

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahleb Blida-1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biotechnologies

Mémoire de la fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Production végétale



Sous le thème :

Etude phytochimique de Thymus fontanesii de la région de Blida
Etude phytochimique de Thymus fontanesii de la région de Blida

Date de soutenance : 08-09-2020

Présenté par :

- **KRELOUF MANEL**
- **SOUAGUI SARA**

Devant le jury :

M^{me} BENREBIHA FZ.	Professeur	Université Blida-1	Présidente
M^{me} BOUCHNAK F.	MCA	Université Blida-1	Examinatrice
M^{me} MOUAS A.	MCB	Université Blida-1	Promotrice
M^{me} SAIDOUNE S.	Doctorante	Université Blida-1	Co-Promotrice

Promotion : 2019-2020

Remerciements

Avant tout propos, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous donnée la santé, la capacité, la force, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et de pouvoir réaliser à ce mémoire.

Nous tenons à examiner nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :

Nous tenons à gratifier **M^{me} Benrebiha** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à **M^{me} Bouchnak** pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Nous remercions également notre promotrice **M^{me} Mouas Amina** et notre Co-promotrice **M^{me} Saidoune Selma** pour leur encadrement, orientation et pour la confiance qu'elles nous ont témoignée tout au long de ce travail.

Mes plus profonds remerciements vont à **ma mere Fatma Saadaoui** tout au long de mon cursus, elle a toujours soutenu, encouragée et aidée. Elle a su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'elle trouve, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de ses efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

Nous tenons à remercier nos familles pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche, qu'ils trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Merci enfin, à la lecture qui, par essence, justifie la rédaction de ce document.

MANEL & SARA

Dédicace

Mes remerciements vont tout d'abord au bon **DIEU** pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.

Je dédie ce modeste travail :

Aux personnes les plus chères au monde : **Ma mère FATMA SAADAOU**I qui est la lumière de mes yeux. Pour votre amour, votre affection, votre soutien constant, et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici.

À ma chère sœur : **SAMIA**

À mon grand-père **SIDOU MOUSSA**

À toute ma famille

À mes chères tantes, oncles, cousins et cousines

À mes très chères et proches amies : **SELMA, IMENE, ASMAA, AMEL, AMINA, CYLIA, ISRAA, FATIMA, NESRINE, MALEK et SIFOO**

Pour votre fidèle amitié et leur et les bons moments passés ensemble tout au long leur modestie, leur générosité et leur encouragement.

À mon binôme : **SARAH**

À toute personne qui me connaît

MANEL

Dédicace

**A la mémoire de mon père et mon beau père*

**A ma chère maman*

**A mon cher mari et mon adorable fille*

**A mon cher frère et sœurs*

** A ma famille et belle famille et tous mes amis*

Je dédie ce modeste travail.

SARA SOUAGUI

Résumé

Il est bien connu que les espèces *Thymus* sont riches en huiles essentielles et elles sont caractérisées par une variabilité remarquable dans la morphologie et dans la composition chimique des huiles essentielles

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, nous avons résumé trois études sur *Thymus fontanesii* Boiss et Reut qui est une espèce de thym endémique algéro-tunisienne.

L'huile essentielle a été extraite par procédé d'hydrodistillation donnant des rendements différents pour chaque étude. La composition chimique de l'huile essentielle a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Mots-clés :

Thymus fontanesii Boiss et Reut, composition chimique, GC-MS

Abstract

It is well known that the *Thymus* species are rich in essential oils and they are characterized by remarkable variability in the morphology and in the chemical composition of essential oils. In the context of the valorization of medicinal plants, we have summarized three studies on *Thymus fontanesii* Boiss and Reut which is a species of endemic Algero-tunisian thyme.

The essential oil was extracted by hydrodistillation process giving different yields for each study. The chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry.

Keywords:

Thymus fontanesii Boiss and Reut, chemical composition, GC-MS.

المخلص

من المعروف أن أنواع التيموس "أي الزعتر" غنية بالزيوت الأساسية وتتميز بتباين ملحوظ في مورفولوجيا والتكوين الكيميائي للزيوت الأساسية..

وكجزء من تقييم النباتات الطبية، أوجز ثلاث دراسات عن تيموس فونتانيسي ، وهما نوع من الزعتر التونسي-الجزائري المتوطن.

وقد تم استخراج النفط الأساسي من خلال عملية التقطير المائي التي تعطي عائداً مراعية لكل دراسة وقد حدد

التركيب الكيميائي للزيت الأساسي بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بقياس الطيف الكتلي.

الكلمات المفتاحية :

GC-MS تيموس فونتانيسي (زعتر الجبل)، التركيبة الكيميائية،

Liste des abréviations

T.fontanesii : *Thymus fontanesii*

AFNOR : Agence Française de Normalisation

PAM : Plantes aromatiques et médicinales

PNC : Parc National de Chréa

CPG : La chromatographie en phase gazeuse

SM : Spectrométrie de masse

CPG/SM : Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse

GSC : Chromatographie gaz-solide

GLC : Chromatographie gaz-liquide

HE (s) : Huile essentielle (s)

HD : Hydrodistillation

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

M_H : Masse humide de la matière végétale

M_S : Quantité de la matière sèche

M_{HE} : Quantité d'extrait récupérée

PCR : Polymérase Chain Réaction

INA : Institut Nationale d'Agronomie

DO : densité optique

EVE : Entraînement à la vapeur d'eau

IP : Irritation primaire

TBE : Tampon Tris Borate

IR : Indice de Rétention

N : Azote

P : phosphore

PH : Potentiel d'hydrogène

UI : Unité internationale

UV : Ultra-violet

α : Alpha

β : beta

γ : gamma

$^{\circ}\text{C}$: degré Celsius

% : pourcentage

m : mètre

h : heure

g : gramme

kg : Kilogramme

ml : millilitre

nm : nanomètre

mm : millimètre

μg : microgramme

μl : microlitre

μm : micromètre

Liste des figures

- Figure-1** : Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles
- Figure-2** : structure de la molécule d'isoprène
- Figure-3** : Structure de quelques composés des huiles essentielles
- Figure-4** : Mécanisme d'action de carvacrol sur la membrane cellulaire
- Figure-5** : Appareil CPG
- Figure-6** : Aspect morphologique de la plante du *Thymus*
- Figure-7** : *Thymus fontanesii* Boiss et Reut
- Figure-8** : *Thymus fontanesii*
- Figure-9** : Distribution du genre thymus dans le monde
- Figure-10** : Localisation sur la carte d'Algérie
- Figure-11** : Carte de situation du Parc National de Chréa
- Figure-12** : National de Chréa
- Figure-13** : Carte de végétation du parc National de Chréa
- Figure-14** : Parc National de Chréa-El Hamdania
- Figure-15** : *Thymus fontanesii*
- Figure-16** : matage d'hydrodistillation
- Figure-17** : Système de distillation par entrainement à la vapeur
- Figure 18** : Chromatogramme en CPG-FID sur colonne DB-5 de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*
- Figure 19**: Proportion des trois composés majoritaires de l'huile essentielle extraite de *Thymus fantanesii*

Liste des tableaux

Tableau -1 : Composés chimiques du genre *Thymus*

Tableau-2 : Localisation des principales espèces du thym en Algérie

Tableau-3 : Superficies en hectares et en pourcentages des différentes communes comprises dans le parc national de **Chr a**.

Tableau-4 : Les paramètres organoleptiques de norme **AFNOR**

Tableau-5 : Composés chimiques identifiés dans l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*
Boiss et Reut

Tableau-6 : Indices physiques et chimiques de l'huile essentielle fraîchement extraite de *Thymus fontanesii*

Tableau-7 : Les résultats des analyses physico-chimiques

Tableau-8 : Composition chimique de l'HE de *Thymus fontanesii*

Table Des Matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Introduction générale1

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles et Thymus

I.1 Généralités sur les plantes médicinales4

I.2 Généralités sur les huiles essentielles5

I.2.1 Définition5

I.2.2 Concepts généraux5

I.2.3 Localisation des huiles essentielles7

I.2.3.1 Localisation dans les plantes8

I.2.4 Chimie des huiles essentielles9

I.2.4.1 Composition chimique des huiles essentielles9

I.2.5 Mode d'action des huiles essentielles12

I.2.6 Facteurs influençant la composition et le rendement des huiles essentielles13

I.2.7 Les caractères physico-chimiques des huiles essentielles13

I.2.8	Préparation des huiles essentielles	14
I.2.9	Procédés d'extraction des huiles essentielles	14
I.2.9.1	Distillation	15
I.2.9.2	L'entraînement à la vapeur d'eau	16
I.2.9.3	Extraction des produits actifs	16
I.2.9.4	L'extraction par solvant organique	16
I.2.9.5	L'expression	16
I.2.9.6	L'enfleurage	16
I.2.9.7	L'extraction au CO₂ supercritique	17
I.2.9.8	La distillation fractionnée	17
I.2.10	Analyse des huiles essentielles	17
I.2.10.1	Chromatographie en phase gazeuse	17
I.2.10.2	Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse	18
I.2.11	Les activités des huiles essentielles	18
I.2.11.1	Industrie alimentaire	19
I.2.11.2	Désinfection des locaux	19
I.2.11.3	Activités pharmacologiques	19
I.2.11.4	Activité acaricide	20
I.2.11.5	Activité antifongique	20
I.2.11.6	Activité anti-inflammatoire	20
I.2.11.7	Activité insecticide	21
I.2.12	Les rôles des huiles essentielles	21
I.2.12.1	Rôle physiologique	21

I.2.13	Toxicité des huiles essentielles	22
I.3	La famille des Lamiacées	23
I.3.1	Présentation de la famille des Lamiacées	23
I.3.2	Position systématique et caractères botaniques de la famille	24
I.4	Le Thym	24
I.4.1	Historique	24
I.4.2	Description botanique	25
I.4.3	Les propriétés du <i>Thym</i>	26
I.4.4	Composition chimique de <i>thymus</i>	27
I.4.5	Principe actifs du <i>Thym</i>	28
I.4.6	<i>Thymus fontanesii</i>	28
I.4.6.1	Description de <i>Thymus fontanesii Boiss et Reut</i>	30
I.4.6.2	Composition chimique de <i>thymus fontanesii</i>	30
I.4.6.3	Extraction de l'huile essentielle du <i>Thymus fontanesii</i>	31
I.4.7	Classification	31
I.4.8	Nomenclature vernaculaire et commune.....	31
I.4.8.1	Noms vernaculaires	31
I.4.8.2	Nom scientifique	31
I.4.9	Répartition géographique	32
I.4.9.1	Dans le monde	32
I.4.9.2	En Algérie	33
I.4.10	Localisation des principales espèces de thym en Algérie	33
I.4.11	Huile essentielle de thym	35

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE II : Matériel et méthode

II. Matériel et methode	36
II.1 Objectif de travail	36
II.2 Présentation de la zone d'étude	36
II.2.1 Présentation du Parc National de Chréa	36
II.2.2 Situation géographique d'E-Hamdania.....	39
II.3 Matériel chimique	39
II.3.1 Analyse des constituants chimiques	40
II.4 Matériel biologique	40
II.4.1 Matériel végétale	40
II.4.2 Description botanique	40
II.5 Récolte et séchage	41
II.6 Obtention des huiles essentielles	41
II.6.1 Extraction de l'huile essentielle	41
II.6.2 Hydrodistillation	41
II.6.3 Entraînement à la vapeur d'eau	42
II.6.4 Extraction liquide-liquide	43
II.7 Analyse Chromatographique	43
II.7.1 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse	44
II.7.2 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à spectrométrie de masse	44
II.8 Identification et constituants	45

II.13	Paramètre organoleptique des huiles essentielles	45
II.10	Détermination de la matière sèche	46
II.11	Calcul de rendement;	46

CHAPITRE III: Résultats et Discussion

III.1	Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes algériennes, Huiles essentielles ; <i>Thymus fontanesii</i> Boiss & Reut par DOB Tahar (la montagne EL-Hawasse près de la ville de Djelfa)	47
III.1.1	Résultats et discussion	47
III.2	Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> Boiss & Reut faite par Farah HADDOUCHI et al (aux environ de Mostaganem)	51
III.2.1	Matériel végétale utilisé	51
III.2.2	Extraction de l'huile essentielle du <i>Thymus fontanesii</i>	51
III.2.3	Analyse physicochimique de l'huile essentielle du <i>Thymus fontanesii</i>	51
III.2.4.	Résultats et discussion	51
III.2.4.1	Teneur et propriétés organoleptiques	51
III.2.4.2	Indices physiques et chimiques	52
III.3	Étude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Élaboration d'une forme pharmaceutique. Faite par Lilia MOUHI (les montagnes de Médéa)	53
III.3.1	Matériel végétal	53
III.3.2	Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	53
III.3.3	Extraction des huiles essentielles de <i>Thymus fontanesii</i>	53

III.3.4	Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	53
III.3.5	Résultats et discussion	54
III.3.5.1	Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques	54
III.3.5.2	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	54
	CONCLUSION	58
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Introduction

Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les plantes médicinales et huiles essentielles et Thymus

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Chapitre III

Résultats et Discussion

Références Bibliographiques

Conclusion

L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisées pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinés essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiène et la formulation des arômes. Leurs propriétés, dues notamment à la fraction huile essentielle, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques.

La demande en huiles essentielles évolue année après année pour plusieurs raisons : une demande croissante de la part des consommateurs de produits naturels ; la croissance continue des différents marchés et enfin, l'impossibilité de substituer certaines huiles essentielles par des produits de synthèse. **(Beloufa, 2018).**

Le secteur des plantes aromatiques et médicinales (**PAM**) et des huiles essentielles en Algérie, est un secteur totalement vierge et qui n'arrive pas à s'organiser. La situation géographique exceptionnelle de l'Algérie permet une très grande richesse de la flore, bordée par la mer Méditerranée au nord, elle est caractérisée par une très grande variation de reliefs et de climats ; depuis le tell au nord, les hauts plateaux pour arriver aux dunes de sables du Sahara situées dans le sud. Beaucoup d'espèces végétales que l'on trouve en Algérie, contiennent des substances actives qui ont des propriétés médicinales qui sont très recherchées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et l'aromathérapie. **(Beloufa, 2018).**

La diversité de l'Algérie en climats et sols lui donne une place privilégiée pour la culture et l'exploitation des plantes. Un très grand nombre de ces espèces poussent à l'état naturel et endémique, certaines se révèlent d'une grande valeur agronomique, car elles sont utilisées comme fourrage pour bétail et sous forme de plantes alimentaires, d'autres ont une application médicinale **(Amrani et al, 2006).**

Thymus (Lamiacées) est un grand genre, comprenant environ **350** espèces de plantes et d'arbustes, vivaces, aromatiques, principalement trouvés dans la région méditerranéenne,

l'Asie, l'Europe du sud et l'Afrique du nord. Ce genre est représenté par **11** espèces dans la flore Algérienne. Elle est connue localement « *Zaatar* », il est largement utilisé en Algérie à cause de ses propriétés biologiques et pharmacologiques. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fleurs de *Thym* sont utilisées comme tisanes, antiseptiques, antitussifs et carminatives ainsi que dans le traitement de rhume. (**L.Sidali, M.Brada, M-L Fauconnier et T.Kenne, 2005**).

En Algérie, ce genre regroupe **12** espèces qui sont : *Thymus capitatus* (**L.**) **Hoffm** et **Link.**, *Thymus fontanesii* **Boiss et Reut.**, *Thymus commutatus* (**Bali.**) **Batt.**, *Thymus dreatensis* **Batt.**, *Thymus numidicus* **Poiret** ., *Thymus guyonii* de **Noé**, *Thymus lanceolatus* **Desf.**, *Thymus pallidus* **Coss.**, *Thymus glandulosus* **Lag.**, *Thymus hirtus* **Willd.**, *Thymus algeriensis* **Boiss et Reut.**, *Thymus ciliatus* **Desf** qui regroupe **3** sous-espèces qui sont : eu- *ciliatus* **Maire**, *coloratus* (**Boiss. et Reut**) **Batt** et *munbyanus* (**Boiss. et Reut.**) **Batt.** (**Quezel et Santa, 1963**).

Il est établi que la systématique des espèces du genre *Thymus* reste difficile en raison de l'hybridation interspécifique, la polyploidie et les similitudes morphologiques parmi les espèces (**Morales, 1996**).

A cet effet , et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne , on s'est intéressé aux espèces de la famille des « *Lamiacées* » qui est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien . La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce de thym (*thymus fontanesii*) provenant de la région de **BLIDA** ; bien que relativement abondante et largement utilisée, cette espèce a été peu étudiée. (**Mebarki, 2010**).

Dans ce travail, on étudie la composition phytochimique d'huile essentielle (extrait) d'une plante cultivée « *Thymus fontanesii* » dans la région **BLIDA (PNC)**.

Nous avons organisé notre travail en trois chapitres :

1. **Dans le premier chapitre**, nous avons effectué dans un premier temps, une recherche bibliographique portant sur les plantes médicinales les huiles essentielles, leurs modes d'identification et une recherche sur leurs activités. Dans un deuxième temps, nous sommes intéressées à une étude bibliographique sur l'espèce et sa famille et sa composition chimiques de ces huiles essentielles.
2. **Le deuxième chapitre**, il représente les matériels et méthodes de notre travail.
3. **Le troisième chapitre**, On discute et résulte des discussions de quelque travail et mémoires précédent qu'ils parlent de notre thème.

Enfin, une conclusion générale qui résume notre travail

I. Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles

I. 1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissocié des pratiques magiques pour devenir empirique plus scientifique. Cela était évident au début du **19^{ème}** siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, quinine ...). Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales durant les dernières décennies. Néanmoins, les substances actives isolées constituent environ **25%** des préparations médicamenteuse. **(Benkiki, 2006)**.

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à la plus de **3000** espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (**15%**) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel.

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galéniques, soit encore sous forme de principe actif, comme matière pour l'obtention de médicaments. **(Naghibi, 2005 ; Babulka, 2007)**.

I 2. Généralités sur les huiles essentielles

I 2.1 Définition

Plusieurs définitions sont disponibles des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (**Bruneton, 1999**).

Selon l'**AFNOR (2000)**, « les HE sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de Citrus, soit par distillation sèche »

Les HE sont des extraits végétaux volatiles et odorant appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (**Yahyaoui, 2005**).

La pharmacopée Européenne (**2011**), défini l'HE comme est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». (**Alleman et al., 2013**).

En pratique, il est possible d'obtenir une HE à partir de la plante entière ou bien seulement à partir de certaines parties de la plante telle les fleurs, bourgeons, grains, feuilles, bois, écorce, fruits, racines, tiges et brindilles (**Brenes et Roura, 2010**).

I 2.2 Concepts généraux

Le terme huiles essentielles (HEs) dérive de « *quinta essentia* », un no, donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante. (**Newbold, 2008**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras (lipides), et ne sont pas « essentielles » dans le sens qu'elles sont nécessaires à la croissance ou au métabolisme. Ce sont des composés aromatiques volatils, qui ont un aspect huileux, elles sont obtenues à partir de plantes aromatiques par plusieurs

procédés d'extraction. Elles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau. (**Idaomar, 2008**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles , fleurs , écorces , rhizomes , fruits et graines .La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**figure-1**).Les HEs sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires recouvertes d'une cuticule .Les cellules endodermales se situent toujours à l'abri de ces substances , grâce à la présence d'un autre type de cellules appelées les cellules de gardes . La forme et le nombre des structures histologiques sécrétrices varient d'une famille botanique à l'autre et même d'une espèce à une autre. Néanmoins, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce. Les trichomes glandulaires sont les formes les plus répandues, ils représentent à la fois le site de biosynthèse et de stockage des HEs. (**Botha, 2007**).

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. (**Bakkali, 2008**).

Beaucoup de travaux sont réalisés dans ce sens , du fait de l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques , comme par exemple , l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique , l'industrie alimentaire , l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement , la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides . (**Averbeck, 2008**).

Cependant, l'organisme de normalisation **AFNOR (2000)** (Association française de Normalisation) a donné une définition qui prend en compte le mode d'obtention des huiles essentielles : est « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. Cette définition est cependant restrictive car elle exclut aussi bien Nous retenons alors que les huiles essentielles sont des mélanges de complexes aromatiques de plantes, extraits par distillation à la vapeur d'eau ou aux solvants. (**Jajakumar, 2006**).

L'utilisation des huiles essentielles est aujourd'hui d'actualité. Le nombre de produit et d'indication s'est multiplié. Elles peuvent être assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation dans les milieux hospitaliers pour limiter la propagation des germes microbiens (Billerbeck, 2007).

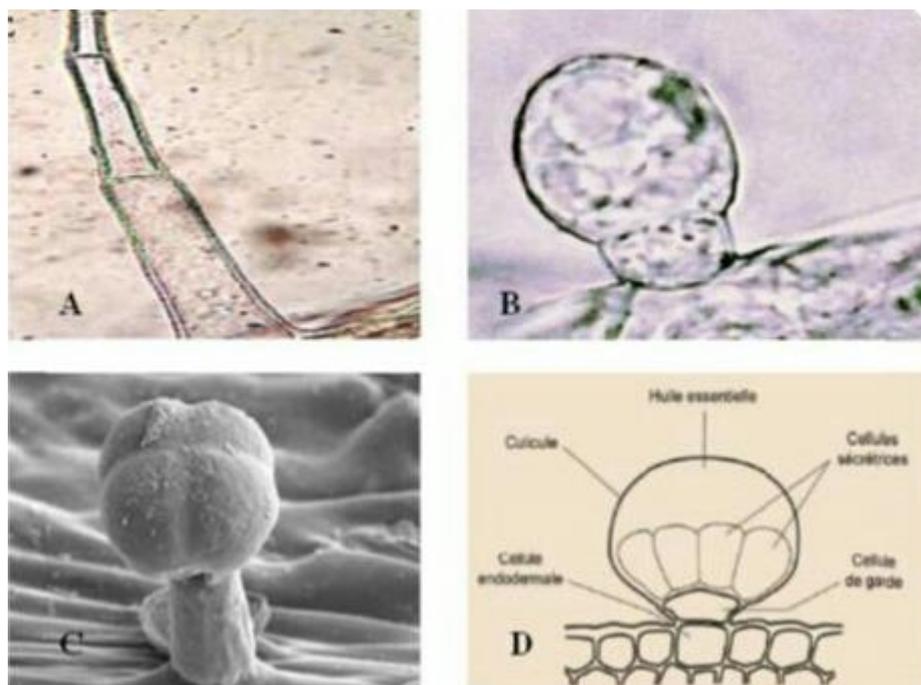


Figure-1 : Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles
(A) : poil sécréteur de *Mentha pulegium*, (B) : trichome glandulaire de *Mentha pulegium*,
(C) : trichome glandulaire de *Lippia scaberrima* et (D) : structure de trichome
glandulaire de *Thymus vulgaris*. (Massa G, 2002)

I 2.3 Localisation des huiles essentielles

Selon Bruneton (1999), les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces HE sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées.

Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à HE (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae), dans des canaux sécréteurs (Aoiaceae ou Astraceae), peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre..), les fruits (anis, badiane,), le bois (bois de rose, santal,...), ou graines (muscade, ambrette,...) **Oussalah et al (2006)**. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une HE, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. (**Belkou, 2005**).

Elles diffèrent par leur taille, leur paroi ou leur contenu, caractérisant parfois une famille donnée. Elles jouent un rôle important dans la détermination des conditions d'extraction des produits volatils qu'elles contiennent. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe. (**Oussala, 2006**).

I 2.3.1 Localisation dans la plante :

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle :

- Les fleurs, exemples : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylangylang)
- Les feuilles le plus souvent, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin
- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)
- Les fruits, exemples : fenouil, anis, épicarpes des Citrus.
- Les graines: noix de muscade, coriandre.
- Le bois et les écorces, exemples : cannelle, santal, bois de rose.
- Les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, Géraniacées et Verbénacées.
- Les organes sécréteurs sous-cutanéés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacée, Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les apiacées.

I 2.4 Chimie des huiles essentielles

I 2.4.1 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de **300** composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés sont, les monoterpènes (myrcène, α -pinène, γ -terpinène, sabinene, etc.) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène, etc.). **(Figure-3) (Averbeck, 2008).**

Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C_5H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et trois unités pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$). Ils ont la même origine métabolique. Ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des HEs. Exceptionnellement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les HEs. La réactivité des cations intermédiaires obtenus lors du processus biosynthétique des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools (géraniol, α -bisabolol), des cétones (menthone, β -vétivone), des aldéhydes (citronellal, sinensal), des esters (acétate d' α -terpinyle, acétate de cédryle), des phénols (thymol), etc. Plus de **22.000** composés isopréniques ont été répertoriés, mais seul un petit pourcentage d'entre eux a été étudié dans la perspective d'évaluer leurs rôles fonctionnels. **(Cusson, 2008).**

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, qui empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les HEs d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc... **(Bruneton, 1999).**

Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle. **(Bakkali, 2008).**

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation, de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexén-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et α -linoléique). (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. à titre d'exemple, le carvacrol et le thymol sont les composants majeurs de l'huile d'*Origanum compactum*, le linalol pour l'huile de *Coriandrum sativum*, le menthol et le menthone pour l'huile de *Mentha piperita*. Généralement des composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'HE. La plupart des composants des HEs sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées. (Amlan K ; Patra, 2010).

- *Les terpénoïdes*

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires, végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones ($C_5 H_8$), communément appelée isoprène (Figure-2). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}) et diterpénoïdes (C_{20}). Dans la composition de la plupart des HEs les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Figure-3). (McAllister et al, 2008).

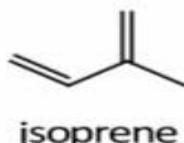


Figure-2 : Structure de la molécule d'isoprène (Mebarki, 2010)

- **Les phénylpropanoïdes**

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (**Figure-3**). (**Sangwan, 2001**).

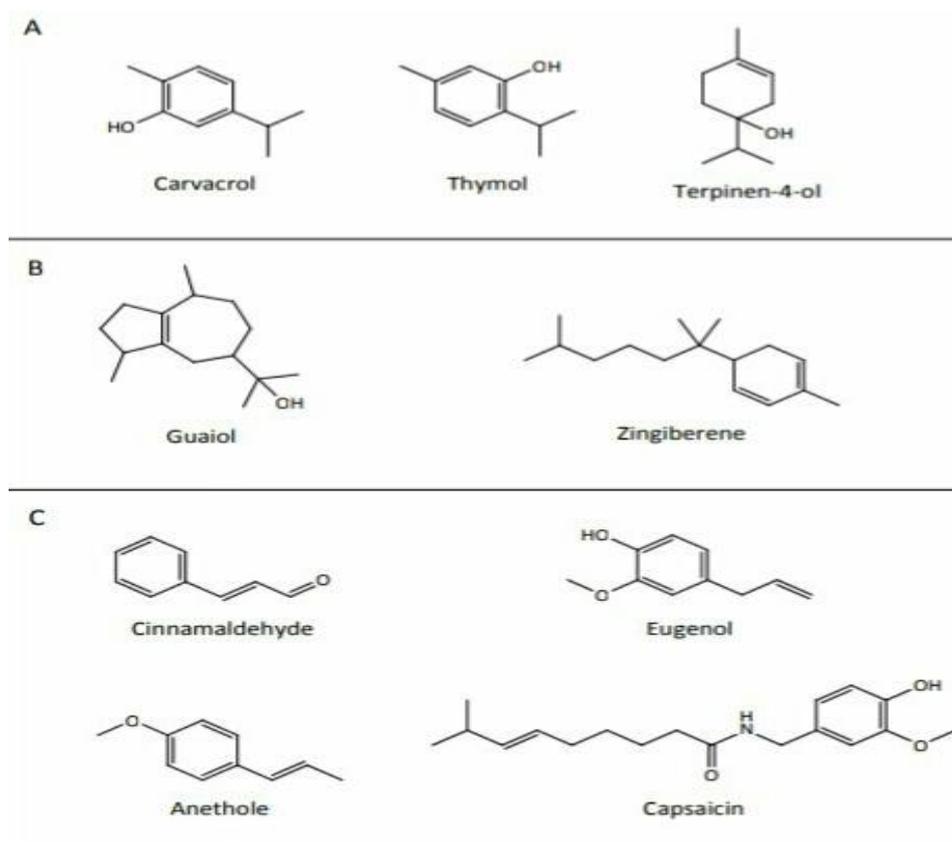


Figure-3 : Structure de quelques composés des huiles essentielles

(A) : monoterpénoïdes, (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes

(Ferret, 2007)

- **Autres constituants :**

Les huiles essentielles contiennent différents produits de dégradation comme des acides organiques de faible poids moléculaire, des lactones et des produits azotés ou soufrés. (**Caballero, 2003**), les plus connus sont l'allicin et l'allyle isothiocyanate. Chacune de ces classes chimiques possède un rôle spécifique, les esters et les aldéhydes ont un effet relaxant et calmant, les cétones sont des stimulants de la régénérescence cellulaire, les terpènes sont

des inhibiteurs de l'accumulation des toxines dans le corps, ils ont aussi des propriétés stimulantes et antibactériennes.

I 2.5 Mode d'action des huiles essentielles

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les huiles essentielles exercent leur activité antimicrobienne. La composition complexe des HE tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés. (Riley, 2002).

La plupart des mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composants des HE avec la membrane cellulaire. Les HE sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaires des substances nutritives. Les HE peuvent aussi perturber le gradient ionique de part et d'autre de la membrane cytoplasmique ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbe aussi le transport membranaire. Mais certaines bactéries sont capables de contrebalancer cet effet par l'utilisation de la pompe ionique, dans ce cas la croissance ralentit grâce à l'épuisement de l'énergie de la pompe. Un mécanisme d'action proposé implique le groupement hydroxyle des phénols, comme le carvacrol, qui agirait comme un transporteur transmembranaire des cations et des protons monovalents, cet effet perturbe le gradient ionique et le fonctionnement membranaire des cellules microbiennes (Figure-4). (Moezelaar, 2002).

D'autres mécanismes d'action sont liés à la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines. Les HE extraites de cannelle et de l'ail peuvent inhiber l'activité enzymatique des bactéries du rumen telle l'espèce *Enterobacter aerogenes*. D'autres HES inhibent la croissance microbienne par l'inactivation des acides nucléiques. (Ferret, 2007).

L'action des HES dépend aussi de la nature des microorganismes ciblés. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HES, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes. Cependant, les molécules à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent traverser cette barrière. (Moezelaar, 2002).

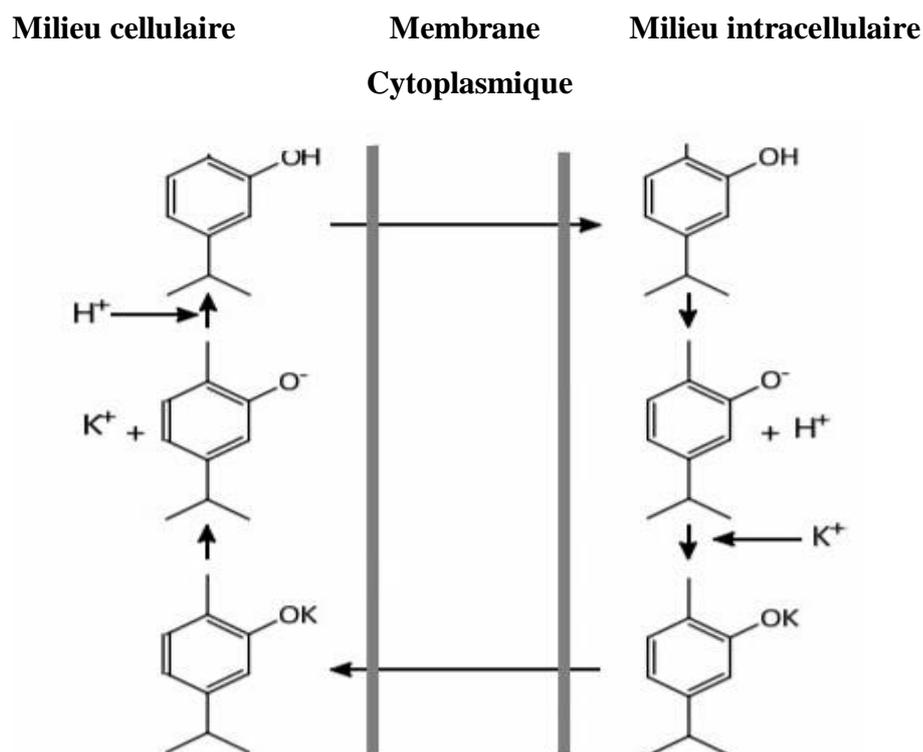


Figure-4 : Mécanisme d'action de carvacrol sur la membrane cellulaire (Mozezelaar, 2002)

I 2.6 Facteurs influençant la composition et le rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan de rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui en découlent peuvent être très différentes (Bruneton, 1999 ; Benini, 2007). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque influençant la composition chimique d'une plante et sa biosynthèse et donc son profil génétique, ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante. (Guernoug, 2017).

I 2.7 Les caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les HE sont des liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que l'alcool, entraînables à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau Afssaps (2008). Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de

réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée **(Couic-Marinier et Lobstein (2013))**. Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant Compris entre **5** et **22** (le plus souvent **10** ou **15**). **(Afssaps, 2008)**.

Les huiles essentielles possèdent des propriétés physico-chimiques qui les distinguent des autres molécules ; elles sont liquides à température ambiante, incolores ou jaunes pâles exceptées l'HE d'Azulène qui est bleu, celle de la Cannelle qui est rougeâtre et celle de l'Absinthe qui est verte. Leur densité est généralement inférieure à **1** à l'exception des huiles essentielles de cannelle, giroflie et saffran. Ces composés sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques, ils possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont donc dotés de pouvoirs rotatoires. Leur point d'ébullition dépend des liaisons van der Waals, qui croît avec la masse moléculaire, la plasticité et la polarisabilité de la molécule. **(Baser et Buchbauer, 2010)**.

Du point de vue chimique les huiles essentielles sont tributaires de plusieurs indices notamment l'indice d'acide, l'indice d'ester ou encore l'indice de saponification.

I 2.8 Préparation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être extraites par deux méthodes clés : la distillation et l'expression à froid. D'autre part, les absolus peuvent être extraits par extraction au solvant ou enfleurage, bien que l'enfleurage soit rarement pratiqué de nos jours. Un autre type de produit aromatique disponible sur le marché sont les extraits de CO₂. **(Beloufa, 2018)**.

I 2.9 Procédés d'extraction des huiles essentielles

Le procédé d'obtention d'une essence végétale intervient de façon déterminante dans la nature des produits d'extraction. Plusieurs procédés d'extraction des principes végétaux sont connus et utilisés à ce jour, dont l'expression à froid, l'extraction par solvant organique volatil, l'extraction à l'eau surchauffée, l'extraction au CO₂ supercritique, par micro ondes, par ultrasons, par l'entraînement à la vapeur d'eau et par l'hydrodistillation. De tous ces procédés, ces deux derniers sont les deux procédés utilisés pour l'extraction des HEs auxquelles nous nous intéressons. **(Lucchesi, 2007 ; Wang, 2008)**.

I 2.9.1 Distillation : Hydro-distillation(HD)

La distillation est la méthode de la plus employée pour extraire les HEs.

Les extraits végétaux sont chauffés jusqu'à ébullition ; l'HE s'évapore alors avec les vapeurs dégagées, puis est condensée (elle redevient liquide lorsqu'on la refroidit) et séparée de l'eau. **(Lavoisier.Paris.1999).**

Pendant la distillation, le matériel végétal est placé sur une grille à l'intérieur de l'alambic. Après un chauffage d'eau raccordement qui les conduit dans un condenseur. Le condenseur refroidit la vapeur montante en formant un liquide. Le liquide est ensuite recueilli dans un conteneur sous le condenseur. Puisque l'eau et l'huile essentielle ne se mélangent pas, l'HE se retrouvera à la surface de l'eau où elle est siphonnée. Parfois, une huile essentielle est plus lourde que l'eau et se trouve sur le fond plutôt que sur le dessus, comme avec de l'huile essentielle de clou de girofle. **(Beloufa, 2018).**

La technique d'extraction des HEs utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est de loin la plus utilisée à l'heure actuelle. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition de deux composés, l'HE et l'eau, pris séparément. Ainsi les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par leur vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau. **(Silou, 2004).**

Tout d'abord, l'hydrodistillation (*water distillation*). Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat. Cette technique a été appliquée dans de nombreux travaux. **(Senhaji, 2006).**

I 2.9.2 L'entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau.

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme *et al.*, 1990**).

I 2.9.3 Extraction des produits actifs

L'extraction est un procédé chimique qui permet de séparer un composé d'un mélange ou d'une solution. Le meilleur solvant à utiliser est celui dans lequel le composé à extraire est très soluble. Une succession d'opérations peut être nécessaire avant que le composé ne puisse être isolé par distillation ou par évaporation du solvant. (**Djabou, 2006**).

I 2.9.4 L'extraction par solvant organiques

L'ehydrodistillation et à la vapeur d'eau ont été infructueux avec certaines plantes comme la rose, le narcisse ou encore le mimosa, qui sont trop fragiles pour supporter ces procédés, c'est ce qui a poussé les chercheurs à mettre au point de nouvelles méthodes d'extraction. Ainsi dès le **XVIII^{ème}** siècle, des tentatives ont été menées en utilisant un solvant ; l'éther. Cette trouvaille a été très vite abandonnée à cause des coûts de production et des risques d'explosion liés au solvant. Ils optèrent par la suite pour l'hexane et le benzène en raison de leur volatilité et de leur grand pouvoir de solubilisation. (**Bruneton, 1999**)

I 2.9.5 L'expression

Cette méthode est consacrée à l'extraction des HEs des agrumes de la famille des rutacées (citron, orange, mandarine), elle consiste à faire éclater mécaniquement les proches à essences (abrasion, perforation) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau. (**Bruneton, 1999**)

I 2.9.6 L'enfleurage

Cette technique se rapproche par son principe de l'extraction par solvant volatil, mais cette fois-ci on utilise des graisses comme solvants, car elles ont aussi une forte affinité pour les composés odorants. (**Bruneton, 1999**)

I 2.9.7 L'extraction au CO₂ supercritique

Cette méthode utilise le CO₂ pour dissoudre de nombreux composés organiques, le CO₂ doit obligatoirement se trouver entre l'état liquide et l'état gazeux, il est donc exposé à une forte pression et à une température avoisinant les 32°C. Cette technique est très prometteuse car le produit obtenu est proche du naturel sans aucune trace de solvant. Le CO₂ a aussi l'avantage d'être inodore, incolore et inflammable, ce qui assure des conditions de sécurité supérieures. **(Piochon, 2008).**

I 2.9.8 La distillation fractionnée

Ce type de distillation est surtout utilisé en parfumerie, elle permet d'isoler un ou plusieurs constituants de l'HE, ils seront utilisés par la suite tels qu'ils sont pour renforcer l'effet olfactif, ou transformés pour obtenir une nouvelle odeur. **(Kouch, 2014).**

I 2.10 Analyse des huiles essentielles

L'analyse des HE est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La technique qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique généralement la chromatographie en phase gazeuse (CPG), avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM). **(Beloufa, 2018).**

I 2.10.1 Chromatographie en phase gazeuse

En chromatographie en phase gazeuse, les composants d'un échantillon sont dissous dans un solvant et vaporisés afin de séparer les molécules analytes en répartissant l'échantillon entre deux phases : une phase stationnaire et une phase mobile. La phase mobile est un gaz chimiquement inerte qui sert à transporter les molécules de l'analyte à travers la colonne chauffée. La chromatographie en phase gazeuse est l'une des seules formes de chromatographie qui n'utilise pas la phase mobile pour interagir avec l'analyte. La phase stationnaire est soit un absorbant solide, appelé chromatographie gaz-solide (GSC), soit un liquide sur un support inerte, appelé chromatographie gaz-liquide (GLC). **(Beloufa, 2018).**

C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. **(Beloufa, 2018).**



Figure-5 : Appareil CPG (Beloufa M, 2018)

I 2.10.2 Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

La spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse (CPG/SM) est une technique instrumentale comprenant un chromatographe en phase gazeuse (CPG) couplé à un spectromètre de masse (SM) permettant de séparer, d'identifier et de quantifier des mélanges complexes de produits chimiques. Ceci le rend idéal pour l'analyse des certaines de composés de poids moléculaire relativement bas trouvés dans les matériaux environnementaux. Pour qu'un composé soit analysé par CPG/SM, il doit être suffisamment volatil et techniquement stable. De plus, les composés fonctionnalisés peuvent nécessiter une modification chimique avant l'analyse, pour éliminer les effets d'absorption indésirables qui affecteraient autrement la qualité des données obtenues. (Beloufa, 2018).

I 2.11 Les activités des huiles essentielles

Les HE possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endo canalaire **Billerbeck (2007)** ou au niveau de la microflore vaginale **Duarte et al (2007)** et d'origine fongique contre les dermatophyte (**Duarte et al., 2005**).

Les huiles essentielles, par leurs propriétés nombreuses et variées, sont utilisées dans différents secteurs : en parfumerie, en cosmétologie, en conserverie, en pâtisseries, dans la fabrication des mastics, des condiments, des insecticides, et dans les industries pharmaceutiques. Ceci a été prouvé par plusieurs études. (**Dorman, 2000 ; Schelz, 2006**).

Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (**Bakkali et al.,2008**) qui les rapprochent des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agent antimicrobiens à large spectre (**Dorman et al., 2000, Sotso Mendivil, 2006**).

I 2.11.1 Industrie alimentaire

Les plantes aromatiques, les épices et leurs HEs sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. (**Hassani, 2003**)

Plusieurs travaux ont montré que les HEs de thym, de cannelle, d'origan, de romain, de clou de girofle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables d'infections alimentaires. Ceci est dû à la présence dans ces dernières de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydants. (**Dimitrijevic, 2007**)

I 2.11.2 Désinfection des locaux

Grace à leur pouvoir antiseptique, les HEs peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation, notamment dans le milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air et limiter ainsi la propagation des germes microbiens. (**Billerbeck, 2007**)

I 2.11.3 Activités pharmacologiques

Depuis longtemps, les HEs sont utilisées en thérapeutique. Les applications thérapeutiques des HEs sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain. (**Soto-Mendivil, 2006**)

L'usage des HEs en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçable ; (**Cherrah, 2007**)

De nombreuses HEs se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion

telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres. Elles ont une action anti-inflammatoire, antiseptique, désodorisante, insecticide et antioxydant. (**Jajakumar, 2006**)

I 2.11.4 Activité acaricide

L'extension des acariens incite à la réalisation de nombreux programmes et travaux de recherches, la majorité d'entre eux se sont focalisés sur les aspects de lutte par les moyens chimiques essentiellement, ces produits chimiques restantes, a des effets néfastes sur l'environnement (**Asgar et al., 2014**).

L'acarien peut être trouvé sur les abeilles adultes, sur le couvain, dans les débris de la ruche et dans les denrées alimentaires. Il peut nuire à la fois et directement, les colonies et les abeilles en endommageant les ouvrières individuelles durant le stade nymphe afin que leur durée de vie adulte et le poids corporel (**Amdan et al, 2004**).

Les résultats d'efficacité des HEs contre le *Varroa destructor* obtenue par **Kutukoglu et al (2012)** durant les périodes automnales sont respectivement des HEs de *L. nobilis* (**76.7 %**), *L. officinalis* (**76.4%**) et *F. vulgare* (de **74.5%**). Au printemps, l'efficacité des taux était **83.8%** dans *L.officinalis*, **78.8%** dans *F.vulgare* et **70.8%** dans *L.nobilis*. Ces résultats sont supérieurs à celle obtenues par **Mahmoud et al(2004)** par l'utilisation des huiles de clou de girofle et le tabac (**11.8%**), suivie par l'ail (**8.9%**), l'olive (**8%**) et l'huile neem (**7.8%**), à des concentrations de **5%, 10% et 15%**.

I 2.11.5 Activité antifongique

Les HEs ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons **Juarez et al (2016)** et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lisbalchin , 2002**).

I 2.11.6 Activité anti-inflammatoire

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

I 2.11.7 Activité insecticide

L'efficacité des HEs en tant qu'insecticides est la préoccupation de nombreux chercheurs (**Rajgovind et Song, 2016**). Les travaux effectués concourent à mettre en évidence les différents éléments pouvant accroître l'action des HEs ravageurs. Ces études constituent une étape indispensable pour le développement de l'utilisation des HEs dans la lutte contre les ravageurs de grains. Pour tous ces auteurs, les HEs sont des substances fumigènes dotées de réelles potentialités insecticides à valoriser **Popovic' et al (2013)** ont montré l'activité insecticide de carvacrol présent dans les HEs. (**Guernoug, 2017**).

I 2.12 Les rôles des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent les HE en tant que métabolites secondaires. Mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu **Oussalah et al (2006)**. Les HE jouent un rôle important dans la protection de la plante, puisqu'elles agissent comme antibactériennes, antifongiques, antivirales et insecticides. Elles protègent aussi la plante contre les herbivores par son odeur défavorable et inhibitrice de l'appétit de l'animal à cette plante (**Bakkali et al., 2008**).

Elles réduisent la compétition des autres plantes par l'inhibition de la germination (agent allélopatiques) (**Bruneton, 1999 ; Porter, 2001**). Et aussi jouent un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs spécifiques (insectes, oiseaux ...) qui participent dans la dispersion du pollen et des graines ce qui favorise la reproduction (**Csekea, 2007**).

Elles protègent la plante contre les stress photo-oxydatif et participent aussi dans la croissance et le développement de la plante. (**Einsenreich et al, 2001**).

I 2.12.1 Rôle physiologique

Certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits : réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux. (**Wadegaonkar, 2003**).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques. **(Belaiche, 1979)**.

I 2.13 Toxicité des huiles essentielles

De nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché ; la plupart du temps ; sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que présente leur emploi **(Inouy, 2007)**.

La toxicité chronique des huiles est assez mal connue ; contrairement au risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive ; en particulier la neurotoxicose des HE à thuyone (thyuya, absinthe, sauge, officinale, tanaïse) ou à pinocamphène. Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels qui nécessitent l'hospitalisation **Franchomme (2003)**. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des HEs pures et à fortes doses **Pibiri (2006)**. Par voie orale et a fortiori en mélange. Elle oblige à employer un matériel de qualité à bon escient. C'est-à-dire sur un diagnostic bien posé et selon les posologies parfaitement adaptées à l'état et à la physiologie propre à chaque patient **(Bruneton, 1993)**.

C'est en particulier le cas des HE suivantes : la cannelle de Ceylan, la menthe, la Listée, la mélisse, le pin, ou la mousse de chêne. La proportion de la population développant des allergies cutanées dues aux parfums est en augmentation car l'utilisation de parfums et de produits parfumés ne cesse d'augmenter. Il a été démontré que les allergènes présents dans l'air jouent un rôle évident dans la formation d'eczéma, soit par inhalation, soit par contact cutané **(Schnuch, 2006)**.

I 3. La famille des Lamiacées

I 3.1 Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiaceae (labiées) du latin labia (lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghibi et al. 2005 ; Couplan,2000) , est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones , qui comprend près de **7000** espèces répartie en **250** genres plus ou moins cosmopolites , mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrales (Botineau ,2010 ; Martin,2014).

Dans la flore de L'Algérie, les Lamiaceae sont représentées par **28** genres et **146** espèces certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (Quezel et Santa 1962).

La famille des Lamiacées est l'une des plus réponsues dans le règne végétale Naghibi et al (2005).Elle est divisée en sept sous-familles : Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroidea, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae (Harley et al. 2004). Un très grand nombre de genres de la famille lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (Kuklinski 2000 ; Naghibi et al. 2005).

C'est une famille de grande importance aussi bien pour son utilisation dans l'industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant Bouhdid et al(2006), Hilan et al (2006). Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés leurs sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisante. Les huiles essentielles par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (Bakkali, 2008 ;Hilan et al 2006).

Cette famille comprendre près de **6700** espèces regroupées dans environ **250** genre Miller et al (2006). La région méditerranéenne a été le centre principal pour la domestication et la culture la *Labiataea*, *Lamiaceae* , caractérisée par des plantes productrices d'huiles essentielles .(Naghibi et al, 2005).

Les lamiacées sont très nombreuses, les espèces les plus cités sont : *Salvia officinalis* **Fellah et al (2006)**, *Mentha spicata* **Choudhury et al (2006)**, *Origanum vulgare* **Dimitrijevic et al (2007)**, *Rosmarinus officinalis* **Marzouk et al (2006)**, *Ocimum basilicum* et le thym. (**Lee et al, 2007**).

I 3.2 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** : Lamiaceae

I 4. Le Thym

I 4.1 Historique

Le terme « **thym** » est apparu dans la langue française au **XIII^e** siècle, d'abord sous la forme de « tym ». Selon certaines sources , il est dérivé du latin thymus , qui l'a emprunté du grec thumos , signifiant de façon quelque peu obscure , « grosseur ou loupe » (par référence à la glande , le thymus). D'autres pensent plutôt que le mot vient du grec thymos ou thyein , qui signifie « fumée » , par allusion au fait qu'il était jadis brûlé comme encens et qu'on lui attribuait alors le pouvoir d'éloigner les créatures venimeuses. D'autres, enfin, font dériver le mot du grec thumus, qui signifie « courage », la plante étant jadis considérée comme revigorante. (**Mebarki, 2010**).

Il semblerait que, pendant longtemps, le thym ait surtout été employé en médecine et dans les rituels religieux ou magiques, ses usages culinaires se limitent à aromatiser le fromage et les liqueurs. Les Egyptiens s'en servaient pour embaumer leurs morts, les Grecs pour

parfumer les temples et l'eau des bains, les Romains pour purifier leurs appartements. Les Romains ont probablement diffusé le thym en Europe durant leurs invasions, particulièrement dans les pays de Sud. Au Moyen âge, on s'en est beaucoup servi pour masquer les mauvaises odeurs, notamment celles de la viande ou du poisson avarié. (**Mebarki, 2010**).

De nos jours, le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huiles essentielles dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine, comme produit vétérinaire (antiparasites, antispasmodique, antiseptique et digestif). Cela a été mentionné dans plusieurs études. Il est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants. Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires, calmer les toux quinteuses, diminuer les sécrétions nasales et soulager les problèmes intestinaux comme il l'a été rapporté par certains auteurs. (**Rasooli, I ; Adwan G, 2006**).

I 4.2 Description botanique (Thymus)

Les thymus (thymus) sont des plantes basses sous-ligneuses, pouvant atteindre 40cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et des glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible quantité sur les tiges. (**Karaoui, 2015**).

Thym est une espèce endémique de l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) **Benabid (2000)**. C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique **Gherman et al (2005)**. C'est une plante vivace à tige hérissée, **Delille (2007)**. Elles sont quadrangulaires, caractéristiques des Lamiacées **Wiart (2006)**. Les poils peuvent couvrir les quatre faces de la tige (holotriche) ou seulement deux faces s'alternant dans chaque entre-nœud (alelotriche) ou se trouvent seulement sur les quatre cotes des tiges (goniotriche) **Stahl-Biskup et Saez (2002)**. Les feuilles, plus au moins contractées, **Quezel et Santa (1963)**, pétiolées, abord peu dente, sont opposées et de grandeurs variables, les inférieures étant plus grandes **Delille (2007)**, elles sont fréquemment ciliées aux marges, soit à la marge entière ou seulement à la base ou sur le pétiole. Les trichomes glandulaires sont très importants contenant l'huile essentielle ; il existe

deux types, les glandes pédicellées avec cellules supérieures pleines d'HE, et les grandes glandes globuleuses typiques des Lamiacées **Wiart (2006)** avec quelques cellules basales. Les poils sont toujours simples, mais rarement unicellulaires **Stahl-Biskup et Saez (2002)**. Les fleurs zygomorphes sont petites, bilabiées, souvent tubulaires, déclinant une gamme du blanc au mauve en passant par la rose **Wiart (2006)**. Elles grandissent en groupes au niveau des nœuds, regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. (**Guernoug, 2017**),



Figure-6 : Aspect morphologique de la plante du *Thymus* (Fordin, 2001)

I 4.3 Les propriétés du Thym :

- Propriétés antioxydants (**Takeuchi et al, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008**) en raison de ces

Propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons (**Selmi et Sadok, 2008**).

- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.

- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicide (**Bazylo et Strzelecka, 2007**).

- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes (**Jiminez-Arellanes et al, 2006**).

- Assaisonnement des aliments et des boissons.

.- Propriétés anthelminthiques (**Al-Bayati, 2008**).

I 4.4 Composition chimique du *Thymus*

Pour la même espèce ; on pourra observer, une composition chimique en huile essentielle différente, selon l'échantillon sélectionné. Il s'agit de chimiotypes ou de chémotypes ou de races chimiques ou même de variétés différentes (**Tableau-1**). La variabilité chimique est d'ordre génétique, mais peut aussi dépendre du période de récolte, des conditions climatiques, de la localisation géographique, de la nature du sol et des méthodes d'obtention (**Bruneton, 2009**).

Le thym est composé de diverses substances actives. Chaque plante de thym développe un équilibre particulier entre ces substances en fonction de l'endroit où elle pousse : nature de sol, altitude, climat,... Certains thymus seront ainsi plus riches en thymol, d'autres en linalol, d'autres encore en géraniol... Chacune de ces substances a des propriétés santé particulières (**Alix, 2013**).

Une étude menée par **Dop et al (2006)**, sur les thymus d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le **thymol** chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le **carvacrol** chez les espèces de Tunisie. (**Karaoui, 2015**).

Tableau-1 : Composés chimiques du genre *Thymus*.

Composés chimiques du genre <i>Thymus</i>	
Huile essentielles	<p>Selon Thompson et Charpentier (2009), les huiles essentielles des différentes espèces du genre <i>Thymus</i> sont caractérisées par six principaux chémotypes sont répartis en 2 catégories :</p> <p>-Les chémotypes phénoliques (P) (structure moléculaire avec un cycle benzénique) : Thymol (T) et Carvacrol (C).</p> <p>-Les chémotypes non phénoliques (NP) (structure moléculaire sans cycle benzénique) : Géraniol (G), Thuyanol (U), Linalool (L) et Alpha-terpineol (A).</p>

	Les types γ -terpinène et ρ -cymène sont deux précurseurs de la biosynthèse végétale du thymol et du carvacrol (Garnier et al., 1961).
Principes actifs	<p>*Acide phénoliques : acide caféique (Cowan, 1999), acide rosmarinique (Takeuchi et al, 2004).</p> <p>*Les flavonoïdes : hespéridine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi et al, 2004), lutéoline (Bazylko et Strzelecka, 2007).</p> <p>*Les polyphénols : tannin (Cowan, 2007).</p>
Le <i>Thym</i> frais est également riche en vitamine C, alors que le thym séché est riche en calcium, manganèse et en vitamine K (Jörg et Christof, 2004).	

I 4.5 Principes actifs du Thym

- Les acides phénoliques : acide caféique (**Cowan, 1999**), acide rosmarinique (**Takeuchi et al, 2004**).
- Les flavonoïdes : hespéridine, eriotrécine, narirutine (**Takeuchi et al, 2004**), lutéoline (**Bazylko et Strzelecka, 2007**).
- Les polyphénols : tannin (**Cowan, 1999 ; Ozcan et Chalchat, 2004**).

I 4.6 *Thymus fontanesii*

Le thym est le nom général des nombreuses variétés d'herbes de l'espèce *Thymus*, toutes originaires d'Europe et d'Asie. Le *Thymus fontanesii* ou (زعتر) de la famille de lamiacée est considéré comme l'une des plantes les plus répandue en Algérie. C'est un petit sous-arbrisseau vivace, de la famille de lamiacée qui pousse de **10-12cm** de haut. Il est commercialisé comme une épice ajoutée au plusieurs plats traditionnels ou comme un traitement traditionnel contre les maladies respiratoires (toux, bronchite et asthme), ils

également utilisé pour le traitement des maux de dents, l'infection des voies urinaires ... (Quezel et Santa, 1962).

Cette espèce est un sous-arbrisseau à tiges dressés et robustes, à feuilles caulinaires ovales, lancéolées ou lancéolées-linéaire, planes, à marges non révolutes, obtuses, feuilles caulinaires linéaires ou linéaires lancéolées. A' marges révolutes, en général aiguës au sommet feuilles florales très différentes des autres, lancéolées linéaires longuement rétrécies en pointe aiguë, ciliées, au moins aussi longues que les fleurs ; les caulinaires spatuliformes glabres, de 10 à 12 mm de long et à fleurs blanches ou pales à peine plus longues que le calice. (Quezel et Santa, 1963 ; Hadouchi F., et al., 2009) la plante cueillie au moins de Février est séchée à l'ombre et à température ambiante entre 10 et 15 jours. Seules les feuilles sont utilisées pour l'extraction des HEs. (Hadouchi F., et al, 2009).



Figure-7 : *Thymus fontanesii* Boiss et Reut (Mebarki N, 2010).

I 4.6.1 Description de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut)

Selon **Quezel et Santa (1963)**, l'espèce *Thymus fontanesii* est une plante endémique d'Algérie et de Tunisie, elle se trouve dans le Tell, a niveau des pelouses et des garrigues (**Figure-8**). (**Karaoui, 2015**).

Cette espèce comprend :

- Un calice à 5 dents
- La lèvre supérieure divisée dans son tiers supérieur ;
- Les tiges sont dressées et robustes ;
- Les feuilles oblongues-lancéolées sont plus ou moins interrompues vers le bas ;
- Les fleurs blanches ou pâles sont à peine plus longues que le calice.



Figure-8 : *Thymus fontanesii* (Wikipidea)

I 4.6.2 Composition chimique de *Thymus fontanesii*

L'huile essentielle de *Thymus fontanesii* a fait l'objet d'un travail réalisé par **Ghannadi et al., (2004)**. Cette espèce présente un rendement en HE très faible de l'ordre de 1,9%. L'analyse chimique par CPG-SM de HE de cette plante récoltée à Sétif (Algérie), a révélé l'existence d'un seul composé majoritaire, le thymol. (67,8%) suivie de γ -terpinène (15,9%) et de p -cymène (13,0%). Ces meme résultats ont été rapportés par **Kabouche et al., (2005)**, lors de l'étude du pouvoir antimicrobien de l'HE de *Thymus fontanesii*. (**Karaoui, 2015**).

I 4.6.3 Extraction de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii*

Les huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement en HE est estimé en fonction de la masse totale du végétal sec. Les HEs sont conservées à 4°C et à l'abri de la lumière. (Haddouch et al, 2009).

I 4.7 Classification

D'après **Quezel et Santa (1963)** l'espèce appartient à :

- **Embranchement :** Spermaphytes
- **Sous-embranchement :** Angiospermes
- **Classe :** Eudicotes
- **Sous-classe :** Astérides
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiacées
- **Genre :** Thymus
- **Espèce :** **Thymus fontanesii Boiss. & Reut**

I 4.8 Nomenclature vernaculaire et commune

I 4.8.1 Noms vernaculaires

- **En Français :**

Thym (Quezel et Santa, 1963).

- **En Arabe :**

Zaateur (Quezel et Santa, 1963).

I 4.8.2 Nom scientifique

Thymus fontanesii **Boiss et Reut (Quezel et Santa, 1963).**

I 4.9 Répartition géographique

a). Dans le monde

Le genre *thymus* est l'un des **250** genres les plus diversifiés de la famille des labiées. Selon **Dob et al (2006)**, il existe près de **350** espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie De l'ouest et la méditerranée. C'est une plante très répandue dans l'Ouest du nord-africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Lybie), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya. (**Guernoug, 2017**).

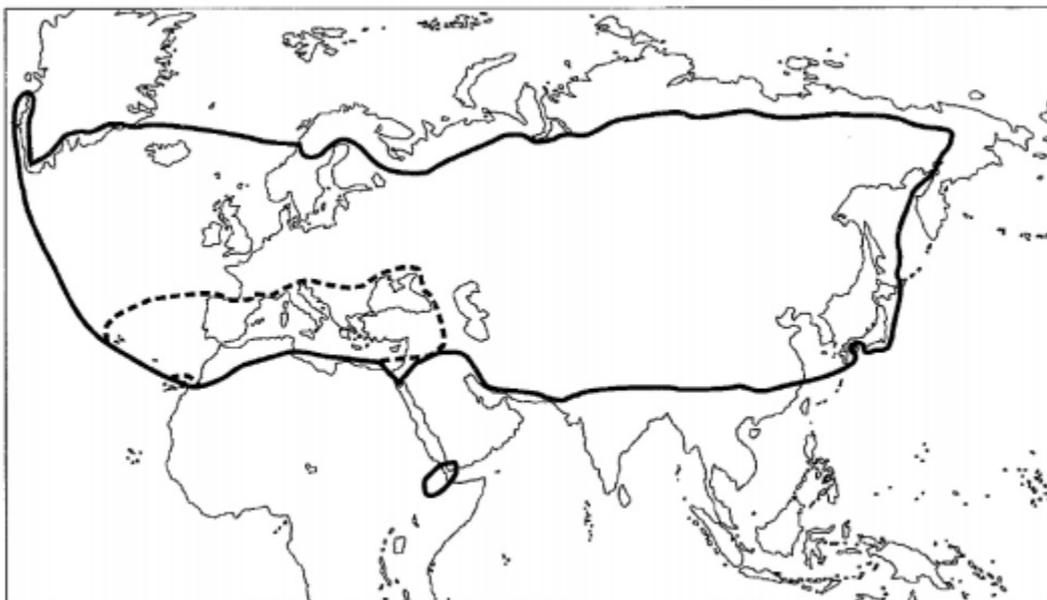


Figure-9 : Distribution du genre thymus dans le monde. La Distribution du genre thymus dans le monde. La représente toutes les sections (cf. classification du genre *Thymus*) excepté la section *Serpyllum* et la section *Hyphodromi* subsect. *Serpyllastrum* (Bouquet G., 2010).

Selon une étude menée par **Nickavar et al (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. Comme étant le centre de ce genre. Le thym, une plante aromatique spontanée appartenant à la famille des Lamiacées, se retrouve principalement dans la région méditerranéenne, l'Asie, l'Europe du sud et l'Afrique du nord (**Maksimovic et al, 2008**).

b). En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales à cause de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thymus comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Nickavar et al 2005).

Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Sa répartition géographique est représentée dans le **tableau-2**.

I 4.10 Localisation des principales espèces de thym en Algérie

Il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Sa répartition géographique est représentée dans le **tableau-2** (Saidj, 2006).

Tableau-2 : Localisation des principales espèces du thym en Algérie (Saidj, 2006)

Espèces	Découverte par	Localisation	Nom local
Thymus capitatus	Hoffman et Link	Y a dans la région de Tlemcen	Auteure
Thymus fontanesii	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie	Auteur
Thymus commutatus	Battandier	Endémique Oran	-
Thymus numidicus	Poiret	Assez rare dans : -Le sous secteur de l'Atlas tellien -La grande et la petite Kabylie -De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois	Tizaârtarte
Thymus guyonii	Noé	Rare dans le sous	

		secteur des Hauts Plateaux algérois, oranais et constantinois	-
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : -Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois	Zaâteur
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas Saharien et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois	-
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des Hauts plateaux algérois et oranais	Djertil Zaitra
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois	Djertil

I 4.11 Huile essentielle du thym

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Naghdi, 2004). Les HEs du thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. La variabilité chimique des HEs du thym dépend de plusieurs facteurs, qui généralement sont d'ordre climatiques et environnementaux. Mais peuvent être aussi d'ordre génétique et saisonnier (stade végétale). Ainsi, une étude menée par Dob *et al.* (2006) sur les thymus d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

De nombreux travaux ont été réalisés sur l'HE du thym. Nous nous limitons dans notre étude à quelques uns parmi les plus récents. (Mebarki, 2010).

La variation détectée dans la composition chimique de l'HE du thym issus de différents pays est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur environnemental, les conditions climatiques et géographiques variant d'un pays à un autre, et la période de la cueillette. La méthode d'extraction influe, aussi, considérablement sur la composition de l'HE. Plusieurs espèces de thym possèdent de nombreuses activités biologiques tels que antispasmodique, antimicrobienne, antibactérienne, antiviral, antioxydant et activité-fongicides, anti-inflammatoire, antiseptique, carminatif. (Soto-Mendivil, 2006).

II. Matériel et méthode

II 1.Objectif de travail

L'objectif de ce travail est l'initiation d'un inventaire à l'établissement phytochimique du thym ainsi que l'extraction et l'analyse chromatographique d'huile essentielle du *Thymus fontanesii* et son composé majoritaire, le thymol, et voir son intérêt, ses utilisations et ses effets qui représente dans la commune **BLIDA (PNC)**.

« et vu les circonstances actuelles (la maladie du *corona virus*) vécu par le monde entier et l'Algérie en particulier, il nous était impossible de récupérer et d'analyser la plante sur laquelle notre étude a été prévue au site cite la dessous, pour cela on a opte la comparaison de trois études qui ont été faites sur la même espèce récolte a trois sites déférents dont l'un d'eux est les hauts montagnes de *Médéa* qui est très proche du *parc national de CHREA* (site prévu pour notre étude) » .

II 2.Présentation de la zone d'étude

II 2.1 Présentation du Parc National de Chréa (PNC)

Est un parc national d'Algérie (en arabe الشريعة الوطنية الحظيرة) situé à **50 km** au sud d'Alger dans la wilaya de **Blida**.

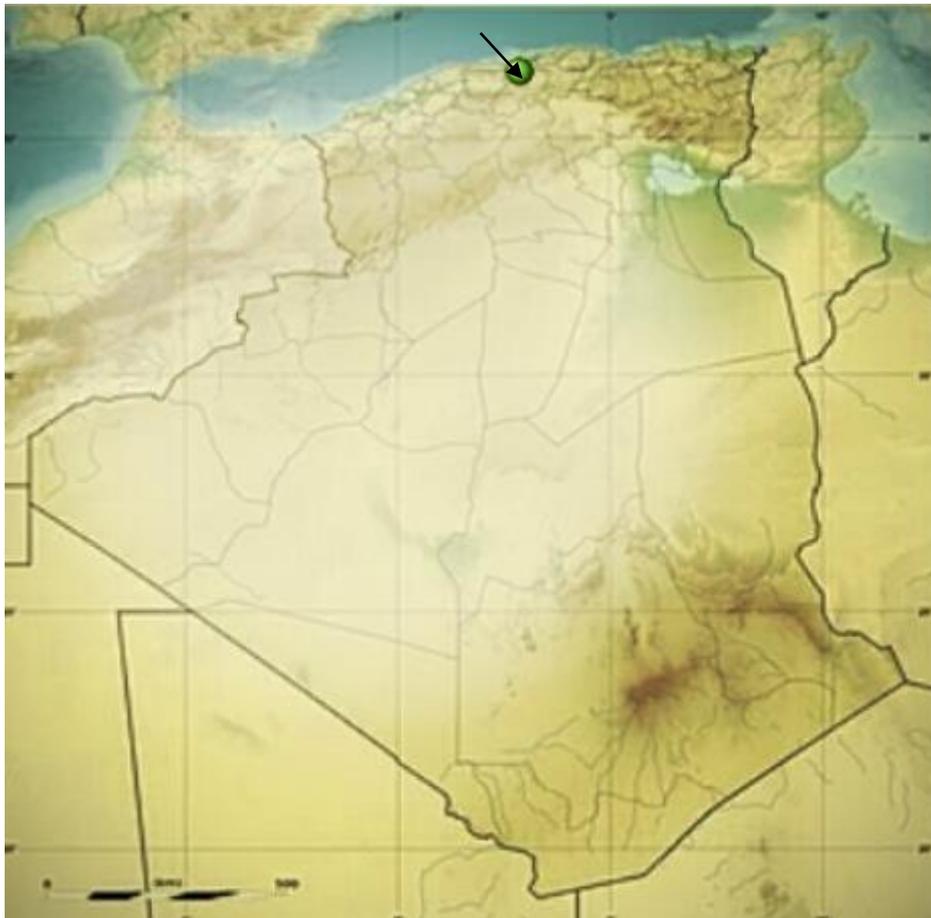
C'est essentiellement un par montagneux, situé en plein cœur du massif **Blidéen** (partie de l'**Atlas tellien**). Connus surtout pour sa station de ski à **Chréa**, il abrite aussi de vastes forêts de cèdres centenaires ainsi que les gorges de la **Chiffa** et le lac de **Dhaya** à **Tamesguida**. Le parc offre également la possibilité de faire des randonnées pédestres. (**Archive, sur l'UNESCO (consulté le 19 février 2015)**).

Le parc national de Chréa s'étend sur **26.587ha**, le long des parties centrales de la chaîne de l'Atlas Tellien. Il est situé dans la région Nord-centre de l'Algérie, à **50km** au sud-ouest de la capitale Alger (**Sahli, 2016**).

Il chevauche également les wilayas de Blida et Médéa (**Figure-10**). Selon le nouveau découpage territorial datant de **1984**. Il se situe entre les altitudes Nord **36°19¹/36 30¹** et les longitudes Est **2° 38¹/3° 02¹** (**Ouadah, 2016**).

Selon **Dahel (2015)**. La wilaya de Médéa de totalise **8650ha** répartis entre les communes de **Tamezguida**, et **El-Hamdania**. Elle couvre toute la partie méridionale du Parc national de Chréa qui repose avec sa zone périphérique, sur un milieu éparse fortement ponctué par une anthropisation rurale **32.5%** de la superficie totale du Parc national de **Chréa** appartient donc à la wilaya de Médéa (**Tableau-3**).

Le parc a été reconnu **réserve de biosphère** par l'**UNESCO** en **2002**.



**Figure-10 : Localisation du Parc National de Chréa
sur la carte d'Algérie**



Figure- 11: Carte de situation du Parc National de Chrèa



Figure- 12: Parc National de Chrèa

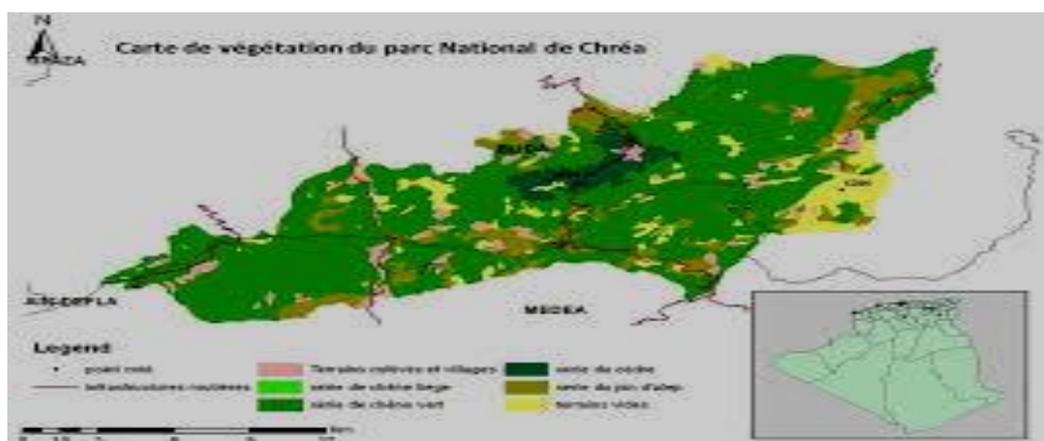


Figure-13 : Carte de végétation du parc National de Chrèa

Tableau-3 : Superficies en hectares et en pourcentages des différentes communes comprises dans le parc national de **Chr ea**.

Wilaya	Communes	Superficie	%	Wilaya %
Médéa	Tamezguida	4100ha	15.42%	32.60%
	El-Hamdania	4550ha	17.20%	
	Total de wilaya	8650%	32.60%	

II 2.2 Situation géographique d'El-Hamdania

Située au Nord de l'Algérie et à l'entrée nord de la wilaya de Médéa, à **8.8km**   l'Ouest de la capitale Alger (**Anonyme 2013**). Elle s'étend sur la zone sud-ouest du **PNC** et sur une superficie de **8825ha** (**Sahli, 2016**).



Figure-14 : Parc National de Chr ea-El Hamdania

II 3. Matériel chimique

Les constituants chimiques entre dans l'étude de cette espèce préparée sont : Glycérol, H₂O, bentonite, **ZnO₃**, acide salicylique, tetraborate de Na, formaldéhyde, **CuSO₄**. (**Mebarki, 2010**).

II 3.1. Analyse des constituants chimiques

La plupart des réactifs ont été acquis directement auprès de firmes de renommée, et n'ont pas nécessité de contrôle. Par contre certains produits ont dû être soumis aux méthodes habituelles de purification pour s'assurer d'un haut degré de pureté. (**Pharmacopée Européenne 6^{ème} édition.2002**)

II 4. Matériel biologique

II 4.1. Matériel végétal

II 4.2. Description botanique

Le *Thymus fontanesii*, objet de notre étude, appelé « **Zaâteure** » en arabe est une plante spontanée, raide, dressée, à rameaux étalés. C'est un petit arbrisseau qui ne dépasse pas **20cm** de hauteur à feuilles petites linéaire ou linéaires-lancéolées recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes. Les épis florifères sont courts et étroits. Ses petites fleurs Zygomorphes sont regroupées en Glomérules et leur couleur varie du blanc au violet visible d'avril à juin, à odeur très agréable et spécifique. Très commun dans les régions montagneuses, c'est une espèce endémique en Algérie. L'espèce renferme un ou plusieurs écotypes. (**Mebarki, 2010**).



Figure-15 : *Thymus fontanesii*

II 5. Récolte et séchage

Le thym, utilisé dans cette étude, a été identifié par le département de botanique, de l'Institut National d'Agronomie d'Alger (INA) comme étant le *Thymus fontanesii*.

II 6. Obtention des huiles essentielles

II 6.1 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction d'huile essentielle du thym est réalisée au niveau d'un laboratoire, elle été effectuée par la méthode d'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (1928), faites sur les parties aériennes de la plante.

Dans chaque échantillon on prendre de **50g** de thym été séchées, soumises avec **500ml** d'eau distillée dans le ballon de hydrodistillateur à température d'ébullition **100°C**. Lorsque l'ébullition de l'eau commence on baisse la température pour que les cellules du thym prennent le temps pour éclater et ainsi la sortie d'essence aromatique. L'HE recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtré, et récupéré.

Une fois que les HEs obtenues, elles sont conservées dans un flacon en verre à température comprise entre **4°C** pour éviter toute dégradation des HEs due à l'action de l'air et de la lumière.

II 6.2 Hydrodistillation

Chaque hydrodistillation a duré deux heures et demi, le distillat est récupéré dans un récipient, ce dernier est ensuite scellé avec du parafilm, et gardé au frais et à l'obscurité. (Kacimi, 2012).

100g de la matière végétale est introduire dans un ballon de deux litres, imprégné d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant une heure et demi à deux heures. Les vapeurs chargées d'HE ; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.(Mebarki, 2010)

Vient ensuite, **la distillation par entrainement à la vapeur d'eau** (*steam distillation*). Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers de laquelle passe la vapeur d'eau. (Franchome, 1990).

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante. Cette méthode est industriellement la plus utilisée pour l'extraction d'HE de *Rosmarinus officinalis* dans le but d'obtenir un bon rendement de l'essence et de réduire le temps d'extraction. (Marzouk, 2006).



II 6.3 Entraînement à la vapeur d'eau

100g de matériel végétal sec sont placés dans un ballon (B) qui surmontent l'eau en ébullition, les vapeurs ; en traversant la plante font éclater les cellules et entrainer avec elles l'HE. Après condensation et liquéfaction ; l'huile surmonte l'eau dans l'ampoule de décantation (Figure-16). (Mebarki, 2010).

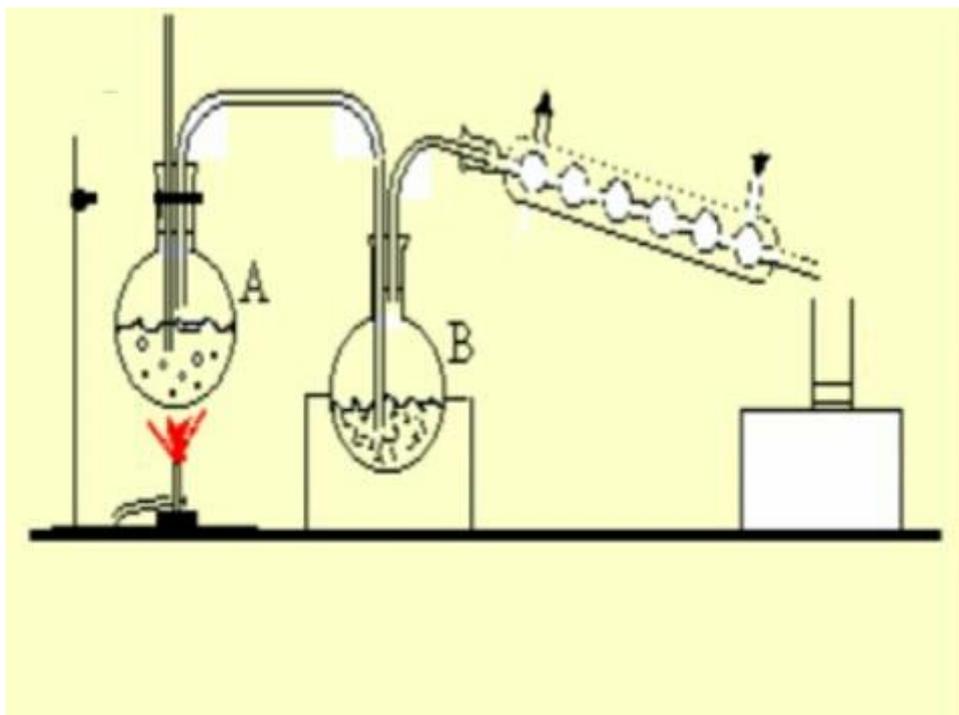


Figure-17 : Système de distillation par Entraînement à la vapeur d'eau (Mebarki, 2010)

II 6.4 Extraction liquide-liquide

Trois extractions liquide-liquide du distillat sont effectuées à l'aide de l'éther diéthylique en vue d'extraire l'HE depuis la phase aqueuse dans laquelle elle se trouve initialement vers la phase organique extractrice. (Kacimi, 2012).

II 7. Analyse Chromatographique

La CG/SM est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série **HP 6890**) couplé avec un spectromètre de masse (série **HP 5973**). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de **70 eV**. La colonne utilisée est une colonne capillaire **HP-5 MS (30 m x 0,25 mm)**, l'épaisseur du film est de **0,25 μm** . La température de la colonne est programmée de **50 à 200°C** pendant cinq minutes à raison de **4°C/min**. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à **1,5 ml/min**.

Le mode d'injection est split (rapport de fuite : **1/70**, débit : **112 ml/min**). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse **NIST 98**. (Kacimi, 2012).

II 7.1 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse

L'analyse qualitative et semi-quantitative de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut a été menée sur un chromatographe Thermo-Finnigan de type Trace en utilisant une colonne capillaire en silice fondue DB-5. Les divers paramètres de la colonne sont: **30 m X 0,32 mm, 0,25 µm** ; l'épaisseur du film.

L'analyse a été réalisée dans les conditions chromatographiques suivantes: la température du four a été programmée de **60 °C** pendant **3** minutes à **240 °C** pendant **5** minutes. La vitesse de programmation est de **3°C/min**. L'azote a été employé en tant que gaz vecteur à un débit de **1 ml/min**. Le volume injecté est de **0.2 µl**. en mode Split (**1:50**). La teneur relative de chaque composé a été obtenue par la méthode de normalisation par une intégration directe du pic chromatographique FID enregistré en considérant que le facteur de réponse de chaque constituant est égal à l'unité. Afin de déterminer les indices de rétention (**RI**) des constituants un mélange de n-alcane (**C₅-C₂₈**) a été injecté dans les mêmes conditions chromatographiques sur la colonne DB-5 et les indices des composés ont été calculés par l'équation de Van den **Dool et Kratz**.

II 7.2 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à spectrométrie de masse

L'analyse spectrale de l'huile essentielle *Thymus fontanesii* Boiss et Reut par **CPG-SM-IE** a été accomplie sur un appareillage de marque Thermo-Finnigan de type Trace CE-MS. Le chromatographe est équipé d'une colonne DB-5 (**30 m X 0.32 mm ; 0.25 µm** épaisseur du film). Le programme de température du four est **60°C** (3 min isotherme) jusqu'à **240°C** pendant **3** minutes. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de **1 ml/min**. La température de l'injecteur est **250°C**. Le spectromètre de masse fonctionnait en mode Impact électronique à **70 eV**. La température de la source était **250 °C** et la gamme de la masse de l'acquisition est **m/z 40-450**.

II 8. Identification des constituants

Les composés ont été identifiés en chromatographie en phase gazeuse par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux des produits de références connus dans la littérature sur la colonne DB-5 ou phase équivalente et par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des substances standards stockés dans la bibliothèque spectrométrique électronique (NIST) et avec ceux rapportés dans la littérature.

II 9. Paramètre organoleptiques des huiles essentielles

Les seuls critères d'application d'une huile essentielle étaient ses propriétés organoleptiques telles que le goût, la couleur, et l'odeur, ces propriétés ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence. La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées. Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale (AFNOR) en précisant les conditions opératoires des analyses, et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des HEs les plus courants. Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre HEs et comparé avec ceux de norme AFNOR (2000). (Guernoug, 2017)

Tableau-4 : Les paramètres organoleptiques de norme AFNOR (2000)

Caractéristiques	Normes (Afnor, 2000)
Aspect	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Jaune à brun rouge
Odeur	Epicée rappelant celle du thymol

II 10. Détermination de la matière sèche

La détermination de la matière sèche, dans nos échantillons, a été déterminée par le procédé de dessiccation à une température de **105_+2C** dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique pendant **24h** (AOAC, 1990,934.01). Nous avons pris **02g** de thym (**Linden et Lorient, 1994**).

$$\text{MS\%} = (\text{Pds Sec/Pds Frais}) \times 100$$

Pds Frais : poids de matériel végétal sécher à l'air libre.

Pds Sec : poids du matériel végétal après déshydratation.

MS : Matière sèche.

II 11. Calcul de rendement

Le rendement en huile essentielle est définit comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traité. (**Belyagoubi, 2006**).

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en HE (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après l'extraction (MHE) et la masse de la matière végétale utilisée (MS). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{R}_{\text{he}} (\%) = \text{M}_{\text{he}} / \text{M}_{\text{s}} \cdot 100$$

R : Rendement en extraits fixes en g/100g de matière sèche

M_{he} : quantité d'extrait récupérée exprimée en g ;

M_s : quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Les HES sont recueillies et conservées au réfrigérateur à **4°C** dans des bouteilles sombres pour les préserver de la chaleur. (**Karaoui, 2015**).

III .1 Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes algériennes, Huiles essentielles ; *Thymus fontanesii* Boiss & Reut par DOB Tahar (la montagne EL-Hawasse près de la ville de Djelfa) ;

III 1.1 Résultats et discussion :

L'huile a été obtenue par l'hydrodistillation des parties aériennes du *Thymus fontanesii* Boiss et Reut avec un rendement de **0.9 %** (moyenne de **5** extractions calculée sur base du poids sec de matériel végétal).

Le chromatogramme CPG-FID de cette huile essentielle sur colonne **DB-5** est représenté dans la (**figure 18**). Les résultats analytiques qualitatifs et quantitatifs (indice de rétention et teneur en pourcentage) obtenus par CPG et CPG-SM sont regroupés dans le **tableau-5**. Où les composés chimiques sont listés selon l'ordre de leur élution sur la colonne **DB-5**. Un total de **47** constituants représentant **98.5 %** de la totalité l'huile a été identifiée par leurs indices de rétention et leurs spectres de masse en impact électronique à **70 eV**. L'huile se compose principalement de monoterpènes oxygénés (**50, 5 %**). Le thymol (**29,3 %**) et le thymol méthyl éther (**11,4 %**) étant prédominants (**Figure 19**). Les monoterpènes hydrocarbonés s'élèvent à **41%** ; le γ -térpinène **21,7 %** et le p-cymène à **15,9 %**.

Étant les principaux composants. L'huile contient un pourcentage inférieur de sesquiterpènes, dans lequel les hydrocarbures forment **5,6 %** et sont représentés par le β -caryophyllène (**2,9 %**). Trente sept (**37**) constituants identifiés ont été détectés dans le domaine **0.7-0.1 %**.

Cependant, dans notre huile **47** composés représentant un pourcentage de **98.5 %** de la totalité d'huile ont été identifiés par CPG (indice de rétention) et CPG/SM mais quantifiés par CPG-FID.

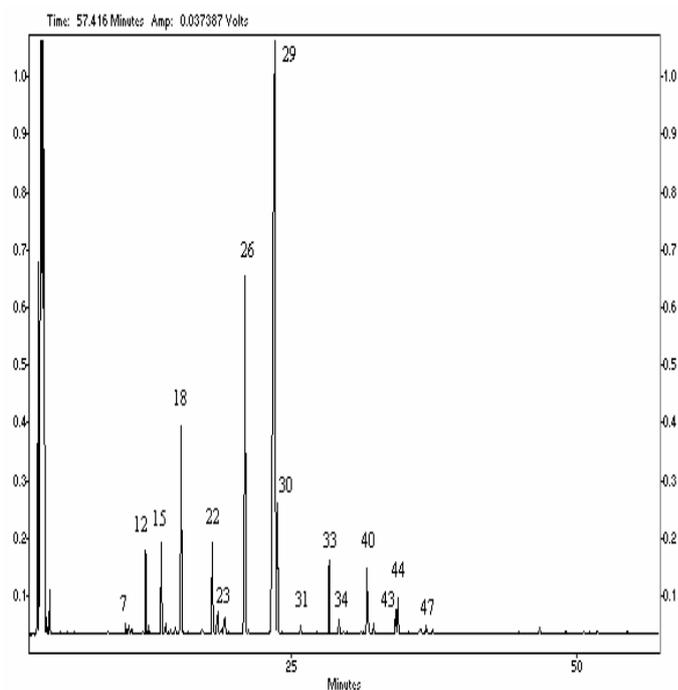


Figure 18 : Chromatogramme en CPG-FID sur colonne DB-5 de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*

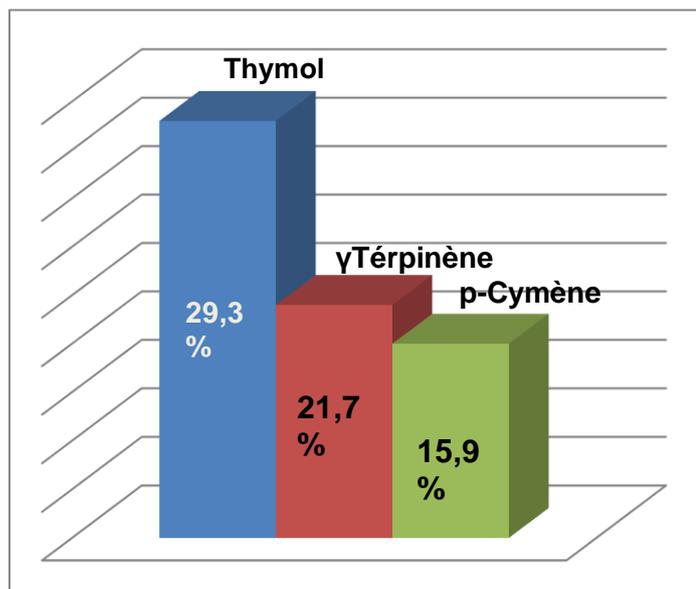


Figure19: Proportion des trois composés majoritaires de l'huile essentielle extraite de *Thymus fontanesii*

Tableau-5 : Composés chimiques identifiés dans l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut

N° du pic	Composés identifiés ^a	Indices de rétention (RI) ^b sur DB-5	(%) sur DB-5
1	Tricyclène ^{c,d}	918	0,5
2	α-Thujène	934	tr ^e
3	α-Pinène	939	0,3
4	Camphène	962	tr
5	Sabinène ^{c,d}	967	0,3
	1-Octen-3-ol		

6	3-Octanone	974	979	0,1
7	Myrcène	985		0,6 tr
8	α -Phellandrène ^{cd}	994		0,1
9	δ -3-Carène ^{c,d}	1001		Tr
10	α -Terpinène	1007		1,9
11	p-Cymène^f	1017		15,9
12	β -Phellandrène	1022		tr
13	1,8-Cinéole	1033		tr
14	γ-Térpinène	1052		21,7
15	cis-Sabinène hydrate	1058		0,3
16	Térpinolène ^{c,d}	1077		0,1
17	Linalool	1092		4,8
18	cis-Pinène	1125		tr
19	hydrate ^{c,d}	1135		tr
20	2-trans-Sabinol	1139		tr
21	Camphor	1158		1,9
22	Bornéol	1169		0,5
23	Térpinèn-4-ol	1177		tr
24	p-Cymène-8-ol			

25	α -Térpinéol	1188	0,2
26	Thymol méthyl éther	1229	11,4
27	Carvacrol méthyl	1234	0,1
28	Cymèn-7-ol	1276	tr
29	Thymol	1290	29,3
30	Carvacrol	1295	1,8
31	Eugénol ^c	1343	0,1
32	α -Copaène ^c	1360	tr
33	β -Caryophyllène ^{c,d}	1404	2,9
34	α -Humulène	1438	0,1
35	allo-Aromadendrène ^{c,d}	1446	tr
36	γ -Muuroène ^c	1462	tr
37	Germacrène D	1467	0,1
38	Bicyclogermacrène	1471	tr
39	Muuroène ^c	1484	0,7
40	(Z)- α -Bisabolène	1496	1,5
41	γ -Cadinène ^{c,d}	1510	0,2
42	δ -Cadinène ^c	1524	tr
43	Spathuléol	1565	0,2
44	Caryophyllène oxide ^c	1571	0,2
45	Viridiflorol	1590	tr
46	epi- α -Cadinol	1637	tr
47	α -Cadinol	1641	0,2

A. Kabouche, Z. Kabouche B. et C. Bruneau ;
 Flavour Frag. J., 2005,

III 2. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut faite par Farah HADDOUCHI et al (aux environs de Mostaganem) :

III 2.1 Matériel végétale utilisé :

La plante cueillie au mois de Février est séchée à l'ombre et à température ambiante entre **10** et **15** jours. Seules les feuilles sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.

III 2.2 Extraction de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* :

Les huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement en huile essentielle est estimé en fonction de la masse totale du végétal sec. Elles sont conservées à **4°C** et à l'abri de la lumière.

III 2.3 Analyse physicochimique de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* :

Ces analyses sont faites en conformité aux normes **A.F.N.O.R** Nous avons déterminé les:

- Caractères physiques : (densité, indice réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, point de congélation)
- Caractères chimiques : indice d'acide, indice d'ester, indice d'iode, indice de peroxyde.

III 2.4 Résultats et discussion

III 2.4.1 Teneur et propriétés organoleptiques :

L'huile essentielle de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante, a un rendement de **2%**. Ce rendement en huile obtenue à partir des feuilles, est considéré comme important par rapport à celui donné par **Dob et al. (2006)**, obtenu à partir des tiges et des feuilles (**0.9%**).

III 2.4.2 Indices physiques et chimiques :

Les résultats des analyses physiques et chimiques sont regroupés dans le **tableau-6**.

Tableau-6 : Indices physiques et chimiques de l'huile essentielle fraîchement extraite de *Thymus fontanesii*

<i>Les propriétés</i>	<i>Résultats</i>
Densité spécifique	0.9219
Indice de réfraction à 20°	1.4999
Pouvoir rotatoire	+3.4313
Miscibilité à l'éthanol à 95°	0.6V /1V
Point de congélation	< -20°
Indice d'acide	1.458
Indice d'ester	16.83
Indice d'iode	502.524
Indice de peroxyde	8000

III 3. Étude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Élaboration d'une forme pharmaceutique. Faite par Lilia MOUHI (les montagnes de Médéa) :

III 3.1 Matériel végétal :

La récolte de la partie aérienne a été réalisée au mois d'Avril **2013**. L'identification botanique de la plante a été réalisée au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (I'ENSA). La plante a été séchée au laboratoire à température ambiante, à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

III 3.2 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* :

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'HE du Thym extraite ont été notées. Toutes les méthodes d'analyse physiques et chimiques des HES extraites sont réalisées suivant la norme **AFNOR**.

III 3.3 Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* :

L'extraction des HES a été réalisée par hydrodistillation au moyen d'un appareil de type Clevenger (Clevenger, **1928**).

III 3.4 Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* :

L'élaboration du profil chromatographique de l'HE du Thym a été réalisée selon les normes **AFNOR**. Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un Chromatographe en Phase Gazeuse (CPG) à régulation électronique de pression.

III 3.5 Résultats et discussion :

III 3.5.1 Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques :

L'HE de *Thymus Fontansii* obtenue par hydrodistillation (dans les conditions optimales) a l'aspect d'un liquide visqueux, limpide de couleur jaunâtre, d'odeur aromatique et de saveur piquante. Les résultats des analyses physico-chimiques sont portés dans le **tableau-7** et comparés à la référence des données «**Normes AFNOR**».

Tableau-7 : Les résultats des analyses physico-chimiques

Propriétés	HE	Normes AFNOR
Densité de 20 à 25°C	0,938	0,915-0,935
Indice de réfraction à 20°C	1,502	1,490-1,504

On remarque que les moyennes des paramètres de l'échantillon entrent dans les fourchettes établis par les normes **AFNOR**.

III 3.5.2 Composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* :

Par cette analyse chromatographique, nous avons identifié **37 composés** qui représentent environ **95,9%** de la composition chimique de l'HE total de *Thymus fontanesii* (**Tableau-8**). La composition chimique est dominée par un composé majoritaire le Carvacrol (**66,3%**). L'isomère du Carvacrol, le thymol, est estimé à seulement **0,159%** de la composition. Ce qui permet de noter que l'HE de l'espèce de thym étudiée est à chémotype Carvacrol.

Tableau-8 : Composition chimique de l'HE de *Thymus fontanesii*

N°	Composés	RIb	(%)
Monoterpènes Hydrocarbonés			16.50
	α -Thujène		
1	α -Pinène	953	0.59
2	β - Pinène	958	1.62
3	Myrcène	983	0.22
4	α -Phellandrene	992	0.64
5	α -Terpinène	1004	0.09
6	p-Cymène	1116	0.38
7	Limonène	1029	6.27
8	γ -Terpinène	1031	0.54
9	Terpinolène	1064	6.06
10		1088	0.09
Monoterpènes Oxygénés			71.05
11	1,8-Cineole	1032	0.17
12	trans-Sabinène	1070	0.34
13	hydrate	1114	6.43
14	Linalool	1168	0.06
15	Borneol	1313	0.16
16	Thymol	1320	63.72
17	Carvacrol	1376	0.17
	Eugénol		

<i>Sesquiterpène</i>			3.95
<i>Hydrocarbonés</i>			
18	α -Gurjunene	1412	0.62
19	Caryophyllène	1424	1.17
20	Allo- aromadandrène	1461	0.18
21	Germacrène D	1483	0.49
22	β -Cubebène	1483	0.50
23	Bicyclogermac	1497	0.44
24	rene	1509	0.14
25	β -Bisabolène	1513	0.09
26	γ -Cadinène δ -	1523	0.20
27	Cadinène α - Caryophyllène	1541	0.12

<i>Sesquiterpène</i>			1.83
<i>Oxygénés</i>			
28	Spathulenol	1578	0.71
29	Caryophyllene	1583	0.30
30	oxide Ledol	1598	0.09
31	Tau-Cadinol	1639	0.34
32	β -Eudesmol	1649	0.12
33	α -Cadinol	1653	0.27
<i>Autres composés oxygénés</i>			2.00
34	1-Octen-3-ol	991	0.74
35	3-Octanone	993	0.19
36	3-Octanol	1002	0.28
37	Carvacrol, methyl ether	1244	0.67

La composition chimique de l'HE de l'espèce de thym étudiée est à forte prédominance de la fraction monoterpénique (p-cymène, γ -terpinène, linalool, α -pinène, etc...) par rapport à la fraction sesquiterpénique (β -Caryophyllène et α -Gurjunène). D'autre part, elle est caractérisée par de très fortes teneurs en monoterpènes oxygénés (**71,05%**), alors que les monoterpènes hydrocarbonés sont présents en faibles quantités (**16,50%**). L'huile essentielle de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante, a un rendement de **2 %**.

"DANS LES CIRCONSTANCES ACTUELLES VECU PAR NOTRE PAYS QUI CONSISTE AU CONFINEMENT DUE A (LA MALADIE DU CORONA CAUSE PAR LE VIRUS COVID-19), ON N'A PAS FOURNI UN TRAVAIL PERSONNEL DETAILLE DANS LES MESURE QU'ON A ESPERE ET VOULU, VU QU'IL N'Y AVAIT AUCUNE POSSIBILITE DE RECOLTE NOTRE ESPECE A L'ENDROIT PRECIS, NI DE L'EXAMINE "

La littérature traitant de l'analyse physico-chimique des huiles essentielles des plantes dans le monde est riche et varié. En Algérie, on entend beaucoup parler de travaux sur la valorisation des substances naturelles issues des plantes, en revanche, on ne trouve pas de travaux publiés pouvant servir de références quand à *Thymus fontanesii* Boiss & Reut.,. Face à la rareté des données bibliographiques relatives à l'étude phytochimique de cette espèce nous nous sommes trouvés dans la nécessité d'entreprendre cette étude.

Notre travail de mémoire de master visait à produire des connaissances scientifiques relatives aux ressources naturelles végétales de l'ouest algérien et à rechercher des voies de valorisation de ces dernières. Ainsi nous nous sommes intéressés à la caractérisation chimique d'huile essentielle de la plante de la région **Blida** *Thymus fontanesii*

A la lumière des résultats obtenus lors des études précédentes, nous pouvons constater que :

- L'extraction de l'huile essentielle faite par **Dob Tahar (la montagne EL-Hawasse près de la ville de Djelfa)** a donné un rendement de **0.9 %**. Son analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé **47 composés** dont le **Thymol** est le composant majoritaire avec (**29,3 %**) Le rendement en huiles essentielles de thym (2%) est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle.

- L'huile essentielle extraite par **Farah HADDOUCHI et al (aux environ de Mostaganem)** de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante, a un rendement de 2 %. Ce rendement en huile obtenue à partir des feuilles, est considéré comme important par rapport à celui donné par Dob et al. (2006), obtenu à partir des tiges et des feuilles (0.9%).

- l'analyse chromatographique, **Faite par Lilia MOUHI (les montagnes de Médéa)** a identifié **37 composés** qui représentent environ 95,9% de la composition chimique de l'HE total de *Thymus fontanesii* . La composition chimique est dominée par un composé majoritaire le **Carvacrol** (66,3%). L'isomère du Carvacrol, le thymol, est estimé à seulement 0,159% de la composition. Ce qui permet de noter que l'HE de l'espèce de thym étudiée est à chémotype Carvacrol.

L'huile essentielle du *Thymus fontanesii* a montré une variabilité dans sa composition chimique, selon la région géographique. On a constaté que le rendement en huile obtenue à partir des feuilles, est considéré comme important par rapport à celui obtenu à partir des tiges et des feuilles.

- Le contrôle de l'huile essentielle par les caractéristiques physiques et chimiques permet de mettre en évidence la qualité de cette huile et permet la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines, pharmaceutique et cosmétique et l'industrie agroalimentaire.

Finalement, l'objectif premier de cette étude a été atteint puisque le travail a contribué à caractériser et à évaluer les pouvoirs à usages divers de ces huiles essentielles.

Ceci amène à penser qu'il y a de nouvelles alternatives basées sur une meilleure utilisation de la biodiversité végétale. Ces créneaux ouvrent la voie à la transformation et à la promotion de produits issus de biotechnologies simples et accessibles.

AFNOR

S. Burt, « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 94, no 3, p. 223-253, 2004.

Morales, R. (2002) : « The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In E.Stahl-Biskup & F.Saez (Eds.). *Thyme : The genus Thymus*.

Amin. G, (2005) : « Popular medicinal plants of Iran ». Tehran, Iran : Tehran University of Medicinal Sciences Press.

H. H. Rassem, A. H. Nour, et M. Yunus, « Techniques for extraction of essential oils from plants: a review », *Aus J Basic Appl. Sci*, vol. 10, no 16, p. 117–127, 2016.

P. J. Marriott, R. Shellie, et C. Cornwell, « Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils », *J. Chromatogr. A*, vol. 936, no 1-2, p. 1–22, 2001.

P. Quézel et S. Santa, « Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales (Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, i 962) », i, vol. 6, p. 12.

Dorman H.J.D, et Deans S.G-Antimicrobial agents from plants :antibacterial activity of plant volatile oils-Journal of Applied Microbiology ;Vol. 88 ; N° 2, pp 308-316. 2000

Scholz Z, Molnar J, Hohmann J- Antimicrobial and antiplasmodial activities of essential oils-Fitoterapia ; Vol. 77 ; pp 279-285. 2006

Garnero J, 2002, Huiles essentielles, Techniques de l'Ingénieur, K 345-1 : 1.

Hart K.J., Yáñez-Ruiz D.R., Duval S.M., McEwan N.R., Newbold C.J., 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 147 : 8–35

Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94 : 223–253

Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 : 308–316

Dudareva N., Pichersky E., Gershenzon J., 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*. 135 : 1893–1902

Références Bibliographiques

- Delaquis R.J., Stanich K., Girard B., Massa G., 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 74 : 101--109
- Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. et al., 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. 30 : 338–343
- Combrinck S., Du Plooy G. W., McCrindle R.I., Botha B.M., 2007. Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. 99 (6) : 1111–1119
- Rai M. K. , Acharya D. et Wadegaonkar P. (2003) Plant derived-antimycotics: Potential of Asteraceous plants, In: *Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects*, Haworth press, N-York, London, Oxford. 165-1 85.
- Porter N. (2001) Essential oils and their production. *Crop & Food research*. Number 39.
- Belaïche P., (1979) traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. L'Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.
- Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V., 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 46 : 1914–1920.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Review MI-Biological effects of essential oils-A review *Food and Chemical Toxicology* ; Vol. 46 ; pp 446-475. 2008
- Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K., Nychas G.J.E., 2001. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. *Italian Journal of Food Science*. 13 (1) : 65–75.
- Sikkema J., Bont J.A.M., Poolman B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*. 269 : 8022–8028
- Ultee A., Kets E.P., Smid E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 4606– 4610
- Cox S.D., Mann C.M., Markam J.L., 2001. Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*. 91 : 492–497
- Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.L., 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragrance Journal*. 14 : 322–332.
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R., 2002. The phenolic

Références Bibliographiques

hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*.

Applied and Environmental Microbiology. 68 : 1561–1568

Gustafson R.H., Bowen R.E., 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal of Applied Microbiology*. 83 : 531–541

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90 : 2580–2595

Bruneton J, « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantesmédicinales, monoterpènes et sesquiterpènes ; TEC & DOC, 3^{ème} édition, pp 484-497. Lavoisier. Paris. 1997

Amlan K., Patra J.S., 2010. A new perspective on the use of plant secondary

metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71 : 1198–1222

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90 : 2580–2595

Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. et al., 2008. Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*. 145 : 209–228

Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F., Sangwan R.S., 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*. 34 : 3–21

Bouchra C, Achouri M, Hassani L.M.I, Hmamouchi M- Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: *Fr -Journal of Ethnopharmacology*; Vol. 89; pp 165-169. 2003

Dimitrijevic S.I, Mihajlovski K.R, Antonovic D.G, Milanovic-Stevanovic M.R, Mijin D.ZA study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L-*Food Chemistry*; Vol. 104; pp 774–782. 2007

Oussala M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M- Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat *Meat Science*; Vol.73; pp 236-244. 2006 40].Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H- Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus Xavus* in liquid medium and tomato paste- *Food Control*; Article in press. 2007

Valero M, Francés E - Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or

Références Bibliographiques

- thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth- *Food Microbiology*; Vol. 23; pp 68–73. 2006
- Billerbeck V-G- Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques – *Phytothérapie*; Vol. 5; pp 249–253. 2007
- Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*- *E-Gnosis* [online]; Vol. 4; N° 16. 2006
- Ouraini D, Agoumi A, Alaoui M.I, Alaoui K, Cherrah Y , Alaoui M.A , Belabbas M.A - Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparé aux antifongiques dans les Dermatoses mycosiques – *Phytothérapie*; Vol.1; pp 6–14. 2007
- Prabuseeninivasan S, Jajakumar M, Ignacimuthu S- In vitro antibacterial activity of some plant essential oils; *BioMed Central Complementart and Altemative Medicine*, Vol. 6, N° 39. 2006
- Domaracky M, Rehak P, Juhas Š, Koppel J - Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth and Development of Mouse Preimplantation Embryos In Vivo- *Physiol. Res*; Vol. 56; pp 97-104. 2007
- Inouye S, Abe S - Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse-*Phytothérapie*; Vol. 1; pp 2–4. 2007
- Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H- Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus Xavus* in liquid medium and tomato paste- *Food Control*; Article in press. 2007
- Bnmeton J, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, monoterpènes et Sesquiterpènes; TEC & DOC, 3eme édition, pp 484-497. Lavoisier. Paris. 1999
- A.Kabouche, Z. Kabouche et C. Bruneau; *Flavour Frag. J.*, 2005, 20, 235.)
- Alaoui-Jamali et al. 2016 ; Zeghib 2013. Etude comparative de l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces de Thymus originaires du sudou marocain. *Phytothérapie*. 1-7.
- Al-Bayati F. A. (2008). *Journal of ethno pharmacology*. 166 (3): 403-406.
- Alix Lefief-Delcourt., 2013. Les herbes aromatiques, c'est malin. Edition Quotidien Malin. P42. (Anonyme I, 2014)
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. (2008). *Food and Chemical Toxicology.*, 46: 446-475

Références Bibliographiques

- Bazytko A et Strzelecka H., 2007. *Fitotherapia.*, 78 : 391-395.
- Baser KHC and Buchbauer G., 2010. *Handbook of Essential oils : Science, Technology and Applications.* CRC Press. UK
- Bousbia N., 2011. *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires.* Thèse en co-tutelle en chimie, Université d'Avignon et Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger. Pp : 3-27.
- Bruneton J., 1993. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 2ème édition TEC&DOC-Lavoisier, Paris. Pp: 406-417.
- Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 2ème édition, Paris, Tec & Doc- Editions médicales internationales. P1188.
- Caballero B., Trugo RC., Finglas PM., 2003. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*, Academic Press, Amsterdam.
- Carrick J., 1977. *Studies in Australian Lamiaceae. Eichlerago, a new genus allied to Prostanthera.* J. Adelaide Bot. Gard. 1(2), 1977, 115-122.
- Cowan M. M. (1999). *Clinical microbiology reviews.*, 12 : 564-570.
- Dibong, S.D., Mpondo Mpondo, E., Ngoye A., Kwin M ,F.,Betti J.L. (2011). *Journal of Applied Biosciences* 37: 2496 – 2507
- Dop T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C., 2006. *Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of Thymus algeriensis Boiss. et Reut.* Int J Aromather 16: 95–100.
- Elqaj M., Ahami A. , Belghyti D. (2007). *La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires.* Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- Essawi, T. et Srour, M. (2000). *Journal Of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
- Fordin D. G., 2001. *Guide to standard floras of the world*, ed. 2, 1. P1100.
- Franchomme, P.; Pénéol, D. (1990). *L'aromathérapie exactement.* Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p
- Garnier G., Bezanger-Beauquesne I., Debraux G., 1961. *Ressources médicinales de la flore française.* Tome II, Ed. Vigot Frères, Paris.
- Gherman C, Culea M, Cozar O. (2000). *Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS.* 53 :253-62
- HUSSAIN A I (2009). *Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae.* Doctorale thesis, Pakistan ; 257p.

Références Bibliographiques

- Hyldgaard M., Mygind T., Meyer RL., 2012. Essential oils in food preservation : mode of action, synergies and interaction with food matrix components. *Frontier in Microbiology* 3: 1-24.
- Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina Salinas G. et Said-Fernández S. (2006). *Pharmacologyonline.*, 3 : 569-574.
- Jorg Grunwald et Christof Jancke., 2004. *Guide de la phytothérapie*. Edition Marabout. 416
- Judd WS., Campbell CS., Kellogg EA., Steven PF., 2002. *Botanique systématique: Une perspective phylogénétique*. Traduction et révision scientifique de la 1ère édition américaine par Jules Bouharmont et Charles-Marie Evrard. De Boeck Université. 467 p.
- littérature H. Van den Dool et P. D. Kratz; *J. Chromatogr.*, 1963, 11, 463.
- Mann J., 1987. *Secondary metabolism*, 2ème édition, Ed., Oxford, Clarendon Press.
- Marino M., Bersani C., Comi G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*. 67: 187– 195.
- Mebareki L., 2010. Analyse comparative de la diversité génétique et de la structure des populations chez l'orge (*Hordeum vulgare* L) marqueurs SSR, DArT et du pedigree.
- Morales R., 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: *Thyme: the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. P 1-43.
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., Ignacimuthu, S. (2006). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:43 doi:10.1186/1746-4269-2-43
- Naghibi et al., 2005). Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A. (2005). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): 63-79
- Newmann D. et Cragg G.M (2007). *Journal of Natural Products*; 70: 461-477.
- Quezel P et Santa S., 1963. *Nouvelle flore d'Algérie régions désertiques méridionales*. CNRS paris. France. P 806.
- Elisabeth Stahl-Biskup et Francisco Saez., 2002. *Thyme. The genus Thymus*. Taylor et Francis. London and Newyork. P 19-21.
- Selmi S. et Sadok S. (2008). *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45.
- Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T., 2004. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68 (5): 1113- 1134.
- Thompson John., Charpentier Anne., 2009. *Le thym de basin de saint-Martin de londres: une diversité de chémotypes à préserver et valoriser*. Centre d'écologie fonctionnelle et evolutive, Monte pellier. P3. H. Van Den Dool et P.D. Kratz. *J. chromatogr.*, 1963, 11,463.

Références Bibliographiques

Zhiri. A et Baudoux D (2005). Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Development, rue Goethe, 1 - L-1637 Luxembourg.

Asgar et al (2014). Chemical Composition and Acaricidal Effects of Essential Oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae).

Bazytko et Strzelecka, (2007). *Fitoterapia.*, 78 : 391-395.

Benabid (2000). Flore et écosystème du Maroc: évaluation et présentation de la biodiversité Ibis Press. Paris. P 357.

Benini (2007). Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109 p.de Toulouse (236).

Brenes et Roura (2010). *Food Res. Intern.*, 2005, 38, 1205.

Bouhdid et al(2006), BENABID (2000). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement*, Congrès International de biochimies, Agadir. 324-3271