

République Algérienne Démocratique et
Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Science alimentaire
Laboratoire : Sciences Technologies et Développement Durable
Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

**Analyse nutritionnelle et toxicologique de deux
plantes alimentaires traditionnelles « *Thymus
ciliatus L et Thymus vulgaris L* »**

Présentées par :
Melle : YAICH ACHEUR Amel
Melle : GHALEM Noura

Devant le jury :

Présidente	Mme KHALDOUN H.	MCA	UDB1
Examinatrice	Mme ZEGGANE A.	MAA	UDB1
Promotrice	Mme BENMANSEUR N.	MCA	UDB1

Année Universitaire : 2021

Remerciements

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont été réalisés au sein.

Nous remercions tout d'abord **DIEU** qui nous a donné la force et le courage pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et reconnaissances, tout d'abord, à notre encadreur **Mme. BENMANSOUR Sarah d'avoir** proposé ce sujet qui nous a mené vers la découverte du monde de l'expérimental et qui nous a bien accueilli pendant toute la période de notre stage, elle nous a bien dirigé afin de pouvoir réaliser ce travail de mémoire, nous n'oublions pas de la remercier pour sa disponibilité et ses conseils précieux.

De même, nous adressons notre profonde gratitude à **Mme. BOUCHAREB Djamila** pour son confiance, son soutien et tous ses conseils précieux.

Nous remercions également les membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail.

Sur un plan plus personnel, nous remercions vivement nos parents pour leurs encouragements et leur soutien pendant notre cursus, ainsi que tous les membres de nos chères familles et tous nos amis.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail.

Résumé

Ce travail vise la détermination des caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles du *Thymus ciliatus L. et du Thymus vulgaris L.* récoltées respectivement dans deux biotopes différents : la région Si el mahjoub située dans la ville de Médéa et la région El Mawan localisée dans la ville de Sétif et le dosage des métabolismes qualitativement et quantitativement dans le *Thymus vulgaris L.* en évaluant son activité antioxydante. Les indices physicochimiques des huiles essentielles des deux espèces sont compris dans les normes données par AFNOR et ISO.

L'examen phytochimique des extraits de *Thymus vulgaris L.* divulgue la présence d'une quantité importante des flavonoïdes et des tannins.

La concentration des polyphénols dans l'extrait de *Thymus vulgaris L* est de 265.9 ± 1.18 mg EAG/ g d'extrait tandis que la teneur en flavonoïdes se montre avec une valeur de 16.11 ± 0.14 mg EQ / g.

Mots clés : *Thymus ciliatus L. et du Thymus vulgaris L*, huiles essentielles, extraits screening phytochimique, métabolites secondaires (poly phénols et flavonoïdes), activité antioxydante.

Abstract

This work aims to determine the physicochemical characteristics of essential oils of *Thymus ciliatus L.* and *Thymus vulgaris L.* collected respectively in two different biotopes: the Si el mahjoub region located in the city of Médéa and the El Mawan region located in the city of Sétif and the determination of metabolisms qualitatively and quantitatively in *Thymus vulgaris L.* by evaluating its antioxidant activity.

The physicochemical indices of essential oils of the two species are included in the standards given by AFNOR and ISO.

The phytochemical examination of the extracts of *Thymus vulgaris L.* discloses the presence of a significant amount of flavonoids and tannins.

The concentration of polyphenols in the extract of *Thymus vulgaris L.* is 265.9 ± 1.18 mg EAG / g of extract while the flavonoid content is shown with a value of 16.11 ± 0.14 mg EQ / g.

Keywords: *Thymus ciliatus L.* and *Thymus vulgaris L.*, essential oils, phytochemical screening extracts, secondary metabolites (polyphenols and flavonoids), antioxidant activity.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية من *Thymus ciliatus L.* و *Thymus vulgaris L.* المجمعة على التوالي في بيوتين حيويين مختلفين: منطقة سي المحجوب الواقعة في مدينة المديية ومنطقة الموان الواقعة في مدينة سطيف. وتحديد الأيض نوعيًا وكميًا في *Thymus vulgaris L.* من خلال تقييم نشاطها المضاد للأوكسدة

يتم تضمين المؤشرات الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية من النوعين في المعايير التي قدمتها *AFNOR* و *ISO* يكشف الفحص الكيميائي النباتي لمستخلصات *Thymus vulgaris L.* عن وجود كمية كبيرة من مركبات الفلافونويد والعفص

تركيز البوليفينول في مستخلص *Thymus vulgaris L.* هو 1.18 ± 265.9 مجم *EAG* / جم من المستخلص بينما يظهر محتوى الفلافونويد بقيمة 0.14 ± 16.11 مجم *EQ* / جم.

الكلمات الدالة: *Thymus ciliatus L.* and *Thymus vulgaris L.* ، زيوت عطرية، مستخلصات فحص كيميائية نباتية ، مستقلبات ثانوية (بوليفينول وفلافونويد) ، نشاط مضاد للأوكسدة.

Introduction	01
<i>Chapitre I : Thymus vulgaris L. et Thymus ciliatus L.</i>	
I .1 Famille des lamiacées	03
I.1.1 Position systématique et caractères botaniques de la famille	03
I.1.2. Intérêt nutritionnel, économique et pharmacologique	04
I.2 Genre Thymus	05
I.3 Eude de deux genres de Thymus	10
I.3.1 Espèce <i>Thymus vulgaris L.</i>	10
I.3.2 Espèce <i>Thymus ciliatus</i>	18
I.4 Etude nutritionnelle	21
I.4.1 Composition nutritionnelle du <i>Thymus vulgaris L.</i>	21
I.4.2. Usage traditionnel de plante thym	22
I.4.3 Les bienfaits du thym	23
I.4.4 Précautions d'utilisation du thym	23
<i>Chapitre II : Matériel et Méthodes</i>	
II.1 Lieu du stage	25
II.2 Matériel utilisé	25
II.2.1 Matériel non biologique	25
II.2.2 Matériel biologique	25
II.2.2.1 Matériel végétal	25
II.3 Choix des méthodes d'extraction des huiles essentielles	28
II.3.1 Extraction des huiles essentielles	28

II.3.1.4 Détermination du rendement en huile essentielle	31
II.3.2. Caractéristique physicochimique d'huiles essentielles	31
II.3.2.1 Détermination des indices physiques	31
II.3.3 Préparation des extraits	34
II.3.4 Screening phytochimique	35
II.3.5. Caractérisation quantitative des extraits	37
II.3.6. Activité anti-oxydante (in vitro)	38
Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1 Rendement des huiles essentielles	41
III.2 Caractères organoleptiques des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris L</i> et <i>Thymus ciliatus L</i>	42
III.3 Caractéristiques physico-chimique	42
III.4 Screening phytochimique	46
III.5 Dosage des poly-phénols totaux et des flavonoïdes	48
II.6. Activité antioxydante de l'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris L</i>	50
Conclusion	53
Références bibliographiques	
Annexe I	
Annexe II	

La liste des figures

Numéro du Figure	Titre	Pages
Figure 01	<i>Thymus vulgaris L</i>	11
Figure 02	Différentes parties du Thym	11
Figure 03	<i>Thymus ciliatus.</i>	18
Figure 04	Sous espèce de thymus	20
Figure 05	<i>Thymus ciliatus L.</i> (A) et : <i>Thymus vulgaris L.</i> (B)	26
Figure 06	Zone de prélèvement du <i>Thymus ciliatus L</i>	26
Figure 07	Zone de prélèvement du matériel végétal	27
Figure 08	poudre de Thym	28
Figure 09	<i>Thymus vulgaris</i> sèche	28
Figure 10	<i>Thymus vulgaris</i> sèche	29
Figure 11	Les étapes d'extraction des huiles essentielles	30
Figure 12	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	39
Figure 13	HE des deux espèces de thymus étudiées (<i>Thymus vulgaris L ;Thymus ciliatus L</i>)	42
Figure 14	Teneur en poly phénols dans l'extrait méthanolique et celui des flavonoïdes dans l'extrait aqueux.	49
Figure 15	Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux de <i>Thymus vulgaris L</i> et de l'acide ascorbique	51
Figure 16	IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanoïque de la poudre du <i>Thymus vulgaris L.</i>	52

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre	Pages
Tableau 01	Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des lamiacées	04
Tableau 02	Composition chimique majoritaires des l'huiles essentielles de différentes espèces de Thym	07
Tableau 03	Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	12
Tableau 04	Caractéristique physico-chimique de l'HE de <i>Thymus vulgaris L</i>	14
Tableau 05	Classification botanique de <i>Thymus ciliatus</i>	19
Tableau 06	Caractéristique physico-chimique de l'HE de <i>Thymus ciliatus L.</i>	20
Tableau 07	Composition nutritionnelle du thym séché et frais (<i>Thymus vulgaire L.</i>) selon la base de données nutritionnelle de l'USDA	21
Tableau 08	Localisation et texture du sol des deux stations d'étude	27
Tableau 09	Rendement en HE de <i>Thymus ciliatus L</i>	41
Tableau 10	Rendement en HE de <i>Thymus vulgaris L</i>	41
Tableau 11	caractéristique organoleptiques d'HE de T.vulgaris L et T.ciliatus L	42
Tableau 12	valeurs des indices de réfraction à 20°C de HE de <i>Thymus vulgaris L et Thymus ciliatus L</i>	43
Tableau 13	valeurs des densités des HEs de <i>Thymus ciliatus L et T.vulgaris L</i>	44
Tableau 14	Résultat de la miscibilité à l'éthanol 90%	45
Tableau 15	résultats de l'indice d'acide	45
Tableau 16	Résultats de l'indice d'saponification	46
Tableau 17	Résultats de l'indice d'ester	46
Tableau 18	Résultats du screening phytochimique de <i>Thymus vulgaris L</i> récoltée dans la région d'EL Mawan (Sétif).	47
Tableau 19	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les deux extraits de la plante <i>Thymus vulgaris L</i>	50
Tableau 20	Valeurs des concentrations d'inhibitions IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique du <i>Thymus vulgaris L</i>	53

I.1 Famille des lamiacées

La famille des lamiacées est l'une des familles la plus utilisée comme source mondiale d'épices et d'extrait à pouvoir anti microbien, antifongique anti-inflammatoire et antioxydant les huiles essentielles caractérisent cette famille.

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupée dans environ 250 genres. **(Miller et al, 2006)** les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plante herbacées en générale odorantes à tige quadrangulaires feuilles en générale opposées sans stipules, fleurs pentamères, en général hermaphrodites calice à cinq division corolle en générale bilabée longuement tubulense parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée la supérieure bilobée, étamines 4 la cinquième nulle ou très réduite, parfois deux étamines et deux staminodes. Ovaire super à carpelle originellement biovulés, en suite uniovulés par la constitution d'une fosse cloison **(Quezel et santa 1963)**.

Les lamiacées sont très nombreuses les espèces cités dans la littérature sont : *Salvia officinalis* **(Fellah et al 2006)**, *Mentha spicata* .

Ainsi que de nombreuse espèces du genre thymus qui ont abondamment étudiées de ce point de vue **(Rota et al 2008, Ellhabari et al ,2006)**.

Un très grand nombre du genre de la famille des lamiacées est riche en terpénoides flavonoïdes iridoïde glycosylés et composés phénoliques **(Naghbi et al, 2005)**.

I.1.1 Position systématique et caractères botaniques de la famille

D'après la nouvelle classification de l'APG 3 **(Angiosperms Phylogeny Group 3,2009 (Dupont et Guignard 2012)**, la famille des lamiaceae est classée comme suit :

Embranchement : Embryophytes

Sous Embranchement : Trachéophytes

Super Classe : Spermaphytes

Classe : Angiospermes

Grade : Triporées évoluées

Grade : Astéridées

Grade : Lamiidées (Euastéridées I

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

I.1.2. Intérêt nutritionnel, économique et pharmacologique

Tableau 1 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des lamiacées (Naghbi et al. 2005 ; Spichiger et al. 2004).

	Nom vernaculaire	Activité pharmacologique
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	Insecticide, antioxydante, diurétique.
<i>Salvia officinalis</i>	Sauge	Antisudoral, hypoglycémiant, cicatrisant, tonique.
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	Anti-inflammatoire, vermifuge, stimulant, diurétique, antispasmodique, antiseptique.
<i>Nepeta cataria l.</i>	Alaf-egorbehdashti	Activités antimicrobiennes.
<i>Lavandula officinalis,</i> <i>L. angustifolia</i>	Lavande	Antiseptique, diurétique antispasmodique, insecticide.
<i>Gelechoma hederacea</i>	Lierre terrestre	Anti inflammatoire, bronchique.
<i>Mentha piperita</i>	Menthe poivrée	Carminatif, stimulant, digestif, antiseptique.
<i>Marrubium vulgare</i>	Marrube blanc	Fébrifuge, antipaludique, tonique, diurétique, expectorant, cholérétique.

<i>Melissa officinalis</i>	Mélisse	Antispasmodique, Cicatrisant, Digestif, cholérétique.
<i>Ocimum basilicum</i>	Basilic	Digestif, diurétique, antispasmodique, antiseptique.
<i>Satureja hortensis</i>	Sarriette	Digestif, antispasmodique.

Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales du monde entier. Les espèces des genres *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie du bois. En culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre Savory (*Satureja hortensis*), crosne de *Tubifera*, *Salvia* et *Coleus* (Meyer et al. 2004 ; Messaili, 1995). Notons également que plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (Naghbi et al. 2005). Des nombreuses espèces de cette famille ont confirmé leur intérêt pharmacologique. Le genre *Thymus* choisit dans notre travail est Parmi les plantes aromatiques appartenant à la Famille des labiées très présente en Algérie. (Tableau 1)

I.2 Genre *Thymus*

Origine du nom : le nom thym proviendrait aussi bien du latin que du grec. *Thymus* : «parfumer» (latin) et *Thumus* : «courage» (grec).

I.2.1 Définition

Le genre *Thymus* appartient à la famille des Lamiacées (Labiées), il comprend 350 espèces répandues dans le monde entier (Al-Fatimi et al. 2010) ses espèces sont économiquement importantes en raison de leur utilisation dans la médecine populaire, pour la saveur et l'amélioration organoleptique, ainsi que dans la conservation des aliments. Le nom "Thymus" dérive du mot grec « thymos » qui signifie "parfumer" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariante., 2001).

Les espèces *Thymus vulgaris* et *Thymus ciliatus* sont des éléments caractéristiques de la flore méditerranéenne, connues surtout pour ses qualités aromatiques, elles ont aussi de très nombreuses propriétés médicinales. Ces deux plantes longtemps été utilisés comme source de l'huile essentielle (huile de thym) et d'autres constituants (le thymol, flavonoïdes, l'acide caféique et l'acide labiatique provenant de différentes parties de la plante).

I.2.2 Caractéristiques botaniques

I.2.2.1 Description botanique

C'est un sous-arbrisseau de 10-30 cm, d'un vert blanchâtre ou grisâtre, très aromatique, de tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicales, tortueuses, formant un petit buisson très serré. De rameaux tomenteux-blanchâtres tout autour, et feuilles petites, lancéolées rhomboïdales ou linéaires, obtuses, enroulées par les bords, non ciliées à la base. Les fleurs sont rosées ou blanchâtres, dont la tête globuleuse ou en épis, à verticilles inférieures écartées, et de calice velu, à tube un peu bossu en avant à la base (TOUHAMI Aicha ,2017).

I.2.2.2 classification botanique

Règne : Plante (végétal)

Embranchement : Spermaphytes (phanérogames)

Soie embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Métachlamydées (gamopétales)

Ordre : Tubiflorales

Sous ordre : Verbénacées

Famille : Labiacées (labiées)

Genre : *Thymus* (TOUHAMI Aicha ,2017).

I.2.3 Distribution géographique

I.2.3.1 Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés (Naghbiet 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 la montagne d’Ethiopie et d’Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte .On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par (Nickavar et al, .2005), environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

I.2.3.2 En Algérie

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu’aux zones arides (Mebarki, 2010). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variétés d’huiles essentielles.

I.2.4 Composition en huile essentielle du Thym

Dépend du lieu géographique et géologique des données climatiques ainsi que des données génétiques et saisonnières (Loziene et al 2007) (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition chimique majoritaires des l’huiles essentielles de différentes espèces de Thym.

Espèces	Pays	Composition	Références
		majoritaires	
Thymus numidicus poiret	Algérie (Constantine)	Thymol 23,92%	Zeghib et al 2013
		Linallol 17,20%	
		γ –terpinène 10,84%	
Thymus algeriensis	Maroc	Camphre 27,70%	Amarti et al 2008
		α –pinène 20,50%	

Thymus numidicus	Algérie	Thymol 60,80%	Giordani et al 2008
		p-cymène 10,30%	
		γ -terpinène 7,60%	
Thymus algeriensis	Algérie	Thymol 71,45%	Chemat et al 2012
		Linalool 7,89%	
Thymus ciliatus L	Algérie	α -terpinéol 0,90%	HENDEL noui, 2017
		Linalol 2,30%	
	(Djebel M'sial)	α -thujène 1,05%	
Thymus vulgaris L	Algérie	α -Terpinéol 0.1%	ABD2017ELLI
	(Tlemcen)	Linalool 2.7%	Wafae
		γ -terpinène 10.1%	

I.2.5 Activité biologique

Le thym est la plante médicinale la plus utilisée en médecine traditionnelle algérienne comme expectorant, antitussif, antiseptique, stomachique, antispasmodique, carminatif, anthelminthique et diurétique. Il est aussi utilisé comme condiment : le thym sec, ayant subi un séchage préalable permettant sa conservation, est destinée aux grillades alors que les huiles essentielles, extraites du matériel végétal, servent d'aromatisants. En usage cosmétique, l'emploi du thym est classique dans la constitution des parfums, on trouve également, dans l'huile essentielle du thym une composante antiseptique et cicatrisante dans les produits destinés aux soins de beauté (Kosaka et al. 2000), (Tanaka, 2003). Les études ont surtout montré l'activité anti-oxydante ; (Dugas et al. 2000) des espèces de genre *Thymus* étudiées Les activités, antimicrobiennes, spasmolytique et mutagénique (Kazuyasu et al. 1995) (vis-à-vis de la bactérie *Salmonella triphymurium*) ont été établies.

I.2.6 Utilisation traditionnelles de Thym

Le thym est traditionnellement utilisé pour favoriser la digestion, pour lutter contre les ballonnements et les flatulences, ainsi que pour dégager les voies respiratoires et apaiser la toux en cas de rhume ou de bronchite ; Les autres usages traditionnels du thym : En gargarisme ou en bain de bouche, le thym apaiserait les inflammations de la gorge et donnerait bonne haleine. En tisane, il est également proposé pour soulager les règles douloureuses. Appliquée sur les plaies, une tisane de thym concentrée permettrait de les désinfecter et favoriserait la cicatrisation. (vidal, 2010) (*Thymus vulgaris*, utilisation comme épice dans la cuisines et les liqueurs, mais a également des usages thérapeutiques approuvés ,exemple d'utilisation plante de thymus pour les maladies de l'appareil digestif (50%), maladies de peau (15%) de l'appareil circulatoire général (13%), d'appareil respiratoire (10%) et de l'appareil général (5%) (Mehdioui et al 2007).

Selon L'EMA (L'Agence européenne du médicament) considère le thym « d'un usage traditionnel comme expectorant, contre la toux et lors de rhume ». Elle recommande d'en réserver l'usage aux adultes et aux enfants de plus de douze ans.

Selon L'OMS (L'Organisation mondiale de la santé) reconnaît l'usage du thym « contre les dyspepsies (digestion difficile) et autres désordres gastro-intestinaux, contre la toux lors de rhume ou bronchites, et en gargarisme contre les laryngites et l'inflammation des amygdales ». En application locale, les propriétés antiseptiques et cicatrisantes du thym sont mentionnées, sur les plaies superficielles de la peau et contre les irritations de la bouche.

Selon La Commission E du ministère de la Santé allemand reconnaît l'usage du thym dans « les bronchites et les toux productives [qui produisent du mucus], ainsi que lors de rhumes ».

Selon L'ESCOP (La Coopération scientifique européenne en phytothérapie) reconnaît l'usage du thym « dans les catarrhes des voies aériennes supérieures, comme un traitement complémentaire dans le traitement de la coqueluche, et pour soulager les irritations de la bouche et la mauvaise haleine ».

I.2.7 Effet secondaire et Toxicologie

Les extraits naturels et particulièrement les huiles essentielles sont très connus par leurs activités biologiques. Cependant, Il est reconnu que les huiles essentielles contiennent différents composés et que l'effet synergique ou additif de plusieurs constituants évalués par des tests toxicologiques demeure inconnu (Costa et al. 2011). Les données , montrent que l'huile essentielle de thym injectée aux rats a un effet inoffensif sur le foie et les reins en raison de l'induction de petits changements dans l'activité aminotransférase.

I.3 Eude de deux genres de thymus

I.3.1 Espèce *Thymus vulgaris L.*

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen . Elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue et sans conteste le *Thymus vulgaris*, localement connue sous le nom « zaatar ».

Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec « *Thymos* » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage. L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserine, 2001).

I.3.1.1 Description

Plante : Plante herbacée, souvent velue. C'est un petit sous-arbrisseau vivace, touffu dont les rameaux sont très aromatiques, de 7 à 30 cm de hauteur qui ont un aspect grisâtre ou vert grisâtre (**Figures 1 et 2**)

Tige : Elle est généralement quadrangulaire, souvent renflée aux nœuds. Elle est ligneuse à la base, et herbacée supérieurement ou elle devient presque cylindrique. Les tiges ligneuses très ramifiées sont groupées en touffe ou en buisson très dense.

Feuilles : Elles sont très petites, ovales, à bord roulé. En dessous, les nervures latérales sont distinctes, obtuses au sommet, ponctuées supérieurement, aux pétioles extrêmement courts, et blanchâtres à leurs faces inférieures opposées, disposées en paire et se croisant d'un nœud à l'autre.

Racines : Les racines sont pivotantes, ce qui permet à la plante d'aller chercher l'eau en profondeur (Assouad et Valdeyron, 1975)

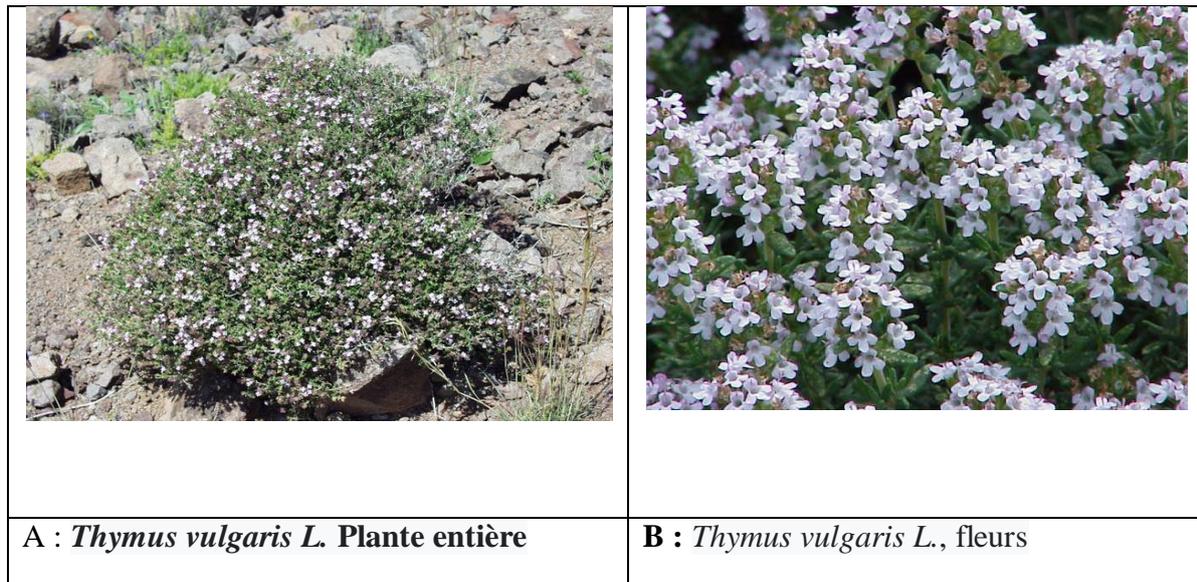


Figure I.1 *Thymus vulgaris* L. (Wikipédia, 2009)

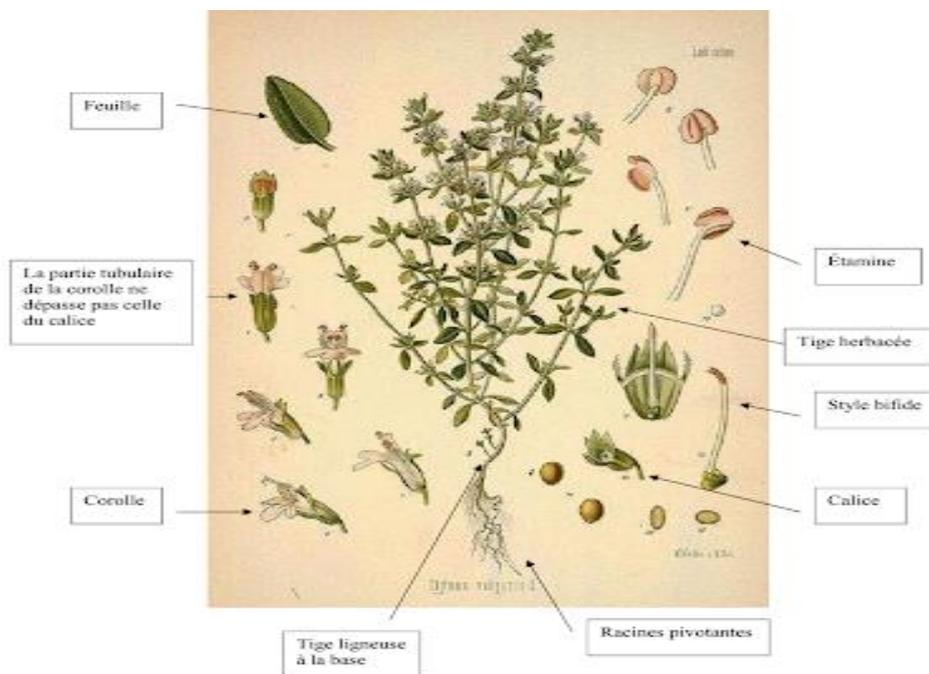


Figure I.2 Différentes parties du Thym

I.3.1.2 Origine

Le *Thymus vulgaris* est indigène de l'Europe du sud. Il est rencontré depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française. Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (Poletti, 1988) (Tableau 4).

I.3.1.3 Classification

Le tableau suivant représente la classification botanique de *Thymus vulgaris L.*

Tableau 3 : Classification botanique de *Thymus vulgaris* (Morale, 2002).

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris L.</i>

Thymus vulgaris a été ainsi nommé par (Carl von Linné en 1753) et reste le nom utilisé par toutes les nomenclatures scientifiques.

Plusieurs noms vernaculaires désignent le thym commun : thym des jardins, pote, farigoule, mignotise des Genevois, herbe de thym, thym vulgaire, thym vrai. En Provence et Languedoc, on appelle le thym commun « farigoule » ou « frigoule », et le thym sauvage « farigoulette ». Ces mots sont empruntés au latin populaire *fericula*, qui désignait autrefois

cette plante. « Farigoulette » désigne également en France une liqueur de thym, que l'on sert sur de la glace.

Nom commun : Thym

Nom latin : *Thymus vulgaris L.*

Nom arable : Za'tar Tazukennit jertil

I.3.1.4 Culture

Le Thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires ; mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux non détrempés, il nécessite des endroits bien ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur sol pauvre que se développe le mieux son arôme. Dans les endroits de fortes gelées, une protection recommandée durant l'hiver.

Sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangées écartées d'environ 20 à 30 cm, de préférence sur sol léger et sablonneux. Une pré-culture sous chassais dès la mi-mars suivie d'une plantation définitive, est également possible. Pour éviter l'hétérogénéité des qualités de semences, la multiplication peut également se faire par division des souches, de préférences au printemps, ce qui permet d'obtenir rapidement des plantes rigoureux (**Poletti, 1988**).

I.3.1.5 Récolte

Les sommités sont récoltées à des fins médicinales. Les jeunes branches sont coupées à la main, au début de la floraison, pour préparer le produit pendant l'été. Elles sont mises à sécher en couches fines, à l'ombre ou dans un séchoir à 35°C au maximum. Les tiges contiennent des tanins, des principes amers, des saponines, des antiseptiques végétaux et une huile essentielle dont les principaux composants sont le thymol et le carvacrol (**Poletti, 1988**).

I.3.1.6 Caractéristique physico-chimique

Le tableau suivant nous donne quelques informations concernant les caractéristiques physico-chimiques de cette huile.

Tableau 4 : Caractéristique physico-chimique de l'HE de *Thymus vulgaris L*

Caractère physicochimique	Norme (AFNOR, 2010)
Aspect /couleur	Liquide, jaune foncé
Odeur	Très aromatique
Saveur	chaud, et épicée
Densité à 20°C	[0,894 – 0,930] (NFT75-111)
Miscibilité à l'éthanol 90% à 20°C	2V/1V-3V/1V

I.3.1.7 Constituants

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riche en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchages, de stockages, et des méthodes d'études (extraction et détection) (Amiot, 2005)

- La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25ml/kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a révélé, 30 composés dont les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 – 58,1%), p-cymène (9,1 – 18,5%),
- -terpinène (6,9 – 18%), carvacrol (2,4 – 4,2%), linalol (4 – 6,2%). La caractéristique d'huile essentielle de thymus vulgaris était sa teneur élevée du thymol.
- Flavonoïdes : Les principaux flavonoïdes sont composés des flavones libre (notamment l'apigénine, la 6-hydroxylutéoline et la lutéoline), des flavanols comme la taxifoline, des flavanones comme la naringénine, de nombreuses flavones méthoxylées (cirsilinéol, 8- méthoxycirsilinéol, cirsimaritrine, ériodictyol, genkwanine, sacuranétine, salvgénine, sidéritoflavone, thymonine et thymusine) accompagnés d'hétérosides flavonique plus courant comme l'apigénine-7-glucoside, la lutéoline-7-glucoside et la vicénine-2-

- Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (principe amers des lamiacées) (avec environ 4%) et l'acide rosmarinique (avec environ 0,8 à 2,6%)
- Dérivés de l'acétophénone : Constitués particulièrement 4-hydroxyacétophénone, des hétérosides estérifiés et des dérivés de l'acide benzoïque
- Triterpènes : renfermant surtout de l'acide usolique (1,9%), acide oléanolique (0,6%) (**Amiot, 2005**).

I.3.1.8 Application

Préparer en infusion à raison d'une cuillerée à café dans une tasse d'eau à consommer trois fois par jours, il est résolutif et calme la toux. Il soulage également les crampes et agit comme un déodorant. Il complète les gargarismes et les bains dans les cures d'amaigrissement. Les tiges fraîches servent à obtenir l'essence de thym, riche en thymol et utilisée en odontologie et dans l'industrie cosmétique pour fabriquer des dentifrices des bains de bouche. Le Thym est une herbe aromatique qui sert à parfumer les sauces, la charcuterie et les conserves de poisson (**Amiot, 2005**).

I.3.1.9 Utilisation

I.3.1.9.1 Le Thym en médecine

Le Thym était couramment cultivé en Angleterre, mais il était avant tout considéré comme une plante médicinale traitant les affections respiratoires, et non comme un aromate. De nos jours, il est certes mieux connu dans les cuisines mais bénéficie d'un regain d'intérêt pour ses qualités médicinales.

L'usage thérapeutique du thym est autorisé en Allemagne où il est agréé pour traiter « les symptômes de bronchite, de toux sèche et de catarrhe des voies aériennes supérieures ». L'infusion est préparée en jetant une cuillère à soupe de feuilles sèches dans l'eau frémissante. De nombreuses préparations phytopharmaceutiques renferment du thym. Le principal constituant de son huile essentielle, le thymol, est un antiseptique puissant, largement utilisé avant l'essor des antibiotiques, dont l'odeur et la saveur sont connues de tous : c'est un ingrédient usuel des bains de bouches médicaux (**Delachaux et Niestlé, 2013**)

I.3.1.9.2 Propriétés pharmacologique et recherche en cours

Les propriétés pharmacologiques de la plante *Thymus vulgaris* et de ses différents extraits, en particulier l'huile essentielle et l'extrait aqueux, ont été bien étudiés. En plus de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, la plante et ses extraits ont trouvé de nombreuses applications industrielles (principalement comme additifs alimentaires) et médicinales.

Les recherches actuelles réalisées sur les effets des extraits de cette plante sur différents systèmes *in vitro* et *in vivo* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine, la pharmacie et l'industrie moderne, parmi lesquelles on cite les plus importants :

I.3.1.9.2.1 Effets antioxydants

Thymus vulgaris est parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydants. Différents composés du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E. Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes. Ils inhibent également la production de l'anion superoxyde **(Bruneton, 1999)**

Des recherches menées dans les années 1990 en Écosse ont établi les vertus potentielles de la plante et de son huile essentielle, en prévention du vieillissement. Des études récentes indiquent que *Thymus vulgaris* est un puissant antioxydant et assure des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau **(Iserine, 2001)**

L'activité antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* évaluée par deux méthodes différentes : la technique de décoloration du β carotène et le test du DPPH. Montrent que cette essence exerce une activité antioxydant *in vitro* très puissante.

En parallèle l'extrait aqueux de la même plante a présenté une activité antioxydant importante, les caractéristiques antioxydantes observées sont fortement liées à la présence et la teneur de l'acide rosmarinique ; composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris*.

I.3.1.9.2.2 Effets antimicrobiens

L'huile essentielle de Thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes puissantes. L'huile essentielle de trois plantes dont *Thymus vulgaris* a été testée, par **Bouhdid**

et ses collaborateurs (2006), pour leur activité antibactérienne. L'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives.

L'activité antibactérienne de 11 huiles essentielles de plantes aromatiques contre la souche bactérienne *Bacillus cereus*, montre une inhibition totale de la croissance des spores bactériennes.

En outre, les hydrosols de thym ont empêché la croissance des trois microbes pathogène (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Yersinia enterocolitica*). Les hydrosols de thym à concentration de 50 à 75ml/100ml étaient complètement prohibitif sur la croissance bactérienne dans de culture en suspension. Les résultats de cette étude ont confirmé la possibilité d'employer des hydrosols de thym dans la conservation des aliments et des boissons.

En plus de l'activité antibactérienne, des études ont prouvé que l'huile essentielle (à thymol) de *Thymus vulgaris* possède des propriétés antifongiques contre certain nombre de mycètes (**Iserine, 2001**).

I.3.1.9.2.3 Effet Spasmolytique

L'activité spasmolytique de *Thymus vulgaris* est le plus souvent attribuée aux phénols de l'huile essentielle. **Beer et ses collaborateurs (2007)** dans leur étude ont montré que l'effet spasmolytique du thymol est enregistré à la concentration de 10^{-6} M. A cette concentration le thymol inhibe à 100% l'activité contractile spontanée des muscles lisses de l'estomac du cobaye par contre à 10^{-5} M il réduit les effets de l'acétyl choline à 35%.

Par ailleurs, d'après **Bruneton, (1999)** ont montré que si les phénols de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* s'opposent effectivement aux contractions provoquées sur les muscles lisses du cobaye par l'histamine, l'acétyl choline ou d'autres réactifs, leurs concentration dans les préparations aqueuses de la drogue est insuffisante pour justifier leur activité. Ces autres ont montré que l'activité spasmolytique de ces préparations est liée à la présence des polyméthoxyflavones.

I.3.1.9.2.4 Effet antifongique

L'accroissement des infections fongiques parmi les patients immunodéprimés et le développement de la résistance aux antifongiques nécessitent la découverte de nouveaux agents

antifongiques. Pour cela, les sécrétions végétales telles que les huiles essentielles sont intéressantes en raison de leur pouvoir fongistatique (**Faiza, 2007**)

Bhashara et al (1998) ont testé l'activité antifongique du *Thymus vulgaris* contre deux agents pathogènes : le *Botrytis cinerea* et le *Rhizopus stolonifer* qui sont responsables de la détérioration de la fraise. Ils ont montré que le thymol et le carvacrol présents à 27% dans l'huile jouent un rôle important dans l'inhibition fongique

I.3.2 Espèce *Thymus ciliatus*

I.3.2.1 Définition

Thymus ciliatus, est un sous-arbrisseau érigé ou prostré, odorant inflorescences en faux verticilles. Feuilles plus ou moins contractées. Calice bilabié à 3 dents obtuses et 2 aigues et corolle tubuleuse bilabée, à 2 et 3 lobes ; 4 étamines, généralement saillantes ; fruits en forme de tétramères (**Quezel et santa, 1963**), (**Figure I.3**).

Cette plante qui est une espèce endémique de l'Afrique du Nord possède des activités biologiques importantes : antifongiques, anti bactériennes, antivirales et anti oxydantes.



Figure I.3 *Thymus ciliatus*.

Le thym est utilisé en médecine traditionnelle pour ces effets antiseptique. Antispasmodiques, diaphorétique, stimulants, antitussifs, sédatifs et rubéfiants (**Beloued, 1998 ; Kholkhal et al ; 2013. Ferhat et al ; 2014. Amrouni et al ; 2014**).

I.3.2.2 Description

Thymus ciliatus (Desf), est un sous arbrisseau vivace, buissonnat, à touffe dressée très aromatique de 7-20cm de hauteur, d'un aspect grisâtre on vert-grisâtre.

La tige est de couleur blanchâtre ligneuse à la base cylindrique les feuilles sont de petites taille, opposées, ovales, lancéolées, possédant un pétiole extrêmement court, blanchâtre à leurs faces inférieures celles de la base de 3mm de largeur sur 7mm de long, regroupées au sommet sous formes de rosette à l'aisselle des feuilles supérieures.

La corolle tachetée de rose est bilabées avec une lèvre inférieure forme de trois dents.

Le calice rougeâtre et poilu, formé de cinq sépales soudés en formant deux lèvres, le style saillant, l'androcée didyname² composé de deux étamines de grandes de tailles et deux petites.

Elle est rencontrée dans les broussailles, les matorrals, sur les sols calcaires, siliceux, rocailloux et bien drainés. (Quezel et Santa 1962).

I.3.2.3 Classification botanique

Le tableau suivant représente la classification botanique du *Thymus ciliatus L.*

Tableau 5 : Classification botanique de *Thymus ciliatus* (Morale, 2002)

Régne	Planteae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Thymu
Espèce	<i>Thymus ciliatus</i> (Desf) Benth, (Quezel et santa, 1962).
Sous espèce	<i>Thymus euciliatus</i>
Sous espèce	<i>Thymus coloratus</i>

Thymus euciliatus possède des fleurs très grandes ou rouges ou violacées dépassant 1cm de long, les feuilles sont linéaires ciliées sur les marges, florales et vertes (Quezel et Santa, 1963). (Figure I. 4).

Thymus coloratus est un sous arbrisseaux très rameaux à capitule dense, gros et à feuilles florales plus ou moins tachées de pourpre au moins à la base. Les fleurs ne dépassent pas 7 à 8 mm et sont en général plus pâles (Quezel et Santa, 1963). (Figure I.4).

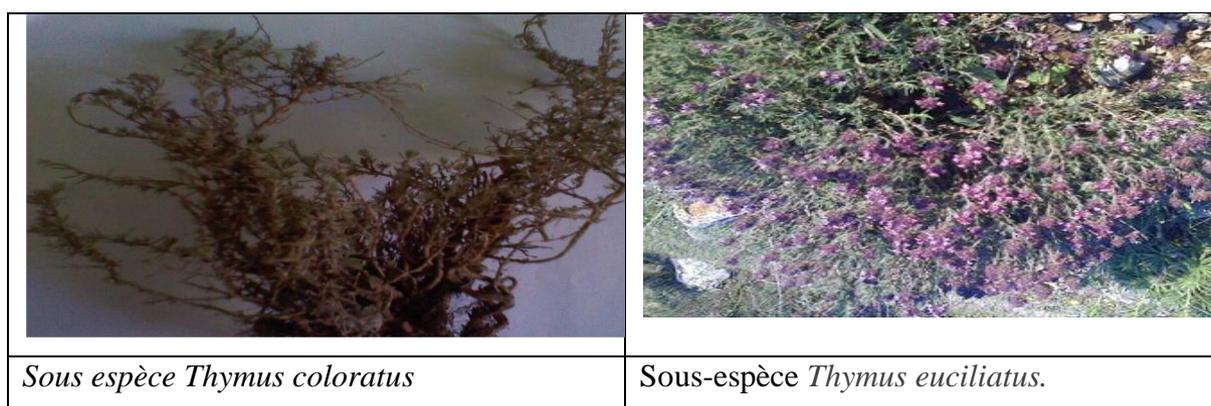


Figure I.4 Sous espèce de *Thymus*

I.3.2.4 Caractéristique physico-chimique

Le tableau suivant nous donne quelques informations concernant les caractéristiques physico-chimiques de cette huile.

Tableau 6 : Caractéristique physico-chimique de l'HE de *Thymus ciliatus L.*

Caractère physicochimique	Norme (AFNOR, 2010)
Aspect /couleur	Liquide jaune clair, presque transparente
Odeur	Très aromatique
Saveur	fraîche, et épicée
Densité à 20°C	[0,894 – 0,930] (NFT75-111)
Miscibilité à l'éthanol 90% à 20°C	1/2 1/3V

I.3.2.5 Composition chimique

Les principaux métabolites secondaires du genre *Thymus* sont les flavonoïdes. Le genre *Thymus* appartient à la sous-famille des Nepetoideae réputée pour stocker des flavonoïdes

polyméthoxylés, (Ismaili et al. 2001) ; (Haraguchi et al. 1996). La lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémomarqueurs des espèces *Thymus*, la thymusine (5,6-dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone) est aussi caractéristique de cette sous-famille.

L'huile essentielle de *Thymus ciliatus* est composée principalement de thymol, de β -E-ocimène et d' α -terpinène accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : linalol, δ -3-carène, 1,8-cinéole et carvacrol (Benabid, 2000).

I.4 Etude nutritionnelle

I.4.1 Composition nutritionnelle du *Thymus vulgaris L.*

La composition nutritionnelle du Thym séché et frais est donnée selon la base des données nutritionnelles de l'USDA (Tableau 7).

Tableau 7 : Composition nutritionnelle du thym séché et frais (*Thymus vulgaire L.*) selon la base de données nutritionnelle de l'USDA. (Mariana A,Rabeiro-Santos,M.Conceição Costa Bonito,Margarida Saraiva ,Ana Sanches-Silva,2018).

Nutritif	Nutritif	Unité	Frais thym	Séché thym
énergie	-	Kcal	101	276
	L'eau	g	65,11	7,79
Macronutriments	Protéine	g	5,56	9,11
	Lipide totaux	g	1,68	7,43
	Glucides	g	24 ?45	63,94
	Fibre	g	14	37
Minéraux	Calcium (Ca)	Mg	405	1890
	Fer (Fe)	Mg	17,45	123,6
	Magnésium(mg)	Mg	160	220
	Phosphore(P)	Mg	106	201
	Potassium	Mg	609	814
			1,81	

	Zinc(Zn)	Mg		6,18
	Vitamine C	Mg	160,1	50
Les vitamines	Thiamine	Mg	0,048	0,531
	Ribo Fl Avin	Mg	0,471	0,399
	Niacine	Mg	1,824	4,94
	Vitamine B6	Mg	0,348	0,55
	Folate	Mg	45	274
	Acide gras saturés.	g	0,467	2,73
Lipides	Gras monoinasaturés les acides.			
	Graisses polyinasaturées les acides .	g	0,081	0,47
		g	0,532	1,19

I.4.2. Usage traditionnel de plante thym

I.4.2.1 Usage interne

I.4.2.1.1 Infusion

Versez une bonne cuillère à soupe de thym dans un litre d'eau bouillante et laissez reposer de 15 à 20 mn. prendre par petite tasse plusieurs fois dans la journée au moins durant les jours. contre la fermentation intestinale et de l'estomac, on peut prendre une tasse à jeun, le matin de préférence. . (Mr. Boucharara, Boudjiema 2016).

I.4.2.1.2 Essence

Prendre 4 ou 5 gouttes de 3 à 5 fois par jour sur un morceau de sucre ou encore avec du miel. . (Mr.Boucharara ,Boudjiema 2016).

I.4.2.1.3 Poudre

Piler et réduire en poudre les feuilles séchées du thym. Prendre une à deux cuillères à café par jour en cachet mélangé avec du miel aau de la confiture . .

(Mr.Boucharara ,Boudjiema 2016).

I.4.2.2 Usage externe

En gargarisme,pour les maux de bouche , en inhalation 2 à 3 fois par jour pour l'affection des avoies respiration,en décoction pour la chute des cheveux, en bain pour la fatigue, les rhumatismes, l'arthrite. (Mr.Boucharara ,Boudjiema 2016).

.I.4.3 Les bienfaits du thym

Le thym est riche en :

- Riche en antioxydants
- Diminution de l'agrégation plaquettaire
- Source de fer et de calcium
- Source de manganèse
- De la vitamine K antihémorragique
- Apport de vitamine C
- Le mot du nutritionniste (Catherine Conan,2021).

Les fines herbes ne sont habituellement pas consommées en grande quantité. Utilisées comme assaisonnements, elles ne peuvent alors pas procurer tous les bienfaits santé qui leur sont attribués. L'ajout de fines herbes de façon régulière et significative aux aliments permet de contribuer, ne serait-ce que de façon minime, à l'apport en antioxydants de l'alimentation. Par contre, la consommation de fines herbes à elle seule ne peut répondre aux besoins en antioxydants du corps..(Catherine Conan , 2021).

I.4.4 Précautions d'utilisation du Thym

- **Thym, grossesse et allaitement:** Même si les études n'ont pas montré de toxicité pour le fœtus, il est préférable de ne pas prendre de thym pendant la grossesse, hors usage

culinaire. Les femmes qui allaitent devraient également s'abstenir d'en prendre, les substances actives du thym étant susceptibles de passer dans le lait. **(Vidal,2010).**

- **Thym, chez les enfants :** Une étude a évalué l'effet du thym sur des enfants atteints de bronchite, âgés de deux mois à quatorze ans, sans mettre en évidence de toxicité particulière. Chez les enfants de quatre à douze ans, son usage thérapeutique devrait se faire sur avis médical. Enfin, son usage sous forme d'huile essentielle ou de teinture chez les enfants de moins de quatre ans est fortement déconseillé. **(ThomsonPDR,US 2001).**

II.1 Lieu du stage

Dans le cadre de la valorisation et de la recherche d'éventuelles activités biologiques des deux plantes *Thymus ciliatus L* et *Thymus vulgaris L*, nous avons mené une étude expérimentale au sein du Laboratoire de PFE (302) de département agro –alimentaire UNIVERSITE SAAD DAHLEB, BLIDA , Laboratoire(Bio lera) et de pharmaco-toxicologie du CRD (SAIDAL) Durant une période qui s'étale du mois d'Avril jusqu'au mois de Juin 2021.

II.2 Matériel utilisé

II.2.1 Matériel non biologique

L'ensemble de matériel non biologique est illustré dans (ANNEXE I)

II.2.2 Matériel biologique

II.2.2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des parties aériennes des deux plantes *Thymus vulgaris L* et *Thymus ciliatus L*.

II.2.2.2 Séchage et stockage

Après la récolte, les échantillons ont été nettoyés avec l'eau à fin d'éliminer les impuretés et ils sont étalés sur du papier, pour séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité. Ils sont étendus, sans superposition, et retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de fermentation, sous température ambiante, pendant 15 à 20 jours, afin de garder intacte les substances actives des feuilles, des tiges et des fleurs et éviter la pourriture. Les échantillons ainsi séchés ont été mis dans des sachets en papiers jusqu'au jour de l'extraction



Figure II.5 *Thymus ciliatus* L.(A) et : *Thymus vulgaris* L.(B)

II.2.2.3 Récolte des échantillons

II.2.2.3.1 *Thymus ciliatus* L.

Les échantillons ont été récoltés (1 kg environ), pendant la période de floraison, durant le Mois d'AVRIL 2021 dans la région (Si el mahjoub au sud de la wilaya de Médéa en Algérie) . Cette zone se situe dans le tell central algérien dans l'Atlstelien du sud de l'Atlsblideén au environ de 105 km au sud –ouest d'Alger et à 32 km au de Médéa et à environ 58 km au sud - ouest de Blida. (**Figure II.6**)



Figure II.6 Zone de prélèvement du *Thymus ciliatus* L (données cartographique, Google Maps2021)

II.2.2.3.2 *Thymus vulgaris* L.

Les échantillons ont été récoltés (environ 1 kg), pendant la période de floraison au mois de juin 2020), dans la région de Sétif au nord d'Algérie.

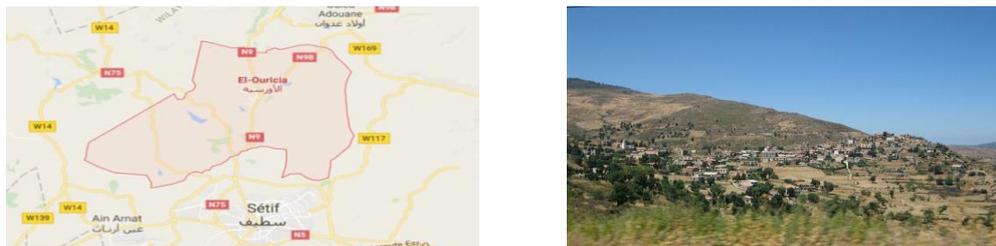


Figure II.7 Zone de prélèvement du matériel végétal (données cartographique,google Maps,2017)

II.2.2.3.3 Choix, localisation des deux plantes

Le choix des deux sites (la région si el mahjoub au sud de la willaya de Médéa et la région d'El Mawan située dans la willaya de Sétif) a été basé sur des critères écologiques (climat, sol, précipitations et altitude). Ces derniers ont une influence sur le développement de la plante, sur les métabolites secondaires et sur l'anatomie de la plante sur lesquelles nous avons focalisé notre travail.

La localisation géographique avec le mois de récolte et la texture du sol des deux stations d'étude sont donnés dans (**Tableau 8**)

Tableau 8 : Localisation et texture du sol des deux stations d'étude

Plante	Mois de récolte	Station	Texture du Sol	Latitude	Longitude	Altitude(m) par rapport au niveau de la mer
<i>Thymus vulgaris</i> L.	JUIN 2020	Si el mahjoub (Médéa)	Argilo-lamineux	36,61	2,19	26m
<i>Thymus ciliatus</i> L.	Avril 2021	El Mawan (Sétif)	-	-	-	-

La récolte a été faite après le lever du soleil. Lors des prélèvements des échantillons, les pieds les plus sains, exempts de traces d'insectes ou de mollusques sont retenus. Les parties

Malades, fanées et abimées sont retirées. Le matériel végétal utilisé dans cette étude c'est des feuilles des tiges et des fleurs des deux espèces (**Figure 8, 9**)



Figure II 8 poudre de Thym



Figure II 9 *Thymus vulgaris* sèche

II.3 Choix des méthodes d'extraction des huiles essentielles

II.3.1 Extraction des huiles essentielles

Plusieurs techniques d'extraction des HE et des principes aromatiques végétaux sont à ce jour connues, mais seulement deux sont admises par les normes AFNOR et ISO :

- Distillation (entraînement à la vapeur et hydro-distillation)
- L'expression à froid

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique (**Garnero, 1991**). Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, dans cette étude la méthode étudiée : hydro distillation, pour l'extraction des huiles (*Thymus vulgaris* et *thymus ciliatus*) L'extraction d'huile essentielle a été réalisée au niveau de l'entreprise privée d'extraction des HE et HV marque «Bio lera » BLIDA type d'extraction Clevenger (**Figure II . 10**)

II.3.1.1 Principe de la méthode

La plante contenant l'huile essentielle recherchée est immergée dans un volume d'eau, le tout, contenu dans un ballon, est porté à ébullition. En s'évaporant, l'eau entraîne es composés volatils de l'huile essentielle recherchée, les vapeurs se condensent ensuite dans le réfrigérant et s'écoulent à l'état liquide dans un récipient où elles forment le distillant.

En général, le distillant fait apparaitre deux phases non miscibles : les huiles essentielles et l'eau (**Bruneton, 1999**).

II.3.1.2 Mode opératoire de l'hydro distillation



Figure II.10 L'extraction des huiles essentielles par Clevenger.

Nous avons pris 50g de matière végétale sèche que nous avons ciselée afin de faciliter son introduction dans un ballon de 1000mL remplie de 500mL d'eau distillée. Le ballon est chauffé à l'aide d'une chauffe ballon, pendant 3 heures, ceci engendre la formation de vapeurs. Ces vapeurs s'élèvent et passent dans un réfrigérant qui est constamment refroidi.

Au contact des parois refroidies du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent à l'état liquide, goutte à goutte, dans le tube gradué de clevenger, ou elles forment de distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non mixible qui sont séparées l'une de l'autre par le robinet de clevenger(**Figure II.10**)



1 : préparation de l'installation



2 : début de l'extraction (A) et récupération de HE (*Thymus vulgaris*)(B)



3: récupération de HE (thymus vulgaris)

Les huiles essentielles obtenues sont recueillies dans un flacon à l'abri de la lumière et stockée à (4-6°C).



4 : conservation de HE de *Thymus ciliatus L* et *Thymus vulgaris L*

Figure II.11 Les étapes d'extraction des huiles essentielles

II.3.1.3 Conservation des huiles essentielles

Ce sont des produits très altérables (changements de couleur), qui s'oxydent rapidement (produit devenant acide, donc irritants hors de prise) , *ce qui modifie leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons appropriés en acier inoxydable, en verre teinté ou aluminium à l'abri de la lumière et de la chaleur. Ces flacons doivent être sèches et propres pour éviter les contaminations (**Valnet, 1983**), donc les huiles essentielles obtenus ont été récupérées dans de petits flacons, puis conservées au réfrigérateur à 4°C.

II.3.1.4 Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la matière végétale traitée. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante

Calcul du rendement :

$$R\% = M/M0 \times 100$$

- **R (%) : Rendement exprimé en %.**
- **M : Masse d'huiles essentielles récupérées.**
- **M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter**

II.3.2. Caractéristique physicochimique d'huiles essentielles

Ces analyses sont faites en conformité aux normes **A.F.N.O.R (1994)**. Nous avons déterminé quelques caractères physiques à savoir la densité, l'indice de réfraction, le la miscibilité dans l'alcool, deux indices chimiques en l'occurrence l'indice d'acide et l'indice d'ester.

II.3.2.1 Détermination des indices physiques

II.3.2.1.1 Densité

Principe : elle constitue un point de repère important, sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE (**Elenkova, 1983**)

La densité relative à 20°C d'une HE définie comme étant le rapport de la masse d'un volume d'HE à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C (AFNOR, 1982)

- Si la densité est inférieure à 0,9 ; les essences des plantes végétales sont riches en terpènes.
- Dans le cas où elle est supérieure à 1 ; les essences des plantes végétales contiennent des produits de la série aromatique ; des sulfures et des nitrites.
- Enfin si la densité est comprise entre 0,9 et 1 ; les essences ont une composition complexe.

Mode opératoire : pour déterminer la densité, nous avons évalué la masse m_0 du pycnomètre vide de 1 ml ; la masse m_1 ; du pycnomètre rempli d'eau distillée. puis la masse m_2 du pycnomètre contenant l'HE.

La densité relative est donnée par l'expression :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

II.3.2.1.2 Indice de réfraction(n_D)

Principe : l'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. la température de référence est de 20°C (AFNOR ; 1982).

Mode opératoire

Utiliser un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700 ; l'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.

II.3.2.1.3 Miscibilité à l'éthanol

Principe : la miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide pour l'évaluation de la qualité d'une HE falsifiée par des produits relativement insolubles affectant la solubilité.

Mode opératoire : une HE est dite miscible à l'éthanol 90%, quand le mélange de 1 volume d'HE avec 3V volumes d'éthanol donne une solution limpide (AFNOR, 1982)

Dans le cas contraire elle est considérée non miscible.

II.3.2.2 Détermination des indices chimiques**II.3.2.2.1 Indice d'acide(*Ia*)**

Principe : l'indice d'acide correspond à la d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1g d'HE.

Mode opératoire : l'indice d'acide est déterminé en ajoutant 0,1g d'HE à 1ml d'éthanol et 2à3 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur colorée la solution ainsi obtenue est titrée par une solution de KOH, de normalité 0,1N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose –pâle (AFNOR ,1982)

L'indice d'acide d'HE est calculé par la formule suivante :

$$IA = \frac{56,1 \cdot a \cdot f}{g}$$

IA: indice d'acide

a : volume de KOH

f : normalité de KOH

g : masse de l'échantillon (0,1g)

II.3.2.2.2 Indice de saponification(*Is*)

Principe : L'indice de saponification *Is* est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1g de substance (Pharmacopée, 1997)

Mode opération : on introduit dans un ballon en verre 2g d'HE contenant 25ml de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) (0,5mol/l). l'ensemble est placé sur une source de chaleur et relié à un réfrigérant ,puis on laisse chauffer à 100 °C pendant une heure , Ensuite , on ajoute , après refroidissement , 20ml d'eau distillé et 5gouttes de phénol phtaléine (2%)indicateur colorée et on titre l'excès de KOH avec une solution de HCL (0,5mol/l).En parallèle , on effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions et avec les mêmes réactifs .

La formule pour le calcul de cet indice est la suivante :

$$I_s = 28,5 \times (V_0 - V_1) / m$$

V₀ = volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (0,5mol/l) utilisé pour l'essai à blanc

V₁= volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (0,5 mol/l) utilisé pour la détermination de l'indice

m = masse en grammes, de la prise d'essai (2g)

II.3.2.2.3 Indice d'ester(*I_e*)

L'indice d'ester exprime en mg la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des esters présents dans 1 g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification et de l'indice d'acide (**Pharmacopée, 1999**)

La formule pour le calcul de cet indice est la suivante : $I_e = I_s - I_a$

II.3.3 Préparation des extraits

Après la récolte, les feuille, les tiges et les fleurs sont à l'ombre dans endroit sec et bien aéré, puis conservées à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à leur broyage au moment de leur utilisation.

Une fois les échantillons séchés ont été découpés et pilées dans un mortier propre puis finement broyés. La poudre obtenue est conservée à l'abri de la lumière et l'humidité dans des lacons en verre stériles hermétiquement fermés.

II.3.3.1 Extrait aqueux

selon **Ljubuncic et al., 2005**; l'extrait aqueux de 2% de notre plante est obtenu par infusion de 2g de poudre de la partie aérienne dans 100ml d'eau distillée bouillante. Une centrifugation de 1000-2000 tours/min pendant 10 minutes est réalisée pour se débarrasser des débris de plantes suivi d'une filtration sur papier filtre de type wattman N°3. Le filtrat est recueilli dans des petits flacons en verre.

A partir de la solution mère de nous avons réalisé une gamme de dilutions suivantes : 1% ; 0.8%, 0.6% et 0.4%.

II.3.3.2 Extrait méthanolique

Suivant le protocole d'extraction décrit par (**OWEN et al, 2003**) et légèrement modifié. Le matériel végétal broyé (20 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol / eau (80/20 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures sous agitation à température ambiante . La solution est ensuite filtrée avec un papier filtre de type wattman n°3. Le marc résiduel a subi une deuxième et une troisième extraction avec le même solvant. Après filtration, les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pendant 60min à une température de 60°C.

L'extrait sec est pesé pour le calcul de rendement. Ce dernier est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R \% = (PES / PE) \times 100$$

R % : rendement en pourcentage

PES : poids de l'extrait sec (g)

PE : poids de l'échantillon poudre (g)

II.3.4 Screening phytochimique

Principe : Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tannins

Totaux, les irridioïdes, les tannins galliques les tannins catéchiques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les sénosides, les quinones, les coumarines et les mucilages. Le montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires

II.3.4.1 Tanins

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à chaque extrait quelques gouttes de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) (**Diallo et al., 2004**).

II.3.4.2 Saponines

Test de la mousse : l'extrait est repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai. Le tube est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable et persistante pendant 15min, indique la présence des saponines (**Vigor et al. 2011**).

II.3.4.3 Flavonoïdes

Un mélange de quelques copeaux de Mg⁺² et de gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2ml d'extrait. L'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (**Ciulei, 1982**).

II.3.4.4 Anthocyanes

Un mélange de 5ml d'infusé avec quelques gouttes d'HCL, un test positif est révélé par une coloration rouge.

II.3.4.5 Leuco-anthocyanes

Pour détecter la présence des leuco_anthocyanes on mélange 2 g de poudre+ 20 ml de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain marie, l'apparition s'indique avec une coloration rouge.

II.3.4.6 Alcaloïdes

On mélange 5g de poudre + 50 ml d'ether : chloroforme 3/1 Filtrer après 24h puis épuiser avec du HCL

Résultat positif permettre d'avoir un précipité rouge.

II.3.4.7 Coumarines

Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'éthanol pendant 15 minutes. 5 ml du filtrat + 10 gouttes d'hydroxyde de potassium à 10 % + quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %.

Formation d'un trouble indique la présence de coumarines.

II.3.4.8 Saponosides

A 2 ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb, formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides. (Harborne et al., 1998 ; Raaman et al., 2006)

II.3.5. Caractérisation quantitative des extraits

II.3.5.1 Poly-phénols

But : la détermination de la teneur en poly-phénols totaux dans l'extrait de la partie aérienne de la plante spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de FolinCiocalteu (Singleton et al, 1999).

Principe : Ce dosage est décrit par (Skerget et al. 2005). basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro-polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro- polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu.

Mode opératoire : A 0.2 ml d'EM (avec concentrations convenables : 200µg/mL, 20µg/mL et 2µg/mL) est ajouté 0.8 mL de la solution de Na₂CO₃ (75 mg/mL dans l'eau distillée), après agitation, 1mL de la solution de FolinCiocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 760 nm contre un blanc sans extrait.

Le taux de poly-phénols totaux dans l'extrait, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=a \cdot x+b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-0,5 g/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poudre.

II.3.5.2 Flavonoïdes

But : Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait d'échantillon par La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par (Yi et al. 2007).

Mode opératoire : 1 ml de chaque concentration obtenues par dilutions de l'Eaq de (10mg/mL, 8mg/mL, 6mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL) est ajouté à 1mL de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y=a \cdot x+b$) établie par la quercétine (0-350 $\mu\text{g/ml}$), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en gramme d'équivalent de quercétine par gramme de poudre.

II.3.6. Activité anti-oxydante (in vitro)

Principe : selon (Brand-Williams et al, 1995) ; La capacité anti-oxydante peut être aussi mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité anti-oxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration (jaune) dans la solution initiale (Figure II.12).

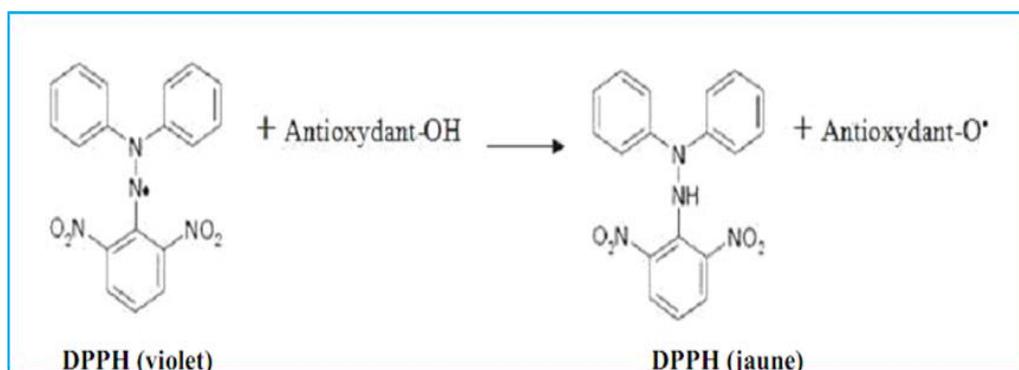


Figure II.12 Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Mode opératoire : 50 microlitres d'Eaq L à différentes concentrations (10mg/mL, 8 mg/mL, 6 mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL) est ajouté à 5 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,004%).

- 50 microlitres de EM de concentration (200µg/mL, 20 µg/mL, 2µg/mL, 0.2µ/mL, 0.02 µg/mL) est ajouté à 5 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,004%).

En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 5 ml de la solution méthanolique de DPPH.

Egalement le même test a été réalisé dans les mêmes conditions opératoires avec un antioxydant de référence : acide ascorbique.

Lecture des résultats

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 516 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante. (**Gürsoy et al, 2012**).

L'activité anti-oxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs contrôle})] \times 100.$$

I% : pourcentage d'inhibition ou d'activité anti radicalaire.

Abs contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

IC50

Ce paramètre est défini selon (**Pokorny et al.,2001**) comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité anti-oxydante

Le paramètre IC50 a été calculé à partir de la courbe de régression linéaire tracée du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux.

III.1 Rendement des huiles essentielles

III.1.1 Rendement des huiles essentielles du *Thymus ciliatus L*

Le rendement en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les résultats trouvés sont donnés par (Tableau 9)

Tableau 9 : Rendement en HE de *Thymus ciliatus L*

La partie utilisée	Date d'extraction	Lieu de récolte	Durée d'extraction	Rendement en (%)
les feuilles et les sommités	03/05/2021	Si mahdjoub Médéa	2H	0,31

Tableau 9 : révèle un rendement égal à 0,31%. Notre rendement est inférieur à celui trouvé par Ain Makhluaf (1,790%). **Guelma (2010) et Giordani et al (2008)** rapportent que le rendement des huiles essentielles des différentes espèces de thym d'Algérie y compris l'espèce *Thymus ciliatus* originaire de djebel Ansel (**W.Gulema**) varient de 2% à 3%. Selon (**Bousmaha-Marroki et al, 2007, Amarti et al, 2010 et Ghorab et al, 2013**), les rendements des HE varient selon région et la période de récolte.

III.1.2 Rendement des huiles essentielles de *Thymus vulgaris L*.

Le rendement en pourcentage des huiles essentielles du *Thymus vulgaris L*.est donné par (Tableau 10) La valeur trouvée est égal à 1.8 %.

Tableau 10 : Rendement en HE de *Thymus vulgaris L*

La partie utilisée	Date d'extraction	Lieu de récolte	Durée d'extraction	Rendement en (%)
les feuilles et les sommités	04/05/2021	EL Mawan Sétif	2H	1,8

Le rendement trouvé est supérieure à ceux de *Thymus vulgaris et Thymus satueioides* (0,05% et 1,1%) trouvés par ELOUALILALAMI (2013) et à celui trouvé (0,9%) par (**Dob et al, 2006**). Cependant il est inférieur à la valeur 2% établie .

Par ailleurs, on constate que le rendement des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* (1.08%) est supérieur à celui des huiles essentielles du *Thymus ciliatus* (0.3%). Cette différence est due probablement au chémotype de la plante, aux conditions écologiques et aux conditions climatiques (Garnero, 1975).

III.2 Caractères organoleptiques des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L et *Thymus ciliatus* L

Les caractéristiques organoleptiques des HE de deux espèces de *Thymus* obtenus par la méthode hydro distillation sont représentées dans (Tableau 11)

Tableau 11 : caractéristiques organoleptiques d'HE de *T.vulgaris* L et *T.ciliatus* L

Espèce végétale	Aspect	Couleur	Odeur/ Saveur
<i>Thymus ciliatus</i> L	Liquide limpide	jaune clair	Agréable, Piquante
<i>Thymus vulgaris</i> L	liquide	jaune foncé, Marron clair	Aromatique ; piquante fraîche

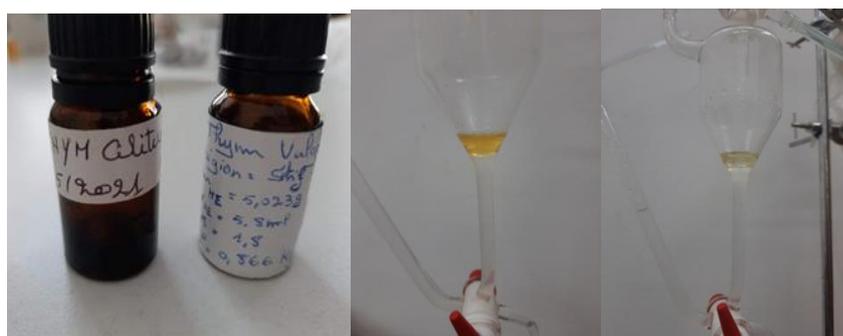


Figure III.13 HE des deux espèces de thymus étudiées (*Thymus vulgaris* L ; *Thymus ciliatus* L)

III.3 Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats des caractères physicochimiques des huiles essentielles des espèces sont consignés dans le (Tableau 12).

III.3.1 Caractères physiques

III.3.1.1 Indice de réfraction

Les indices de réfraction ont été calculés et ramenés à 20°C à l'aide d'un réfractomètre. Ils sont donnés par le (Tableau 13).

Tableau 12 : valeurs des indices de réfraction à 20°C de HE de *Thymus vulgaris L* et *Thymus ciliatus L*

Caractéristique	Indice de réfraction	(NF T 75 – 112)
HE de <i>Thymus ciliatus L</i>	1,466	[1,4830 à 1,5100]
HE de <i>Thymus vulgaris L</i>	1,502	[1,4830 à 1,5100]

Les indices trouvés des deux plantes sont compris dans les normes donnés par ISO (ISO280, 1998)

La valeur trouvée du T.ciliatus est relativement proche à celle de *Thymus longiflorus* (1,470) réalisée par HADDOUCHI *et al* (2009) et à celle trouvée (1,46à1,48) par Monnalte, (2014). Cependant elle est inférieure de la réfraction d'HE du *Thymus vulgaris* (1,499) perçu par HADDOUCHI *et al* (2009) .

En ce qui concerne l'indice de réfraction d'HE de *Thymus vulgaris* (1,502) est supérieure par rapport à la valeur de *Thymus vulgaris* retrouvé (1,46à1,48) par Monnalte (2014), et proche à celui retrouvé(1.491 à 1.510) par HADDOUCHI *et al* de l'ouest algérien, (2009) .

III.3.1.2 Densité relative

La densité d'une HE est un critère de qualité dans le domaine de la cosmétique, pharmacie, agroalimentaire etc.(AFNOR 2000). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit révélant les tentatives de fraudes et d'altération. Les valeurs obtenues des densités de nos HES rapportées dans le tableau varient de 0,836 à 0,866.

Tableau 13 : valeurs des densités des HES de *Thymus ciliatus L* et *T.vulgaris L*

Caractéristiques	la densité relative à	(NF T 75 - 111)
	20°C	
HE thymus ciliatus L	0,836	[0,894 – 0,930]
HE thymus vulgaris L	0,866	[0,894 – 0,930]

Elles sont comparables aux valeurs des normes françaises de densité du Thym (**Norme NF T 75 - 111**)

La densité d'HE *Thymus ciliatus* L(0,836) et HE *Thymus vulgaris* L(0,866) sont inférieures aux valeurs (0,9-0,955) trouvées par HADDOUCHI (2009) pour le genre *Thymus vulgaris* L, et aussi inférieure par rapport au genre *Thymus longiflorus* (0.917) découverte par HADDOUCHI (2009).

D'après ces résultats obtenus, les densités relatives sont inférieures à 0,9. Donc ces dernières sont riches en terpènes

III.3.1.3 Miscibilité à l'éthanol à 90%

La miscibilité à l'éthanol selon la norme **NF.T75-101** est déterminée dans l'éthanol pur 70-90%. Les résultats de la miscibilité sont représentés dans (**le Tableau 14**)

Tableau 14 : Résultat de la miscibilité à l'éthanol 90%

Caractéristique	Miscibilité à l'éthanol 90%	à (Norme AFNOR, 2010)
HE <i>Thymus ciliatus</i> L	1V/3V miscible	[2v/1v/ 3v/1v]
HET <i>thymus vulgaris</i> L	1V/3V miscible	[2v/1v/ 3v/1v]

Les résultats trouvés dévoilent que les solutions obtenus sont homogènes et miscibles dans l'éthanol 90 % (1V HE/3V d'éthanol).

Notre résultat est comparable à celui retrouvé (1V/3V pour *Thymus ciliatus*) par KHOLKHAL (2014), néanmoins il est supérieur à celui trouvé (0,6V/1V pour *Thymus vulgaris*) par HADDOUCHI et al (2009).

III.3.2 Caractères chimiques

III.3.2.1 Indice d'acide(Ia)

Les résultats d'indice d'acidité donnés par le Tableau.16 des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et du *Thymus ciliatus* sont respectivement 6.72 et 5.61. Ils sont supérieurs aux normes [4,1 – 5,2]. donnés par **AFNOR, 2010**.

Tableau 15 : résultats de l'indice d'acide

Caractéristiques	Ia	V KOH en (ml)	Norme AFNOR, 2010)
HE de thymus <i>ciliatus L</i>	5,61	V ₁ =0,1 V ₂ =0,2	4,1 – 5,2
HE de thymus <i>vulgaris L</i>	6,32	V ₁ =1,2 V ₂ =1,6	4,1 – 5,2

L'Ia permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage, il nous donne un aperçu sur la qualité de l'HE : plus L'Ia est bas plus HE est bonne.

L'indice de *Thymus ciliatus L* (5,61) est inférieure à celui trouvé (8.4 pour *Thymus vulgaris*) par HADDOUCHI et al (2009), toutefois il est supérieure à celui trouvé (2,580à3,415 pour *Thymus ciliatus sp coloratus*) par KHOLKHAL (2014). En ce qui concerne l'indice de *Thymus vulgaris L* (6,32) est inférieure à celui trouvé (8.4 pour *Thymus vulgaris*) par HADDOUCHI et al (2009).

III.3.2.2 Indice de saponification

Les résultats de l'indice d'saponification sont regroupés dans le Tableau

Tableau 16 : Résultats de l'indice d'saponification

Caractéristique	V _{HCL}	I _s
HE <i>Thymus ciliatus L</i>	V ₁ = 5,9 V ₂ = 3,1	80,142
HE <i>Thymus vulgarie L</i>	V ₁ = 5,1 V ₂ = 2,2	35,062

Les Indices de saponifications trouvés de *Thymus ciliatus L* (80,142) et de *Thymus vulgaris L* (35,062) sont supérieurs par rapport à ceux trouvés par plusieurs auteurs antérieurs : HADDOUCHI et al (2009), KHOLKHAL (2014).

III.3.2.3 Indice d'ester

Les résultats d'indice d'acidité donnés par le Tableau des huiles essentielles de *Thymus vulgaris L* et du *Thymus ciliatus L* sont respectivement 68,508 et 74,532. Ils sont supérieurs aux normes [49,5 – 52,55] donnés par **AFNOR**

Tableau 17 : Résultats de l'indice d'ester

Caractéristiques	<i>I_e</i>	(Norme AFNOR,2000)
HE <i>Thymus ciliatus L</i>	74,532	[49,5 – 52,55]
HE <i>Thymus vulgaris L</i>	68,508	[49,5 – 52,55]

L'IE des huiles essentielles du *Thymus ciliatus L* (74,532) et du *Thymus vulgaris L* (68,508) sont inférieurs aux valeurs (98,49 à 99,12) retrouvées dans *Thymus ciliatus* par KHOLKHAL (2014) mais sont supérieures à la valeur (16,83) avisée dans le *Thymus vulgaris L* par **HADDOUCHI et al (2009)**.

III.4 Screening phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats effectués sur les différents extraits de *Thymus vulgaris L* sont regroupés dans le **(Tableau 18)**.

L'étude complète du screening phytochimique de *Thymus vulgaris L* montre que les tanins ont donné les réactions les plus franches. Il s'agit surtout de tanins galliques, en plus elle se montre riche en flavonoïdes. Ces composés possédant diverses propriétés notamment anti-inflammatoires, antibactériennes, antiseptiques, antioxydantes et antivirales. **(Muanda, 2010)**. Toutefois, nous observons l'absence des anthocyanes et des saponosides.

Tableau 18 : Résultats du screening phytochimique de *Thymus vulgaris L* récoltée dans la région d'EL Mawan (Sétif).

Les molécules testées	Observation
Anthocyanes	Coloration rouge -
Tanins	Coloration bleue noire +++
Tanins gallique	Coloration bleue foncé ++
Tanins catéchéque	Absence de couleur -
Saponosides	Absence de mousse -
Flavonoïdes	Coloration orangé +++
Alcaloïdes	Présence d'un précipité rouge et marron +
Coumarines	Formation d'un trouble +

(+++): Franchement positive ; (++) : moyennement positive ; (+) : faiblement positive ; (-) : absence

Les résultats montrent que cette plante est d'une grande importance, elle est riche en composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes qui sont des substances reconnues pour leur propriété anti oxydantes.

Cette étude a également montré l'existence d'une réelle biodiversité moléculaire, qui confère à la plante des vertus médicinales importantes à valoriser. Parmi les métabolites secondaires mis en évidence, les flavonoïdes ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales : antioxydantes (**Granato et al. 2018**), anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antiallergiques, antiulcérogènes, et effets protecteurs vasculaires, et antimicrobiens, antitumoraux, antisécréteurs et antidiarrhétiques, hypotenseurs et aphrodisiaques. Les tanins avec leurs propriétés de former des complexes avec les protéines, présentent des propriétés antidiarrhétiques, antibactériennes et antifongiques), et renforcent les vaisseaux sanguins contribuant à l'accumulation de la vitamine C

Dans l'organisme .De plus, ces métabolites montrent une activité cicatrisante des plaies par activation du processus de cicatrisation. Les coumarines quant à elles, possèdent des propriétés anticoagulantes et antimicrobiennes.

III.5 Dosage des poly-phénols totaux et des flavonoïdes

III.5.1 Dosage des poly phénols totaux

Le dosage des poly phénols totaux est réalisé par spectrophotométrie avec le réactif de Folin Ciocalteu qui, en milieu alcalin, est réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols .

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique de type : $y = ax + b$. (**annexeII**). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans l'extrait

Les résultats du dosage des polyphénols (**Tableau 19**) montrent que l'Extrait méthanolique du *Thymus vulgaris L* contient $265.9 \pm 1.18 \mu\text{g EAG/mg}$.

La teneur en phénols totaux de notre extrait méthanolique de *Thymus* est supérieure au taux trouvé par (**Köksal et al.(2017)** et **Nieto et al.(2011)** qui ont montrés que la quantité de composés phénolique totaux dans L'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris L* est de $158.0101.4 (\mu\text{g EAG /mg d'extrait})$ et la valeur de $21.66 (\mu\text{g EAG /mg d'extrait})$ trouvée dans l'extrait chloroformique de *Thymus Satureioides* par (**Fadili et al (2015)**)

III.5.2 Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (**Figure 14**) (**Athamena et al. 2010**).

La quercétine est utilisé comme standard, il nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait chloroformique et éthanolique de la plante étudiée qui est exprimée en μg équivalent de la Quercétine (EQE) par milligramme d'extrait.

L'absorbance est lue dans une longueur d'onde de 415 nm . Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**annexe II**)

Les résultats du dosage des Flavonoïdes (**Tableau 19**) (**figure14**) montrent que l'Extrait aqueux du *Thymus vulgaris L* contient 16.11 ± 0.14 ug EQ/mg d'extrait

La teneur en flavonoïde de notre extrait aqueux est supérieure à celle obtenu par Köksal et al. 2017, qui ont trouvé une teneur en flavonoïde pour le *Thymus vulgaris L* 36.6ug EQE /mg d'extrait.

Tableau 19 : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les deux extraits de la plante *Thymus vulgaris L*

Teneur	Poly phénols (a)	Flavonoïd es (b)
Extrait aqueux	-	16.11 ± 0.14
Extrait méthanolique	265.9 ± 1.18	-

(a) ug EAG/mg d'extrait
(b) ug EQ/mg d'extrait

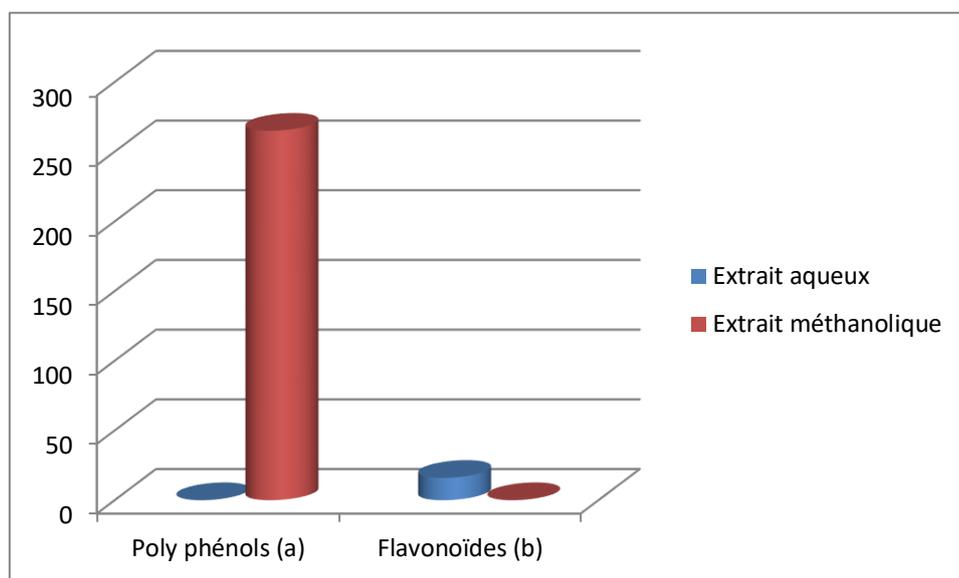


Figure 14 : Teneur en poly phénols dans l'extrait méthanolique et celui des flavonoïdes dans l'extrait aqueux.

Cette différence de teneurs en métabolismes secondaires peut être due à la méthode d'extraction, la région de récolte, ainsi que le type de solvant utilisé. En effet, (Falleh et al. 2008) ont signalé que la solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, de leur interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé. Par ailleurs, la méthode d'extraction doit permettre d'avoir une fraction complète en composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique (Dai et Mumper, 2010). La teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier les conditions climatiques, la maturité à la récolte et les conditions de stockage. Il semble que l'augmentation de la température, et l'effet des jours longs favorisent l'accumulation des poly phénols, et exercent une influence sur la qualité des principes actifs poly phénoliques synthétisés par les plantes. Le type de solvant d'extraction doit non seulement avoir une haute capacité d'extraction de biomolécules issue de la plante, mais aussi de bénéficier d'un certain taux de sécurité. L'éthanol est l'un des meilleurs solvants pour une extraction poly phénolique. D'autres auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante.

II.6. Activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris L.*

II.6.1 Détermination du pourcentage d'inhibition du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH est évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un passage de la couleur violette à la couleur jaune (Figure 18) (Besbes Hlila et al. 2017).

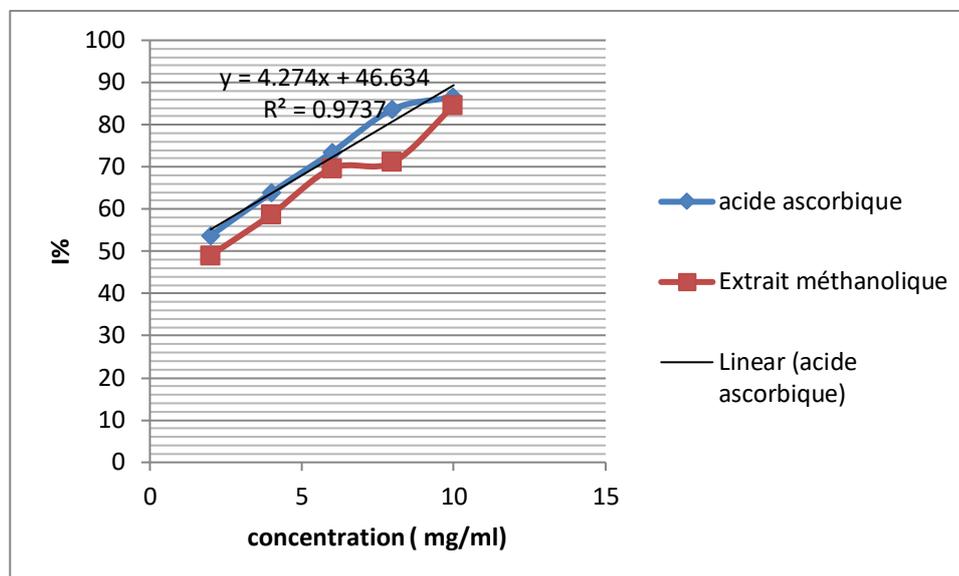
Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe du pourcentage (%) d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait (Figure 15).

Ces résultats, montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits.

Nous constatons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou l'extrait méthanolique de la plante *Thymus vulgaris L.*

On note que l'efficacité antioxydante augmente avec la concentration de l'extrait aqueux. Cependant, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait est légèrement inférieur à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées. Pour une

Concentration de 10 mg/ml, l'extrait *Thymus vulgaris L* a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 84% tandis que l'acide ascorbique est de 86,57 % (Figure 16).



I(%) : Pourcentage d'inhibition

Figure 15 : Pourcentage d'inhibition d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris L* et de l'acide ascorbique

Les résultats obtenus sont exprimés selon les valeurs d'IC₅₀ (Tableau 20) en comparaison à celle d'un standard (acide ascorbique).

La valeur d'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus

La valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée .

Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait méthanolique et de l'acide ascorbique qui permettent d'inhiber l'effet de 50% du DPPH sont rapportées dans le Tableau 23 et dans la Figure 20.

Tableau 20 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC₅₀ de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique du *Thymus vulgaris L*.

	l'extrait méthanolique	l'acide ascorbique
IC ₅₀ (mg/ml)	2	0.8

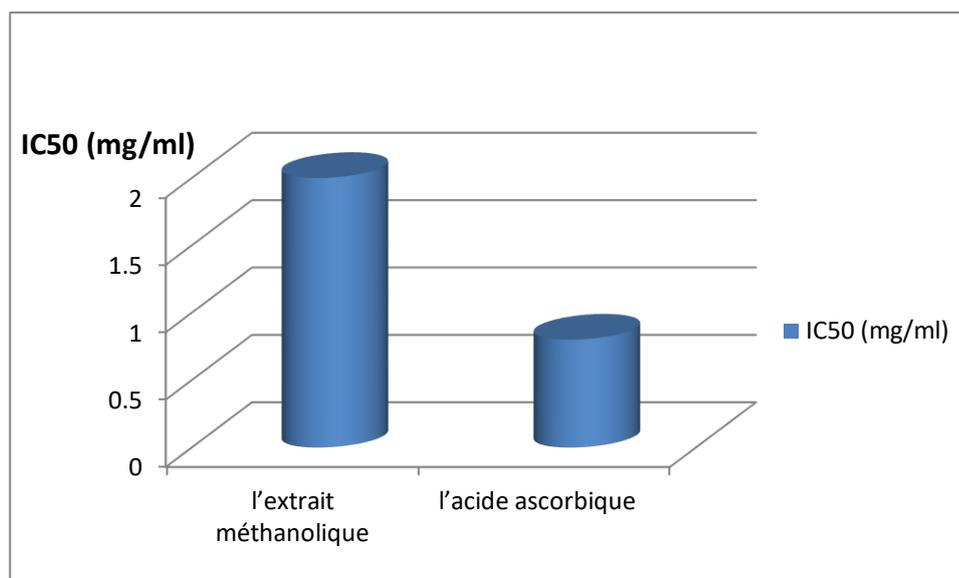


Figure 16 : IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait méthanolique de la poudre du *Thymus vulgaris L.*

L'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris L* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 2 mg/ml. Elle est légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique (0.85 mg/ml). Donc L'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris L* exhibe une activité antioxydante importante.

L'activité antioxydante élevée de l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris L* peut être le résultat des composants phénoliques mais aussi d'antioxydants non phénoliques comme sesquiterpènes, flavonoïdes ou acides chlorogéniques Selon **Shahidi et Wanasundara (1992)** les composés phénoliques sont connus comme de puissants antioxydants. Et suivant **Hanato et al (1989)** les composés phénoliques sont des constituants très importants dans les extraits et leur capacité de balayage des radicaux libres est due à leurs groupes d'hydroxyles. .

Conclusion

Notre intérêt s'est orienté aussi vers l'activité antioxydante des extraits d'espèce *Thymus vulgaris L* dans le cadre de la recherche de nouveaux antioxydants d'origine naturelle, afin d'épargner l'utilisation des antioxydants synthétiques dont certains d'entre eux peuvent être toxiques ou carcinogènes.

Les résultats que nous avons obtenus nous dévoilent le potentiel antioxydant des extraits du *Thymus vulgaris L*

Cette importante activité à la fois antimicrobienne et antioxydante est due principalement à la richesse de cette essence en thymol. Ce composé phénolique est très connu pour ses propriétés contre les agents microbiens et antioxydants.

L'ensemble de ses résultats laisse entrevoir des perspectives de la recherche de formulation à base des essences et d'extraits de *Thymus vulgaris L* à la place de certains conservateurs ou antioxydants de synthèse dans le domaine de l'industrie agroalimentaire.

L'extrait méthanolique du *Thymus vulgaris L*. pouvait ramener le radical libre stable 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec des IC50 respectives 02 mg/ml. Elle est légèrement supérieure à celle de l'acide ascorbique (0.85 mg/ml). Donc L'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris L* exhibe une activité antioxydante importante.

A

- Al-Fatimi M., Wurster M., Schröder G. and Lindequist U., 2010.** In vitro Antimicrobial, Cytotoxic and Radical Scavenging Activities and Chemical Constituents of the Endemic *Thymus laevigatus* (Vahl). *Rec. Nat. Prod* : P5
- Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier. : P13-14
- AFNOR (1994).** Association française de normalisation : détermination des caractères physiques et chimiques d'huiles essentielles, P : 31.
- AFNOR, (1982)** Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes, jus De fruits, 1ere édition. Edité par Afnor, Paris (France). P : 32.
- AFNOR (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. Paris.P :43.
- AFNOR (2010).**Huile essentielle de thym à thymol, type Espagne (*Thymus*) (*Mastichina*)(Linnaeus) . thyme containing thymol, spanish type (*Thymus zygis* (loefl) (Indice de classement : T75-349 .
- Athamena et al. (2010).** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. Lebanese Science Journal.P :48.

B

- Bakkali et al (2008), Tajkarimi et al (2010)** Étude de l'activité biologique de quelques espèces végétales dans la région des Aurès et au nord du Sahara algérien : P1
- Bruneton,J,1999** ,Pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales 3^{ème} Ed techniques et documentations ,paris :p15
- Bhashara M V, Angrers P, Gossin A, Paul J, 1998.** Characterization of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and stolonifier in strawberry fruits.Phytochemistry. P18
- Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006)** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès Intrntional de biochimies, Agadir. :p15-16

Besbes Hila et al. (2017). SensoMineR dans Evaluation sensorielle – Manuel, P :
Méthodologique, 3ème éd. Lavoisier.P: 50.

Brand-Williams et al, (1995),"Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity."
LWT - Food Science and Technology. p : 38.

Bruneton, J, (1999), Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec
& Doc. Lavoisier, Paris,

C

Carl von Linné en 1753.vétérinaire Homéopathe Normandie p11

Catherine Conan , 2021 Le thym, un aromate très présent dans la cuisine française. P22

Ceylan E. & Fung D.Y.C. (2004). Antimicrobial activity of spices. J. Rapid Methods
Automat. Microbiol : P1

**Costa, DC, Costa, HS, Albuquerque, TG, Ramos, F., Castilho, MC et Sanches-Silva,
A. (2015).** Progrès dans l'analyse des composés phénoliques des plantes aromatiques et de
leurs applications potentielles. Trends in Food Science & Technology,
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.:P9>

Ciulei, (1982). Etude comparative de l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces
de *Thymus* originaires du sud- ouest marocain. Phytothérapie,

D

Delachaux, Niestlé, 2013. 500 plantes comestibles « histoires botanique alimentation P :14

Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C. Studies on the essential oil
composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. Int J Aromather.
2006 : P6

Dugas A. J. Jr., Castaneda-Acosta J., Bonin G.C., Price K.L., Fischer N.H., 2000
Nikolaus ., G.W. Winston, J. Nat. Prod.

Dupont F. et Guignard J.-L., 2012. Botanique. Les familles de plantes. Elsevier-Masson,
15^{ème} édition. [Donne un panorama très actualisé de la nouvelle classification) : P3

Dai et Mumper, (2010). Phénoliques végétales : extraction, analyse et leurs propriétés
oxydantes et anticancéreuses. Molécules, <https://doi.org/10.3390 / molécules15107313.P> : P :
50.

Dob et al, (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of
Thymus algeriensis Boiss. et Reut. Int J Aromather. P: 41.

Diallo et al., (2004).Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana*
Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali.
Comptes Rendus Chimie, P

E

Embuscado, M. E. (2015) Herbs and spices as antioxidants for food preservation.

in Handbook of antioxidants for food preservation. Elsevier : P1

Elenkova, (1983), Elenkova N, 1983. Chimie analytique et methodes physiques d'analyse.Ed.Technika sofia.Bulgarie.evaluation protocoles : foods quality or health effects. Food Research and Technology. P : 31.

F

Faiza, 2007.Extraction del' huile essentielle de thym ; thymus numidicus :p17

Farràs M, Arranz S, Carrión S, Subirana I, Muñoz-Aguayo D, Blanchart G, Kool M, Solà R, Motilva MJ, Escolà-Gil JC, Rubió L, Fernández-Castillejo S, Pedret A, Estruch R, Covas MI, Fitó M, Hernáez Á, Castañer O. A Functional Virgin Olive Oil Enriched with Olive Oil and Thyme Phenolic Compounds Improves the Expression of Cholesterol Efflux-Related Genes: A Randomized, Crossover, Controlled Trial. Nutrients. 2019 : P2

Fellah S., Romdhane M., Abderraba A.(2006). J.Soc.Alger.Chim.,: P3

Falleh et al. (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies. P : 50.

Fadili et al, (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : *Rosmarinus officinalis* et *Thymus satureioides*. International Journal of Innovation and Scientific Research.P:48.

G

Gürsoy et al, (2012). Selfemulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. Biomedicine & Pharmacotherapy, P : 39.

GuBousmaha-Marroki et al, 2007, Amarti et al, 2010 et Ghorab et al, 2013), elma (2010) et Giordani et al (2008), Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia.P : 41.

Garnero, 1975). Huiles essentielles. Dossier : Base documentaire : Constantes physicochimiques.P :42.

Granato et al. (2018), Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation, Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France.P :4

H

HARAGUCHI H., SAITO T., ISHIKAWA H., DATE H., KATAOKA S., TAMURA Y., & MIZUTANI K. (1996). Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta medica*, P:19

Hayaloglu, A. and Farkye, N.(2011) Cheese with Added Herbs, Spices and Condiments.

Encyclopedia of Dairy Sci : P1

Hanato et al (1989) Antibacterial activity of *Thymus capitatus* and *Thymus algeriensis* essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *Journal of Food Safety*.P:52.

HADDOUCHI et al (2009), KHOLKHAL (2014). Medicinal and functional values of *thyme (Thymus vulgaris L.)* Herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*.P :45.

Harborne et al. (1998) ; Raaman et al. (2006), Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. P : 37.

I

Iserin P. (2001) Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres : P10

ISO280, (1998), Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *Elaeoselinum asclepium(l.) bertol et Margotia gummifera* (desf.) *lange*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas. Sétif.P :43.

K

Kazuyasu, S.; Kazuki, K.; Hitoshi, A; Gen-ichi, D. J. Agric. (1995) & Food Chem. P8

Kosaka K., Miyazaki H., Ito H., Osanai Y., Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 2000 Patent written in Japanese. Application: P8

L

Loziene, K.; Venskutonis, P. R.; Sipailiene, A.; Labokas J (2007) Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides L.* chemotypes.

Food Chemistry.: P7

Li et al. 2013 et Zhang et al. (2014). Essential oils as reagents in Green Chemistry. Springer, Cham. Heidelberg (Ed.). New York.P:49.

Ljubuncic et al. (2005), Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, P : 35.

M

Mariana A,Rabeiro-Santos,M.Conceição Costa Bonito,Margarida Saraiva ,Ana Sanches-Silva,2018 Composition nutritionnelle du thym séché et frais (*Thymus vulgare* L.) selon la base de données nutritionnelle de l'USDA :p20

Mahdavi A,Moradi P,Mastinu A.(2020) Variation in Terpene profiles of *thymus vulgaris* in water deficit stress response . *molecules.*: P8

Mebarki N (2010). Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes : P7

Miller RE, Mc Conville MJ, Woodrow IE. (2006).*Phytochemistry* : P3

Messaili B. 1995. Botanique, systématique des spermaphytes. OPU (Ed). Alger : P5

Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. 2004. Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris : P5

Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: the genus Thymus* : p11

Muanda, (2010). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*.P :46

N

Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A. (2005).*Iranian Journal of Pharmaceutical Research* : P3-P6

Nateqi M, Mirghazanfari SM (2018) . Determination of total phenolic content, antioxidant activity and antifungal effects of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on growth of *Fusarium solani*. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. : P2

Nickavar, B.; Mojab, F.; Dolat-Abadi, R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food. Chem.* 2005 : P6

Nieto, G., Ros, G., and Castillo, J. (2018) Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *J. Medicines* :P1

NF ISO 279 (mars 1999) Huiles essentielles – Détermination de la densité relative à 20 degrés Celsius –Méthode de référence. Essential oils. Determination of relative density at 20 degrees Celsius. Reference method. (Indice de classement : T75-111) : P13

Norme NF T 75 - 111), *Thymus* essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie.P :44.

Norme AFNOR, (2010), Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxydant and anticancer propreties. Molecules

O

Oraon, L., Jana, A., Prajapati, P., and Suvera, P. (2017) Application of Herbs in

Functional Dairy Products – A Review. J. Dairy Vet. Anim Res : P1

OWEN et al,R Haubner, WE Hull, G Erben, B Spiegelhalder, H Bartsch, B Haber. 2003. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compound. International Congress Series. P : 35.

“Isolation and Structure Elucidation of the Major Individual Polyphenols in Carob Fibre.”
Food and Chemical Toxicology. P : 35.

Q

Quezel P., Santa S, 1962, Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris P18

Quezel P., et Santa S. Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. 1963 : P3

P

Poletti A, 1988. Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. Delachaux&Nistlé S.

A. Suisse : P 12

Pharmacopée, (1997), Evaluation d’activité anti-inflammatoire du *Carthamus caeruleus* L « Etude in vivo –chez les souris NMRI », DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MéMoire de fin d’études, Pour l’obtention du diplôme de Master en biologie Spécialité : Pharmaco-Toxicologie. P : 33.

Pharmacopée, (1999). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies P : 34.

Pokorny et al. (2001), Etude chimique et biologique des extraits de la plante halophyte *Halocnemeum strobilaceum* (pall) bieb. Journal of Bioresources Valorization ,P :40.

R

Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordan, M.J., (2008).Food Control. 19: 681-687.érêt agricole et condimentaire (*Angelica archangelica* L, *Carum carvi* L, : P3

S

Shahidi et Wanasundara (1992), Etude Photochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *eucliatus*. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.P ; 51.

Singleton et al, (1999). Singleton V.L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent.Method.Enzymol.P : 37.

Skerget et al. (2005). Phenols,proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food. P : 37

T

Tanaka H.,(2003) (Narisu Cosmetic Co., Ltd., Japan). Jpn. Kokai Tokkyo Koho., Division of Jpn. Kokai Tokkyo Koho Appl. No. : P8

Thomson(2001)PDR, PDR for Nutritional Supplements, US ; P23

TOUHAMI Aich, 2017 Etude chimique et microbiologique des composants des huilesessentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement

V

Vidal, 2010 Guide des plantes qui soignent : P9

Vidal , 2021 L'intelligence médicinales au service du soin : P9

Valnet, (1983), Aromatherapie, traitement des maladies par les essences de plantes. Ed. Maloïne, Paris. P : 31.

Vigor et al., (2011). La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole. P : 36.

Y

Références bibliographiques

Yi et al., (2007). The effects of *Thymus daenensis* extract on maintenance and growth of yogurt starter bacteria. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.P :38.

Z

Zhang, H., Wu, J., and Guo, X. (2016) Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. Food Sci. and Human Wellness : P:1

ANNEXES

ANNEXE I

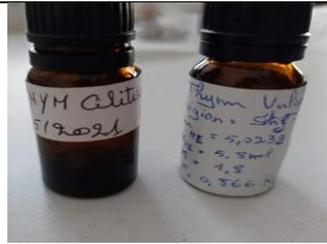
Matériel non biologique

Hydro-distillation

Matériel



Bain Marien



Flacon de
récupération(Opaque)



Appareil de hydro
distillation : (Chauffe
ballon /Réfrigérant)

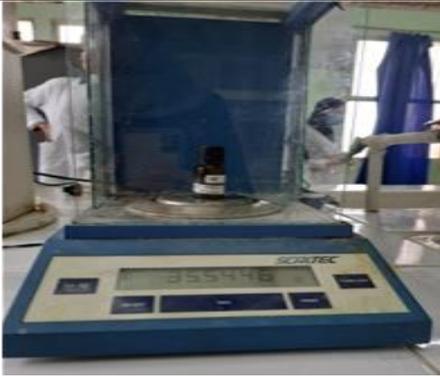


Ballon de 1000mL

Les analyses physico-chimiques

Densité relative

Matériel



Balance



Pycnomètre de 10ml

Indice de réfraction

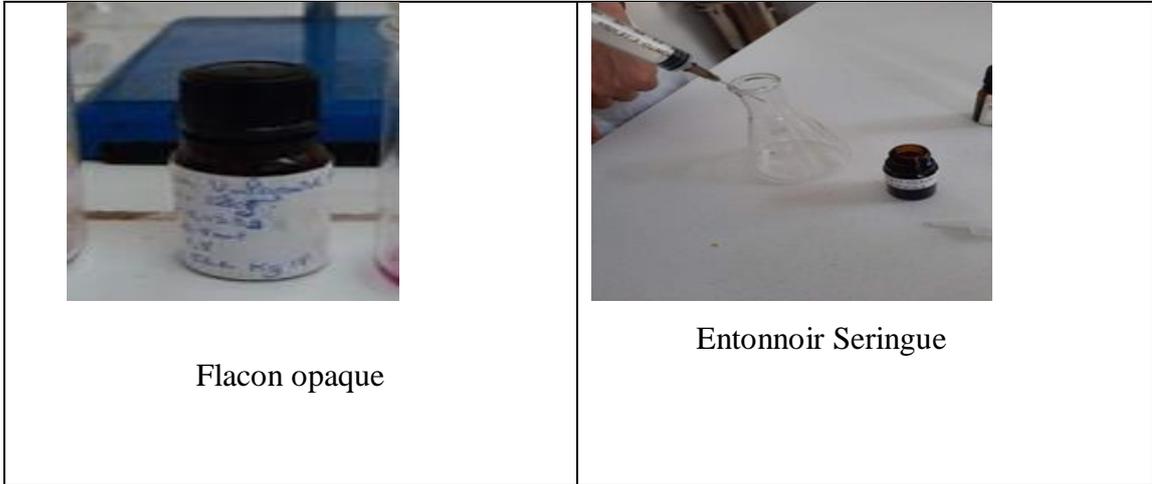
Matériel



Réfractomètre

Miscibilité à l'éthanol

Matériel

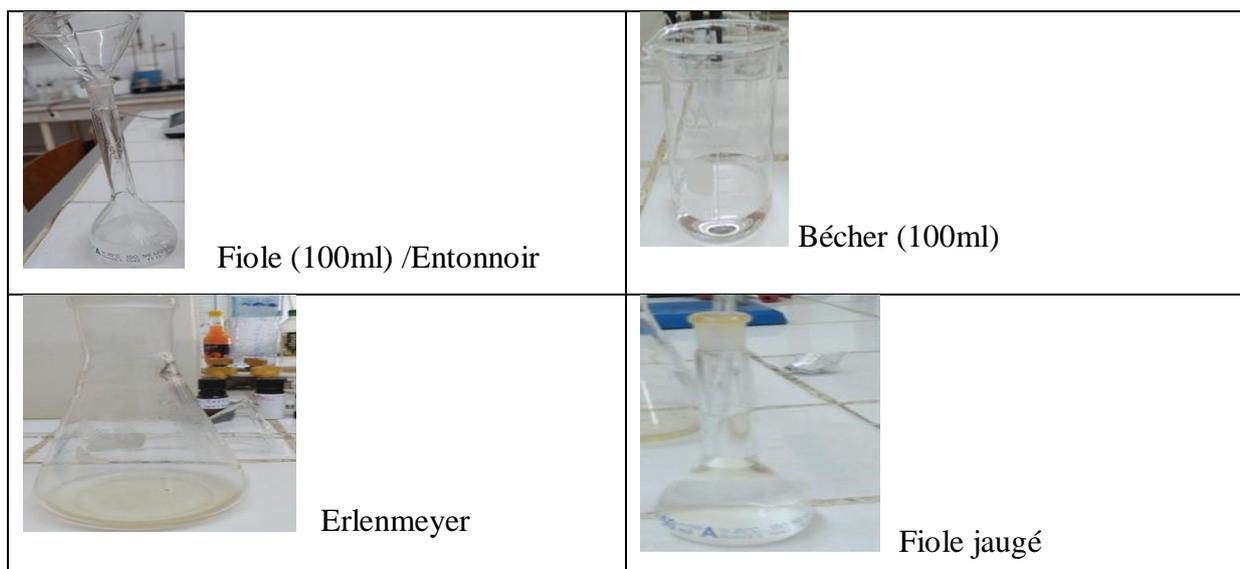


Réactif

- Éthanol à 90%

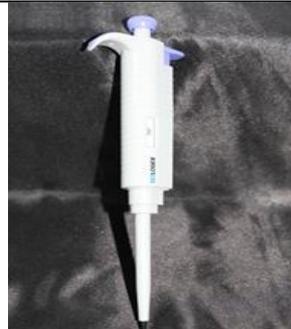
Indice d'acide (Ia)

Matériel





Balance



Micropipette (0,5 μ m)



Burette

Réactifs

- Phénolphtaléine
- Hydroxy de potassium KOH (0,1M)
- Alcool

Indice de saponification (Is)

Matériel

- Balance
- Réfrigérant à reflux
- Bain marie
- Verreries
- Bécher (100ml)
- Burette
- Fiole (100ml)
- Entonnoir
- Erlenmeyer

- Eprouvette
- Pipette (2ml)

Réactifs

- Phénolphtaléine
- Hydroxy de potassium KOH (0,5M)
- Acide chlorhydrique HCL (0,5M)
- Alcool

ANNEXE II

Etude phytochimie

- Matériel pour Broyée
- Papier filtre (**type wattmen**)
- Microscope
- Verrerie
- Flacon verre
- Tube au verre de 15à30ml
- Tube à essai
- Béchar

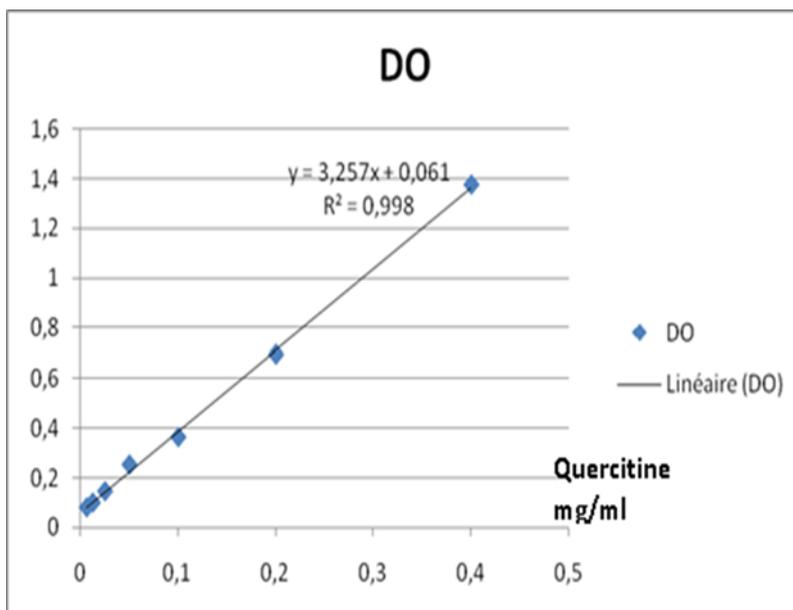
La solution

- Éther de pétrole
- Chlorure ferrique (FeCl₃)
- NaOH/ Mag/ Hcl
- D'anhydride acétique
- Acide sulfurique
- Fehling
- 20ml de propanol
- Acide chlorhydrique
- Chloroforme
- Sulfate de sodium anhydre
- A manique diluée

- Éthanol absolu
- Acide sulfurique (H_2SO_4)
- D'acétate de plomb
- Poly-phénol
- Na_2CO_3
- Hydroxydes / polymérique d'ions phénolates
- Folincicalteu
- Oxyde les phénols en ions phénolates
- Hétéro- polyacide
- Acide gallique
- AlCl_3 (trichlorure d'aluminium)
- Eau

Radical

- 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH)
- EM
- Solution méthanolique de DPPH



Dosage des polyphénols et flavonoïdes

