, la problématique générale qui s'impose pour traiter ce sujet, consiste à vouloir caractériser et valoriser quelques substances issues d'essences végétales spécifiques des milieux steppiques.

L'approche est telle que l'exploitation des ressources naturelles réponde au souci de la protection de l'environnement. Il y a, de toute évidence urgence à maintenir en l'état la biodiversité ainsi qu'un intérêt à instaurer un mode de développement durable.

De ce fait ; les recherches en écologie se sont efforcées de mieux comprendre les processus et les patrons de répartition des espèces en fonction des conditions environnementales. Ainsi, depuis une dizaine d'années, le rôle des traits fonctionnels dans le fonctionnement des écosystèmes fait l'objet d'un questionnement important en écologie et motive de nombreuses recherches.

Un trait fonctionnel est une caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique ayant un impact indirect sur la plante vis ses effets sur sa croissance, sa reproduction et sa survie (VIOLLE ET AL. 2007). Une meilleure compréhension de ces processus permettrait d'améliorer les stratégies de conservation ainsi que les programmes de restauration des milieux.

Tout aussi que le secteur des « plantes aromatiques et médicinales » (PAM, en particulier, connaît dans le monde une nette croissance ; il est à signaler que le développement de cette filière demeure encore dans un état embryonnaire en Algérie.

Par ailleurs toute l'attention a été portée sur les capacités de ces huiles essentielles en matière de facultés antimicrobiennes et antioxydantes. Ceci justifie que l'étude des activités biologiques et biotechnologique des extraits de plantes est d'une importance grandissante notamment autant qu'une véritable alternative à la pharmacopée courante.

C'est dans cette optique que s'inscrivent les travaux de recherche du présent thème de mémoire dont les principaux objectifs se résument comme suit :

- Du point de vue expérimentation, cette étude se propose d'étudier les traits fonctionnels de quelques plantes de genre *Thymus* poussant à l'état spontané dans la steppe sud algéroise, d'extraire leurs huiles essentielles, de mettre en évidence leurs compositions chimiques et de faire ressortir leurs activités antibactérienne antioxydante.
- Par ailleurs, le travail s'inscrit dans une démarche globale initiée depuis près de dix ans sous le terme de « métabolomique ». ce concept est structuré sur la base d'une série de méthodes utilisées pour étudier ce qui est affèrent aux obtenues par le génie génétique .

Sur le plan méthodologique ; le présent manuscrit s'articule sue deux parties : théorique et expérimentale reparties sur trois chapitres :

Synthèse bibliographique : qui se propose comme revue théorique étalant l'état de l'art affèrent aux thématiques de cette recherche.

Matériel et méthodes : structure en cinq parties décrivant la réalisation pratique relative à :

- 1- L'échantillonnage, la cartographie et l'étude des trais fonctionnels
- 2- L'extraction des huiles essentielles et le calcule de rendements
- 3- La Caractérisation chimique par GC/MS
- 4- L'évaluation du pouvoir antibactérien
- 5- L'évaluation du pouvoir antioxydant

Résultats et discussion : réserve à la présentation, à la description et à l'interprétation des résultats obtenus par rapport aux travaux cités dans la bibliographie. Ce chapitre débouche également sur l'ouverture des discussions quant aux éventuelles applications et perspectives qui pourraient s'inscrire dans ce champ de recherches.

Synthèse

bibliographique

I. HISTORIQUE :

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

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

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

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

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

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

De nos jours, entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale. Les extractions de différents produits se font sous différentes formes dont Les plus importantes sont : les tisanes, la gélule de la plante, les suspensions intégrales de plantes fraîches, les teintures mères, les macérats glycérinés et les huiles essentielles.

Les grands types de plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être définis par leur principal usage. On peut citer :

- Plantes pour tisanes, boissons hygiéniques et d'agrément,
- Plantes à usages cosmétiques,
- Plantes à usages aromatiques et condimentaires,
- Plantes à usages alimentaires,
- Plantes à usages industriels, (AILLAUD *et al* ., 2012)

II. LES PAM DANS LE MONDE :

La reconnaissance de la valeur clinique, pharmaceutique et économique des médicaments à base de plantes continue de croître, bien que celle-ci varie fortement selon les pays. Chaque pays définit de différentes manières les plantes médicinales simples ainsi que les produits qui en sont tirés. Ainsi, les pays ont adopté plusieurs approches pour l'octroi de licences, la préparation, la fabrication et la commercialisation en vue d'assurer leur innocuité, leur qualité et leur efficacité. La croissance de l'industrie pharmaceutique et le développement incessant de nouveaux produits médicaux synthétiques et biologiques plus efficaces n'ont pas réduit l'importance de l'utilisation des plantes médicinales. Au contraire, la croissance démographique dans le monde en développement et l'intérêt croissant manifesté au niveau des nations industrialisées ont considérablement augmenté la demande spécifique aux PAM et à

leurs produits dérivés. Les réglementations relatives à l'évaluation de la qualité, de l'innocuité et de l'efficacité des plantes médicinales dans certains pays (Etats-Unis, Japon, Chine, Union Européenne, etc.) et les activités de l'OMS en vue d'appuyer la préparation de lignes directrices types ont contribué à renforcer la reconnaissance du rôle que les plantes médicinales jouent dans les soins de santé. L'utilisation des remèdes à base de plantes connaît dernièrement un engouement sans précédent. Les gens sont de plus en plus à la recherche de médicaments « naturels » et il semblerait même que les cosmétiques et les produits d'entretien à base de plantes soient aujourd'hui de plus en plus utilisés.

II.1. HERBE AROMATIQUE :

Epice issue des feuilles ou tiges, épice verte.

Les herbes aromatiques ne sont que des épices particulières.

Exemples d'herbes aromatiques :

*simples : laurier, coriandre, menthe, caloupilé, persil

*exotiques : caloupilé, Ngo gai, Rau om

*composées : fines herbes, bouquet garni

En résumé, nous pouvons dire que les épices sont des aromates culinaires ou des condiments végétaux, les herbes aromatiques étant quant à elles des épices vertes. (ANDREA ET LOTZ, 2006)

II.2. PLANTE MÉDICINALE :

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine, etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Les PAM sont utilisées depuis au moins 7 000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

Exemples : menthe pouliot, camomille, sauge, thym, romarin, calendula, absinthe, Etc.

(AILLAUD *et al.* , 2012)

II.3. Importance des plantes médicinales et aromatiques dans les pays du Maghreb

Sur des milliers d'espèces végétales qui constituent la flore maghrébine, on peut estimer le nombre des plantes médicinales et aromatiques économiquement exploitables à 400 environ, parmi lesquelles une centaine seulement actuellement exploitées, de manière artisanale et complètement marginale par rapport aux modalités modernes de production, de valorisation et de commercialisation. Et pourtant ce secteur pourrait contribuer de façon appréciable au développement de la santé publique et de l'économie dans les pays du Maghreb car il dispose de riches potentialités, en quantité et en diversité.

De leur côté, les industries pharmaceutiques et les centres de recherches occidentaux manifestent un très vif intérêt pour les nombreuses ressources de la flore et de la pharmacopée traditionnelle maghrébines.

Certes, nos grands-parents ont toujours possédé une connaissance appréciable de la végétation qui constituait leur environnement et y avaient recours en permanence dans l'alimentation, les soins et l'artisanat (plantes tinctoriales, tannantes, etc.). A la campagne, c'était un savoir vital et nécessaire. Mais même dans les grandes cités, nos ancêtres savaient s'entourer de plantes utiles (ornementales, aromatiques, condimentaires ou médicinales) qu'ils entretenaient avec amour et au milieu desquelles ils se sentaient en harmonie. Leurs jardins étaient emplis de Basilic, de Sauge, de Romarin, de Marjolaine, de Myrte et de Menthe.

Mais ce savoir a malheureusement tendance à se perdre aujourd'hui par suite du phénomène de désapprentissage propre à la civilisation urbaine. De plus les habitudes de consommation à outrance qui ont commencé à se manifester ont chassé lentement nos vieilles traditions d'auto-suffisance.

Quelle meilleure leçon tirer du triomphe actuel de la phytothérapie sur la scène internationale que celle de réapprendre à tous les niveaux—personnes, collectivités, institutions—le savoir des plantes, leur usage judicieux et les modalités de leur emploi, afin de mieux profiter de toutes les richesses que nous offre la nature. Agir différemment serait contraire aux intérêts de nos pays et des gens qui les habitent ; et il n'est pas obligé, dans le cadre d'une politique de développement social et sanitaire de mener des orientations qui n'ont réussi ailleurs qu'à coups de ponctions budgétaires énormes et de gâchis (BELLAKHDAR, 2006)

III. GENERALITES SUR LES METABOLITES SECONDAIRES :

III.1 Définition :

En plus des métabolites primaires, tels que les glucides, les acides aminés, les acides gras, les cytochromes, les chlorophylles, et les intermédiaires métaboliques des voies anaboliques et cataboliques, qui se produisent dans toutes les plantes. Les plantes contiennent également une grande variété de substances, appelées les métabolites secondaires, sans la fonction métabolique directe apparente (HELDT , 2005)

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (LUTGE *et al* 2002) ; (ABDERRAZAK , 2007).

III.2 Fonction :

Le métabolisme secondaire produit des métabolites en faibles quantités ayant des intérêts importants sur les plans pharmaceutique, cosmétique et nutritionnel (HARBORNE, 2000) Ces dernières années, L'intérêt des métabolites secondaires a considérablement augmenté en raison de la diversité de leurs effets comme antioxydants, antiviraux, antibactériens, et anticancéreux (MAKKAR , 2007)

Les métabolites secondaires exercent la plupart de leurs effets par action à travers interactions avec les enzymes ou les protéines. Tandis que certains de ces composés agissent en tant que substrats au niveau des récepteurs et imitent les substances endogènes dans l'organisme cible, d'autres perturbent les interactions protéine-protéine nécessaires pour la fonction normale de cellules (BAHAR *et al.*, 2008). Par conséquent, on peut conclure que cette capacité des métabolites secondaires d'agir sur la physiologie des autres espèces les rend comme source potentielle impressionnante de médicaments (DUKE *et al*, 2008).

III.3 Classification :

Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (LUTGE *et al.*, 2002) ; (ABDERRAZAK ., 2007)

- **Composés Phénoliques** (Polyphénols) : tanins, lignine, mélanine, flavonoïdes
- **Composés Azotés : (alcaloïdes)** : bétalaïne, hétérosides cyanogènes et glucosinolates
- **Terpènes** : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sésquiterpènes (C₁₅), Diterpènes

(C₂₀), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (+ que C₄₀).

III.3.1 Composés phénoliques : POLYPHENOLS

Largement distribué dans le règne végétal et abondant dans nos régimes alimentaires, « les composés phénoliques » sont aujourd'hui les composés phyto-chimiques les plus étudiés (KNEŽEVIĆ *et al.*, 2012)

D'après (HURTADO-FERMANDEZ *et al.*, 2010), beaucoup de travaux ont été présentés par la communauté scientifique, qui se concentre sur :

- La structure chimique des phénols antioxydants dans les différents aliments végétaux, des plantes aromatiques et des matières végétales les plus diverses.
- Le rôle probable des composés phénoliques dans la prévention de diverses maladies associées aux stress oxydatifs telles que les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives et le cancer.
- La capacité de certaines catégories de composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes pour se lier aux protéines.
- La stabilisation des huiles comestibles, la protection de la formation de saveurs et la stabilisation de saveurs.
- Préparation de compléments alimentaires.

Plus de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille et le nombre ne cessent de croître (IGNAT *et al.*, 2011), ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle. Ils comprennent essentiellement :

➤ **Les acides phénoliques :** (acide caféique, acide ferulique, acide chlorogénique...)

Ce sont des composés possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol (HENNEBELLE *et al.*, 2004) représentés par deux groupes essentiels : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Ils sont constitués d'un noyau phénolique et d'une chaîne latérale insaturée en C₃ (BRUNETON, 1999). Ces acides abondant dans les aliments se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire (MANACH *et al.*, 2004)

➤ **Les flavonoïdes :** le terme « flavonoïdes » désigne une large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments

quasiment universels des végétaux (BRUNETON, 1999). Ils sont généralement localisés dans les feuilles au niveau de l'épiderme ou entre l'épiderme et le mésophyle, dans les fleurs au niveau des cellules épidermiques ou encore dans les fruits au niveau du tégument externe. (HARKAT, 2008)

- **les tanins** : Les tannins sont des composés phénoliques complexes largement répandus dans le régime alimentaire d'origine végétal obtenus à partir de la condensation des phénols simples (MAKKAR, 2003) Ils représentent des composés phénoliques secondaires connus essentiellement pour leur capacité de se lier et de précipiter les protéines et autres macromolécules (HAGERMAN *et al*, 1998). Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections fongiques et bactériennes (PERONNY, 2005) les insectes et les animaux herbivores (KHANBABAE *et al.*, 2001)

Les drogues à tanin sont employées contre les hémorroïdes, les blessures superficielles. Les extraits tanniques sont anti-inflammatoires dans les cas de brûlures. Ils sont utilisés aussi comme antiseptiques. En solutions buvables, elles sont employées comme anti-diarrhéiques (PARIS R, 1976)

- **Les lignines** : Bien qu'il soit difficile de considérer les lignines comme un métabolite secondaire compte tenu de leur importance quantitative et biologique et de leur signification dans l'évolution des plantes terrestres, elles doivent être logiquement rattachées aux composées phénoliques en raison de leur structure chimique et des voies de biosynthèses qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes . Les lignines représentent une forme phénolique condensée. Elles ont un caractère hydrophobe marqué et s'accumule au niveau des parois des cellules du bois ou du sclérenchyme ou elle peut être en évidence par des colorants d'utilisation quelquefois très ancienne (MACHEIX *et al* , 2005)

Les lignines présentent des propriétés biologiques intéressantes. Ils agissent notamment comme des agents anticancéreux (PELUCCHI *et al*, 2004)), anti-inflammatoire (SAURACALIXTO *et al* , 2006), antioxydant (YAMAUCHI *et al.*, 2007) antifongique et bactéricide (RAFFAELLI *et al* , 2002)

III.3.2 Alcaloïde :

Le terme d'alcaloïde introduit par W. MEISNER en 1818 se réfère explicitement aux propriétés basiques de ses composés. Un alcaloïde peut être défini comme un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées. (BRUNETON, 1999).

L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par des réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes(ex : Dragendorff)(PARIS R, 1976)

III.3.3 Les terpènes :

C'est la plus grande catégorie de métabolites secondaires. Elle contient les hormones végétales, les pigments, les stérols, les hétérosides et une grande partie d'huiles essentielles.

Les terpènes sont les substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage (HOPKINS, 2003).

Les composés terpénoïdes, un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structural que fonctionnel. Avec près de 15000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux. (GERSHENZON *et al* , 1991) ; (HOPKINS, 2003)

2/ Le thymol est l'un des principaux phénols reconnus dans l'huile essentielle de quelques lamiacées comme le thym (KALOUSTIAN *et al.*, 2008). Le thymol a été découvert par CASPAR NEUMANN en 1719 et épuré en 1853 par M. LALLEMAND qui lui a donné le nom « thymol » et lui a attribué la formule $C_{20}H_{14}O_2$ formule qui aujourd'hui, correspond à $C_{10}H_{14}O$ de la nouvelle notation. Le thymol est un phénol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol) et est isomérique avec le carvacrol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol). Le thymol existe dans l'huile de thym et est lié à d'autres hydrocarbures d'une plus grande volatilité comme le p-cymène ($C_{10}H_{14}$) et le thymène ($C_{10}H_{16}$) (PAULI *et al* , 1987)

Le carvacrol et le thymol possèdent une activité antibactérienne, activité antifongique contre les mycètes phytopathogènes (SCHWÄMMLE *et al* , 2001)

IV. LES HUILES ESSENTIELLES :

IV.1. Définition des huiles essentielles :

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques les, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry *et al* , 2007)Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles (NOGARET-EHRHART., 2008).

On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction.

Selon la pharmacopée européenne (agence française de sécurité sanitaire des produits de santé., 2008): « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition »

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus.

IV.2. Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées. (BRUNETON, 1999). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vetiver), rhizomes (cucurma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade). (SANGWAN, 2001)

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauracées ou des Zingibéracées, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées. La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (BRUNETON Jean, 2009) Il existe en fait quatre structures sécrétrices :

- Les cellules sécrétrices : Chez les Lauracées et les Zingibéracées.
- Les poils glandulaires épidermiques : Chez les Lamiacées, Géraniacées... etc.

- Les poches sphériques schizogénèse : Les glandes de type poche se rencontrent chez les familles des : Astéracées, Rosacées, Rutacées, Myrtacées, etc.
- Les canaux glandulaires lysigènes : On les retrouve chez les Conifères, Ombellifères.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (BRUNETON, 1993); (TEUSCHER , 2005)

La mise en évidence de l'huile essentielle dans les coupes d'organes s'effectue à l'aide de colorants lipophiles comme le noir Soudan III qui colore en rouge les gouttelettes essence.

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. À l'exception de celle du bouton floral du giroflier où le rendement en huile essentielle atteint largement les 15% (MAKHLOUF,2002).

IV.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante.

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Les travaux de Croteau en 1977 puis ceux de Croteau et Hooper en 1978 ont montré que, bien qu'étant des produits du métabolisme secondaire, les composants volatils auraient en fait un rôle mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Certains terpènes jouent un rôle important et varié dans la relation des plantes avec leur environnement (MAHMOUT, 1992) . Ainsi le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes responsables de la prolifération des infections ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (RAZAFINDRAKOTO, 1988)

Pour certains auteurs, les huiles essentielles constitueraient « les déchets » du métabolisme cellulaire de la plante (SALLE, 1991) . Pour d'autres, elles serviraient à attirer les insectes pour permettre la fécondation ou alors à les éloigner de la plante. L'attrait des insectes pour les plantes à fleurs en vue de la pollinisation est également crédité aux huiles essentielles que ces plantes contiennent. Les huiles essentielles constitueraient enfin un moyen de défense de la plante vis-à-vis des prédateurs tels que les microorganismes (bactéries et champignons) et les herbivores (BRUNETON, 1999). Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antiviral, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi des insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (BAKKALI, 2008).

IV.4. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de Santé., 2008). Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée (Couic-Marinier F., 2013)Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) (Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Produits De Santé., 2008)

IV.5. Composition chimique des huiles essentielles :

La composition des huiles essentielles est généralement très complexe, à la fois par la diversité considérable de leurs structures, et par le nombre élevé de constituants présents (ABID L, 2008)

On peut déterminer la composition des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG), c'est la technique la plus utilisée, car elle permet de faire une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile.

Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (BACHELOT *et al*, 2005) Comme on peut utiliser une méthode spectroscopique, dite résonance magnétique nucléaire du Carbone-13 (RMN ^{13}C) (BEKHECHI ., 2008)

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers facteurs, l'environnement, le génotype, origine géographique, le lieu et la période de récolte, la partie de la plante étudiée, l'âge de la plante, le séchage, lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (smallfield , 2001)(merghache *et al* 2009); (ATIK BEKKARA *et al* 2007)

Les HE sont des produits de composition assez complexe et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Ce sont des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes qui sont présentes, à l'état naturel, en faible quantité dans le végétal et qui appartiennent principalement à deux grands groupes : Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes. On y trouve également des hydrocarbures aliphatiques, entraînés lors de l'hydrodistillation, de chaînes linéaires ou ramifiées et porteurs de différentes fonctions (cétone, aldéhyde, acide, alcool, ester,)

Les terpènes ou terpénoïdes :

Les terpènes constituent les principaux composants des HE. Ce sont des hydrocarbures de formule brute $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$. Ils résultent de la condensation de deux ou plusieurs unités isopréniques (2méthylbuta-1,3-diène). Isoprène (2Mebuta-1, 3-diène)

Selon le nombre d'unités associées, on les classe en : héli- (C_5) , mono- (C_{10}) , sesqui- (C_{15}) , di- (C_{20}) , tri- (C_{30}) , tétra- (C_{40}) terpènes et polyterpènes.

Ces unités isopréniques se lient entre elles le plus souvent par des liaisons dites régulières de type tête-queue.

Ils peuvent se lier par des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyl.

Les huiles essentielles contiennent surtout des monoterpènes (C_{10}) , sesquiterpènes (C_{15}) et plus rarement des diterpènes (C_{20}) .

Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques.

Les composés aromatiques ou phénylpropanoïdes :

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C₆-C₃). Ils sont moins fréquents que les terpènes dans les HE et eux aussi peuvent contenir différentes fonctions.

Ils se distinguent entre eux par :

- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde ou cétone, acide...)
- Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy

Composés d'origine variée :

Ce sont en fait des hydrocarbures aliphatiques de chaîne linéaire ou ramifiée et portant différentes fonctions tels que le 1-octène-3-ol dans la lavande, acétate de butyle de la pomme, acétate d'isoamyle de la banane, l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille, etc.

IV.6. Contrôle de qualité

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques, établis par des commissions nationales et internationales d'experts et imposés par les pays importateurs ou exportateurs.

Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernent l'origine géographique, l'espèce botanique, l'organe producteur (feuilles, fleurs, fruits, écorces...) et les caractéristiques physico-chimiques (couleur, odeur, densité et indice de réfraction).

Tout ceci permettra d'utiliser une appellation présente dans la nomenclature botanique et valable dans le monde entier (BEGO, 2003). L'Institut de Normalisation Scientifique d'Aromatologie INSA a retenu trois critères pour conférer aux huiles essentielles le label « HEBBD » : Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie (LAMENDIN , 2004).

Il s'agit de :

- L'espèce botanique
- L'organe producteur
- Le chémotype ou chimiotype de la plante

IV.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie, et en pharmacie (BAHORUN, 1997). Il a eu donc un réveil vers un intérêt progressif de l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles substances naturelles est un choix normal (scientifique correspondance, 2003)

Quatre domaines principaux exploitent les diverses potentialités qu'offrent les huiles essentielles.

- **Médecine** : en tant que médicament pour l'homme ; exemple : contre le diabète (AMJAD, 2005) contre les maladies de stress (LEE *et al* , 2003).contre le Malaria (DASTIDAR *et al* , 2004)

- **Pharmacie** : Les huiles essentielles peuvent avoir un intérêt médicamenteux, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, comme par exemple : *Thymus vulgaris* (Thym), *Satureja montana* (Sariette). Elles sont aussi employées pour aromatiser des formulations médicamenteuses destinées à la voie orale. Elles constituent par ailleurs le support de l'aromathérapie. Les plantes aromatiques sont aussi utilisées à l'état brut, en particulier pour les préparations d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples. (RANDRIANARIVELO, 2010)

- **Parfumerie** : C'est le débouché principal des huiles essentielles où la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène en sont les marchés principaux. On note aussi l'utilisation des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bain « calmant » ou « relaxant ») avec la possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques.

- **Industrie Agro-alimentaire** : Certains plantes sont utilisées brutes (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes. Tous les secteurs alimentaires en utilisent : boissons alcooliques ou non, confiserie, produits laitiers, produits, carnés, soupes, sauces, boulangerie, snacks, la nutrition animale. (RANDRIANARIVELO, 2010)

- **Agriculture** : pour lutter contre les insectes et les nématodes par exemple (AMJAD, 2005)

- **Diverses industries** : L'industrie chimique est le principal utilisateur des isolats issus des huiles essentielles comme matières premières pour la synthèse de principe actifs, médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, exemple : pinènes, sclaréol, linalol, citronellal, citral eugénol, safrol, etc.... Ces isolats sont également utilisés en parfumerie. (RANDRIANARIVELO, 2010)

V. METHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (SAMATE , 2001)

V.1. L'entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

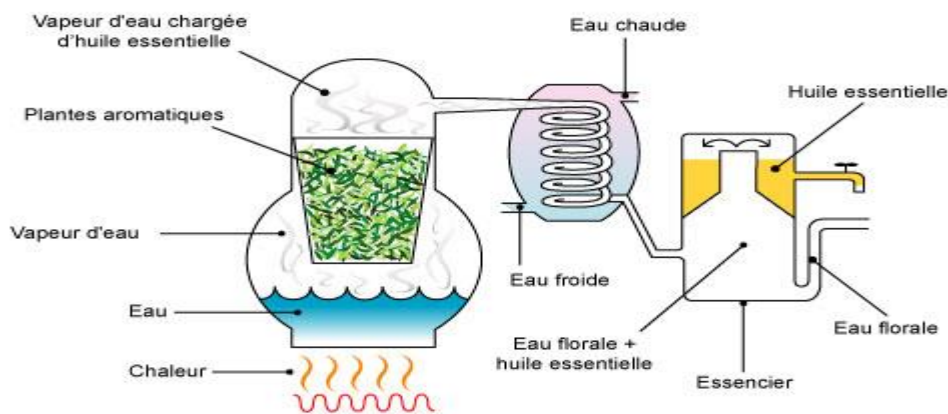


Figure 1: La distillation par entraînement à la vapeur

V.2. L'hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée.

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Il consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

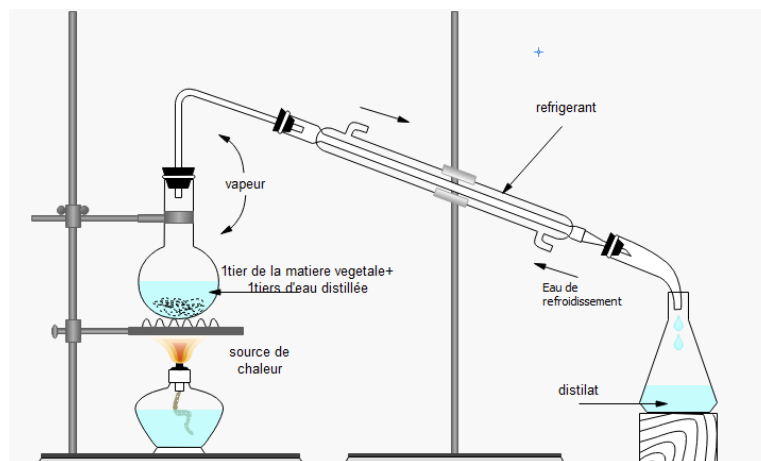


Figure 2: Schéma d'un montage d'hydrodistillation.

V.3. La distillation à vapeur saturée :

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est

pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées.

V.4. L'hydro diffusion :

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydro diffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur

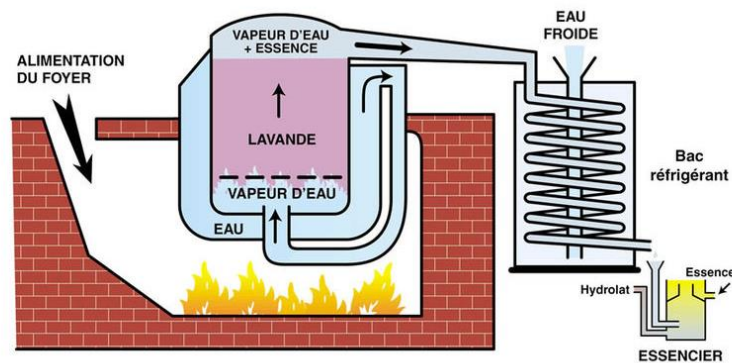


Figure 3: Schéma d'hydro-diffusion.

V.5. Extraction par micro-ondes :

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait.

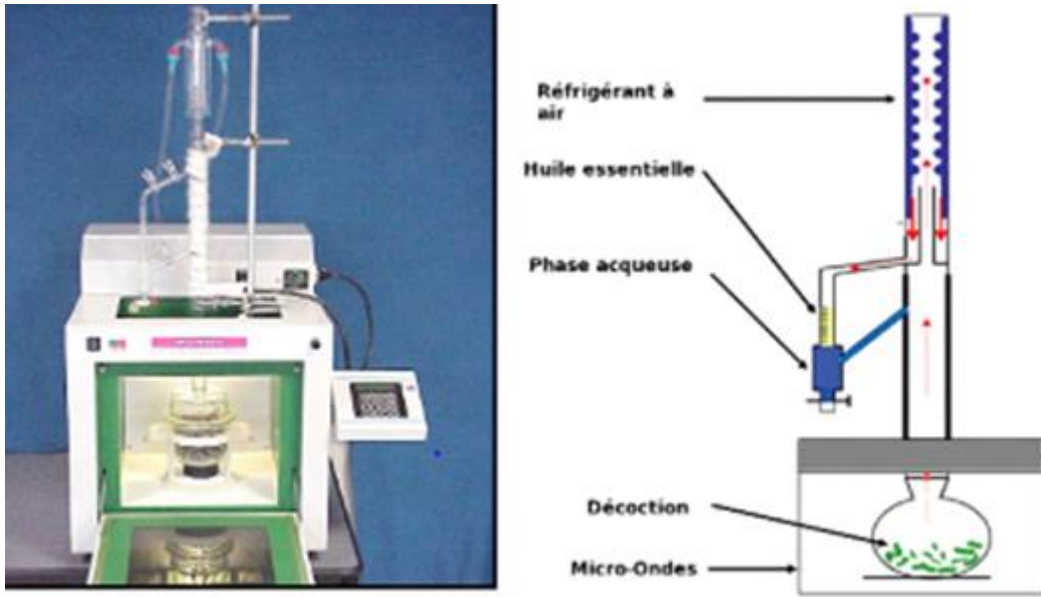


Figure 4: Schéma d'un montage d'hydro-diffusion assistée par micro-ondes.

V.6. L'expression à froid :

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

L'extraction à froid est une technique qui a pris naissance en Sicile, avant d'être utilisée par tous les pays producteurs d'agrumes. Elle se faisait autrefois manuellement par un procédé dit (à l'éponge).

Après celui, un autre s'est considérablement développé.

Le procédé consiste dans ce cas à frotter les écorces contre un système d'éponges naturelles fixées sur une bassine en terre cuite. La pression était accompagnée par un mouvement de rotation de la main. Le mélange exprimé était recueilli par essorage des éponges. Finalement, par simple décantation, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse qui contient aussi des débris produits par la lacération des tissus de l'écorce toutefois, même cette méthode est aujourd'hui en partie considérée comme archaïque.

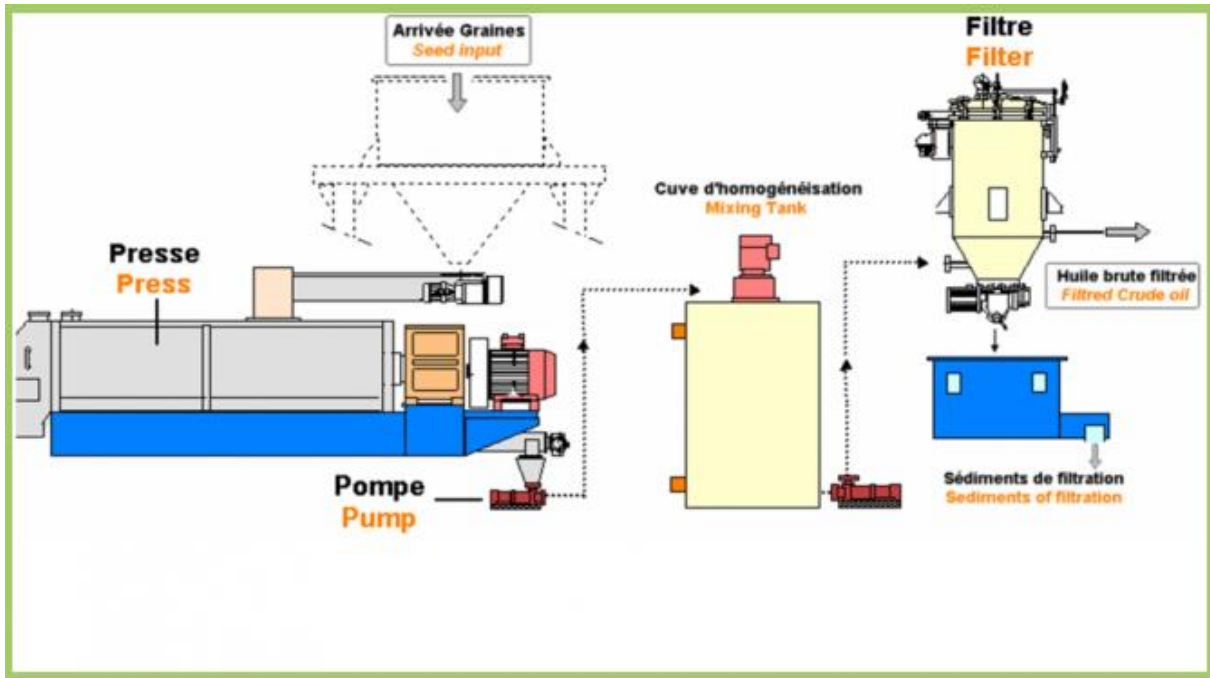


Figure 5: Schéma d'extraction par pression à froid ou expression.

V.7. Extraction par solvant :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances.

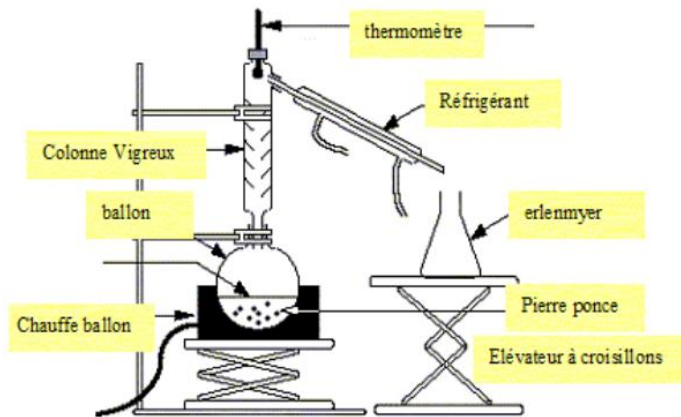
Schéma du principe de distillation par solvant :

Figure 6: Schéma d'extraction par solvant.

V.8. Extraction par du CO₂ supercritique :

Cette technique se rapproche énormément de l'extraction par solvant, le CO₂ supercritique a la même fonction qu'un solvant sauf qu'il n'est pas nocif et qu'il ne reste plus aucune trace de celui-ci dans l'huile essentielle obtenu.

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables.

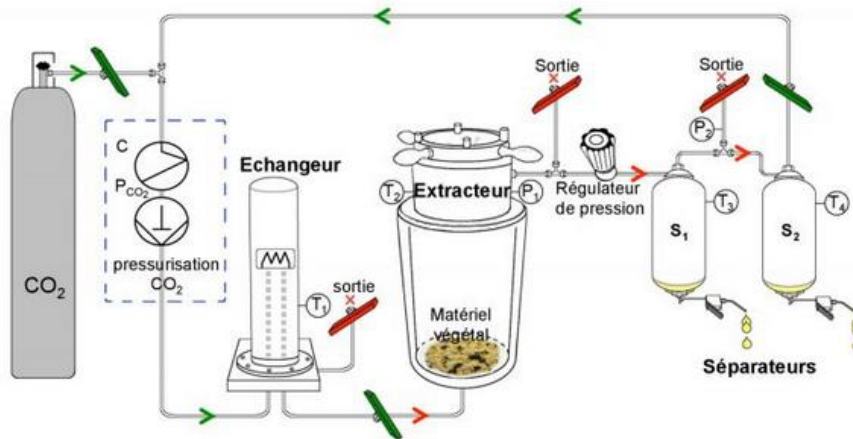


Figure 7: Schéma d'extraction au CO2 supercritique.

V.9. L'extraction par enfleurage :

Cette technique est très sophistiquée et plus trop utilisée. Elle est réservée pour réaliser des huiles florales de très grande qualité et est essentiellement utilisée pour les fleurs qui supportent mal l'action de la chaleur (comme le jasmin, la violette). Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse sur des châssis de verre qui sont remplacés toutes les 24 heures, les huiles essentielles saturant progressivement la graisse. Le composé obtenu, appelé « pommade », est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée.

V.10. La macération :

La macération est semblable à l'enfleurage. Elle est employée pour extraire les huiles essentielles à partir d'ingrédients tels que la vanille qui est trempée dans des cuves d'huile jusqu'à ce que les pièces parfumées se dissolvent. L'huile peut être chauffée pour accélérer le processus. La macération peut durer plusieurs années. En général, on utilise de l'huile de tournesol pour la macération.

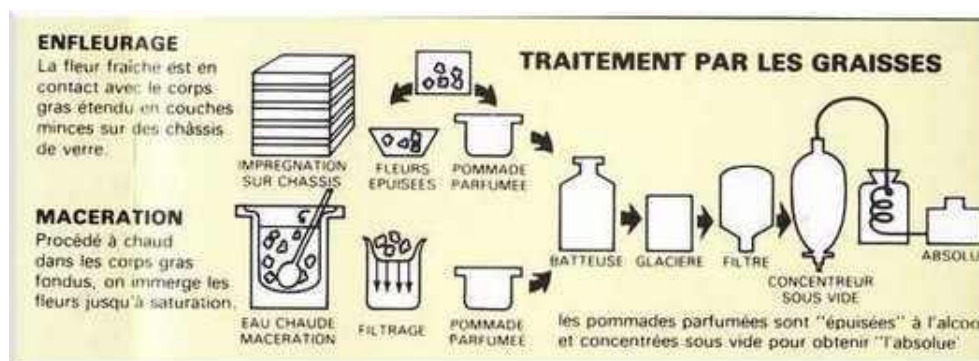


Figure 8: L'extraction par enfleurage et La macération.

VI. METHODES D'ANALYSE ET CONTROLE DE LA QUALITE :

Après l'extraction de l'huile essentielle désirée, nous devons vérifier la qualité de notre produit en le comparant avec une huile témoin. Plusieurs choix s'offrent à nous quant à l'analyse quantitative et qualitative de notre huile : la chromatographie, les caractéristiques organoleptiques, les propriétés physiques et le rendement sont les quatre principaux éléments que nous utiliserons pour tester notre produit final. (BOUTAYEB, 2013)

VII. IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS D'UN MELANGE :

De manière schématique, deux démarches analytiques se distinguent en fonction de l'objectif recherché. La première est l'analyse structurale qui consiste à élucider la structure d'une molécule qui n'a encore jamais été décrite dans la littérature. La seconde est d'identifier et de quantifier un produit déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont répertoriées.

VII.1. L'analyse structurale :

L'analyse structurale nécessite la purification préalable du composé par des distillations fractionnées ou par différentes techniques chromatographiques (CCM, CC, CLHP, CGP) permettant d'obtenir une quantité suffisante de produit pur afin de réaliser une étude spectroscopique complète par Spectrométrie de masse (SMN/), Infra-Rouge par Transformée de Fourier (IRTF), Ultra-Violet (UV) et Résonance Magnétique Nucléaire (RMN-¹H et RMN-¹³C, RMN bidimensionnelle). À partir de la combinaison de ces méthodes complémentaires, il est possible d'établir avec une certitude suffisante la structure de la molécule du constituant inconnu. Parmi toutes ces techniques spectroscopiques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules.

La RMN bidimensionnelle avec l'enregistrement de spectres à deux dimensions c'est-à-dire des spectres de corrélation proton-proton (COSY et NOESY) et proton-carbone (XHCORR, HMQC et HMBC), permet de mettre en évidence des interactions (directes ou indirectes) entre les noyaux et fournit des renseignements très précis sur la structure moléculaire. Enfin, les spectres de corrélation carbone-carbone (INADEQUATE) permettent de construire pas à pas le squelette carboné de la molécule. Cependant, leur enregistrement nécessite une quantité de produit importante, ce qui limite l'utilisation de cette technique. (PAOLINI, 2005)

Tableau 1: Localisation des principales espèces de genre *Thymus* en Algérie (mebarki , 2010)

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus lanceolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : le secteur de l'atlas tellien (Terri de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de L'Atlas Saharien et constantinois
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

(BENAYACHE, *et al* 2014)

VII.2 Méthodes de détermination des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques, la technique qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique généralement la chromatographie en phase gazeuse CPG, avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM) ou quelques fois, la spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF).

VII.2.1. La CPG et les indices de rétention :

La CPG est une méthode de séparation mais aussi d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative.

L'identification d'une substance peut être facilitée par la connaissance de son temps de rétention qui est une valeur caractéristique pour une phase stationnaire donnée. En effet, les temps de rétention de chaque composé dépendent des conditions expérimentales (nature et épaisseur de la phase stationnaire, programmation de la température, état de la colonne, etc.).

Une meilleure information peut être obtenue grâce à l'utilisation des indices de rétention, mesurés sur les colonnes apolaire et polaire, qui sont plus fiables que les temps de rétention. Ils sont calculés à partir d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires. Le calcul peut se faire pour une expérimentation à température constante par interpolation logarithmique : indices de Kováts (IK) (KOVÁTS , 1965) ou en programmation de température par interpolation linéaire indices de rétention ou indices de (VAN DEN DOOL *et al*, 1963)

VII.2.2. Le couplage CPG- SM :

Le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons, une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son

Spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier, ainsi que celles élaborées de manière interne en laboratoire (MC LAFFERTY , 1994);(ADAMS, 2001)

VII.2.3. Méthodes d'analyse des extraits de plantes :

L'analyse des huiles essentielles et des polyphénols reste une étape importante, cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques comme :

VII.2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées en chimie analytique.

Le principe cette technique consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (Gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau

duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse.

La principale difficulté rencontrée lors de ce couplage est due à la grande différence de pression.

En effet, la spectrométrie de masse requiert un niveau de pression très bas, alors que la chromatographie en phase gazeuse se déroule à un niveau de pression plus élevé.

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention et des spectres de masse des constituants individualisés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées contenant plusieurs milliers de spectres.

VII.2.3.2 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

La chromatographie liquide à haute performance est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements. Elle peut être couplée également à un analyseur de masse.

Cette technique utilise une phase stationnaire et une phase mobile liquide circulant sous l'effet d'une haute pression.

Après la séparation des différents constituants de l'échantillon, un logiciel assure l'acquisition et le traitement des données. (BENDIF, 2017)

VIII. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES :

Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie.

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses, cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants entant qu'agents antimicrobiens à large spectre (FERHAT M., 2009)

VIII.1. L'activité biologique :

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques.

Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (SAINI *et al* , 1999). Plus récemment, des études ont montré que les huiles essentielles de *Chromo Léana* odorât et de *Mika nia cordat*, donnaient des tests d'inhibition positifs sur la lipoxycgénase L-1 de soja, modèle de la lipoxycgénase humaine (5-LO) impliquée dans les processus de l'inflammation (BEDI *et al* , 2004). Ensuite, dans une autre étude, il a été montré que celles de *Chromo Léana* odorât présentaient des actions positives sur la fonction Cyclooxygénase de la Prostaglandine H-synthétase (BEDI *et al* , 2010).. Enfin, les mêmes auteurs ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon giganteum*, *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* avaient des activités inhibitrices sur la cyclooxygénase (SAHOUC *et al*, 2003)

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia* (BURT , 2004) ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima* (BAREL, 1991)

A. terrefolia (UNLU *et al* , 2002)et *A. millefolium* (CANDAN *et al.*, 2003) contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mis en évidence.

Certaines huiles essentielles présentent des activités antitumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigel*

la *sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815 (AIT MBAREK *et al.*, 2007) L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K562 (DE SOUSA *et al.*, 2004)

D'autres applications médicales ont fait l'objet d'études. Les travaux réalisés par (Oussou , 2009), ont prouvé la capacité de l'huile essentielle de *Ocimum canum* à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Ceux de (MONTI *et al.* , 2002) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol. Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (UMEZU , 1999) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction de certaines drogues, comme la nicotine (ZHAO *et al.* , 2005)

VIII.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles :

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie (HEATH , 1981). Les huiles essentielles ont été considéré comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (BOYLE , 1995). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (BURT , 2004)

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développement des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (KALEMBA *et al.* , 2003); (AVLESSI *et al.* , 2012). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (SIPAILIENE *et al.* 2006); (OUSSOU , 2009)

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (BURT , 2004). Il existe cependant

quelques exceptions. Les bactéries Gram à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (WAN, 1998) et *Campylobacter jejuni* (WANNISSORN *et al*, 2005) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles.

La bactérie reconnue comme la moins sensible à leur effet reste néanmoins les bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (DORMAN *et al*, 2000). En fait, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives (MANN., 2000). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles ((HAMMER, 1999); (DEANS *et al*, 1987)).

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. (OUSSOU, 2009) a étudié les propriétés antibactériennes de quelques huiles essentielles issues de la pharmacopée traditionnelle Ivoirienne, *Ocimum gratissimum*, *O. cimumcanum*, *Xylopi aethiopica*, *Citrus aurantifolia*, *Lippia multiflora*, et *Monanthataxis capea*. Les huiles essentielles de ces plantes se sont révélées efficaces contre les bactéries multi résistantes notamment les *E. coli* résistants aux céphalosporines de 3ème génération, *E. coli* productrice de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) et staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM).

VIII.3. Activité bactéricide et bactériostatique

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité létale
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides. En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *Staphylococcus aureus*, ou encore celui de l'*Origanum* sur *Escherichia coli*.

Toutefois, cette action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée. Plusieurs mécanismes seraient mis en jeu :

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques.
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (AND, ARN, protéines et peptide
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire.
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique.
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne.
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion.

VIII.4. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres :

L'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le microorganisme (type, structure...) d'autre part. (HAMMER, 1999; DEANS *et al* , 1987).

VIII.5. Toxicité :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que ce soit sans danger pour l'organisme". Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Notamment les huiles de : Cannelle de Ceylan, Basilic exotique, Menthe, Clou de girofle, Niaouli, Thym à thymol, Marjolaine, Sarriette, Lemon-grass. De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (MEYNADIER, *et al* 1997). C'est en particulier le cas des huiles essentielles suivantes : la cannelle de Ceylan, la menthe, la Listée, la mélisse, le pin, ou la mousse de chêne.

La proportion de la population développant des allergies cutanées dues aux parfums est en augmentation car l'utilisation de parfums et de produits parfumés (HAYAKAWA, 1987) ne cesse d'augmenter. Il a été démontré que les allergènes présents dans l'air jouent un rôle évident dans la formation d'eczéma, soit par inhalation, soit par contact cutané (SCHNUCH, 2006)

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter comme irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques (comme par exemple les sprays désodorisants. (ELBERLING *et al.*, 2007)

Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont neurotoxiques (romarin, sarriette, cèdre, camphre, thuya, aneth, hysope).

VIII.6. Activité liée à la composition chimique :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

L'activité d'une huile essentielle est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Évalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son « totum », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (LAHLOU, 2004)

Il est connu que ce sont les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les hydrocarbonées. (DAOUDA, 2015)

IX. Caractère botanique :

Botaniquement, le thym appartient à la famille des Labiées qui comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (MILLER *et al* , 2006). La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées est une importante famille de plantes dicotylédones qui sont souvent : des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répandus dans tout type de milieux. La forme de lèvre de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et des feuilles opposées sont aussi des caractéristiques. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères. (QUEZEL et SANTA., 1962)

Les thym (*Thymus*) sont des plantes basses sous-ligneuses, pouvant atteindre 40cm 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 mono-terpènes. 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 la rose (SOTO-MENDÍVIL,*et al* 2006)

Selon (BENABID, 2000), le thym design une plante aromatique et médicinale (PAM). Le genre *Thymus* représentant l'objectif de notre recherche regroupe plus de 250 espèces (MILLER *et al* , 2006) largement distribuées dans l'aire méditerranéenne et utilisées comme antibactériens et anti-inflammatoires dans la pharmacopée traditionnelle de la région (BOUHDID *et al* ., 2006); (NEJAD EBRAHIMI, 2008)

En Algérie, le genre *Thymus* est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citant ainsi quelques espèces connues en Algérie : *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *T. algeriensis*, *T. hirtus*, *T. fontanesii*. (QUEZEL et SANTA, 1962).

X. PRESENTATION DE LA FAMILLE DES LAMIACEES :

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (GHERMAN *et al*, 2000), (HILAN *et al*, 2006)

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres. (MILLER *et al* 2006). Les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plantes herbacées en générale

odorantes, à tige quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules. Fleurs pentamères en générale hermaphrodites. Calice à cinq divisions. Corolle en générale bilabée longuement tubuleuse parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre, lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. Étamines 4, la cinquième nulle ou très réduite, parfois deux étamines et deux staminodes. Ovaire super à carpelles originellement biovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. (QUEZEL ET SANTA 1963).

Les lamiacées sont très nombreuses, les espèces les plus cités dans la littérature sont : *Salvia officinalis* (FELLAH , 2006) *Mentha spicata* (CHOUDHURY, 2006), *Origanum vulgare* (DIMITRIJEVIĆ, *et al*, 2007), *Rosmarinus officinalis* (GACHKAR *et al*, 2007), (MARZOUK *et al* 2006), *Ocimum basilicum* (LEE *et al* 2007)

Ainsi que de nombreuses espèces du genre *Thymus* qui ont été abondamment étudiées de ce point de vue. (ROTA *et al* , 2008), (ELHABAZI *et al* 2006)

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiacées sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes, iridoïdes glycosylés et composés phénoliques (NAGHIBI *et al* , 2005)

IX.1. Le genre *Thymus*

Origine du nom : le nom thym proviendrait aussi bien du latin que du grec

Thymus : « parfumer » (latin)

Thymus : « courage » (grec)

IX.1.1 Distribution géographique

- 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 un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (MEBARKI N., 2010) On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude mené par (NIKAVAR *et al* 2005), environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

- En Algérie

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (MEBARKI N., 2010). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement. Le tableau 1 montre la localisation des principales espèces de thym en Algérie.

Selon (PASSET, 1979) le genre *Thymus* est défini comme un ancien groupetertiaire, ayant son origine dans le sud-est de l'Espagne.

Selon (MORALES, 2002), le genre *Thymus* est inclut dans les continents euros asiatique, la partie nord de l'Afrique et Groenland méridional.

D'après (QUEZEL et SANTA 1962), les différentes espèces du genre *Thymus* sont rencontrées dans les pelouses, rocaille et dans toutes les régions montagneuses.

Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (KABOUCHE *et al* 2005).

IX.1.2. Classification :

D'après QUEZEL et SANTA (1962) *Thymus fontanesii* est une espèce qui appartient à :

- L'EMBRANCHEMENT.....Spermaphytes
- SOUS EMBRANCHEMENT.....Angiospermes
- CLASSE.....Eudicotes
- SOUS CLASSE.....Astéridés
- ORDRE.....Lamiales
- FAMILLE.....Lamiacées
- GENRE.....*Thymus*
- ESPECE.....*Thymus fontanesii*.

Il y a aussi plusieurs espèces de *Thymus* :

- *Th. vulgaris* *Th. satureioides* *Th. broussonetii*
- *Th. maroccanus* *Th. pulegioides* *Th. pallidus*
- *Th. Capitatus*.*Th. numidicus*. *Th. algeriensis*
- *Th. lancéolatus*.*Th. hirtus*. *Th. commutatus*.
- *Th. dreatensis*. *Th. glandulosus*. *Th. Ciliatus*.*Th. Guyonii*.

II.1.3. Principes actifs du Thym

Les acides phénoliques : acide caféique (COWAN , 1999).acide rosmarinique (TAKEUCHI , 2004).

Les flavonoïdes : hespéridine, eriotrécine, narirutine (TAKEUCHI , 2004)lutéoline (BAZYLKO *et al* , 2007)

Les polyphénols : tannin (COWAN , 1999); (ÖZCAN *et al* , 2004)

Dans la figure 09 sont étalés les molécules souvent présentes chez le genre *Thymus*.

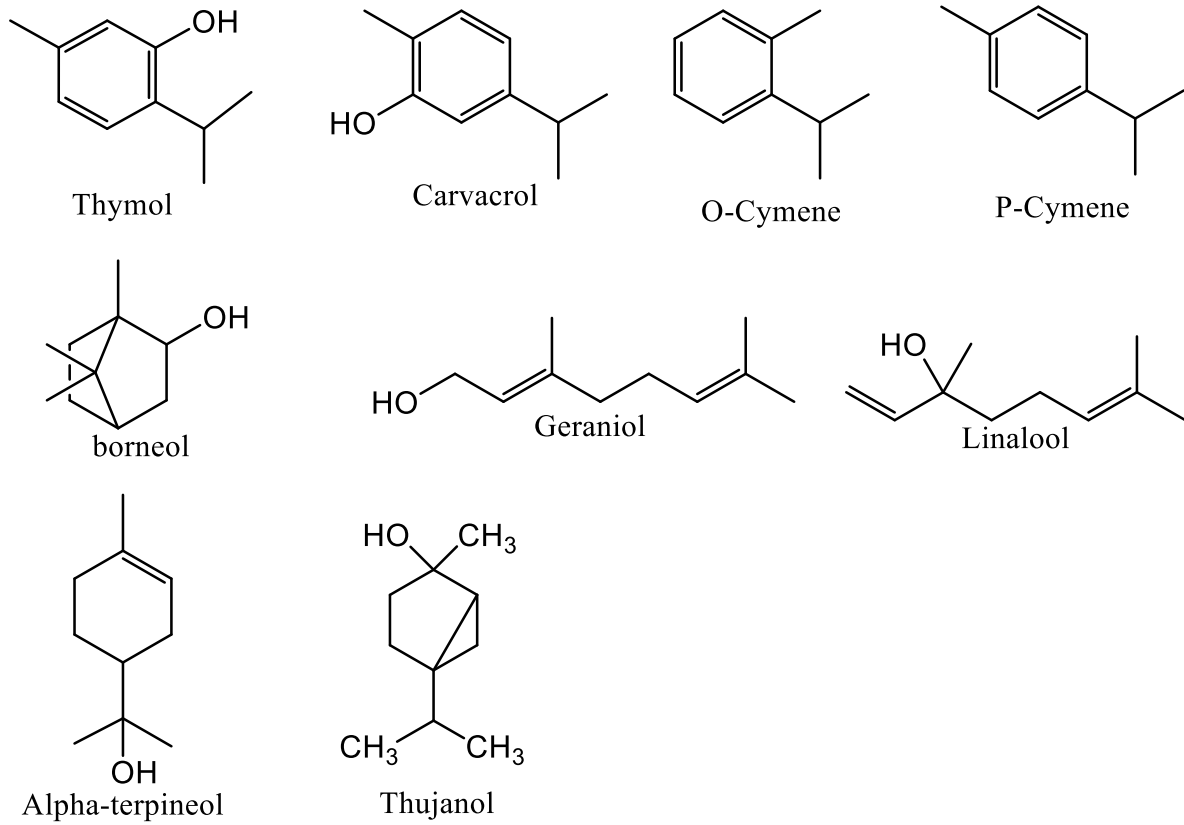


Figure 9 Composés produits par les plantes du genre *Thymus* (Mohammad et al., 2015)

Matériel et Méthodes

Le présent chapitre décrit la méthodologie de recherche et étale un rappel des protocoles expérimentaux mis en œuvre lors de la réalisation pratique.

Les cinq volets objets d'investigation sont :

- 1- Échantillonnage, cartographie, études des traits fonctionnels
- 2- Extraction des huiles essentielles et calcul des rendements
- 3- Caractérisation chimique par GC/MS.
- 4- Évaluation du pouvoir antibactérien
- 5- Évaluation du pouvoir antioxydant

Une lecture et une comparaison avec les travaux de recherche publiés suivra chaque catégorie de données expérimentales.

I. ÉCHANTILLONNAGE :

Parmi les échantillons qui parviennent systématiquement au laboratoire, plusieurs espèces de thym ont été identifiées et codifiées par des identificateurs dont la syntaxe permet de désigner les spécifications suivantes : Station/Saison/Plante/Numéro.

Les stations choisies sont celles où la plante en question se montre abondante.

Depuis ces mêmes stations, des échantillons sont cueillis chaque saison.

Chaque bouquet porte systématiquement une étiquette labélisant, en outre, le code la plante et de l'échantillon.

Le nombre d'échantillons est donc défini dans le temps et dans l'espace

Les échantillons ont été constitués de manière à faciliter, au mieux, d'une part la vérification des identifications et d'autre part de mettre en évidence des critères distinctifs végétatifs.

Des investigations préalables de terrain ont permis de constater qu'il était préférable d'opter pour un échantillonnage aléatoire.

II. CARTOGRAPHIE :

Afin de présenter une lecture spatialisée des sujets de l'étude, il convient d'établir des cartes géographiques.

Établir des cartes de situation qui montrent l'endroit de chaque échantillon prélevé avant son acheminement au laboratoire a permis de créer des repères sur le terrain.

Détermination de l'indice de végétation :

L'indice le plus connu et le plus utilisé est l'indice de végétation par différence normalisé ou indice de Tucker (NDVI en anglais) (ROUSE AND HAAS, 1973)

La normalisation par la somme des deux bandes permet de réduire les effets d'éclairement. Le NDVI conserve une valeur constante quel que soit l'éclairement global, contrairement à la simple différence qui est très sensible aux variations d'éclairement.

Les valeurs du NDVI sont comprises en théorie entre -1 et +1, les valeurs négatives correspondant aux surfaces autres que les couverts végétaux, comme la neige, l'eau ou les nuages, pour lesquelles la réflectance dans le rouge est supérieure à celle du proche infrarouge. Pour les sols nus, les réflectances étant à peu près du même ordre de grandeur dans le rouge et le proche infrarouge, le NDVI présente des valeurs proches de 0. Les formations végétales quant à elles, ont des valeurs de NDVI positives, généralement comprises entre 0,1 et 0,7 - les valeurs les plus élevées correspondant aux couverts les plus denses.

Les étapes de la réalisation de la carte géographique présentant le NDVI sont décrites ci-dessous :

- Introduire les points GPS piquetés sur le terrain dans la base de donnée universelle des cartes géographiques.
- Repérer la zone d'étude.
- Télécharger la carte
- Vue générale de la zone d'étude
- Réalisation de la composition colorée
- Choix des bandes (rouge et infrarouge proche)
- Localisation géographique d'échantillonnage
- Superposition des couches
- Calcul du NDVI

III. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS :

Les échantillons sont transportés dans des sacs en cellulose, libellés, gardés au frais, et séchés à l'ombre.

Après la validation de la détermination de chaque espèce, des vouchers sont gardés au laboratoire.

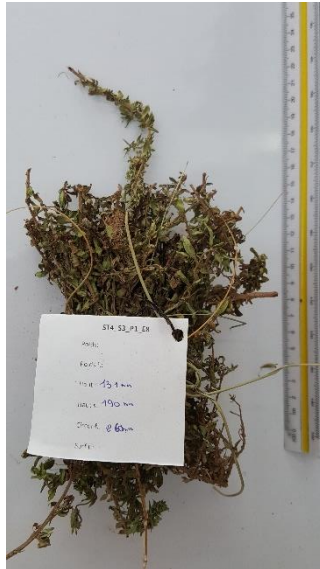


Figure 10 Labélisation et codification des échantillons

Ensuite une labélisation et une codification systématiques sont opérées sur tous les échantillons afin d'alimenter une banque de donnée et d'assurer la traçabilité des données acquises.

IV. ÉTUDE DES TRAITS FONCTIONNELS :

Les traits suivants ont été estimés pour chaque échantillon :

- Hauteur du l'échantillon
- Hauteur de la plus longue branche « hauteur spécifique »
- Circonférence de la touffe
- Poids

Trente feuilles ont été pesées puis scannées en vue de déterminer, pour chaque feuille :

- L'aspect
- La surface
- La longueur
- La largeur
- Le périmètre
- Le poids

Ces traits sont étudiés dans le but de déterminer leurs variabilités en fonction des espèces ainsi que pour estimer leurs réponses aux variations des facteurs biotiques et abiotiques.

Les étapes de mesure par un logiciel d'analyse et d'acquisition des images après une mise à l'échelle et un étalonnage spatial, les sujets sombres (feuilles analysées) sont font objets de mesure des traits mentionnés précédemment.

V. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :

V.1. Hydrodistillation

En réponse à la méthodologie exposée ci-dessus ; chaque échantillon subit séparément une hydrodistillation qui aboutira à l'obtention d'une huile essentielle.

La matière végétale est introduite dans un ballon avec de l'eau distillée. La chaleur issue du chauffe-ballon donne naissance à une vapeur qui passe par le réfrigérant et se condense dans une burette graduée. Le liquide obtenu représente le distillat. (Cf. Figures 10, 11)

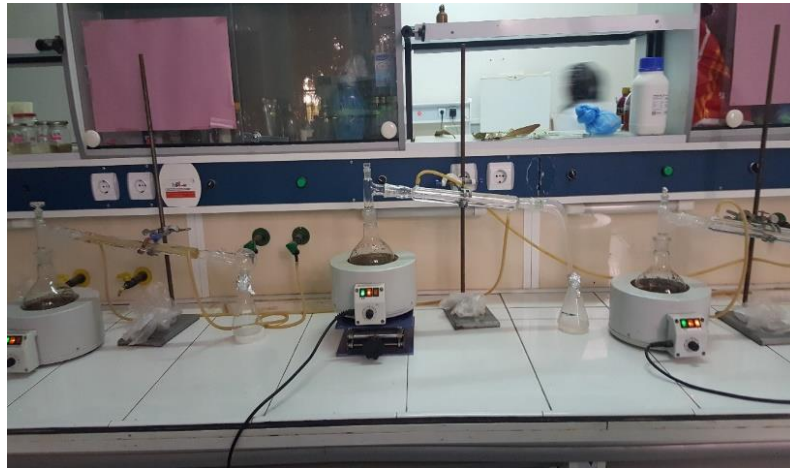
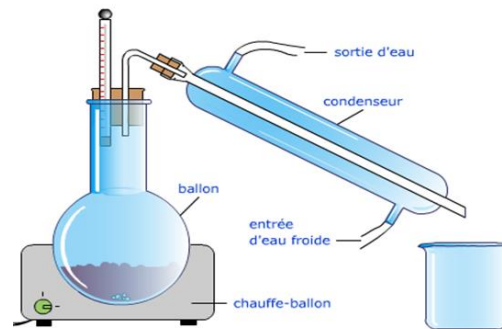
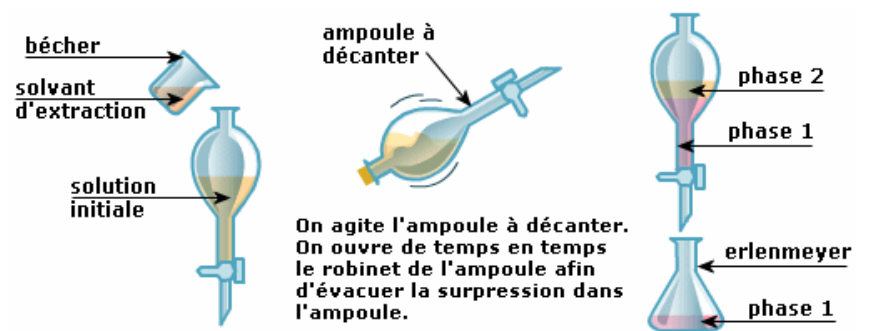


Figure 11 Montage d'hydrodistillation



Les huiles essentielles sont en général moins denses que l'eau et surnagent.

Figure 12 Extraction liquide/liquide

V.2. Extraction liquide-liquide :

Afin de séparer les deux phases organique (huile et solvant) et aqueuse (eau), on utilise l'éther di-éthylique et pour cela on met le distillat récupéré dans une ampoule à décompter puis on additionne le solvant cité précédemment, on ferme l'ampoule, on agite et on dégaze. Par la suite on fixe cette dernière sur un support et on attend jusqu'à ce que les phases à séparer soient bien distinctes l'une de l'autre. À ce stade et après que le couvercle est enlevé, on récupère chacune des deux dans son récipient approprié. (Cf. Figure 11)

V.3. Élimination des traces d'eau de la phase organique :

La phase organique peut toujours contenir certaines traces d'eau et pour les éliminer on ajoute à cette dernière le sulfate de magnésium anhydre $MgSO_4$ puis on filtre à l'aide du papier filtre.

V.4. Élimination du solvant organique :

Cette dernière étape est réalisée par l'utilisation d'un évaporateur rotatif et pour cela le liquide obtenu dans l'étape précédente est transvasé dans un ballon approprié puis fixé à l'appareil pour évaporer le solvant.

À la fin de cette étape on peut alors récupérer notre huile essentielle qui sera par la suite mise dans des flacons stériles hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et à température basse.



Figure 13 Evaporation rotative

V.5. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (CARRÉ, 1953. *In* : BEKHCHI, 2002).

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = m/m_0 \times 100$$

Avec :

R : rendement en H.E exprimée en pourcentage ;

m : masse en gramme de l'HE ;

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche

VI. CARACTERISATION CHIMIQUE PAR GC/MS

L'analyse chimique est effectuée pour chaque huile essentielle en vue d'apprécier la variation de la composition chimique en fonction des différences inter et intra espèces notamment celles morphologiques, géographiques ou saisonnières.

Préparation de l'échantillon :

5µL d'huile essentielle sont dilués dans l'hexane (1mL). Le contenant est scellé par un septum à haute performance.

Conditions analytiques :

Instrument : Perkin Elmer Gas Chromatograph Clarus680 coupled to Mass Spectrometer Clarus SQ 8T.

Une colonne Rtx-5MS (30 m × 0.25 mmID, 0.25 µm df, RESTEK, USA) est directement couplée au spectromètre de masse.

Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/min).

Température d'injection : 250°C

Température du détecteur : 280°C

Température initiale : 70°C pendant 4 minutes.

Montée en température : 4°C/min jusqu'à 180°C maintenus 10 minutes. (Kulisic, Radonic, Katalinic, & Milos, 2004)

Les chromatogrammes obtenus subissent, chacun, plusieurs investigations exhaustives afin d'identifier les composés organiques isolés.

Cela exige d'abord une intégration du chromatogramme, opération qui permet de déduire l'aire des pics y figurant.

La comparaison des spectres de masse théoriques avec ceux expérimentaux permettent de déduire la structure développée des composés en question.

Les résultats de l'analyse chimique sont présentés sous forme d'un tableau dans lequel figurent les noms de composés isolés avec leurs proportions, leurs structures et leurs numéros CAS respectifs.



Figure 14 Chromatographe

VII. ÉVALUATION DU POUVOIR ANTIBACTERIEN :

L'évaluation qualitative du pouvoir antibactérien des huiles essentielles est effectuée par la technique de l'aromatogramme.

Des colonies jeunes et distinctes provenant de culture pure sont introduites dans l'eau physiologique stérile et homogénéisées à l'aide d'un vortex. La suspension bactérienne ainsi obtenu est ensuite standardisée contre un Mc Farland 0.5.

La densité optique, lue à 600 nm sur un spectrophotomètre (modèle), doit être comprise entre 0.08 et 0.1 pour avoir une charge microbienne équivalente à 10^8 UFC.

La charge microbienne est ajustée soit en ajoutant de la culture si elle est trop faible soit en ajoutant de l'eau physiologique si elle est trop forte.

Après la standardisation de la charge microbienne, l'ensemencement se fait avant qu'un quart d'heure ne soit écoulé.

L'ensemencement se fait sur Muller-Hinton, milieu le plus utilisé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

Les disques d'aromatogramme sont confectionnés à partir de papier Wattman n°3, avec un diamètre de 5.5 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce.

VIII. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE SUR MICROPLAQUE :

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (BURITS ET BUCAR, 2000).

Le radical DPPH est souvent utilisé comme un indicateur pour tester la capacité de l'extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc l'activité antioxydante (TEPE *et al.*, 2005).

L'activité antioxydante de différents extraits a été testée sur microplaque à 96 puits (HERALD, GADGIL, TILLEY, & WILEY, 2012).

Les densités optiques sont gratifiées par un lecteur de microplaques BitoTek® ELx800.

Les courbes d'étalonnage sont tracées depuis les lectures expérimentales obtenues par les lectures des absorbances de la solution référence étant introduite sur la même plaque.

Des séries de dilutions de solutions standard, de contrôles positifs et des extraits étudiés ont été introduites dans le puits de la microplaque.

Les mélanges réactionnels en question sont décrits sur le schéma suivant :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	BLK	CTL1 0,025	STD1 1	STD2 0,5	STD3 0,25	STD4 0,125	STD5 0,0625	STD6 0,03125	STD7 0,015625	STD8 0,0078125	STD9 0,0039063	STD10 0,0019531	Well ID Conc/Dil
B	BLK	CTL1 0,025	SPL1:1 0,1	SPL1:2 0,05	SPL1:3 0,025	SPL1:4 0,0125	SPL1:5 0,00625	SPL1:6 0,003125	SPL1:7 0,0015625	SPL1:8 0,00078125	SPL1:9 0,00039063	SPL1:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
C	BLK	CTL1 0,025	SPL2:1 0,1	SPL2:2 0,05	SPL2:3 0,025	SPL2:4 0,0125	SPL2:5 0,00625	SPL2:6 0,003125	SPL2:7 0,0015625	SPL2:8 0,00078125	SPL2:9 0,00039063	SPL2:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
D	BLK	CTL1 0,025	SPL3:1 0,1	SPL3:2 0,05	SPL3:3 0,025	SPL3:4 0,0125	SPL3:5 0,00625	SPL3:6 0,003125	SPL3:7 0,0015625	SPL3:8 0,00078125	SPL3:9 0,00039063	SPL3:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
E	BLK	CTL1 0,025	SPL4:1 0,1	SPL4:2 0,05	SPL4:3 0,025	SPL4:4 0,0125	SPL4:5 0,00625	SPL4:6 0,003125	SPL4:7 0,0015625	SPL4:8 0,00078125	SPL4:9 0,00039063	SPL4:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
F	BLK	CTL1 0,025	SPL5:1 0,1	SPL5:2 0,05	SPL5:3 0,025	SPL5:4 0,0125	SPL5:5 0,00625	SPL5:6 0,003125	SPL5:7 0,0015625	SPL5:8 0,00078125	SPL5:9 0,00039063	SPL5:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
G	BLK	CTL1 0,025	SPL6:1 0,1	SPL6:2 0,05	SPL6:3 0,025	SPL6:4 0,0125	SPL6:5 0,00625	SPL6:6 0,003125	SPL6:7 0,0015625	SPL6:8 0,00078125	SPL6:9 0,00039063	SPL6:10 0,00019531	Well ID Conc/Dil
H													Well ID Conc/Dil

Figure 15 Schéma du test de l'activité antioxydante sur microplaque

Résultats et discussion

Dans le présent chapitre, seront exposés les résultats expérimentaux et seront ensuite interprétés et discutés par rapport aux travaux de recherche antérieurs.

I. ÉTUDE DES TRAITS FONCTIONNELS :

Les traits fonctionnels choisis pour l'étude : surface foliaire, périmètre, taille de la feuille, hauteur, largeur de 447 individus ont été rassemblés dans un tableur qui a servi comme matrice alimentant la base de données des échantillons.

La figure 16 présente un champ de collecte des images d'un échantillon comprenant trente feuilles.



Figure 16 Détermination des traits fonctionnels de trente feuilles de la plante T1

L'analyse de la variance est présentée dans les figures 17 et 18.

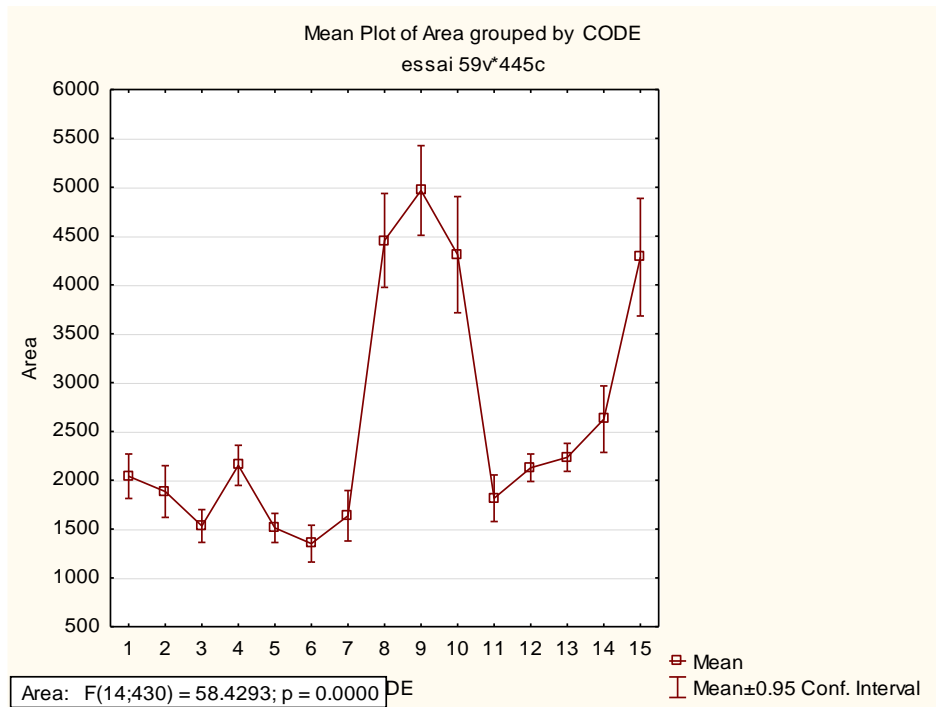


Figure 17 ANOVA des surfaces foliaires

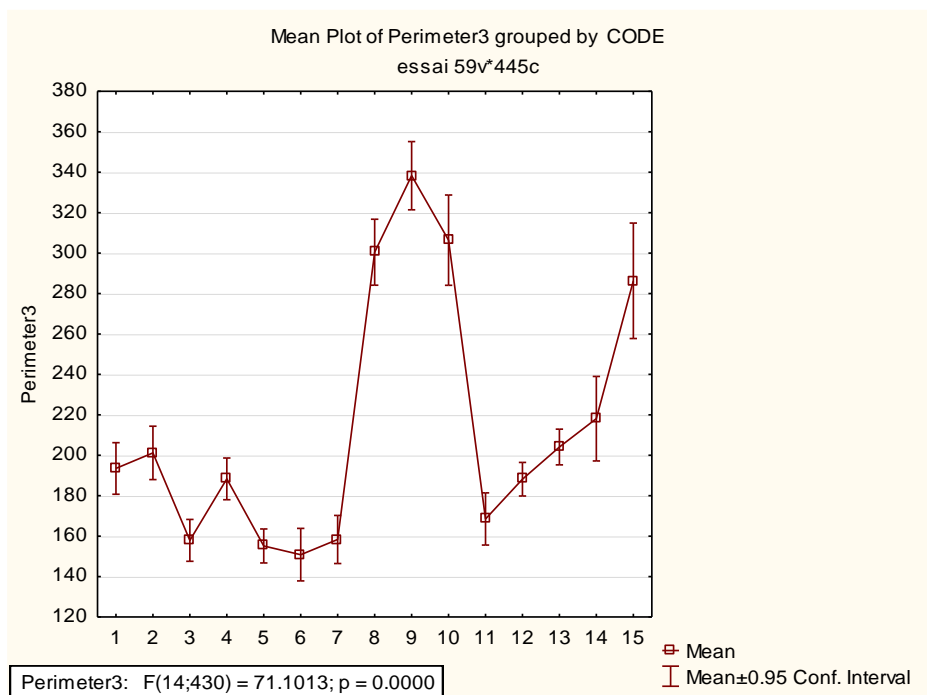


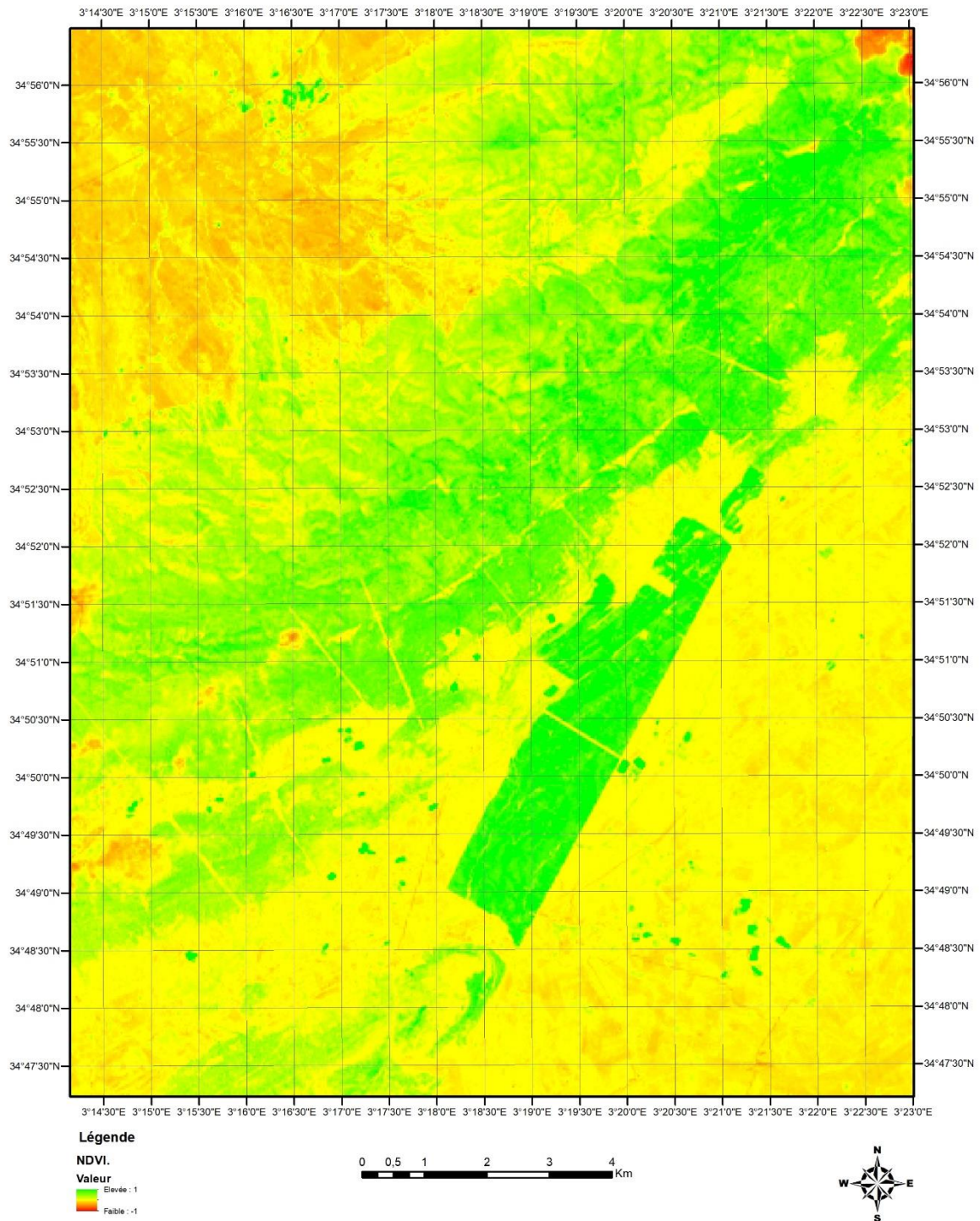
Figure 18 ANOVA des périmètres

Pour déterminer si des différences entre les moyennes sont statistiquement significatives, la valeur de p est comparée du terme au seuil de signification à un intervalle de confiance égal à 95% pour évaluer l'hypothèse nulle. L'hypothèse nulle veut que les moyennes de population soient toutes égales.

Les résultats de l'analyse de la variance, entre autres, montrent que les différences entre les populations étudiées sont très significatives, ainsi on peut constater que parmi les échantillons analysés, trois grand groupes sont ressortis, ce qui est en parfaite cohérence avec l'identification morphologique basée sur les clés de détermination décrites par Quezel et Santa.

Ces résultats semblent donner une réponse des essences végétales vis-à-vis des variabilités biotiques et abiotiques et proposeraient une alternative fiable aux méthodes classiques de détermination des espèces végétales notamment.(Grassein & De, 2011)

II. NDVI :



Carte réalisée par le calcul de l'NDVI à la base de l'image satellitaire Landsat OLI 16.08.2018 - path: 195 - raw; 036.
 Projection correspond à WGS 84
 Réalisée dans le cadre de master: ACQ - Université de Djelfa 2018

Figure 19 Carte géographique représentant l'INDV

III. RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE :

Dans le tableau 02 sont présentés les rendements respectifs des trois plantes étudiées dans deux saisons différentes.

Tableau 2 Rendement en huile essentielle

Plante	Saison	Rendement %
T1	<i>Hiv</i>	0,76
T1	<i>Print</i>	0,44
T2	<i>Hiv</i>	0,21
T2	<i>Print</i>	0,31
T3	<i>Hiv</i>	0,15
T3	<i>Print</i>	1,63

La différence saisonnière s'avère prononcée pour le cas des plantes T1 et T3 alors qu'elle est modérée pour la plante T2 pour laquelle les rendements sont presque similaires.

Les rendements des plantes du genre *Thymus* étudiés et publiés dans la littérature sont rassemblés dans le tableau 03.

Tableau 3 Rendement en huile essentielle des espèces du genre *Thymus* cités dans des travaux antérieurs

Plante	Rendement (%)	Région	Auteurs
<i>Thymus fontanesii</i>	0.9	Djelfa Agérie	(Dob, Dahmane, & Chelghoum, 2006)
<i>Thymus fontanesii</i>	1.9	Sétif in Northeastern Agérie	(Ghannadi, Ebrahim, & Kabouche, 2004)
<i>Thymus fontanesii</i>	2	Mostaganem Algérie	(Haddouchi et al., 2009)
<i>Thymus fontanesii</i>	2.4±0.8	Tarik Ibn Ziad (Agérie)	(Sidali, Fauconnier, & Lognay, 2017)
<i>Thymus fontanesii</i>	3.09±0.54	Région nord-ouest de l'Algérie	(Mohammedi, Bachik, , 2010)
<i>Thymus guyonii</i>	0.98±0.01	Sidi Bouzid Aflou - Laghouat	(Faiza, Cherifa, & Mohamed, 2018)
<i>Thymus guyonii</i>	1	Djelfa. Haoues mountain	(Abderrezak, & Kabouche, 2014)
<i>Thymus guyonii</i>	1.5	M'Sila, Agérie	(Zeghib et al., 2017)
<i>Thymus guyonii</i>	2	Zelfana - Ghardaia	(Abderrezak et al., 2014)
<i>Thymus pallidus</i>	0.9	Boufekran Meknes - Maroc	(Sqalli et al., 2014)
<i>Thymus pallidus</i>	3.5	Agadir - Morocco	(Elbouchtaoui et al., 2014)
<i>Thymus pulegioides</i>	0.38/1.11	Argerola(lattari mountains)	(Senatore, 1996)
<i>Thymus broussonetii</i>	1.64	Semlalia Marrakech.Maroc	(El et al., 2013)
<i>Thymus maroccanus</i>	1.52	Semlalia Marrakech.Maroc	(El et al., 2013)
<i>Thymus satureioides</i>	1.86	Semlalia Marrakech.Maroc	(El et al., 2013)
<i>Thymus vulgaris</i>	1.9 -2.1	Beni Idder - Morocco	(Zantar et al., 2015)

Une première lecture laisse à déduire que les rendements au sein de la même espèce changent d'une manière significative. Tel que rapporté par les travaux antérieurs, on peut constater que le rendement peut s'affecter par plusieurs paramètres tels que l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huile essentielle ((Russo MT, *et al* 1998); TONZIBO, 1998 ; (VEKIARI *et al* 2002.), KAROUSOU *et al.*, 2005 ; KOUAMÉ, 2012).

IV. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES :

Les chromatogrammes gratifiés par GC/MS, effectués pour des huiles essentielles extraites de trois espèces appartenant au genre *Thymus* et identifiées sur la base de leurs morphologies respectives, sont présentés dans les figures 20 et 21.

a. Composition chimique des huiles essentielles de la saison hivernale :

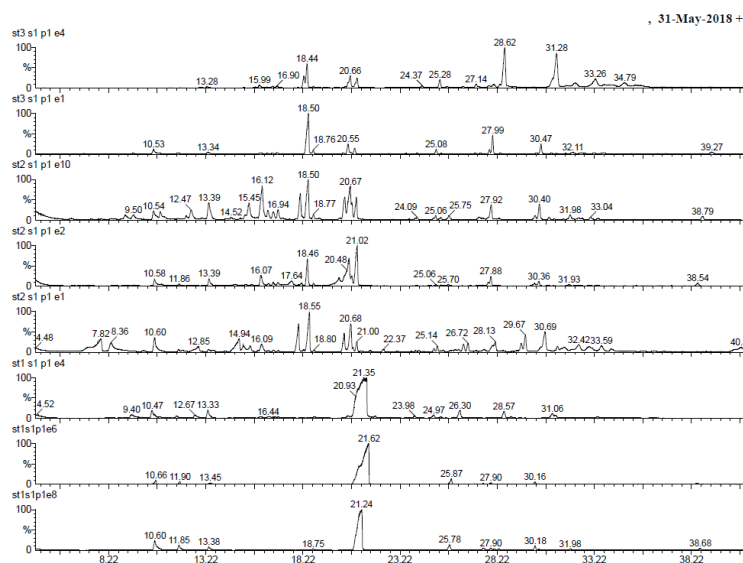


Figure 20 Composition chimique des huiles essentielles de la saison hivernale

L'allure générale de chaque profil chromatographique permet de percevoir une empreinte particulière pour chaque espèce étudiée ce qui pourrait constituer un outil fiable d'identification des plantes se basant ainsi sur des métabolites secondaires considérés alors comme marqueurs moléculaires spécifiques.

b. Composition chimique des huiles essentielles de la saison printanière :

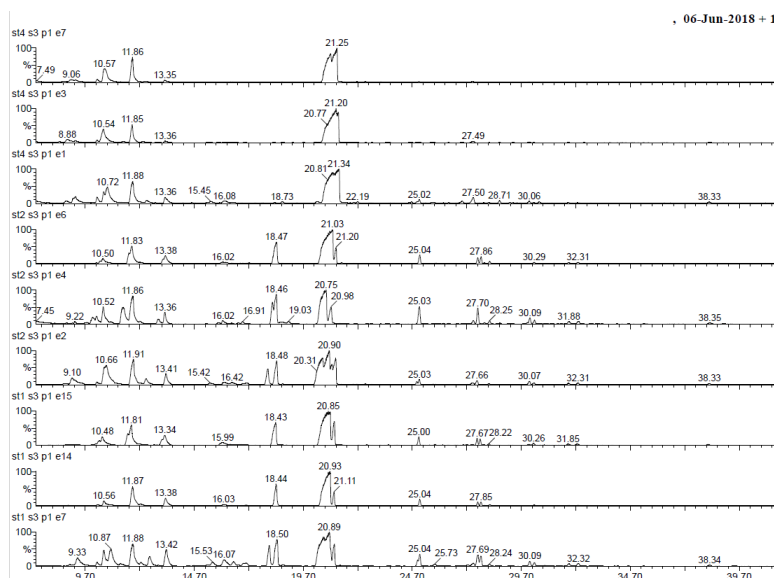


Figure 21 Composition chimique des huiles essentielles de la saison printanière

Les mêmes conclusions sont tirées quant à la composition chimique des huiles essentielles extraites des plantes cueillies dans la saison printanière, ceci amène à constater que le comportement chimique général de chaque plante demeure inchangé avec, cependant, des différences en termes de présence ou absence de quelques métabolites secondaire ou encore dans leurs concentrations respectives.

En conclusion, l'analyse des profils chromatographiques a permis de déduire un métamorphisme chimique inter et intra espèces ainsi qu'une variabilité phénologique stable.

V. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE :

Cinq huiles essentielles ont subi une évaluation de leurs pouvoirs antibactériens respectifs par la technique de diffusion sur gélose. Le test a été effectué sur sept souches bactériennes entre Gram+ et Gram-.

Trois plantes et deux saisons ont fait l'objet des tests.

Dans le présent chapitre, sont exposés les principaux résultats expérimentaux de l'estimation qualitative de l'activité antibactérienne.

Les diamètres d'inhibition de la croissance bactérienne exprimées en mm sont présentés dans les tableaux 4,5 et 6.

Tableau 4 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T1 par la technique d'aromatogramme

		KP	MP	EF	BC	STAPH	STYP	E.COLI
T1	Hiver	31,56	39,96	47,7	64,17	55,38	49,91	19,64
T1	Printemps	39,83	24,34	50,15	55,56	60,41	77,87	-

Tableau 5 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T2 par la technique d'aromatogramme

		KP	MP	EF	BC	STAPH	STYP	E.COLI
T2	Hiver	53,47	33,54	41,53	25,4	31,39	31,16	21
T2	Printemps	52,86	68,32	50,52	40,94	68,15	60,09	-

Tableau 6 Diamètres des halos d'inhibition en mm de l'huile essentielle de la plante T3 par la technique d'aromatogramme

	KP	MP	EF	BC	STAPH	STYP	E.COLI
T3	57,37	66,12	68,48	55,43	52,62	59,44	48,65

Les résultats montrent que les huiles sujettes des tests présentent une activité antibactérienne vis-à-vis de la majorité des souches testées.

Selon (PONCE *et al.*, 2003) les halos d'inhibition montrent un fort pouvoir antibactérien avec des diamètres dépassant 20 mm.

Ceci amène à constater que l'action en question est probablement due à la présence de produits naturels majoritaires dans chacune des huiles essentielles ou encore à l'action synergétique de tous les composés y présents.

L'action de la variation saisonnière, quant à elle, se montre légère et fluctuante notamment pour le cas de MP, de staph et de styp dont l'effet de l'huile essentielle de *Thymus* T2 a doublé au printemps.

Par contre, pour le cas de *Thymus* T1 il n'est constaté presque aucune différence dans l'effet de la variation saisonnière sur le pouvoir antibactérien.

La présence d'une combinaison particulière en composés chimiques constituant l'huile essentielle de *Thymus* T2 par rapport aux compositions chimiques respectives des autres huiles étudiées serait à l'origine de la variation des effets antibactériens vis-à-vis de T1 et T3 .

Dans le tableau 7. Sont collectés les résultats des études du pouvoir antibactérien des huiles essentielles des plantes de la présente étude ayant été cités dans la littérature.

Tableau 7 Résultats des aromatogrammes des huiles essentielles du genre *thymus* dans les travaux antérieurs

KP	E.COLI	STYP	BC	EF	MP	S.aureus	Référence
–	20	–	20-25	–	–	25-30	F,HADDOUCHI 2009
–	0	–	–	–	–	0	T,DOB 2006
17	23	27	–	–	–	26	C,BEKHECHI 2007
–	35,53±0,11	–	–	–	–	36,26±0,19	N,NOBET 2017
–	24±0,5	–	–	–	–	36±0,3	A.CHERITI 2013
–	24 ± 0.5	–	–	–	–	36 ± 0.3	SEKKOUM, K 2014
17	23	27	–	–	–	26	C.BEKHECHI 2013
52	28	0	–	–	–	54	KABOUCHE, Z 2005
–	–	–	–	–	–	31.8 ± 3.3	BEKKA-HADJI 2016
46±2	31	–	46±2	–	34,66±1,53	45±1	B,FAIZA 2018
26,7±0,6	27,6±0,4	–	–	–	–	30±1,5	M,LEHBILI 2013
–	–	–	–	21,5	–	28,5	A,ZEGHIB 2017
21,5±0,5	13,5±0,5	–	24±00	–	40,5±1,5	32,1±1	A. JAMALI, C. 2017

Les résultats obtenus se montrent cohérents avec ceux cités dans la littérature où tous les diamètres d'inhibition sont supérieurs à 14mm ce qui permet de juger que l'huile essentielle des *Thymus* étudiés a une forte activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées.

T2 pourrait être due à l'effet synergique de ses composés majeurs, surtout le thymol et le carvacrol rapportés être de bons antibactériens (BAYDAR *et al.*, 2004 ; NEJAD EBRAHIMI *et al.*, 2008).

La meilleure activité bactéricide de l'huile essentielle de T2 pourrait être due à l'effet synergique de ses composés majeurs : o-cymène (9,69 %), δ-terpinène (5,73 %), thymol (21,18 %) et carvacrol (55,60 %). Selon ZANI *et al.* (1991), certains composés phénoliques de bas poids moléculaire, comme le thymol et le carvacrol, peuvent, grâce à leurs groupes fonctionnels, adhérer aux bactéries Gram négatif par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires et rendre, ainsi, la membrane intérieure plus vulnérable. (JUVEN *et al.*, 1994 ; HELANDER *et al.*, 1998; ULTEE *et al.*, 1999) rapportent que le thymol et le carvacrol, qui sont les composés majoritaires prédominants de l'huile essentielle de T2, entraînent des perturbations de la membrane bactérienne, conduisant à la fuite de l'ATP intracellulaire et les ions potassium entraînant, en fin de compte, la mort cellulaire. Ce qui explique bien l'effet antimicrobien de ces deux composés phénoliques rapporté par plusieurs auteurs (BAYDAR *et al.*, 2004 ; NEJAD EBRAHIMI *et al.*, 2008).

VI. ACTIVITE ANTIOXYDANTE :

Les résultats du test de l'activité antioxydante montrent que l'huile essentielle testée est douée d'un pouvoir antioxydant qui semble être considérablement important par rapport aux standards testés.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle serait probablement liée aux composants majoritaires une étude de (TANG, S., *et al* 2001) ont signalé les deux composés en l'occurrence le limonène et le β -Pinène ont présenté des propriétés importantes.

Le limonène est un monoterpène utilisé comme agent aromatisant des aliments. Il est prouvé que les monoterpènes possèdent une activité antioxydante (ROBERTO, D., *et al.* 2010).

Les résultats demeurent néanmoins fluctuants, ce qui requiert la validation des résultats du test utilisé par ceux issus de test de DPPH conventuel.

CONCLUSION

CONCLUSION :

Le présent travail a visé la détermination des traits fonctionnels, le rendement, la composition chimique, les propriétés antibactériennes et antioxydantes des huiles essentielles de trois plantes du genre *Thymus* de la steppe du sud algérois.

Les résultats obtenus indiquent que le rendement d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation varie entre 0,1 et 1,63%.

L'étude des plantes a montré qu'il y avait une relation entre les traits fonctionnels et les variabilités saisonnières et géographiques.

L'analyse de la composition chimique par la GC/MS a permis d'identifier comme produits majoritaires : le carvacrol, le thymol méthyl éther et le thymol ainsi que d'autres composés comme le ρ -cymène, linalool, γ -terpinène, α -terpinéol, le camphre et le bornéol.

Les huiles essentielles des trois plantes étudiées sont des antibactériens naturels, mais avec des différents degrés d'efficacité selon l'espèce et la bactérie testée. Elles peuvent être une source très importante de constituants pharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections dermiques et d'autres maladies.

L'étude de l'activité antioxydante a concerné les trois plantes étudiées. Cette étude du pouvoir réducteur par la méthode de DPPH a confirmé les puissantes propriétés que possèdent les essences des plantes étudiées à piéger les radicaux libres.

L'utilisation des propriétés antioxydantes de ces huiles essentielles dans les domaines de l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique semble, de ce fait, être possible.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abderrazak M Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. pp.
- Abderrezak, M. K., Abaza, I., Aburjai, T., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of *Citrus aurantium* growing in different soils. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(6), 1913–1918.
- ABID L. (2008). Recherche des activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Schinus molle* L. et *Pistacia vera* L. de la région de Tlemcen. Thèse Magister. Univ. Tlemcen, 115.
- Adams, R. (2001). Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL. Agranoff.
- Afzal, M., Afzal, A., Jones, A., & Armstrong, D. (2002). A Rapid Method for the Quantification of GSH and GSSG in Biological Samples. *Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols*, 186(6), 117–122. <https://doi.org/10.1385/1-59259-173-6:117>
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de Santé. (2008). Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. (Afssaps).
- Aillaud et Al . (2012). Les Plantes aromatiques et médicinales. (Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich – Tétouan).
- Ait Mbarek, L., Mouse, H. A., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., ... Ziad, C. A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Braz J Med Biol Res Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(40), 839–847. <https://doi.org/S0100-879X2007000600014> [pii]
- Amjad. (2005). Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the development of pharmaceutical products from medicinal plants. *Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR)*, 10: 59-63.
- Andrea, R., & Lotz, B. (2006). Les petites en cyclos ,Gründ , Slovénie .
- Anne sophi Nogaret-Ehrhart. (2008). La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.
- Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., C. J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé.* , 7: 6-11.
- Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouéno B., M. C. & S. D. (2012). Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3): 7-13..
- BACHELOT C., BLAISE A., CORBEL T., et L. G. A. (2005). Les huiles essentielles. Licence en BIOLOGIE, U.C.O Bretagne Nord., 27.
- Bahar M., Deng Y., F. J. N. et K. A. D. (2008). Plant Derived Natural Products in Drug Discovery and Development: An overview. In: *Selected Topics in the Chemistry of Natural Products*. World Scientific Publishing Co. Lte. Ltd., 11–48.
- Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source

- d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius., 83–94.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barel S., S. R. & Y. J. (1991). The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology.*, 33: 187-191.
- Bazylo , A et Strzelecka, H. (2007). *Fitoterapia.*, 78 : 391-395.
- Bedi G., Tonzibo Z.F., Oussou K.R., Chopard C., M. J. P. & N. Y. T. (2010). Effect of essential oil of *Chromolaena odorata* (Asteracea) from Ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandin-H synthase activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.*, 4(8): 535-538.
- Bedi G., Tonzibo Z.F., C. C. & N. Y. T. (2004). Etude des effets antidouleurs des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata*, par action sur la Lipoxygénase L-1 de soja. *Physical Chemical News.*, 15: 124-127.
- Bego, G. (2003). *Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles* (MDB 2003).
- Bekhechi C., F. A.-B. et D. E. A. (2008). composition et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Origanum glondulosum* d'Alger. *Phytotherapie*, 6, 153–159.
- Bellakhdar. (2006). *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base (Précis de phytothérapie moderne)*, Editions Le Fennec, Casablanca (Maroc) ., 385–386p.
- Benabid, A. (2000). *Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité*. Edition Ibis press, Paris, France, p.159-161.
- Benayache, F., Chalard, P., Figueredo, G., Benayache, F., & Benayache, S. (2014). Chemical composition of the essential of *Thymus numidicus* Poiret. *Der Pharmacia Lettre*, 6(1), 182–185.
- BENDIF, H. (2017). Thèse de Doctorat Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajuga reptans* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* sub sp. *Coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burde.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zihni A., Baudoux D., S. N. S. & A. J. (. (2006). *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie. Agadir, 09-12 Mai.
- BOUTAYEB, A. (2013). *Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales* Université Ibn Tofail - Licence.
- Boyle W. (1995). Spices and essential oils as perspectives. *American Perfumer Essential Oil Review.*, 66: 25-28.
- BRUNETON, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation* Lavoisier, Paris, 915.
- Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3e édition revue, Paris.

- BRUNETON Jean. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed). tec et doc 11 rue la voiser 75008 paris , médicales internationaux allée de la croix bossée 94234cachance cedex .
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology.*, 94: 223-253.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2–3), 215–220. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00149-1)
- Choudhury RP., Kumar A, G. A. (2006). *J Pharm Biomed Anal.* 7:825-32.
- Cock, I. E. (2011). Medicinal And Aromatic Plant –Australia. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Sydney: Australia., 25.
- Couic-Mariner F., L. A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l’officine. *Actualités pharmaceutiques ; 52 (525) : 18-21*.
- COWAN N, M. (1999). Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
- Daouda, M. T. (2015). THESE ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DEQUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D’IVOIRE.
- Dastidar S.G., Manna A., Kumar KA., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabatary A.N., M. N. & S. Y. (2004). Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23, 99–102.
- De Sousa A.C, Alviano D.S, Blank AF, Alves P.B, Aliano C.S, Gattass C.R., M. officinalis L. (2004). essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.*, 56: 677-681.
- Deans S.G. & Ritchie G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 5:165-180.
- Dimitrijević, S.I., Mihajlovski, K.R., Antonović, D.G., Milanović-Stevanović, M.R., Mijina, D. Z. (2007). *Food chemistry Journal*, 104 :774-782.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*, 44(8), 607–612. <https://doi.org/10.1080/13880200600897106>
- Dorman H.J. & Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatils oils. *Journal of Applied Microbiology.* 88: 308-316.
- Duke S. O., Rimando A. M., Schrader K. K., Cantrell Ch., Meepagala K. M., Wedge D. E., T. N. et D. F. E. (2008). *Natural Products for Pest Management*. In: *Selected Topics in the Chemistry of Natural Products*. World Scientific Publishing Co. Lte. Ltd., 209–251.
- El, L., Alaoui, C., 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 & Products*, 43, 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.063>

- Elberling, J., Skov, P. S., Mosbech, H., Holst, H., Dirksen, A., & Johansen, J. D. (2007). Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. *Clinical and Experimental Allergy*, 37(11), 1676–1680. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02824.x>
- Elbouchtaoui, M. C., Anejjar, A., Salghi, R., Chebli, B., Hassani, L. M. I., Hmamouchi, M., & Hammouti, B. (2014). Inhibition of steel corrosion in 1 M HCl by the essential oil of *Thymus pallidus*. *Der Pharma Chemica*, 6(4), 406–414.
- Elhabazi K, Dicko A, Desor F, Dalal A, Younos C, S. R. (2006). *Journal of Ethnopharmacol.* 103 :413-419 Elqaj.
- Faiza, B., Cherifa, C., Mohamed, H., & Mohamed, N. (2018). COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE D' HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE DE THYMUS GUYONII DE NOE D' AFLOU - ALGÉRIE CHEMICAL COMPOSITION AND MICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL EXTRACT FROM THYMUS GUYONII DE NOÉ FROM AFLOU ALGERIA 3 . *Etude de la*, 8, 853–862.
- Fellah S., Romdhane M, A. A. J. S. (2006). *Alger.Chim.*, 16 : 193-202.
- Ferhat M., K. I. et L. A. (2009). Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES). Université Mohamed Boudiaf - M'sila. Faculté des sciences et des sciences de l'ingénieur. Département de biologie..
- Gachkar L, Yadegari D, Rezaei M, Taghizadeh M, Astaneh S, R. I. (2007). *Food Chemistry* 102: 898-904 Ghedira.
- Gershenzon, J. and Croteau, R. (1991). *Terpenoids, in G. Rosenthal and M. Berenbaum (eds), Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites, Vol. I: The Chemical Participants, Academic Press, pp. 165–219.*
- Ghannadi, A., Ebrahim, S., & Kabouche, A. (2004). *Thymus fontanesii* Boiss . & Reut . D A Potential Source of Thymol-Rich Essential Oil in North Africa, (May 2002), 16–18.
- Gherman C, Culea M, C. O. (2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. 53 :253-62.
- Grassein, F., & De, M. (2011). Mécanismes de variation des traits fonctionnels dans les prairies des Alpes Fabrice Grassein To cite this version : HAL Id : tel-00560097 Mécanismes de variation des traits fonctionnels dans les prairies des Alpes .
- H-W., H. (2005). *Plant Biochemistry*. (3rd ed.). Elsevier Academic Press.
- Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Naturels, P., Biologie, D. De, Sciences, F., & Belkaid, U. A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l' huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut Résumé, 05(2), 246–259.
- HAGERMAN A.E., RIEDL K.M., JONES G.A., SOVIK K.N., RITCHARD N.T., HARTZFELD P.W., R. T. L. (1998). High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal.Agric.Food.Chem.*, Vol.I.N5, pp1887-1892.
- Hammer K.A., C. C. F. & R. T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*. 86: 985–990.
- Harborne J.B., and W. C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.

- HARKAT, H. (2008). Hétérocycles oxygénés et composés aromatiques de *Frankenia thymifolia* Desf. : formation d'hétérocycles oxygénés et isolement. Thèse. Doc. Univ. Batna, 202p.
- Hayakawa, R. (1987). Contact Dermatitis, 16: 272-274.
- Heath H.B. (1981). Source Book of Flavours. Westport: Avi, 890.
- Hennebelle T., S., & F., ahpaz S. et B. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.
- Hennezel-Whitechurch. (2007). Plantes médicinales d'hier et d'aujourd'hui. Paris, France: Editions Hoëbeke.
- Herald, T. J., Gadgil, P., Tilley, M., & Wiley, J. (2012). High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour ‡, (January). <https://doi.org/10.1002/jsfa.5633>
- Hilan, C., Sfeir, R., Jawich, D. et Aitour, S. (2006). Journal Scientifique Libanais, 7: 13-22.
- Hopkins, W. G. (2003). Physiologie végétale. Ed. De Boeck Université, Bruxelles, 514P. 154..
- Hurtado-Fernandez E., Romero M.G., P. A. C. (2010). Application and potentiel of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 53: 1130-1160.
- Ignat I., Volf I., P. I. V. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food chemistry 126:, 1821–1835.
- Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., A.-K. Z. and B. K. (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. The International Journal of Aromatherapy, 15 : 129-133.
- Kalembe D. & Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry., 10: 813-829.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M. (2008). Article original Pharmacognosie 'tude de six huiles essentielles : composition chimique, 160–164. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0307-1>
- Khanbabaee K et van Ree T. (2001). Tannins: Classification and Definition. Nat. Prod. Rep, 18, 641–649.
- Knežević S.V., Blazekwic B., Stefan M.B., B. M. (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In “Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition Venketeshwer Rao:, 155–180.
- Kováts E. (1965). Advances in Chromatography, 1 :, 229–247,.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024>
- Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18, p: 435-448.
- Lamendin H. (2004). Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent. Fr* ;1185 :78-

- Lardry, J.-M., & Haberkorn, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 14–17. [https://doi.org/10.1016/S1779-0123\(07\)70308-X](https://doi.org/10.1016/S1779-0123(07)70308-X)
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7292–7295. <https://doi.org/10.1021/jf0344385>
- Lee SJ, Umamo K., Shibamoto T, L. K. (2007). *Food Chem.*91:131-137.
- Levetin, E., & McMahon, K. (2003). *Plants and Society. USA: McGraw-Hill, Dubuque, Iowa.* (3rd ed.).
- Lutge U., Kluge M., B. G. (2002). *Botanique Lavoisier .Paris.* (3ème Techn).
- Macheix, J., Fleriet, A., & Christian, A. (2005). . Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Lausanne, Suisse: Les éditions PPTUR..
- Mahmout. (1992). Contribution à l'étude de quelques aromates et condiments utilisés au Tchad. Thèse de Doctorat: Université des sciences et techniques de Languedoc , Montpellier II.
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannin, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49: 241-246.
- Makkar H. P. S., S. P. et B. K. (2007). *Plant Secondary Metabolites.* Humana Press Inc., p.130..
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. et Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am.J Clin Nutr.*, 79(5), 727-747.
- Mann C.M., C. S. D. & M. J. L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30: 294-297.
- Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chraief I., Fatiha K., Chekir Ghedira L, B. K. (2006). *Food, Agriculture & Environment (JFAE).* 4 :61-65.
- Mc Lafferty FW, S. D. (1994). *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 6th ed., Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10d. Palisade Co.: Newfield Mebarki.
- MEBARKI N. (2010). Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes.
- Merghache S, H. M. et T. B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie. *Afrique SCIENCE.*, 05 (1), 67 – 81.
- Meynadier, J. M., Raison-Peyron, N., Meunier, L., & Meynadier, J. (1997). Allergie aux parfums. *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 37(5), 641–650. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(97\)80062-7](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(97)80062-7)
- Miller RE, Mc Conville MJ, W. I. (2006). *Phytochemistry.* 67 : 43-51.

- Mohammad, S., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Fazel, S. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents : From farm to pharmacy. *FOOD CHEMISTRY*, 173, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.042>
- Mohammedi, Z., Bachik, S., & Biologie, D. De. (2010). Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d ' une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss . et Reut . Antifungal and antiaflatoxic potential of essential oils from an endemic *Thymus fontanesii* Boiss and Reut . *Les Technologies De Laboratoire*, 5, 10–15.
- Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najarro M0, S. M. F. & B. E. (2002). Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 237: 209-214.
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In *The genus Thymus*. Stahl- Biskup. E. and Sáez. F., Thyme (ed.). Taylor & Francis, London and New York, pp: 1-43.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., G. A. (2005). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): 63-79.
- Nejad Ebrahimi, S., Hadian, J., Mirjalili, M. H., Sonboli, A., & Yousefzadi, M. (2008). Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chemistry*, 110(4), 927–931. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.083>
- Nikavar B. , Mojab F., D.-A. R. . (2005). *Food chemistry* 90(4):609-611.
- Oussou K.R. (2009). –Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.
- Özcan M. et Chalcha J C. (2004). *Bulgarian journal of plant physiology.*, 30 (3-4) : 68-73.
- PAOLINI, J. (2005). THESE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE CORSE
 CARACTERISATION DES HUILES ESSENTIELLES PAR CPG/Ir, CPG/SM-(IE et IC) et RMN DU CARBONE-13 DE CISTUS ALBIDUS ET DE DEUX ASTERACEAE ENDEMIQUES DE CORSE : EUPATORIUM CANNABINUM SUBSP. CORSICUM ET DORONICUM CORSICUM.
- PARIS R.R., M. H. (1976). Précis de matière médicale. Tome I, Ed.1.Masson, Paris,412p.
- Passet, J. (1979). La variabilité chimique chez le thym, ses manifestation, sa signification. *Parfums, cosmétiques, aromes*. 28,39-42.,.
- PAULI A. et KNOBLOCH K. (1987). Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contaminating fungi-Z *Lebensm Unters Forsch*, Vol.I.N185,pp 10-13.
- PELUCCHI C., TALAMINI R., GALEONE C., NEGRI E., FRANCESCHI S., DAL MASO L., MONTELLA M., CONTI E., L. V. C. (2004). *Int. J. Cancer.*,pp109- 278.
- PERONNY, S. (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (LemurCatta).Thèse.Doctorat.Museum.nat.histoire.naturelle.Discipline.EcoEthologie,Paris,151p.
- Quezel P., S. S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome II)*. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique Paris 7e:

781,804,819.

- Raffaelli B, Hoikkala A, L. E. & W. K. (2002). Enterolignans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 777, 29–43.
- Randrianarivelo, R. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « cinnamosma fragrans », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. P :45.
- Razafindrakoto, B. S. (1988). Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar variabilité de la composition chimique et des rendements en fonction de la période de récolte, essais de classement chimiotaxonomique et propriétés pharmacologiques. Thèse de doctorat en chimie organique, min.
- Rota, C., Herrera, A., & Marti, R. M. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils, 19, 681–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007>
- Russo MT, Galletti GC, Bocchini P, C. A. (1998). . Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. I. *J Agric Food Chem* 46: 3741-3746.
- Sahouo G Bedi, Tonzibo Z.F, Boti B, Chopard C, Mathy JP, N. Y. T. (2003). (2003). Anti-inflammatoire and analgesic activities: Chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* inhibited lipooxygenase L-1 and cyclooxygenase of PGHS. *Bulletin of the chemical society of Ethiopia*, 17(2); 191-197.
- Saini, A. Bianconi, A. Lanzara, J. A., & M. C. Asensio, S. Tajima, G. D. Gu, and N. K. (1999). 12 *Physical Review Letters* 22 M, 82(1997), 9007.
- Salle, . L. (1991). «Les huiles essentielles , Synthèse d'aromathérapie et introduction itfa sympathicothérapie »,Edition Frison - Roche, Paris, ,2 1.
- Samate Abdoul D. (2001). Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation, thèse de doctorat, Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso..
- Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F., Sangwan, R. . (2001). . Regulation of essential oil production in plant. *J. Plant Growth Regul.*, 34, 3–21.
- Saura-Calixto, F., Goni, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chem.*, 94, 442–447.
- Schnuch, A. W. U. (2006). . Studies of the importance of airborne contact allergens in the onset of contact dermatitis. Federal Environment Agency.
- Schwämmle B., Winkelhausen E., K. S. et S. W. (2001). Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms. *Biotechnol*, 39, 341–345.
- Scientific correspondance. (2003). Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85 (1) : 30-34.
- Senatore, F. (1996). Influence of Harvesting Time on Yield and Composition of the Essential Oil of a Thyme (*Thymus pulegioides* L .) Growing Wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food Chem.*, (44), 1327–1332. <https://doi.org/10.1021/jf950508z>

- Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, M., & Lognay, G. (2017). *PhytoChem & BioSub Journal*, 11(1).
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., B. R. & S. A. (2006). Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*. 18: 698-703.
- Smallfield B. (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*, 45, 4p.
- Soto-Mendivil, J.F. Moreno-Rodríguez, M. Estarrón-Espinosa, J.A. García-Fajardo, E. N. O.-V. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *e-Gnosis*, 4: 1–7..
- Sqalli, H., El Ouarti, A., Farah, A., Ennabili, A., Haggoud, A., Ibnsouda, S., ... Iraqui, M. H. (2014). Antibacterial activity of *Thymus pallidus* Batt. and determination of the chemical composition of its essential oil. *Acta Botanica Gallica*, 156(2), 303–310.
<https://doi.org/10.1080/12538078.2009.10516160>
- Takeuchi H., L. Z. G. et F. T. (2004). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68 (5): 1113- 1134.
- Teuscher E., A. R. et L. A. (2005). *plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec et Doc éditions, Paris).
- Umezu T. (1999). Anticonflict effects of plant-derived essential oils. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64: 35-40.
- Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., T. B. & S. A. (2002). Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achilla setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*., 83: 117-121.
- Van Den Dool H, K. P. . J. (1963). *Chromatogr.*, 11 : 463-471.
- Vekiari SA, Protopapadakis EE, Papadopoulou P, P. D., & Panou C, V. M. . (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a Cretan lemon variety. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 147-153.
- Walsh, G. (2003). *Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology*, 3rd. Chinchester: Wiley, England.
- Wan J., W. A. & C. M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*., 84: 152-158.
- Wannissorn B., Jarikasem S., Siritwangachai T., T. S. (2005). Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*. 76: 233-236.
- YAMAUCHI S., SUGAHARA T., MATSUGI J., SOMEYA T., MASUDA T., KISHIDA T., AKIYAMA K., M. M. (2007). *Bios.Biotec.Biochem.*, pp71, 2283.
- Zantar, S., Garrouj, D., Pagán, R., Chabi, M., Laglaoui, A., Bakkali, M., & Zerrouk, M. (2015). Effect of Harvest Time on Yield, Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* Essential Oils. *European Journal of Medicinal Plants*, 8(2), 69–77.
<https://doi.org/10.9734/EJMP/2015/17513>
- Zeghib, A., Kabouche, A., Laggoune, S., Calliste, C. A., Simon, A., Bressolier, P., ...

Kabouche, Z. (2017). Antibacterial, antiviral, antioxidant and antiproliferative activities of thymus guyonii essential oil. *Natural Product Communications*, 12(10), 1651–1654.

Zhao R.J., Koo B.S., Kim G.W., Jang E.Y., Lee J.R., Kim M.R., Kim S.C., Kwon Y.K., Kim K.J., Huh T.L., Kim D.H., Shim I., Y. C. H. (2005). The essential oil from *Angelica gigas* NAKAI suppresses nicotine sensitization. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28: 2323-2326.

يهدف البحث لاستخلاص الزيوت الأساسية من ثلاث أنواع من النباتات البرية المنتمية لصنف السعتر البري و تحديد التركيب الكيميائي و التوصيف الجزيئي لكل من المستخلصات. كما يهدف أيضا لتقييم التأثير المضاد للبكتيريا و المضاد للأوكسدة.

كما تم تحديد السمات الوظيفية لعينات من النباتات المدروسة بغرض التعرف على استجابتها للتغيرات الفصلية و الجغرافية.

تراوح مردود استخلاص الزيوت الأساسية من 0.1 % إلى 1.6 %.

أظهرت النتائج التحليل الكيميائي باستعمال تقنية الفصل الاستشرابي الكروماتوغرافي المقرون بمطيافية الكتلة، أن تركيب الزيوت الأساسي يضم المركبات الغالبة: thymol méthyl éther و carvacrol .

و بينت نتائج الدراسة قدرة المستخلصات على منع نمو طيف واسع من البكتيريا حيث أظهرت نتائج التقصي فعالية الزيوت الأساسية على سبعة أنواع منها.

كما تبين أن للمستخلصات المدروسة تأثيرا ملحوظا ضد الأوكسدة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية / التأثير المضاد للبكتيريا / التركيب الكيميائي / السعتر البري / السمات الوظيفية

RESUME

La présente étude a porté sur la caractérisation chimique par GC/MS et l'évaluation des pouvoirs antibactériens et antioxydants des huiles essentielles de trois espèces du genre Thymus poussant à l'état spontané dans la steppe du sud algérois.

La variabilité morphologique et phénologique des traits fonctionnels des plante sujettes de l'étude a été étudiée durant deux saisons.

Les rendements en huile essentielle varient de 0.1% jusqu'à 1.6%.

Les résultats montrent qu'il existe une relation entre les traits fonctionnels des plantes étudiées et les variabilités saisonnières et géographiques.

L'analyse chimique révèle que les produits majoritaires les plus abondants sont le carvacrol et le thymol méthyl éther.

L'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de sept souches de référence se montre importante contre quasiment la totalité des bactéries testées.

Les huiles essentielles extraites sont toutes douées d'une activité antioxydante importante.

Mots clés : Thymus / traits fonctionnels / huile essentielle / GC-MS / activité antibactérienne / activité antioxydante

ABSTRACT

The essential oils obtained from areal parts of three species belonging to Thymus genus were evaluated for their chemical composition, antibacterial and antioxidant activities.

Morphological and phenological variability were studied in two seasons.

Essential oils yields varied from 0.1% to 1.6%.

Results showed that functional traits of studied plants had a strong relation with seasonal and geographical variability.

GC/MS analyses revealed that main and abundant compounds were carvacrol and thymol methyl ether.

All essential oils were very effective against tested bacterial strains.

Antioxidant activity of obtained extracts was very significant.

Keywords: Thymus / functional traits / essential oil / GC-MS / antimicrobial activity / antioxidant activity