



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ «ABBÈS LAGHROUR» DE KHENCHÉLA
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE



Département Sciences de la matière

N° de série :.....

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)

Spécialité : *Chimie du solide.*

Option : *Chimie et physique de la matière condensée. .*

*L'huile essentielle de thym : Extraction, activité
antibactérienne et aromathérapie*

*Réalisé par : -Kassah Souaad
-Sabeg Ikram*

Dirigé par : Dr. BENALI .CHERIFE Rim

Membres de jury :
Président : Djebaili Kenza
Examinatrice : Badis Zakaria

Présenté le

REMERCIEMENTS

Au Nom de DIEU le Très Miséricordieux, le Tout Miséricordieux, Que Dieu bénisse le Prophète Mouhammad, Imam des Bienheureux et Sauvegarde des Purifiés ainsi que Sa Noble

Famille et ses Satisfaisants compagnons- Amin.

Je rends grâce à Allah le Tout Puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

*Recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordés tout au long de ce travail. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse madame. **BENALI .CHERIFE Rim***

Ms Badis Zakaria et Mme Djebaili Kenza, de nous avoir fait l'honneur d'être examinatrices et de participer au jury de ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude pour le temps précieux que

Vous consacrer pour juger ce travail.

Un grand merci également tous les enseignants de département "Sciences de la matière" Spécialité: Chimie de L'Université Abbas Laghrour de Khenchela.

Nous souhaitons remercier de tout le cœur nos parents, qui nous ont toujours soutenue et qui ont toujours été fiers de nous. C'est grâce à vous que nous sommes ici aujourd'hui, merci pour tous les efforts que vous avez fournis.

Nous remercions en fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribué de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.

Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde mes chers parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras.

A la plus chère au monde ma mère qui a toujours m'encouragé durant mes études.

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

-Mes très chers frères Farid, Abd alghani et Zahraddine

-Mes très chères sœurs Khamesa, Hadjla, Nasira, et Yasmine, Wahiba, Gomra

Aux enfants de mes frères

A tous mes amis (es) particulièrement : Ikram, Safa, Hedjer, Aycha, Wafa, Amina et mes collègue .

A tous ceux qui sont dans mes pensées et que je n'ai pas cités .

Je dédie ce modeste travail

A toute ma famille

Souaad

Dédicace

A mes très chers parents, sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amour et leurs encouragements durant toute ma vie, Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers des parents exceptionnels dont j'ai la fierté d'être la fille.

A mon binôme Souaad Kessah avec qui j'ai partagé les bons et

les durs moments

A mes précieuses sœurs Yusra et Nada ERayhan pour leurs soutiens

morals et leurs aides merci d'être là pour moi.

A mon mari Rzki qui a toujours été présent à mes côtés

*A tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont
apporté leur soutien.*

Ikram

ملخص:

إن الهدف من عملنا هذا هو استخلاص الزيت من نبتة الزعتر واختبار أنشطة البيكتريا المضادة من نبتة الزعتر للزيت الاساسي لنبتة الزعتر (thym vulgaris) مع استظهار العلاج العطري لهذا الزيت والدراسة الهيكلية لعنصر thymol تتراوح اقطار كبح نمو البيكتيريا من 22, 79 الى 72,79 مم بالنسبة للمستخلص الزيتي للنوع thymus vulgaris.

Résumé

Le but de notre travail est d'extraire l'huile de la plante de thym et de tester les activités antibactériennes de la plante de thym sur l'huile essentielle de la plante de thym (thym vulgaris), avec une revue du traitement aromatique de cette huile et une étude structurale du thymol.

Le diamètre de la suppression de la croissance bactérienne varie de 22,79 à 72,79 mm pour l'extrait d'huile de Thymus vulgaris.

Tables des Matières

Table des matières

TABLE DES MATIERES

Liste des tableau et des figure	
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIOBS	
TABLE DES MATIERES	
INTRODUCTION GENERAL.	
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I :Le thym, matière végétale	
Introduction.....	02
I .Caractéristiques botanique	06
I.1.Description	06
I.2.Propriétés du thym.....	06
II. Indications thérapeutiques usuelles.....	07
III. Autres indications thérapeutiques démontrées.....	08
IV. Intérêt thérapeutique.....	08
Posologie et mode d'utilisation.....	08
V. Caractéristique du thym.....	09
VI. Valeurs nutritionnelles.....	09
VII. Classification.....	10
VIII. Distribution géographique.....	11
VIII.1.Dans le monde.....	11
VIII.2.En Algérie.....	11
IX. Phytothérapie – Principes généraux.....	12
Thymus vulgaris.....	12
X.UTILISATION DU THYM.....	14
X.1.Utilisation du thym en générale.....	14
X.2.L'utilisation du thym en phytothérapie.....	15
Conclusion.....	16
CHAPITRE II : Les huiles essentielles	
PARTIE 1 :Généralités sur les huiles essentielles	
INTRODUCTION.....	18
I. Qu'est-ce qu'une huile essentielle?.....	20
II. Répartition et localisation des huiles essentielles	20

Table des matières

III.	Propriétés des huiles essentielles.....	21
IV.	Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	21
V.	Groupes chimiques des HE.....	21
VI.	Composition chimique générale.....	22
VII.	Conservation des huiles essentielles.....	23
VIII.	Emploi des huiles essentielles.....	23
IX.	Rendement des huiles essentielles.....	24
X.	Constitution d'une huile essentielle.....	24
XI.	Utilisation des huiles essentielles.....	25
	1) En industrie agro-alimentaire.....	25
	2) Aromathérapie.....	26
PARTIE 2 : Procédés d'extraction des huiles essentielles.		
INTRODUCTION.....		28
I.	Expression à froid.....	28
	1) Extraction par solvants volatils.....	28
	2) Extraction à l'eau surchauffée.....	29
	3) Extraction par le CO ₂ à l'état supercritique.....	30
	4) L'hydro-distillation.....	31
	5) Entraînement à la vapeur d'eau.....	32
	6) Extraction assistée par micro-onde.....	33
	7) Extraction au moyen de solvants.....	34
	8) Extraction par solvants fixes.....	34
	a) Enfleurage.....	
	b) Macération.....	
	c) Extractions des produits actifs.....	
II.	Les méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	36
	1. Chromatographie sur couche mince.....	37
	2. Chromatographie en phase gazeuse.....	38
	3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)	38
	4. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	39
	5. La spectroscopie infrarouge.....	39
	6. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN.....	39

Table des matières

PARTIE 3 : L'huile essentielle de Thym	
I. Histoire de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.....	42
II. <i>Huile essentielle du thym</i>	42
1. <i>Thymol</i>	
III. Toxicité des huiles essentielles.....	45
IV. Evaluation de la toxicité par contact de l'huile essentielle de thym.....	45
V. Propriétés de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.....	46
VI. Indications de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.....	47
VII. Utilisation de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol	48
VIII. Choisir une bonne huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol	50
IX. Composition biochimique.....	50
X. Caractéristiques physiques.....	50
XI. Caractéristiques organoleptiques...	50
Conclusion	51
CHAPITRE III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles	
Partie 1 :L'activité antibactérien	
Introduction	54
I .Bactéricide et bactériostase.....	54
II .Activité antibactérienne.....	55
II.1.Choix des souches.....	55
II.2.Aromatogramme.....	55
II.3.Détermination des concentrations minimales inhibitrices etdes concentrations minimales bactéricides...	57
III .role de la méthode dans la détermination de l'activité.....	59
IV. Association d'huiles essentielles.....	59
Partie2 : Les activités biologiques des huiles essentielles.	
V. Les activités biologiques des huiles essentielles.....	61
V.1.L'activité antioxydante.....	61
V.2.L'activité antivirale.....	61
V.3.L'activité antiseptique.....	61
V.4.L'activité antiparasitaire.....	61
V.5.Activité antimicrobienne.....	62

Table des matières

V.5.1. Activité antibactérienne.....	62
V.5.2. Activité antifongique.....	63
VI. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	65
VII. Souches bactériennes utilisé.....	65
VII.1 .Escherichia coli.....	65
VII.2. Staphylococcus aureus.....	66
VII.3. Pseudomonas aeruginosa.....	66
VII.4. Listeria.....	67
VIII. Les facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles	68
VIII.1. L'activité liée à leur composition chimique.....	68
VIII.2. Le type de bactérie ciblé.....	68
VIII.3. Le mode d'action des huiles essentielles.	68
Conclusion.....	70
Partie 3 : Aromathérapie des huiles essentielles	
Introduction.....	72
I .Aromathérapie.....	72
II. Chémotype ou chimiotype.....	73
III .Généralités.....	75
IV .Les applications thérapeutiques de l'aromathérapie.....	76
V .L'aromathérapie en pratique.....	77
V.1. L'aromathérapeute et l'aromatologue.....	77
Conclusion.....	78
CHAPITRE IV :Etude structural du thymol	
Introduction	80
I. Caractéristiques générales.....	81
I.1. Généralités sur les monoterpènes à fonction phénol.....	81
I.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	82
I.3. Etude structurale du thymol.....	83
a) Données cristallographiques.....	84
B) Description de la structure.....	85

Table des matières

C) Analyse de la surface de Hirshfeld.....	
Conclusion.....	99
Partie expérimentale.....	90
Chapitre V :Matériels et méthodes	
I. Préparation et analyses physico-chimiques des extraits du <i>thymus. Vulgaris</i>	93
I.1. Matériels.....	93
I.1.1. Matériels végétaux.....	93
I.1.2. Appareillage.....	93
I.1.3. Produits et réactifs chimiques.....	93
I.2. Méthodes.....	93
I.2.1. Séchage de plante.....	93
I.2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	94
I.2.3. Extraction des huiles essentielles.....	95
I.2.4. Rendement.....	96
I.2.5. Caractérisation des huiles essentielles.....	97
I.2.5.1. Caractérisation organoleptique.....	97
I.2.5.2. Détermination des propriétés physico-chimiques	97
I.2.5.2.1. Les propriétés physiques	97
I.2.5.2.2. Propriétés chimiques	98
I.2.6. Préparation de l'extrait aqueux	100
II. Etude de l'activité antibactérienne et prébiotique	101
II.1.Matériel.....	101
II.1.1. Matériels biologiques.....	101
Les bactéries sélectionnées...	101
II.1.2. Les milieux de culture.....	102
II.1.3. Les réactifs chimiques et autres matériels...	103
II.2. Méthodes.....	103
II.2.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées	103
II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes	103
II.2.2.1. Préparations des prés cultures.....	103
II.2.2.2. Préparations des cultures jeunes.....	103
II.2.2.3. Ajustements de la concentration bactérienne.....	103

Table des matières

II.2.3. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux.....	104
II.2.3.1. L'aromatogramme.....	104
II.2.3.2. Méthode de microdilution en milieu solide (détermination des CMI)...	105
II.2.3.3. Test de synergie.....	106
II.2.4. L'antibiogramme.....	107
II.2.5. L'activité prébiotique.....	107
Chapitre VI :Résultats et discussions	
Introduction.	109
I. Préparation et analyses physico-chimiques des extraits de <i>T. vulgaris</i>	11
I.1. Détermination de la matière sèche et de l'humidité.....	110
I.2. Rendement en huile essentielle.....	110
I.3. Caractérisation des huiles essentielles.....	111
I.3.1. Caractéristiques organoleptiques.....	111
I.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	112
II. Étude de l'activité antibactérienne et prébiotique.....	114
II.1. L'activité antibactérienne.....	114
II.1.1. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de plante sélectionnée.....	114
II.1.2. L'antibiogramme.....	116
II.1.3. Les tests de synergies.....	117
II.1.3.1. La synergie des huiles essentielles.....	117
II.2. L'activité prébiotique.....	118
Conclusion.....	121

Table des matières

Liste des tableaux

Tableau. 1. Les valeurs nutritionnelles de 100g de thym	09
Tableau 2. Classification botanique du thym.....	10
Tableau. 3. Localisation des principales espèces du thym en Algérie ...	12
Tableau. 4. Utilisations traditionnelles du thym...	15
Tableau. 5. les principaux composants des huiles essentielles.....	22
Tableau.6. Composition de l'huile essentielle de quelques espèces du thym.....	43
Tableau .07. Concentration minimale d'inhibition (CMI) des composants de l'huile essentielle des plantes.....	58
Tableau .08. Caractéristiques physico-chimiques du thymol...	83
Tableau. 09. Données cristallographiques et conditions d'enregistrement du thymol	85
Tableau. 10. Liste des souches microbiennes testées	101
Tableau. 11 . Caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles.....	112
Tableau.12. Caractéristiques physico-chimiques de nos huiles essentielles.....	113
Tableau.13. Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>T. Vulgaris</i>	114
Tableau .14. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques	116
Tableau .15 . Résultats du test de synergie entre l'huile essentielle de <i>T. Vulgaris</i>	117
Tableau. 16. Résultats de l'activité prébiotique des extraits de <i>T. Vulgaris</i> ...	119

Table des matières

Liste des figures

Figure. 1. De gauche à droite ; Thym violet (Thym serpolet couché, Thym précoce), Thym blanc (Thymus vulgaris) et Thym rose (Thymus vulgaris)	06
Figure. 2. De droite à gauche ; Thym n infusion, en décoction, et en poudre.....	09
Figure.3. Distribution du genre thymus dans le monde.....	11
Figure. 4 . La cueillette du thym sauvage ou Zaâtar (Batna).....	12
Figure.5. L'extraction par solvants volatil	29
Figure .6. Extraction à l'eau surchauffée	30
Figure. 7. Extraction par CO2 supercritique.....	31
Figure.8. Schémas des étapes de l'hydrodistillation.....	32
Figure .9. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	33
Figure .10. Extraction assisté par micro-onde.....	34
Figure .11. Procédé d'enfleurage.....	35
Figure .12. La macération.....	36
Figure .13. Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM.....	38
Figure .14. La structure du thymol.....	44
Figure.15. Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la durée d'extraction de l'HE du thym.....	44
Figure.16. Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri.	56
Figure.17. Evaluation de bactéri.....	65
Figure.18. la bactérie Escherichia coli.....	66
Figure.19. la bactérie Staphylococcus aureus.....	66
Figure.20. la bactérie Pseudomonas aeruginosa...	67
Figure.21. des plantes.....	76
Figure.22. Phénol.....	81
Figure.23. Structure des composés volatils à fonction phénol.....	81
Figure .24. Cristaux de thymol et observation d'un cristal au microscope optique	82
Figure. 25. La structure du thymol.....	83
Figure. 26. Résultat de la recherche sur le composé 2-Isopropyl-5-methylphenol « thymol » effectuée sur la CSD.....	84
Figure. 27. Maille Hexagonal du 'thymol' contenant 18 molécules	86
Figure .28. Cycle R_6^6 (12) formé via l'interaction forte O-H...O....	87

Table des matières

Figure.29. Empilement cristallin de la structure du thymol montrant la formation d'hexamères.	87
Figure.30. La SH autour du thymol montrant la présence d'une seule tache rouge sur la surface.	88
Figure.31. La molécule environnante la surface de Hirshfeld du thymol...	88
Figure32. Tracés d'empreintes digitales 2D du thymol montrant le pourcentage des différents contacts contribuant à la surface totale de Hirshfeld....	89
Figure. 33. La plante <i>Thymus. Vulgaris</i> ...	94
Figure. 34. Les feuilles sèches de <i>Thymus. Vulgaris</i> ...	94
Figure. 35. Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	95
Figure. 36. Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger...	96
Figure .37. Broyage des feuilles.....	101
Figure .38. Filtration sur le coton.....	101
Figure .39. Filtration sur le papier filtre.....	101
Figure .40. Principe de la méthode de diffusion par disque.....	104
Figure .41. Exemple pour la lecture de l'aromatogramme.....	105
Figure .42. Teneur en matière sèche et en humidité de plante étudiée...	110
Figure.43. Rendement en huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	111
Figure. 44. Le huile essentielle de plante <i>T.vulgaris</i>	112

Table des matières

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ORL :oto-rhino-laryngologie

L'OMS : Organisation mondiale de la santé

g :Gramme

VMHD : Vacuum Microwave Hydrodistillation

CCM : Chromatographie sur couche mince

UV :ultra-violet

R_f : référence frontale

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

SM : spectrométrie de masse

Ir : indices de rétention

CLHP : chromatographie liquide à haute performance

FTIR :La spectroscopie infrarouge

RMN : La Résonance Magnétique Nucléaire RMN

H :Heure

α :Alpha

β :Beta

γ :Gamma

δ :Sigma

q :Para

% :Pourcentage

° :Degré

°C : Degré Celsius

cm :Centimètre

Kg :Kilogramme

L :Litre

m :Mètre

mg:Milligramme

ml :Millilitre

μL :Microlitre

% :Pourcentage

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : concentration minimale bactéricide

ATCC : American Type Culture Collection.

Table des matières

HE : Huile essentielle.

ATP : Acide adénosine-triphosphate

T. vulgaris : *Thymus vulgaris*

µm : micromètre

DMSO : Diméthylsulfoxyde

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre.

Kp : Klebsiella pneumonia

Lm : Listeria monocytogenes

Pm : Proteus mirabilis

Pa : Pseudomonas aeruginosa.

St : Salmonella typhimurium

Ec : Escherichia coli

Sa : Staphylococcus aureus

Bs : Bacillus subtilis.

Ss : Serratia sp.

Introduction Générale

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis les temps les plus anciens, l'Homme a appris à utiliser les ressources végétales que le monde lui offre pour ses besoins élémentaires; pour se nourrir, se soigner et même parfois dans ses rites religieux en ramassant tout d'abord les racines, les feuilles, les graines et les fruits sauvages, en se consacrant ensuite à la culture des espèces.

L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle, que sont les plantes, est l'extraction de leurs huiles essentielles; produits connus et utilisés par les égyptiens, les perses et les grecs, pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

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

Les infections microbiennes quant à elles, demeurent des affections graves et leur fréquence ne cesse d'augmenter .Par ailleurs, l'usage extensif des antibiotiques dans la médication humaine et dans l'élevage des animaux a conduit à la sélection des souches microbiennes résistantes

Ce phénomène de résistance des bactéries aux antibiotiques se développe de plus en plus de manière quasi universelle. Il devient donc primordial d'orienter les recherches vers des agents thérapeutiques efficaces et avec le moins d'effets secondaires possible. Ainsi, les extraits issus des végétaux commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet de multiples études pour leur éventuelle utilisation comme alternative dans le traitement des maladies infectieuses

C'est dans ce contexte qu'une investigation s'est portée sur *Thymus. vulgaris* plante issue de la médecine traditionnelle Algérienne a été entreprise. Ce plante à été choisie en fonction de leur emploi très fréquent en Algérie et leur efficacité dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses.

Introduction Générale

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'huile essentielle et l'activité antibactérienne et prébiotique de l'extrait de *Thymus. vulgaris* sur les bactéries pathogènes et les bactéries lactiques. Nos objectifs spécifiques seront concentrer sur :

- L'extraction des huiles essentielles et des extraits aqueux de *Thymus.. vulgaris*
- L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits sur neuf (09) souches bactériennes pathogènes;

Pour illustrer ces objectifs, notre étude sera structurée en deux grandes parties. Dans la première partie, une revue bibliographique va mettre en exergue quatre chapitres. Le premier chapitre abordera les plantes médicinales et aromatiques y compris la description botanique de thym espèce végétale étudiée, le deuxième sera consacré aux huiles essentielles de façon générale, l'activité antibactérienne et l'aromathérapie des huiles essentielles du troisième chapitre, et l'étude structurale de thymol Dans le quatrième chapitre.

La partie expérimentale quant à elle sera subdivisée en deux chapitres, le premier présentera les matériels et les méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude, à savoir :

- La préparation et les analyses physico-chimiques des extraits de *Thymus. vulgaris*
- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation ;
- L'extraction des extraits aqueux par la technique de la décoction ;
- L'étude de l'activité antibactérienne et prébiotique des extraits par la méthode de l'aromatogramme.

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

*REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE*

Chapitre I :

Le thym, matière végétale



Chapitre I : le thym, matière végétale

Introduction.

Les végétaux furent pendant des millénaires utilisés pour combattre les maladies. L'un des premiers « ouvrages », traitant de leurs propriétés, a été rédigé en Chine, environ 1 500 ans avant J.-C., intitulé Pen Tsao. Les plantes aromatiques étaient brûlées, ou mises à infuser ou à macérer dans des huiles végétales[1]. Les huiles essentielles, issues de ces plantes, servaient depuis très longtemps, aussi bien pour honorer les pharaons d'Égypte que pour parfumer le corps au temps où les salles de bains et l'eau courante n'existaient pas encore, dans le but de camoufler les mauvaises odeurs corporelles, surtout à la cour du roi Louis XIV.

Pendant la période où la peste fit des ravages à Marseille (1720), le fameux « vinaigre des quatre voleurs », constitué d'un mélange de vinaigre de cidre et de plusieurs plantes aromatiques (ail, camphre, cannelle, clous de girofle, lavande, menthe, romarin, sauge, thym) permit à quatre voleurs, après s'être enduits le corps de cette préparation, d'entrer dans les maisons, pour cambrioler, sans être inquiétés par l'épidémie. Ils étaient immunisés contre ce fléau[2]

Dans l'antiquité, la botanique n'était qu'une branche de la médecine : les plantes n'étaient alors étudiées qu'en fonction de leurs propriétés [3]. Parmi les plantes : le thym, il provient du mot grec « *thymos* » qui veut dire odeur. A ce titre, le thym est utilisé en qualité de plante aromatique[4].

Le thym est un petit arbrisseau, formé de touffes compactes de 10 à 30 cm de hauteur. Ses tiges sont ramifiées, sessiles, petites et étroites de forme lancéolée, de couleur bleu vert. Les fleurs réunies en épis au sommet des branches ont un calice tubuleux se terminant par deux lobes. Le lobe inférieur comporte deux dents allongées et une corolle également tubuleuse et bilabée dont la lèvre supérieure est entière et la lèvre inférieure découpée en trois petits lobes. Le fruit est formé de quatre akènes marrons et presque ronds [5].

Le thym commun (*Thymus vulgaris*) a été utilisé avec d'autres plantes pour embaumer les morts. Il était utilisé dans la Grèce antique pour stimuler le courage et l'élégance. Au Moyen Âge, il était cultivé dans les jardins des monastères. Aujourd'hui, dans la garrigue provençale, le thym constitue la friandise des lapins, il les accompagne aussi, délicieusement dans les civets.

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *thymus* de la famille des *Lamiacées* ou *Labiées*,

Chapitre I : le thym, matière végétale

comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [6]. 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 1.

I. Caractéristiques botanique

I.1. Description

Les thyms (Thymus) sont des plantes basses sous -ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose [7].



Figure. 1. De gauche à droite ; Thym violet (Thym serpolet couché, Thym précoce), Thym blanc (Thymus vulgaris) et Thym rose (Thymus vulgaris)

I.2. Propriétés du thym

Célèbre depuis l'Antiquité, le thym est incontournable pour soigner en douceur les petits maux de l'hiver, notamment les problèmes ORL, mais aussi pour favoriser une bonne digestion. Utilisé frais ou sec dans l'alimentation comme en tisane, ou sous forme d'huile essentielle, ce condiment étonne par sa polyvalence.

Assaisonnement des boissons et des aliments ; Désinfectant dermique, antiseptique 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 vermicides. Propriétés antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes

Chapitre I : le thym, matière végétale

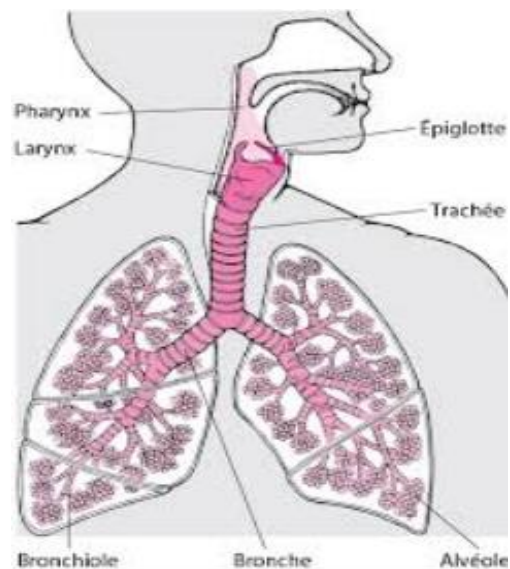
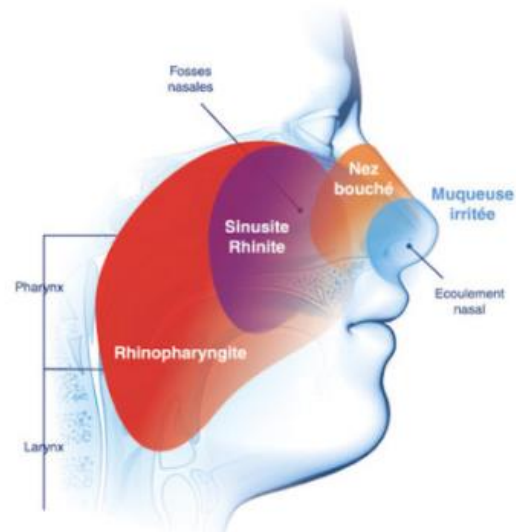
de thymusinhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) propriétés antioxydantes en raison de ses propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage.[8]

II. Indications thérapeutiques usuelles

Désinfectant de la sphère ORL

L'Allemagne a créé en 1978 une commission dédiée à l'évaluation des remèdes de phytothérapie, la «Commission E». Cette commission a reconnu au thym une efficacité dans le traitement des symptômes de la bronchite, de la coqueluche et de l'inflammation des voies respiratoires. L'OMS, quant à elle, mentionne les usages du thym pour traiter la dyspepsie et certains troubles gastro-intestinaux, mais aussi la laryngite et l'amygdalite.

Ses vertus antiseptiques en font un très bon agent assainissant de la **sphère ORL et des bronches**. À prendre d'urgence en cas de laryngite, rhinite, sinusite, bronchite, toux... Le thym est souvent aussi d'un grand secours pour les asthmatiques, chez qui il aide à dégager les voies respiratoires et à calmer les quintes de toux. Dans ces cas de figure, vous pouvez soit prendre du sirop de thym ou vous faire une tisane dans les règles de l'art.



Chapitre I : le thym, matière végétale

III. Autres indications thérapeutiques démontrées.

Depuis quelques décennies, les propriétés anti-âge et antioxydante du thym ont été mises en avant par les scientifiques. Certaines variétés de thym, dont le thym à paracymène, sont utilisées afin de soulager les affections ostéo-articulaires telles que les rhumatismes ou l'arthrose[8].

IV. Intérêt thérapeutique

Le thym rétablit la circulation énergétique dans tout le corps, tempère les réactions excessives. Il agit sur l'hypophyse et le thymus qu'il rééquilibre et réharmonise, lorsqu'il y a eu désaccord interne, notamment pendant et après un accouchement difficile (césarienne, par le siège) et dans toute transformation de vie. Il équilibre le spirituel et la matière dans l'être, éperonne l'esprit, aiguise l'âme, encourage le corps. Il aide l'être à lâcher, à ne plus se retenir au passé, à ce qui s'est passé hier. Tonique général et nerveux, Je thym apaise la mélancolie, donne du courage, du dynamisme, de la résistance physique, un esprit d'entreprise, de la créativité. Ses propriétés curatives sont nombreuses : apéritif, vermifuge, digestif, antiviral, antirhumatismal, antiseptique stimulant, Je thym couvre bon nombre de pathologies allant des problèmes intestinaux (notamment en cas de parasites : action vermifuge) aux ballonnements, de l'aérophagie aux infections broncho-pulmonaires (bronchite) et de la poitrine, des diarrhées dues à l'humidité, des catarrhes au mal de gorge (en gargarisme). Il est également fort utilisé dans l'asthénie, l'anémie et l'atonie intestinale. C'est aussi un très bon spasmolytique, apaisant de la toux (coqueluche, emphysème, toux asthmatiforme). Sudorifique, antibactérien, bactéricide, il a une action efficace dans les problèmes cutanés : il resserre les pores de la peau (application locale de l'eau de la décoction) ; en application locale sur les petites plaies, il désinfecte les écorchures. Il soulage la douleur des piqûres d'insectes. Galactogène, il favorise la sécrétion de lait chez les jeunes mères.

Posologie et mode d'utilisation

De 10 à 15 g par jour.

En poudre, en décoction.

En décoction : faire bouillir 5 à 10 minutes.

En infusion : une petite branche de thym pour 1 grande tasse d'eau; faire infuser 5 minutes.

Chapitre I : le thym, matière végétale



Figure. 2. De droite à gauche ; Thym n infusion, en décoction, et en poudre

V. Caractéristique du thym :

- Antioxydant ;
- Source de fer ;
- Source de vitamine K ;
- Source de vitamine C ;
- Prévient les maladies cardio-vasculaires.[8]

VI. Valeurs nutritionnelles

Pour 100g de thym :[8]

Tableau 1 : Les valeurs nutritionnelles de 100g de thym.

Nutriments	Quantités
Protéines	5.5 g
Lipides	1.68 g
Glucides	10.5g
Eau	65.1 g
Vitamine C	160 mg
Calcium	405 mg
Potassium	609 mg
Fer	17.5 mg
Manganèse	1.72 mg
Fiber	14 g

Chapitre I : le thym, matière végétale

VII. Classification

Tableau 2. Classification botanique du thym.

Règne	Plantae :végétal
Type	Plante aromatique
Famille	Lamiacées
Origine	Bassin méditerranéen
Saison	Saison :juin à septembre
Couleur	Verte
Saveur	Prononcée
Order	Lamiales
Genre	Thymus
Espèce	Thymus vulgarise

Nom scientifique :Thymus vulgaris

Nom commus :Thymus, thym commus

Non anglais :Thyme

Classification botanique : famille des lamiacées (lamiaceae)

Formes et préparions : infusion, huiles essentielles, sirops et teintures.[9]



Chapitre I : le thym, matière végétale

VIII. Distribution géographique

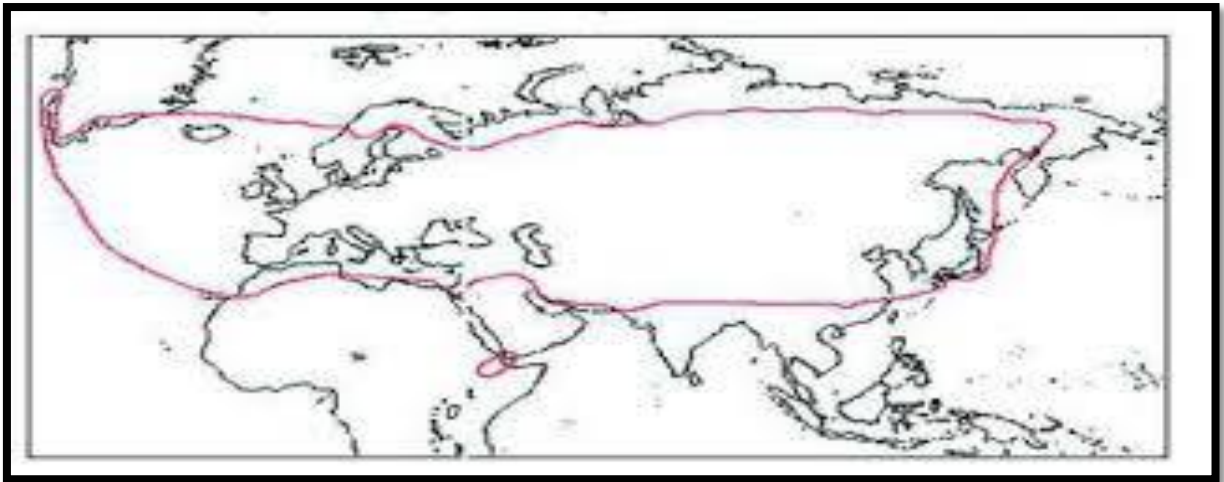
VIII.1. Dans le monde .

Le genre *Thymus* de la famille de Lamiacée est largement retrouvé dans le monde (Figure 2) tels que l'Europe, l'Afrique, l'Asie, le Groenland, le Canada, le Chili et la nouvelle Zélande, mais ce genre est principalement répandu dans la méditerranée.

Aujourd'hui, environ 250 taxons qui se concentrent dans la méditerranée (214 espèces et 36 sous- espèces sont acceptées et sont divisées en huit sections) [10]

Figure.3. Distribution du genre thymus dans le monde [10]

Le cercle rouge représente la zone de distribution du genre thymus dans le monde.[10]



VIII.2. En Algérie.

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thymus de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [6] .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.

Chapitre I : le thym, matière végétale



Figure. 4 .La cueillette du thym sauvage ou Zaâtar (Batna)

Sa répartition géographique est représentée dans le **Tableau3**

Tableau 3 : Localisation des principales espèces du thym en Algérie :[11]

Espèces	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus Capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen	Zaâteure
<i>Thymus Fontanasii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie	Zaâteure
<i>Thymus Commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	-
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans: Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois	Tizaâtarte
<i>Thymus Guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des Hauts Plateauxalgérois-oranaiset constantinois	-
<i>Thymus Lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans:Le sous secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des Hauts Plateaux	Zaâteur

Chapitre I : le thym, matière végétale

		algérois, oranais (Tiaret) et constantinois	
<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

IX. Phytothérapie – Principes généraux :

Pour se soigner, utiliser les plantes a été pendant plusieurs siècles la seule méthode. Aujourd'hui encore, de très nombreux médicaments sont fabriqués à base de plantes. Véritable initiation à la médecine douce, ce livre constitue un guide très complet : il commence par exposer les origines de la phytothérapie pour présenter ensuite les différentes plantes utilisées. Enfin, une vaste partie pratique propose des remèdes aux pathologies les plus courantes, sans oublier les maux spécifiques de la femme et de l'enfant.

Thymus vulgaris

Famille: Labiée.

Parties utilisées: parties aériennes fleuries.

Lieux d'action : Poumons, Rate/Pancréas.

Principes actifs : flavonoïdes, principes amers, tanins (10 %}, huile essentielle : triterpènes (thymol),monoterpènes, monoterpénols (dont linalol jusqu'à 80 %}, esters terpéniques.



Chapitre I : le thym, matière végétale

X.UTILISATION DUTHYM :

X.1.Utilisation du thym en générale :

Il est bien connu que le thym est une plante condimentaire très appréciée que l'on fait sécher pour des utilisations ultérieures. C'est l'un des remèdes populaires les plus utiles. Les égyptiens et sumériens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts. Les romains le brûlaient pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser fromages et boissons alcoolisées et les militaires en mettaient dans leur bain pour se donner de la vigueur. Au Moyen Age, les nobles portaient de petits bouquets pour se prémunir des odeurs, il était réputé pour donner du courage aux chevaliers.

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 (antiparasite, antispasmodique, antiseptique et digestif). Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires, calmes les toux quinteuses, diminue les sécrétions nasales et soulage les problèmes intestinaux.

Le thym est une herbe aromatique servant à parfumer de nombreux plats ; il entre aussi dans la composition de produits cosmétiques. Son huile essentielle riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits. Il entre aussi dans l'élaboration de certaines liqueurs[12].

Le Thym possède un large spectre d'utilisation (Tableau4), parmi lesquelles on peut citer:

Chapitre I : le thym, matière végétale

Tableau 4. Utilisations traditionnelles du thym

Parties Utilisées	Indications	Mode d'emploi	Références
Plante Entière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-Pulmonaires	De l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.	[13]
Racines	Diarrhée	Décoction	[14]
Feuilles	Fièvre La toux Les blessures Infection	Utilisées comme poudres ou en infusion	[15]
Feuilles et Fleurs	Condiment Culinaire	Employée pour donner de saveur à la viande. Conserve plus long temps les aliments et empêche la formation des moisissures.	[16]
Plante Entière	Antiseptiques Antispasmodiques Antimicrobiennes	Décoction ou infusion	[17 ,18]

X.2.L'utilisation du thym en phytothérapie :

-Présente sur l'ensemble du bassin méditerranéen, la plante est utilisée depuis la très haute Antiquité, déjà à Sumer il y a 5 000 ans ou en Egypte afin d'embaumer les morts. Il est employé en Grèce ancienne afin de purifier l'air. De par ses origines mythologiques, il y symbolise aussi le courage. C'est surtout à partir du Moyen Age que ses vertus médicinales commencent à être reconnues, notamment pour lutter contre les épidémies, principalement de lèpre ou de peste. A partir du XVIe siècle, il est signalé dans les traités de médecine pour traiter une large variété d'affections. Il faudra attendre le XIXe siècle toutefois pour que ses composants actifs soient répertoriés, le thym servant au siècle précédent surtout à des fins aromatiques. [8]

Chapitre I : le thym, matière végétale

conclusion

À travers ce qui précède et ce que nous avons mentionné, il nous apparaît clairement que le thym présente de nombreux avantages sociaux et économiques, une source de revenus et d'emploi pour les deux sexes, en plus des avantages de l'environnement en tant que point de vue esthétique et répulsifs pour certains insectes tels que les moustiques et les moustiques, en particulier dans les maisons, réduisant ainsi leur nombre et limitant l'utilisation de pesticides chimiques nocifs pour la santé humaine et leur impact négatif.

Chapitre II :

Les huiles essentielles



Chapitre II : Les huiles essentielles

Introduction.

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques. [19]

A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée. [20,19]

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées, aussi bien dans les parfums que dans les produits cosmétiques ou dans les spécialités pharmaceutiques, mais également en alimentaire comme agents de saveur.

Les huiles essentielles sont issues de la sécrétion naturelle élaborée dans les différentes parties de la plante : la fleur, la feuille, le fruit, l'écorce... La composition chimique des huiles essentielles est très complexe, les principaux constituants sont les terpènes.

Partie 1 :

Généralités sur les huiles essentielles



Chapitre II : Les huiles essentielles

I. Qu'est-ce qu'une huile essentielle?

L'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe.

L'huile essentielle est le produit noble résultant de la distillation d'une plante aromatique (par exemple la sauge), d'une fleur (par exemple la rose), d'une semence (par exemple la carotte), d'un bois (par exemple le santal), d'un fruit (par exemple la bergamote), d'une baie (par exemple le genièvre) ou encore d'une sève d'arbre (par exemple la térébenthine). Il existe différentes méthodes pour « capturer » les essences, variant selon la nature de la partie de la plante distillée (fleur, racine, écorce, feuille ou baie) : la distillation pour les plantes entières, racines, bois, graines et certains fleurs ; l'enfleurage pour les fleurs fragiles, comme le jasmin, la violette, la rose de mai ou le mimosa et l'expression mécanique pour obtenir les essences d'agrumes. • Pour l'usage en aromathérapie, seules les huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur lente et/ou par expression mécanique satisfont aux normes strictes « d'huiles essentielles aromatiques à usage thérapeutique », sortant de l'alambic, certifiées bio de surcroît, devenant les seules assurances d'un produit totalement naturel. L'hydrosol, eau florale ou hydrolat, est le produit second de la distillation. Grâce à la différence de densité, l'huile essentielle flotte au-dessus de l'eau florale. La séparation se fait au moyen de l'essencier ou vase florentin.

La qualité de l'huile essentielle est le garant de son efficacité : préférez des huiles essentielles rigoureusement sélectionnées, provenant de plantes sauvages ou de culture biologique et des huiles essentielles « sortant de l'alambic » (ne pas confondre les huiles essentielles avec les arômes de synthèse vendus sans nom, sans garantie de qualité).[21]

II. Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les HE sont largement répandues dans le règne végétal, elles sont réparties dans une 60ènes de Familles : d'Astéracées (armoise, camomille...), Lamiacées (lavande, menthe, romarin, thym...), Lauracées (camphrier, cannelier, laurier...), Myrtacées (eucalyptus, giroflier...), Apiacées (carotte, cerfeuil, persil...), Abiétacées (pin, sapin...), Rutacées (citron, orange...), Poacées, Zingibéracées, Pipéracées...

Les HE sont stockées dans tous les organes végétaux : Les fleurs (lavande...), feuilles (eucalyptus, laurier...), fruits (anis, orange...), graines (muscades...), écorce (cannelle...), rhizomes (gingembre, curcuma...), racines (vétiver...), bois (camphrier...). Les teneurs en HE sont faibles souvent < à 1%, exceptionnellement le giroflier à 15%.[22]

Chapitre II : Les huiles essentielles

III. Propriétés des huiles essentielles.

Véritables concentrés de principes actifs, les huiles essentielles permettent, en thérapie, des actions multiples et rapides. Elles sont toutes antiseptiques, désintoxicantes, revitalisantes et électives (appliquée sur un endroit du corps, une huile essentielle est attirée par l'organe ou la fonction du corps le plus déficient à un moment donné). De plus, elles ont chacune des propriétés spécifiques. Les mélanges d'huiles essentielles en synergie augmentent les bienfaits des huiles essentielles par rapport à une indication précise.[21]

IV. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.

- Liquides à température ambiante.
- Les huiles essentielles sont volatiles et entraînable à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle.
- Leur densité est généralement < 1 sauf exception (HE de sassafras, de girofle, ou de cannelle)
- Indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau (odeur= eau distillée florale), elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, solubles dans les huiles fixes et la plupart des solvants organiques apolaires.
- Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant des produits résineux[22]

V. Groupes chimiques des HE.

classe les HE en trois grands groupes :

Les HE hydrocarbonées, les HE oxygénées et les HE sulfurées.

Les HE hydrocarbonées

Elles contiennent surtout des terpènes ou carbures d'hydrogène, tels le thymène, le terpinène, le cimène, le limonène, les sesquiterpènes, etc. Exemples types : HE de thym, d'origan, de citron, de cyprès.

Les HE oxygénées

Leurs essences sont généralement solides. C'est le cas de l'essence de rose et de menthe.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Les HE sulfurées

Elles sont présentes dans plusieurs espèces de la famille des Crucifères (choux, moutarde, etc.), mais aussi dans certaines Liliacées (ail, oignon, etc.).[23]

VI. Composition chimique générale.

Il est généralement admis que les constituants des huiles essentielles sont répartis en

- le groupe des terpénoïdes ;
- le groupe des phényl propanoïdes ;
- le groupe des lipides, issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes.

Plusieurs études ont démontré que les plantes du genre *Origanum*, renferment des huiles essentielles, des acides phénoliques et des flavonoïdes. Thymol, carvacrol, p-cymène et γ -terpinène sont les principaux composants des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* (Tableau5). [24]

Tableau 5 : les principaux composants des huiles essentielles

Constituants	Pourcentage (%)
Thymol	43,7 %
Carvacrol	2,9 %
p- cymène	12,7%
γ -terpinène	27,1 %
β -myrcène	2,5 %
α -terpinène	% 3,2
α - thujène	1,1 %

Chapitre II : Les huiles essentielles

VII. Conservation des huiles essentielles.

L'huile essentielle se conserve parfaitement quelques années à l'abri de la chaleur et de la lumière. Pour preuve, on a retrouvé des essences dans des doubles jarres en terre cuite dans les pyramides d'Égypte. Des Bacons de verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles. Si après un ou deux ans, on n'utilise plus les huiles essentielles en traitement interne, elles peuvent sans inconvénient alimenter les diffuseurs d'arômes. Portons une attention particulière

aux huiles essentielles d'agrumes qui s'oxydent plus rapidement que les huiles essentielles de plantes aromatiques et dont la durée de vie est inférieure. [21]



VIII. Emploi des huiles essentielles.

1) Pharmacie :

Les drogues à huiles essentielles ont un grand intérêt en pharmacie, elles s'utilisent soit en :

- Nature sous forme d'infusion pour leurs usages pharmacologiques.
- Préparations galéniques simples.
- Pour l'extraction des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont utilisées soit comme :
 - Aromatisant pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale.
 - Pour l'isolement de certains constituants (eugénoï, anéthol, pinènes...)
 - En Aromathérapie : une thérapeutique qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre d'états pathologiques.

Chapitre II : Les huiles essentielles

2) Parfumerie et cosmétologie :

Les propriétés odorifantes des HE confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Exemple : rose, jasmin, vétiver, Ylang-Ylang... Elle représente environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums

3) Industrie alimentaire :

Les essences d'anis et de badiane sont la principale source d'anéthol naturel, composé utilisé en liquoristerie (fabrication des boissons anisées) et en confiserie (bonbon, chocolat...).

4) Chimie d'hémisynthèse:

Utilise des isolats (substances pures isolées des HE) comme matières premières pour la synthèse:

- *De principes actifs médicamenteux:*

Pin maritime pinène camphre

- *De vitamines:*

Lemon-grass- citral- vitamine

A - *De substances odorantes:*

Giroflier- eugénol- vanilline [22]

IX. Rendement des huiles essentielles.

Les rendements en huile essentielle des plantes étudiées *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioidis* sont respectivement de 0,5% et 1,1%. Ces rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés sur la base de la matière sèche. Ils sont relativement faibles par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles. De nombreux facteurs influencent le rendement, la teneur, les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique des huiles essentielles, notamment l'espèce, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal [25,26]

X. Constitution d'une huile essentielle

S'il est aisé de comprendre que chaque espèce de thym fournit une huile essentielle bien différente des autres au niveau de sa composition biochimique, il reste assez mystérieux et difficile à expliquer que le **Thym vulgaire** possède la particularité de faire varier sa propre essence sans raison apparente, et d'offrir ainsi plusieurs huiles essentielles aux propriétés, risques et compositions biochimiques très différentes. Cette espèce de thym constitue un

Chapitre II : Les huiles essentielles

exemple typique, pour illustrer la notion de **chénotype**, si importante en aromathérapie scientifique. Toutes les plantes aromatiques n'ont pas cette aptitude mystérieuse à la variabilité biochimique .[27]

XI. Utilisation des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines d'industrie, l'industrie du parfum est le débouché principal de cette dernière. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs. Certaines huiles essentielles sont aussi utilisées dans l'industrie pharmaceutique, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes et plus généralement pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à être administrées par voie orale. Les huiles essentielles trouvent également des applications dans diverses industries agro-alimentaires et les industries chimiques.[28]

Les domaines d'applications des huiles essentielles diffèrent selon la plante dont elles proviennent mais sur tout de la partie du végétal dont elles sont extraites (la fleur, la feuille, les racines et la graine). D'une manière générale, les essences extraites des racines sont reconnues pour leurs actions sur le système nerveux, celles extraites des graines et des fleurs pour leur impact sur l'ensemble du système digestif et celles issues des feuilles pour leur bienfait sur les systèmes respiratoire et cardiaque. A cet effet, les HE sont recommandées en usage antibiotique, antiviral, antiseptique, fongicide, cicatrisant, digestif, anti-inflammatoire, sédatif, etc. [29]

1) En industrie agro-alimentaire

Les HE possèdent des profils de composition chimique différents, elles sont utilisées comme agents naturels de conservation des aliments. Leur utilisation comme agents de conservation est due à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydante.

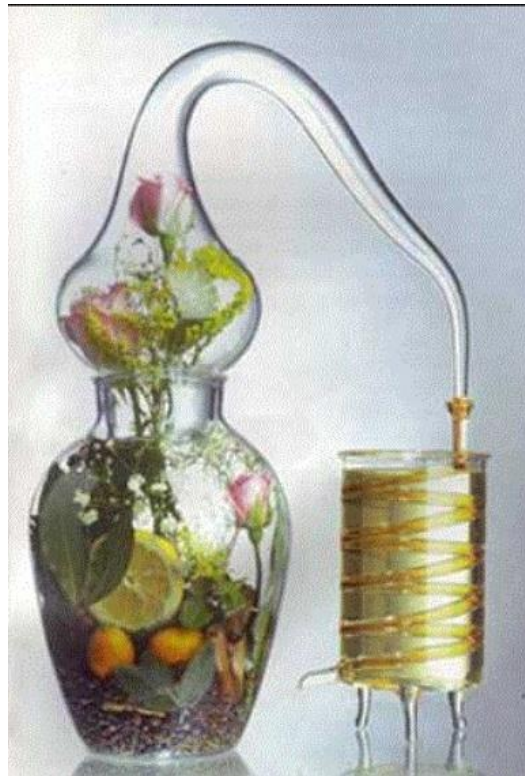
Elles sont également employées comme agents aromatisants naturels. La part des HE dans l'aromatisation ne cesse de croître au dépend des composés aromatiques de synthèse.[29]

Chapitre II : Les huiles essentielles

2) Aromathérapie

Dans notre société moderne, la médecine courante, d'orientation allopathique, se trouve confrontée à des problèmes majeurs : l'inefficacité de certains antibiotiques face à certains germes pathogènes devenus résistants, le manque de substances antivirales, l'augmentation des déficiences immunitaires des individus, le cercle vicieux auquel aboutit la prescription continue de médicaments psychotropes. L'aromathérapie propose des solutions alternatives à ces problèmes. Alors que les microbes deviennent de plus en plus résistants aux structures moléculaires de synthèse des antibiotiques, ils se heurtent plus difficilement à l'infinie diversité et à la complexité des HE. Elles apportent à l'organisme, les concentrés de la nature les plus précieux pour rétablir ou conserver l'équilibre indispensable à la santé.[29]

Partie 2 :
Procédés d'extraction des
huiles essentielles.



Chapitre II : Les huiles essentielles

Introduction

Les huiles essentielles sont composées par des molécules aromatiques d'origines végétales présentant une très grande diversité de structure. Cependant ces huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante.

Basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées, et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique.

I. Expression à froid

L'expression à froid est utilisée pour obtenir les essences et est réservée aux Citrus (citron, mandarine, orange...). Ce procédé consiste à briser mécaniquement les zestes frais d'agrumes en soumettant la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Cette méthode est simple et limite l'oxydation à son minimum .[30]

1. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau. Du fait de l'utilisation de solvants organiques, cette technique présente toutefois des inconvénients qu'il est important de noter. En effet, l'intervention de solvants organiques peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. Parmi les solvants les plus

Chapitre II : Les huiles essentielles

utilisés, on recense: le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane. Cependant, depuis quelques décennies, l'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations. L'hydrodistillation-extraction simultanée et l'extraction par Soxhlet sont les principales. L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux microondes et aux ultra-sons[31]

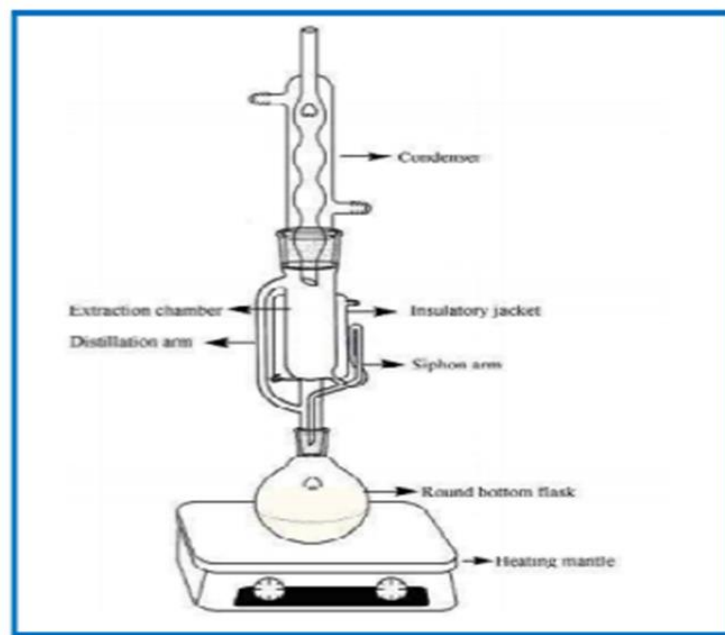


Figure.5.L'extraction par solvants volatils

2. Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée sous pression entre 125 et 175 °C. Il utilise l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bar set à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que lors de l'entraînement à la vapeur.[32]

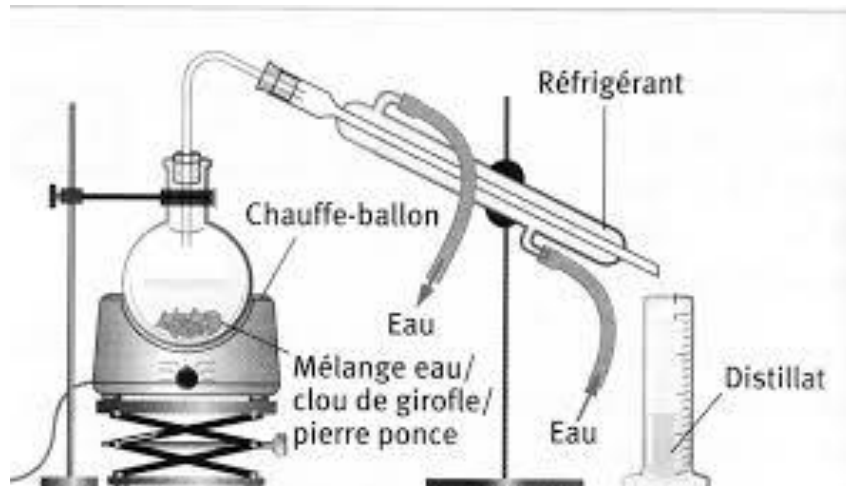


Figure .6.Extraction à l'eau surchauffée

3.Extraction par le CO₂ à l'état supercritique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.[33]

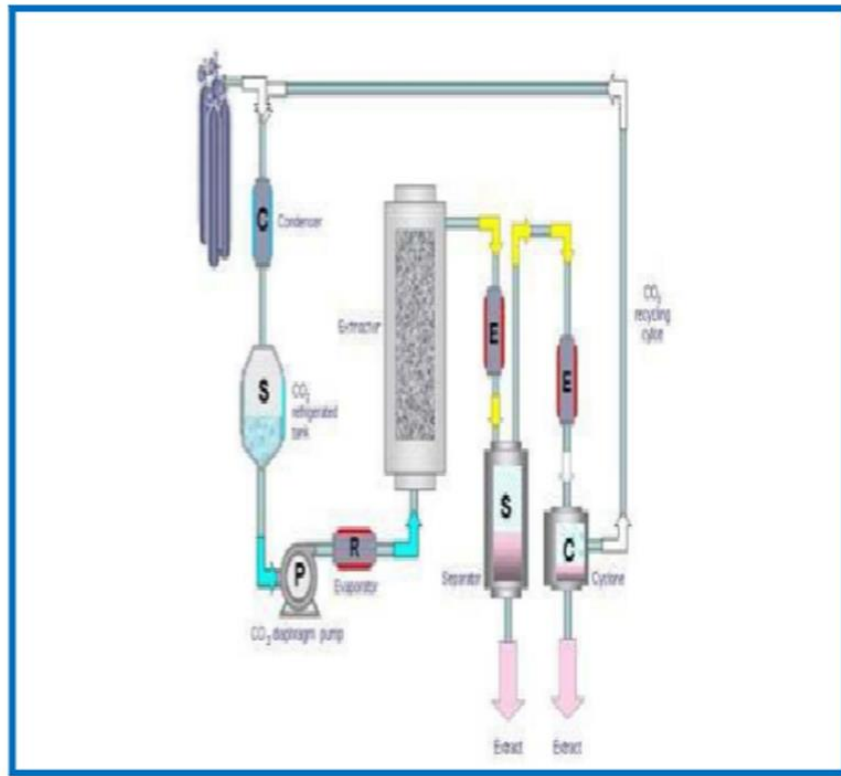


Figure. 7.Extraction par CO2 supercritique.

4.L'hydro-distillation.

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau surnage au-dessus de l'hydrolat (figure7). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques.[34]

Chapitre II : Les huiles essentielles

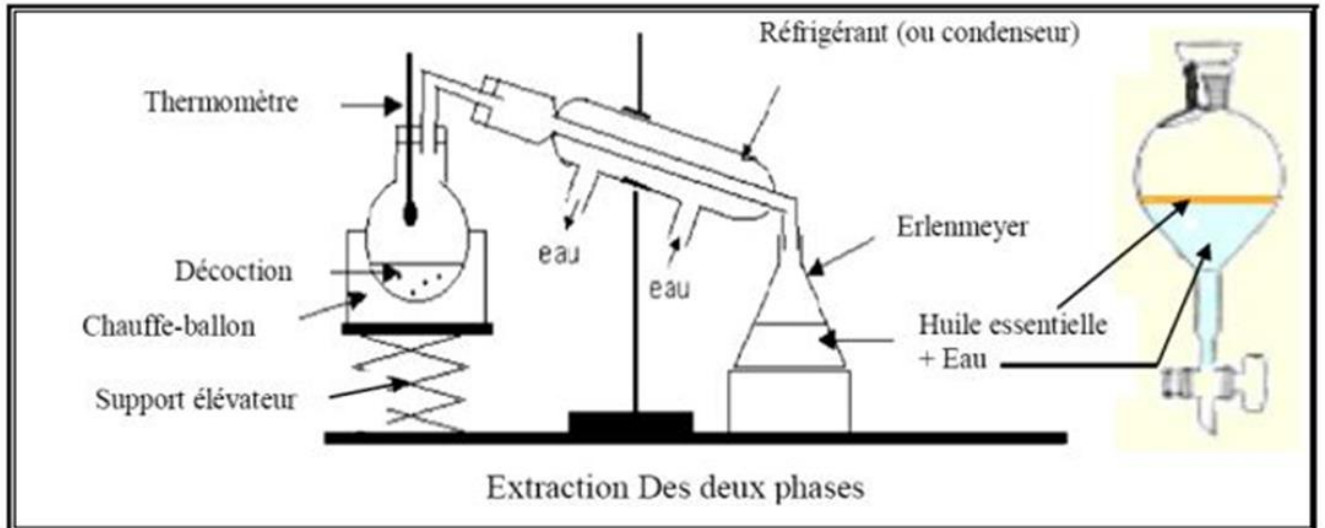


Figure.8.Schémas des étapes de l'hydrodistillation.

5. Entraînement à la vapeur d'eau.

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : " l'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. [35]

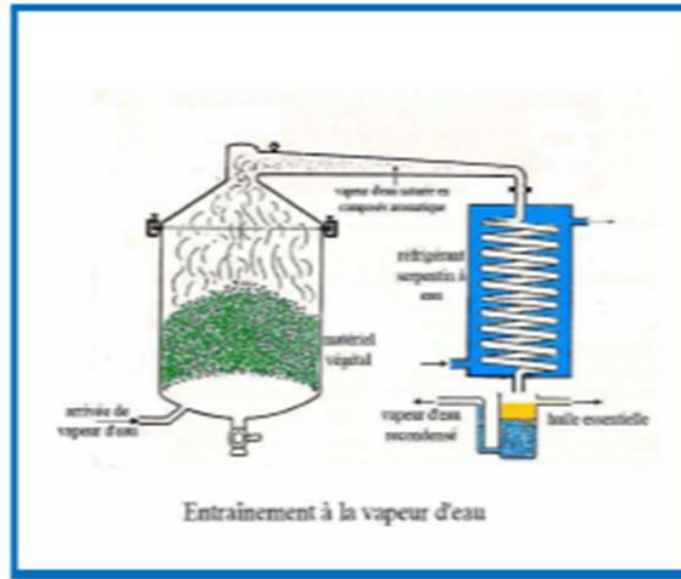


Figure .9. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

6.Extraction assistée par micro-onde.

L'extraction par micro-onde est une technique qui a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé d'extraction par microondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des microondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel. [36]

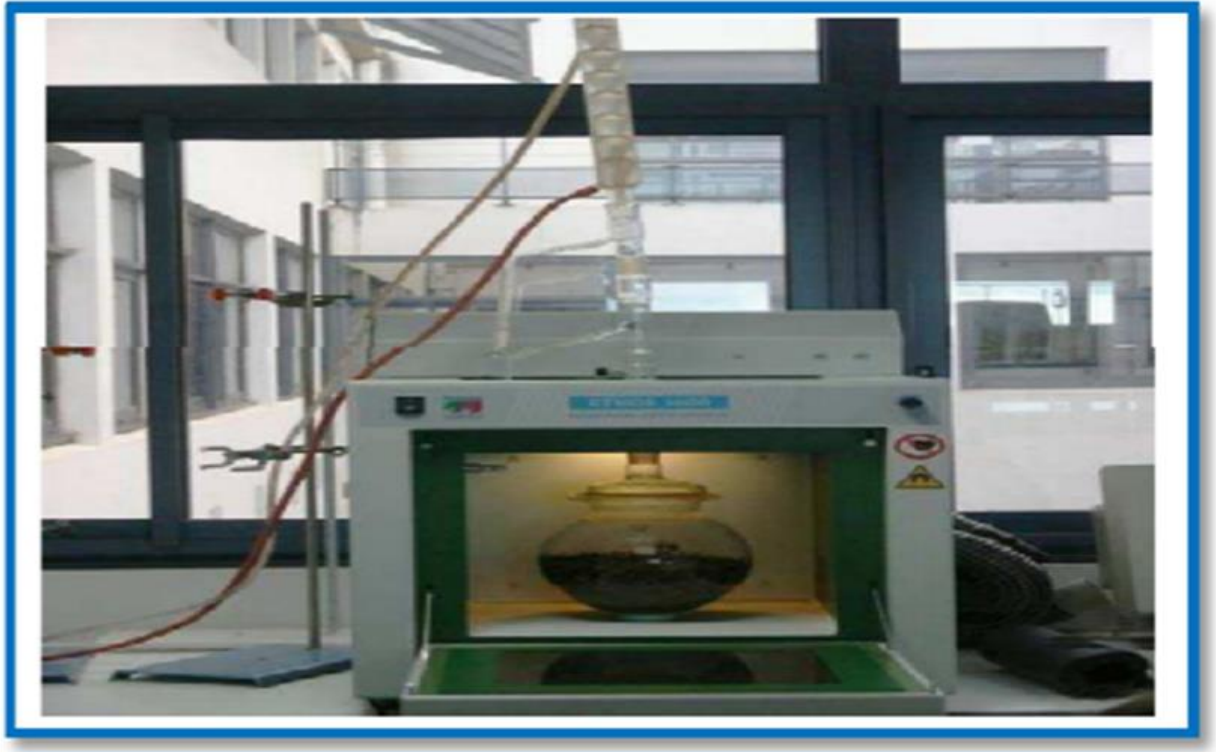


Figure .10.Extraction assisté par micro-onde.

7.Extraction au moyen de solvants.

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. C'est le cas des fleurs de jasmin, d'œillet, de tubéreuse, etc. Il faut donc, pour ces végétaux, recourir à d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils. Ces autres méthodes sont l'extraction par les solvants fixes (en fleurage et macération) et volatils[37]

8.Extraction par solvants fixes

a) Enfleurage:

L'enfleurage est l'un des anciens procédés, Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses et concerne les plantes qui conservent leur parfum après avoir été cueillies (comme le jasmin). Les fleurs sont étalées sur des châssis enduits de graisses inodores ou le parfum des fleurs est absorbé par les graisses jusqu'à saturation. Les fleurs sont renouvelées régulièrement.

Il est terminée quand un kilo de matière grasse est saturée par deux à trois kilos de

Chapitre II : Les huiles essentielles

fleurs Elle peut environ un mois on fait alors fondre la pommade qui sera décantée et elle sera ensuite traitée à l'alcool et à froid (voir Fig. 11).

Cette technique d'extraction est pratiquement en voie de disparition en raison de son cout élevé Elle nécessite e effet une mai d'œuvre important. [38]

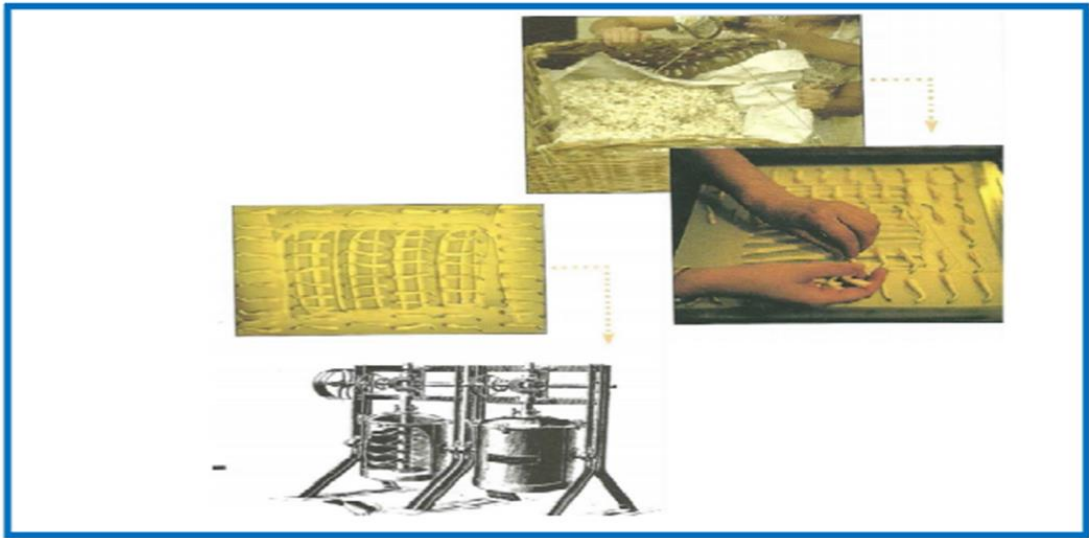


Figure .11. Procédé d'enfleurage.

b) Macération.

Ce procédé exige que les graisses utilisées soient chaudes, ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir adsorbant. Cette technique est rapide et s'applique aux fleurs dont l'activité physiologique cesse à la cueillette. L'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisses chaudes jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse. [39]

Chapitre II : Les huiles essentielles

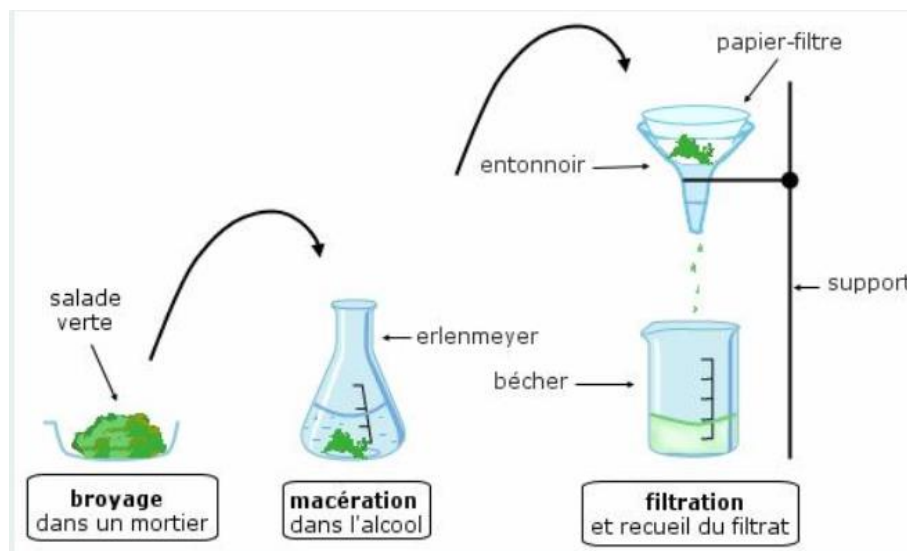


Figure .12. La macération.

c) Extractions 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.

Une autre méthode consiste à effectuer une réaction chimique entre le composé à extraire et un réactif dont le produit est facilement séparable du reste de la solution. Dans ce cas, il faut disposer d'un réactif hautement sélectif. En effet, ce dernier ne doit pas réagir avec d'autres composés présents dans la solution. Les réactions mises en jeu sont essentiellement des réactions de complexation, des réactions d'oxydoréduction ou des réactions acidobasiques. Il s'agit de choisir judicieusement la réaction adéquate, de manière que le produit ne soit plus soluble dans le solvant considéré. Il se forme alors un précipité que l'on récupère par filtration. Le composé recherché est restitué par la réaction inverse de celle qui a servi à former le précipité[40]

II .Les méthodes d'analyse des huiles essentielles.

L'instrumentation moderne est progressivement confrontée à des analyses de plus en plus complexes, liées au nombre important de constituant présents et aux quantités extrêmement faibles à détecter. En effet l'analyse d'une huile est complexe, de par son très

Chapitre II : Les huiles essentielles

grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile. [41]

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase. Plusieurs méthodes existent :

1 .Chromatographie sur couche mince.

La CCM (figure12) est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites. La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Après la migration, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode. La distance de migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile, ceci permet de définir la référence frontale R_f caractéristique de chaque composé. Précise que la technique du CCM, bien que beaucoup moins performante que la chromatographie en phase gazeuse, peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles [42].

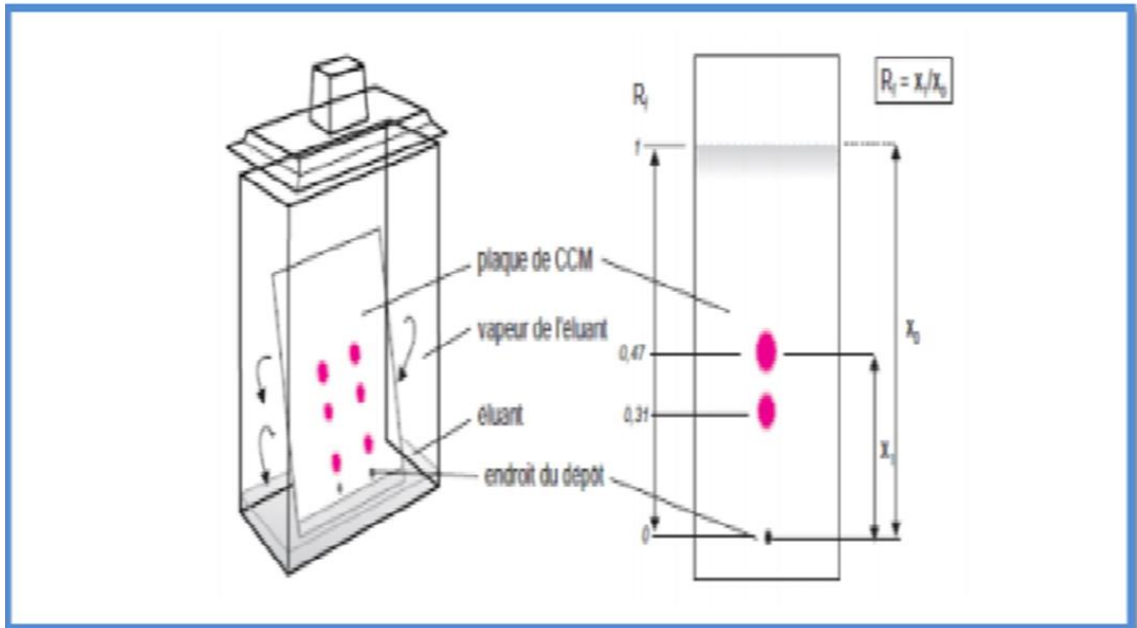


Figure .13.Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM.

2 .Chromatographie en phase gazeuse.

Chromatographie en phase gazeuse (CPG) C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention .

Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur.[43]

3.Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM).

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.[44]

Chapitre II : Les huiles essentielles

4. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP).

Cette technique est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements. Elle peut être couplée également à un analyseur de masse. La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine et une phase mobile liquide circulant sous l'effet d'une haute pression. Après la séparation des différents constituants de l'échantillon, un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données. [45]

5 .La spectroscopie infrarouge.

La spectroscopie infrarouge (FTIR) est une méthode d'analyse physico-chimique qui sonde les liaisons entre les noyaux atomiques et leurs arrangements. Cette méthode permet de caractériser de manière qualitative les dépôts effectués par plasma sur un substrat peu absorbant (cas du silicium cristallin intrinsèque ou peu dopé). Elle permet d'accéder directement à l'information moléculaire et à la nature chimique du matériau analysé, et par conséquent, de corréler les propriétés physiques du film déposé aux conditions d'élaboration.

Effectivement c'est dans ce contexte que nous avons opté pour cette technique afin de pouvoir suivre l'évolution des propriétés physiques des couches élaborées avec les variations des conditions de dépôt considérées. Le spectrophotomètre permet d'observer des radiations infrarouges dans la gamme 400-4000 cm^{-1} .

La technique est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé et permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Cette méthode d'analyse est simple à mettre en œuvre et non destructive. Elle permet d'analyser aussi bien les matériaux organiques que les matériaux inorganiques. La grande diversité des montages expérimentaux permet la caractérisation de pratiquement tous types d'échantillons, quel que soit leur état physique ou de surface. [46]

6. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN.

Parmi toutes les techniques spectroscopiques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules. L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise et individuelle sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule, de

Chapitre II : Les huiles essentielles

permettre l'identification des connexions entre atomes des diverses entités tout en les situant dans l'espace les uns par rapport aux autres[47].

Partie 3 :
L'huile essentielle de
Thym



Chapitre II : Les huiles essentielles

I. Histoire de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.

Le thym est une plante utilisée depuis des millénaires pour aromatiser les plats mais aussi pour éloigner les maladies. Dans l'Antiquité, on le brûlait pour assainir l'air, parfumer l'eau et éloigner les pathogènes, mais il pouvait aussi servir à redonner de la vigueur aux soldats et du courage aux chevaliers. Aujourd'hui, la communauté scientifique s'accorde à allouer ses vertus à sa richesse en thymol, une molécule fréquemment utilisée pour fabriquer des savons et des produits cosmétiques. Il compte parmi les traitements naturels les plus recommandés contre la toux et les infections respiratoires.

L'espèce la plus utilisée, le Thym vulgaire (*Thymus vulgaris*) peut donner différentes huiles essentielles en fonction des conditions de son développement, en particulier l'ensoleillement et l'altitude. On compte ainsi 6 chémotypes différents ! L'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol en fait partie : c'est une huile assez rare produite à partir d'un thym qui affectionne tout particulièrement la sécheresse. Sa richesse en thuyanol en fait une huile très appréciée en dépit de sa rareté qui fait logiquement grimper les prix...[48]

II. Huile essentielle du thym.

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives[49,50]. Les huiles essentielles du thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. La variabilité chimique des HE du thym dépend de plusieurs facteurs, qui généralement sont d'ordres climatiques et environnementaux. Mais peuvent être aussi d'ordre génétique et saisonnier (stade végétale)[51]. Ainsi, une étude menée par [52] 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'huile essentielle du thym. Nous nous limiterons dans notre étude à quelques-uns parmi les plus récents. Le(tableau .6)nous donne une étude comparative des principaux composés de l'huile essentielle des feuilles de quelques espèces du thymus.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Tableau.6.Composition de l'huile essentielle de quelques espèces du thym[53]

Espèce	Pays	Composition
<i>T. vulgaris</i>	Turquie	p-cymène 9.9%, thymol 46.2% linalool 4%, γ -terpnène 14.1%
<i>T. vulgaris</i>	Espagne	p-cymène 18.7%, thymol 57.7% carvacrol 2.8%, linalool 2.1%
<i>T. rosulans</i>	Turquie	Carvacrol 58.1%, p-cymène 4.1% thymol 20.5%, γ -terpnène 4.4%
<i>T. sipyleus</i>	Turquie	Borneol 11.2%, Muurolol 9.2% B-caryophyllen 7.6%, Geranial 7.3%
<i>T. zygis</i>	Espagne	Linalool 82.3%, p-cymène 0.5% thymol 2.1%, carvacrol 0.1%
<i>T. hyemalis</i>	Espagne	p-cymène 16.0%, thymol 43.0% carvacrol 2.4%, γ -terpnène 8.4%
<i>T. capitatus</i>	Sardinia (italy)	p-cymène 26.4%, thymol 29.3% carvacrol 10.8%, γ -terpnène 8.4%
<i>T. capitatus</i>	Tunisie	Carvacrol 62.83%, p-cymène 5.1% γ -terpnène 2.4%
<i>T. herba- barone</i>	Sardinia (Nord de Italy)	p-cymène 27.6%, thymol 50.3% carvacrol 2.9%, γ -terpnène 6.1% linalool 5.8%
<i>T. herba- barone</i>	Ardinia (centre Italy)	p-cymène 5.2%, thymol 46.9% carvacrol 20.6%, γ -terpnène 4.6% linalool 3.3%
<i>T. serpyllum (befor florine)</i>	Iran	p-cymène 21.12%, thymol 18.73% carvacrol 1.34%, γ -terpnène 21.90% linalool 1.08%

La variation détectée dans la composition chimique de l'huile essentielle du thym issue 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'huile essentielle[54,55]

Plusieurs espèces de thym possèdent de nombreuses activités biologiques tels que antispasmodique, antimicrobienne, antibactérienne, antiviral, antioxydant et activité fongicides, anti-inflammatoire, antiseptique, carminatif.[49,56,57].

1) Thymol

Le thymol est l'un des principaux phénols reconnus dans l'huile essentielle de quelques Labiatae (Lamiaceae) comme le thym, origan et sarriette, dont le contenu peut atteindre jusqu'à 84%.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Le thymol a été découvert par *Caspar Neumann* en 1719. Il a été épuré, en 1853, par *M. Lallemand*, qui lui a donné le nom « thymol » et a attribué la formule (vieille notation) $C_{20}H_{14}O_2$, la même acceptée aujourd'hui et correspondant à $C_{10}H_{14}O$ de la nouvelle notation. Thymol est un phénol (2-Isopropyl-5-méthyl-phénol) (fig. 13), et est isomérique avec le carvacrol (2-Isopropyl-5-méthyl-phénol).

Le thymol existe dans l'huile de thym, lié à d'autres hydrocarbures d'une plus grande volatilité, p-cymène ($C_{10}H_{14}$), et thymène ($C_{10}H_{16}$).[59]

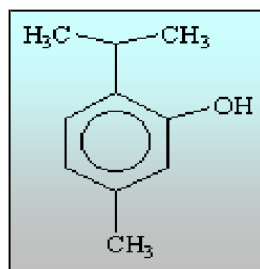


Figure .14. La structure du thymol.[59]

Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques tels que antispasmodiques, antimicrobiennes, antibactériennes, activités fongicides, insecticides, antioxydant, anti-cancérogènes et anti-inflammatoires[60,61]

.De ce fait il faut dire que le plus fort taux des huiles essentielles est extrait lors des 90 premières minutes de traitement, et il ne serait économiquement pas avantageux de prolonger l'extraction au-delà d'une heure et demie. Ceci pour éviter également la naissance des réactions secondaires (hydrolyse, isomérisation etc..).[62]

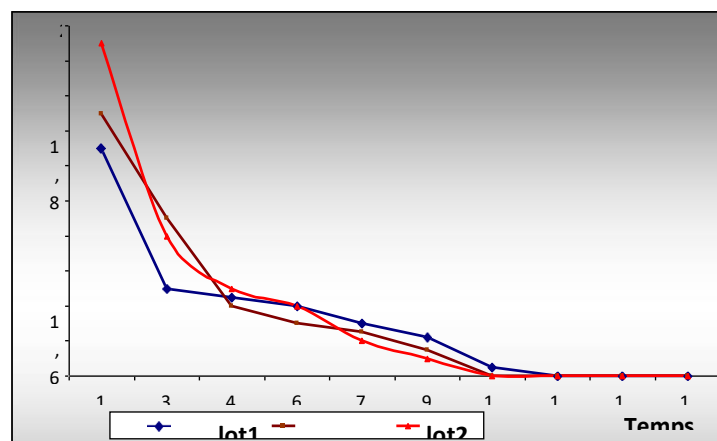


Figure.15. Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la durée d'extraction de l'HE du thym.

Chapitre II : Les huiles essentielles

III. 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.

La toxicité chronique des huiles est assez mal connue ; contrairement au risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge officinale, tanaïs) ou à pinocamphore. Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels qui nécessitent l'hospitalisation. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles pures et à fortes doses, 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[63].

IV. Evaluation de la toxicité par contact de l'huile essentielle de thym

Après plusieurs tests préliminaires, les doses ont été choisies de telle sorte que chaque concentration soit le double de la précédente selon une progression géométrique de raison de 2. Pour chacune des huiles obtenues, trois doses ont été préparées en diluant chaque fois dans 5mL d'acétone les volumes respectifs d'huile essentielle. La solution était homogénéisée par agitation. Chacune des solutions ainsi préparées était uniformément répandue sur une rondelle de papier filtre type Watman de 9cm de diamètre ($63,6\text{cm}^2$) posée dans une boîte de Pétri de même diamètre pour obtenir respectivement après évaporation complète du solvant les doses de 2,4567, 4,9135, 9,8270 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ d'huile essentielle. La quatrième dose était constituée uniquement d'acétone et servait de dose témoin.

Chaque boîte recevait 20 insectes. Cinq répétitions étaient effectuées pour chaque dose d'huile essentielle et pour le témoin. Après 24 heures d'exposition, les insectes sont transférés dans des boîtes contenant 10g de blé et placés dans l'étuve à 33°C. Le taux de mortalité des insectes est évalué six jours après traitement.[28]

Chapitre II : Les huiles essentielles

V. Propriétés de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol

Les propriétés de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol s'expliquent par la présence de composés actifs à l'origine présents dans les plantes fleuries de *Thymus vulgaris thujanoliferum*.

Pour la santé

Stimulante immunitaire

Grâce à sa teneur en monoterpénols, l'huile essentielle de thym à thuyanol stimule diverses cytokines directement en lien avec la qualité de la réponse immunitaire (et notamment les Ig A). Elle inhibe par ailleurs la peroxydation lipidique, un phénomène responsable du vieillissement cellulaire susceptible d'épuiser les capacités immunitaires.

Anti-infectieuse et antiseptique aérienne

Le thuyanol, abondant dans l'huile, est à la fois antiseptique, antifongique et antiviral. Par rapport aux autres huiles de thym, l'huile essentielle de thym à thuyanol serait même plus spécifique des infections gynécologiques.

Décongestionnante veineuse

L'huile de thym à thuyanol présente la particularité d'activer la circulation sanguine, et de réchauffer les extrémités du corps par voie locale.

Régénérante hépatocytaire

Le thuyanol présent dans l'huile concourt à protéger le rein et le foie de l'acétate de plomb et de certains médicaments en plus de stimuler la régénération des cellules du foie.

Autre propriété :

- Antalgique.
- Décongestionnante respiratoire et lymphatique.

Pour le bien-être

Tonique et équilibrante du système nerveux (adultes et enfants).

Les monoterpénols sont des molécules neurotoniques, c'est à dire capables de rétablir le tonus du système nerveux sans jamais pour autant l'exciter.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Autre propriété :

- Harmonisante

VI. Indications de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.

L'huile de thym vulgaire à thuyanol présente de multiples indications grâce aux nombreuses propriétés décrites précédemment.

Pour la santé

Stimuler la réponse

se immunitaire

Les propriétés immunostimulantes du thym à thuyanol font qu'on la recommande contre la fatigue, les infections virales ou bactériennes ou en diffusion dans les pièces occupées par les personnes malades.

Les troubles ORL et respiratoires

Grâce aux propriétés antiseptiques du thym, les infections ORL figurent parmi les indications de l'huile :

- Angine (enfants et adultes)
- Bronchite (enfants et adultes)
- Encombrement ORL, mucosités (enfants et adultes)
- Grippe
- Otite (enfants et adultes)
- Rhinopharyngite, rhinite allergique (enfants et adultes)
- Sinusite (enfants et adultes)

Les problèmes de circulation sanguine

L'huile essentielle de thym à thuyanol présente des propriétés circulatoires suffisamment prononcées pour la recommander contre les jambes lourdes, la rétention d'eau, les extrémités froides et les problèmes de circulation de manière générale.

Autres indications

- Infection uro-génitale (pyélonéphrite, vaginite, etc.)
- Hépatite virale
- Infection intestinale

Chapitre II : Les huiles essentielles

Pour le bien-être

- Angoisse et anxiété
- Déprime latente
- Fatigue physique et psychique
- Nervosité et agitation intérieure
- Stress

VII.Utilisation de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.

Application cutanée, massage

Pour l'ensemble des indications cutanées, diluer 1 goutte d'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol dans 4 gouttes d'huile végétale.

- **Fatigue ou infection** : diluer avec une huile végétale et masser le dos et les plantes de pieds.
- **Angine (enfants et adultes)** : diluer avec une huile végétale et appliquer sur la gorge.
- **Bronchite** : diluer avec une huile végétale et masser la colonne vertébrale, le haut du dos, le thorax et la plante des pieds.
- **Grippe** : diluer avec une huile végétale, et masser la colonne vertébrale et la plante des pieds.
- **Otite (enfants et adultes)** : 1 à 2 gouttes en application derrière les oreilles (jamais à l'intérieur des oreilles).
- **Sinusite** : diluer avec une huile végétale et appliquer au niveau des sinus, ou par voie interne en consultant un thérapeute au préalable.
- **Pour les autres troubles ORL** : diluer avec une huile végétale, et masser la colonne vertébrale et la plante des pieds.
- **Pour les problèmes de circulation sanguine** : diluer avec une huile végétale et masser la zone concernée.

Voie orale

Par voie interne, la consultation préalable d'un thérapeute est recommandée. Cette utilisation est notamment possible en cas d'infection uro-génitale, d'hépatite virale ou d'infection intestinale.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Inhalation

Pour profiter des effets sur le bien-être et lutter contre toutes les infections ORL, il est possible d'utiliser l'huile essentielle de thym à thuyanol par :

- **Inhalation humide** : diluer quelques gouttes d'huile essentielle dans un récipient d'eau chaude puis inhaler les vapeurs ;
- **Inhalation sèche** : appliquer quelques gouttes d'huile essentielle sur un mouchoir ou un galet puis le respirer de temps à temps.

En cas de stress, respirer directement le flacon, lentement et profondément, et renouveler autant de fois que nécessaire.

- **Stress** : en olfaction ou en bain (5 gouttes mélangées au savon).
- **Infections ORL** : dans le bain mélangée à une base neutre.

Diffusion

L'huile essentielle de thym à thuyanol fait partie des huiles pleinement compatibles avec la diffusion. Pour lutter contre les infections, limiter la propagation des virus et profiter de ses effets sur le bien-être, choisir l'un des modes de diffusion suivants :

- **La diffusion par nébulisation**. Ces diffuseurs, qui propulsent l'huile essentielle par une pompe, sont les plus efficaces, mais leur prix est généralement élevé et ils peuvent être plus ou moins bruyants.
- **La diffusion à ultra-sons (brumisation)**. Moins puissants, ces diffuseurs restent efficaces pour bénéficier des effets de l'huile essentielle dans des pièces fermées.
- **La diffusion par chaleur douce**. Verser quelques gouttes d'huile essentielle dans le petit réceptacle de ces diffuseurs. Sous l'effet de la chaleur, les particules aromatiques volatiles se mêleront à l'atmosphère. A utiliser idéalement dans une petite pièce close.

Précautions d'emploi de l'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol

L'huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol est très douce d'utilisation et fait partie des thymus les mieux tolérés. Elle convient aux femmes enceintes (de plus de 3 mois) et aux **enfants de plus de 3 ans**.

Il existe de nombreuses catégories de thymus dont certains peuvent s'avérer très dangereux utilisés de manière incorrecte. Ainsi : le **thym vulgaire à Carvacrol** (thymus vulgaris sb Carvacrol) et le **thym vulgaire à thymol** (Thymus vulgaris sb Thymol) **sont à proscrire** chez les femmes enceintes, allaitantes et les enfants. Dans les autres cas, ils doivent être utilisés avec prudence et selon les conseils avisés d'un spécialiste.

Chapitre II : Les huiles essentielles

Attention : Les propriétés et indications mentionnées dans cette fiche sont basées sur un ensemble de recherche qui présente un usage traditionnel de l'huile essentielle, reconnu par des experts en aromathérapie.

Néanmoins il reste recommandé pour l'utilisation des huiles essentielles de s'adresser à un professionnel de l'aromathérapie afin de recueillir des informations personnalisées et sécurisées, adaptées à votre situation médicale, votre profil et votre âge.

VIII. Choisir une bonne huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol.

Pour choisir une bonne huile essentielle de thym vulgaire à thuyanol, il faut avoir en tête sa composition biochimique optimale, ses caractéristiques physiques et organoleptiques ainsi que quelques notions sur son exploitation géographique.

- **Nom commun** : Thym vulgaire à Thuyanol, Thym vulgaire à Thujanol
- **Nom latin** : *Thymus vulgaris thujanoliferum*
- **Famille botanique** : Lamiacées
- **Partie distillée** : Plantes fleuries
- **Origine**: Pourtour Méditerranéen

IX. composition biochimique.

La composition biochimique est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production et de la qualité de l'huile. Néanmoins, on peut se fier à cette composition pour évaluer la qualité d'une huile :

- **Composé chimique principal** : Monoterpénols (70 à 80%) (dont Thuyanol, Terpinéol, Myrcénol, linalol)
- **Autres composés chimiques** : Monoterpènes (15 à 20%), Esters (3 à 5%) (Acétate de Myrcényle)

X. Caractéristiques physiques.

Une huile essentielle de Thym vulgaire à thuyanol de qualité doit présenter des caractéristiques physiques proches de celles-ci :

- Densité à 20°C : 0,892 à 0,915
- Indice de réfraction à 20°C : 1,46 à 1,48
- Pouvoir rotatoire à 20°C : +0° à +20°
- Point éclair : +60°C

XI. Caractéristiques organoleptiques.

L'huile est jaune pâle à jaune orangé et dégage un parfum doux et agréable caractéristique du thym.[64].

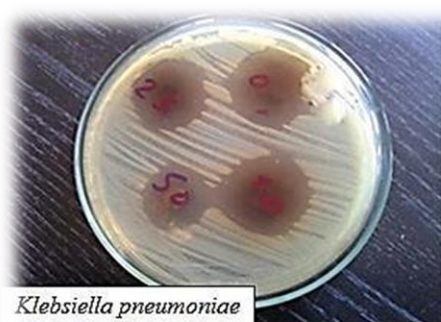
Chapitre II : Les huiles essentielles

Conclusion

ce domaine consiste à parler de la façon dont les huiles essentielles étaient utilisées dans les civilisations anciennes pour traiter les maladies, et les érudits musulmans ont été crédités pour avoir inventé l'appareil de distillation, élargi l'extraction des huiles naturelles et connaître leurs propriétés et qualités médicinales, et ils ont été transportés dans des caravanes arabes avec de la soie, des épices et du sucre. Aujourd'hui, des centres de recherche scientifique sont venus confirmer l'importance des huiles qui en sont extraites dans la fabrication de médicaments, cosmétiques, dentifrices, savons, désinfectants et antibactériens. Des chercheurs américains ont découvert que l'huile de thym fait partie des 6 huiles essentielles qui ont prouvé leur capacité à se débarrasser des infections.

Chapitre III :

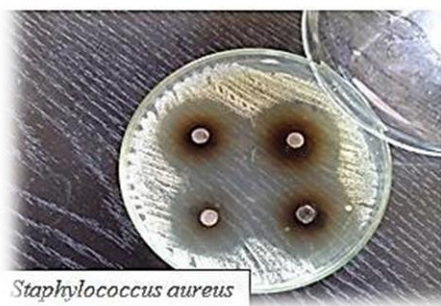
L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles



Klebsiella pneumoniae



Escherichia coli



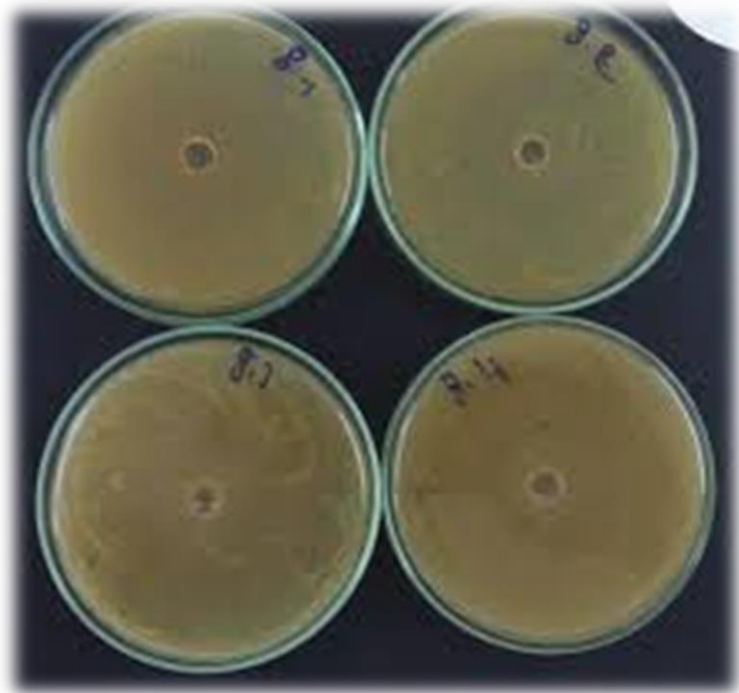
Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa

Partie 1 :

L'activité antibactérienne



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Introduction .

Empiriquement reconnues depuis des siècles, La confirmation scientifique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est récente. Elle ne date que du début du siècle dernier avec les travaux du Dr Gattefossé, le père de l'aromathérapie en France. Depuis ce temps, l'utilisation des huiles essentielles s'est développée jusqu'à devenir de puis plus d'une vingtaine d'années, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses .De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. Cette activité a été utilisée dernièrement pour la conservation du patrimoine bibliographique des musés, et elle est naissante pour traiter la qualité de l'air dans les bâtiments.

Les substances naturelles sont des composés que l'on retrouve dans les organismes végétaux, l'étude de ces composés et leur isolement a permis des progrès dans plusieurs domaines, particulièrement dans le domaine de la santé humaine et animale. En effet les plantes renferment des composés qui ont la propriété d'agir sur l'organisme humain, favorablement (cas des médicaments) ou défavorablement (cas des toxines).

I. Bactéricide et bactériostase .

A la manière des agents chimiques ,on distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes : une activité létale(bactéricide) et une inhibition de la croissance(bactériostase).

L'activité des huiles essentielles est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Cependant les études suivantes ont montré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides et fongicides.

Plus spécifiquement,plusieurs études ont montré l'apparition de fuites d'ions potassium K^+ de cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec du Tea-tree(*Melaleuca alternifolia*). Il s'agit de la toute première indication de dégâts

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

irréversibles au niveau de la membrane. Des composés isolés tels le thymol et le carvacrol rendent la membrane des bactéries perméable, prémices de leur mort. La faculté de perturber la perméabilité de la cellule membranaire, accompagnée de la perte de l'osmose chimique sont bien la preuve d'une activité létale de certaines huiles essentielles.

Une revue des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) pour 4 variétés de thym portant sur 14 souches bactériennes (dont *Staphylococcus aureus*) a montré que dans la majorité de ses expériences, les valeurs des CMI sont identiques aux CMB. Ceci indique que les huiles essentielles incriminées sont bactéricides.[65]

II. Activité antibactérienne.

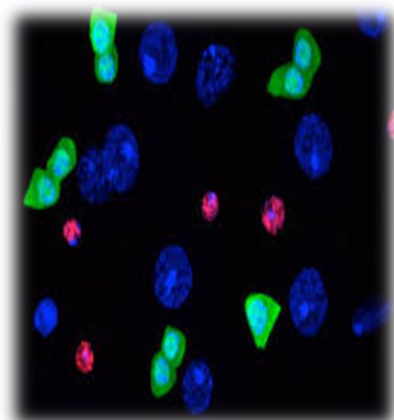
II.1.Choix des souches .

Pour l'étude de l'activité antibactérienne on a choisi des souches bactériennes pathogènes de l'ATCC (American Type Culture Collection), qui ont été entretenues par repiquage sur milieu LB pendant vingt-quatre heures à 37 °C. Il s'agit de trois bactéries Gram+ (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*) et deux bactéries Gram- (*Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*).[66]

II.2.Aromatogramme.

« L'aromatogramme est à la phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine». Cette transposition due à Dr Girault dès 1971, est décrite dans le tome III du Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie.

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

d'utilisation mondiale . Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri.

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle (Figure 16).

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante.

Cette méthode utilisée par certains auteurs

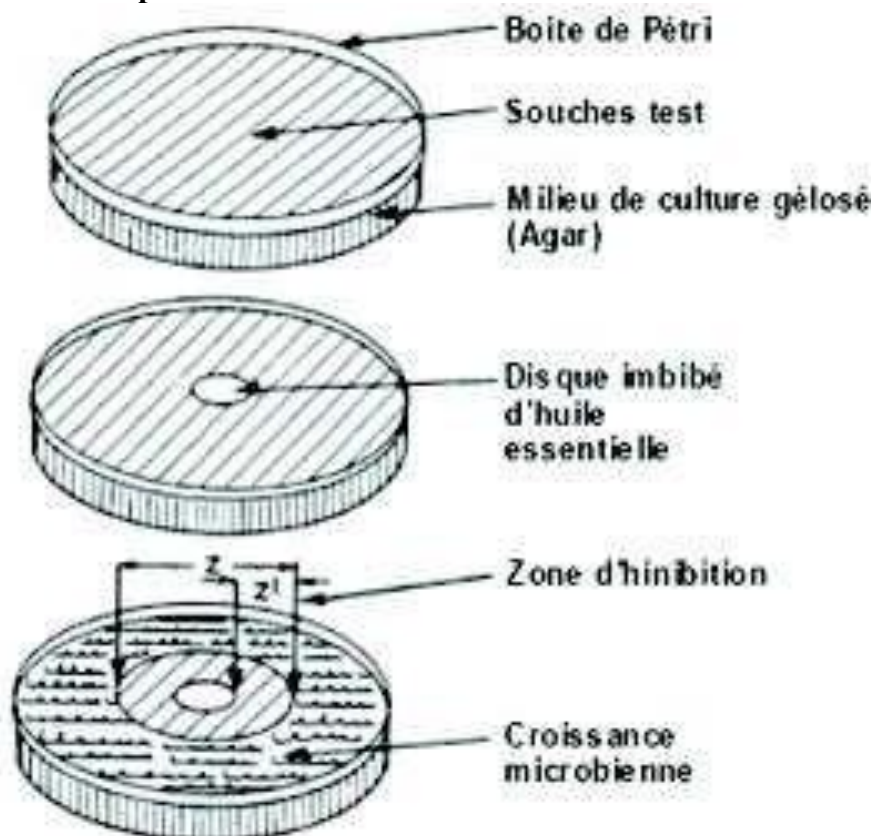


Figure.16 Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

II.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et des concentrations minimales bactéricides.

Il est nécessaire de définir, pour caractériser l'activité antimicrobienne d'un composé, des paramètres simples. Pour l'activité antibactérienne, le plus courant est la

« Concentration Minimale Inhibitrice » (CMI) qui peut être déterminé par contact direct en milieu gélosé ou en milieu liquide. Elle correspond à la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance d'un nombre déterminé de germes après un temps d'incubation donné.

Fréquemment, la CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci amène à définir un autre paramètre : la « Concentration Minimale Bactéricide » (CMB), parfois appelée aussi « létale » (CML). Elle correspond à la concentration en agent inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale sur un inoculum donné après un temps bien déterminé. Elle est estimée en milieu liquide par l'évaluation des survivants après élimination du composé inhibiteur. [65]



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Tableau 07: Concentration minimale d'inhibition (CMI) des composants de l'huile essentielle des plantes[28]

Composants de l'huile essentielle	Bactéries	CMI (µL/mL).
α-Terpinéol	<i>Escherichia coli</i>	0,450->0,9
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,225
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,9
	<i>Listeria monocytogenes</i>	>0,9
	<i>Bacillus cereus</i>	0,9
Carvacrol	<i>Escherichia coli</i>	0,225- 5
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,225- 0,25
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,175- 0,450
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,375- 5
Citral	<i>Bacillus cereus</i>	0,1875- 0,9
	<i>Escherichia coli</i>	0,5
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,5
Eugenol	<i>Escherichia coli</i>	1,0
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	>1,0
Géraniol	<i>Escherichia coli</i>	0,5
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0
Perillaldehyde	<i>Escherichia coli</i>	0,5
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,5
	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0
Thymol	<i>Escherichia coli</i>	0,225- 0,45
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,056
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,140 0,225
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,450
	<i>Bacillus cereus</i>	0,450

CMI est donnée en µ L/mL en supposant que l'huile essentielle a la même masse volumique de l'eau.

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

III. Rôle de la méthode dans la détermination de l'activité.

Selon la littérature, la diffusion sur gélose et la dispersion en microatmosphères mettent en évidence l'activité biostatique, et les mélanges en bouillon nutritif, l'activité biocide. Mais des études récentes se sont affranchies de la méthodologie et des essais gélosés peuvent aussi bien démontrer des effets biocides [65]

IV. Association d'huiles essentielles.

Les effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles, comme pour les associations d'antibiotiques, sont définies selon quatre interactions possibles :

Indifférence : l'activité d'une huile essentielle n'est pas affectée par l'autre

Addition: l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque huile essentielle étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association.

Synergie: l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque huile essentielle étudiée isolément, à la même concentration.

Antagonisme : l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des huiles essentielles. Elle est inférieure à la somme des effets de chaque huile essentielle prise séparément.

Partie 2 : Les activités biologiques des huiles essentielles.



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

V. Les activités biologiques des huiles essentielles.

V.1. L'activité antioxydante.

Le pouvoir antioxydant des HE est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation [67].

V.2. L'activité antivirale.

Les virus sont souvent très sensibles aux molécules aromatiques. Certaines pathologies virales comme la bronchite, l'angine, le zona, la rhinopharyngite et la grippe peuvent être améliorées grâce à elles. Des études ont démontrées que les cellules saines des patients soumis aux traitements aromatiques semblent acquérir une résistance particulière vis-à-vis de la pénétration virale [68].

V.3.L'activité antiseptique.

Les huiles essentielles peuvent aider à lutter contre les infections se transmettant de plus en plus facilement dans les bureaux, les locaux publics, les écoles, les crèches et même les hôpitaux. Grâce à leur pouvoir antiseptique, les huiles essentielles peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation et limiter ainsi la propagation des germes microbiens .

V.4.L'activité antiparasitaire.

Comme c'est le cas dans la lutte contre les bactéries, le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites. Les vers oxyures, ascaris et tænia sont sensibles à certaines huiles essentielles comme celle de *Thymus vulgaris*. Les alcools monoterpéniques,

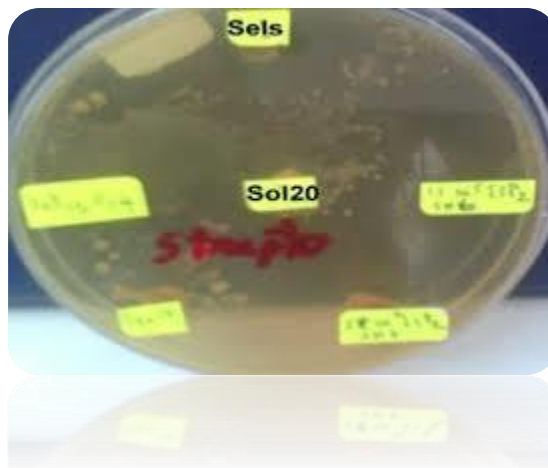
Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

certaines oxydes (ascaridole dans le Boldo, Boldeafragrans) et des cétones ont des activités antiparasitaires [68].

V.5. Activité antimicrobienne.

V.5.1. Activité antibactérienne.

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérigènes, leur toxicité aiguë et leur danger potentiel pour l'environnement en plus du problème de résistance bactérienne à cette classe thérapeutique. Plus récemment, la prévalence de la résistance aux antimicrobiens a incité les chercheurs à rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes pour inhiber les diverses bactéries pathogènes humaines.



À cet égard, l'exploitation des huiles essentielles pour contrôler l'épidémie des bactéries pathogènes peut être utile pour lutter contre diverses maladies infectieuses. L'impact antimicrobien des huiles essentielles et de leurs composants chimiques est démontré par plusieurs études .

L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant les bactéries à Gram positives et les bactéries à Gram négatives. La structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positives les rend toutefois plus sensibles à l'action des huiles essentielles (Raut et Karuppaiyl, 2014). La structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives les rend moins sensibles à l'action des huiles essentielles. La présence d'une membrane plasmique hydrophile externe chez les Gram négatives empêche la pénétration intracellulaire des molécules hydrophobes composant la majorité des huiles essentielles. Cette caractéristique confère aux bactéries négatives une résistance à l'huile et même aux antibiotiques

La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (feuilles, fleurs, rameaux, fruits) utilisé pour produire les extraits, ainsi que le procédé employé pour réaliser l'extraction. La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité antibactérienne observées entre les huiles essentielles .

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Dans l'ensemble, le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et des caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle.

Les constituants chimiques de l'huile essentielle ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne.

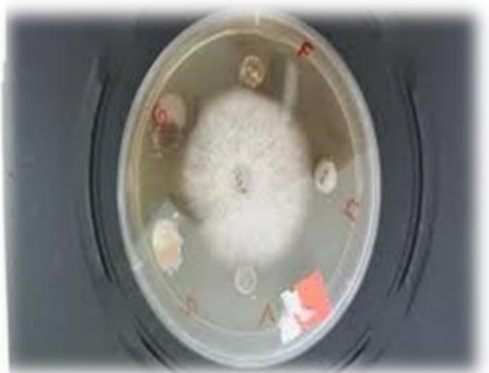
Les molécules oxygénées, qui entrent dans la composition des huiles essentielles, sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées, connues pour leurs faibles propriétés antibactériennes. L'activité antibactérienne de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Parmi les composés de l'huile essentielle les phénols, sont, du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, décrits comme les composés les plus actifs. Les composés carbonylés, avec des groupements aldéhydiques ou cétoniques, et les alcools sont également reconnus pour leurs propriétés antibactériennes.

Les composants actifs de l'huile essentielle du Romarin tel que le cinéole, le camphre et l' α -pinène, agissent sur plusieurs sites de la cellule bactérienne.

Des cellules bactériennes traitées avec la fraction oxygénée de l'huile essentielle de *Quercus infectoria* est également endommagé. Le matériel intracellulaire forme des agrégats, qui présentent un aspect vacuolaire, due à une modification de la perméabilité membranaire qui conduit à une perte des éléments cytoplasmiques [70].

V.5.2. Activité antifongique.

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques, soit sous leur forme pure soit sous forme de dérivés des composés originaux pour une optimisation thérapeutique plus efficace et plus sûre.



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs sont également employés comme agents antifongiques dans les industries agro-alimentaires.

L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Candida albicans*, et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P. funiculosum*. Papajani et al. (2015) ont rapporté l'activité antifongique de l'huile essentielle de romarin sur les dermatophytes tels que :

Epidermophyton floccosum, *Arthroderma caryophylli*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton tonsurans*, et des champignons phytopathogènes tels que *Botrytis cinerea* et *Pleomorphicomonasoryzae*.

Les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant alors à la perte des macromolécules conduisant à une inhibition de la croissance fongique. D'autre part, la pectine composée essentiel des parois des cellules végétales nécessaire à l'adhésion cellulaire, est hydrolysée par les pectinases fongiques. Il semblerait que les composés phénoliques des HE joueraient un rôle inhibiteur de celles-ci.

L'exposition des cellules fongiques à l'huile essentielle conduit généralement, à la coagulation des composants cellulaires dus à des dommages irréversibles de la membrane cellulaire. Chez la levure, l'huile essentielle établit un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire.

Les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire des champignons et des membranes cytoplasmiques grâce à un processus de perméabilisation, ce qui conduit à la désintégration des membranes mitochondriales. Ceci est causé par des altérations dans le flux. Cela peut aussi endommager les lipides, les protéines et les acides nucléiques contenus dans les cellules infectées par les champignons pathogènes.

Les huiles essentielles pourraient également perturber la dépolarisation de la membrane mitochondriale en agissant sur les canaux d'ions, surtout les ions du Ca^{2+} , pompes à protons et pools d'ATP qui amène vers une diminution du potentiel membranaire. Ce changement dans

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

la fluidité des membranes peut causer une perte d'électrolytes par la perturbation des voies de cytochrome C, des métabolismes des protéines et des concentrations d'ions du calcium. Par conséquent, cette modification de la perméabilité des membranes mitochondriales internes et externes peut entraîner l'apoptose des cellules conduisant à la mort cellulaire [70].

VI. Evaluation de l'activité antibactérienne.

Les différents protocoles peuvent être classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle et selon la nature du contact de l'huile essentielle avec le germe. La majorité de chercheurs ont employé une des trois analyses suivantes : diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon .Ces méthodes sont relativement rapides, peu coûteuses et n'exigent pas l'équipement de laboratoire sophistiqué ; cependant, elles ne sont pas sans inconvénients[71].

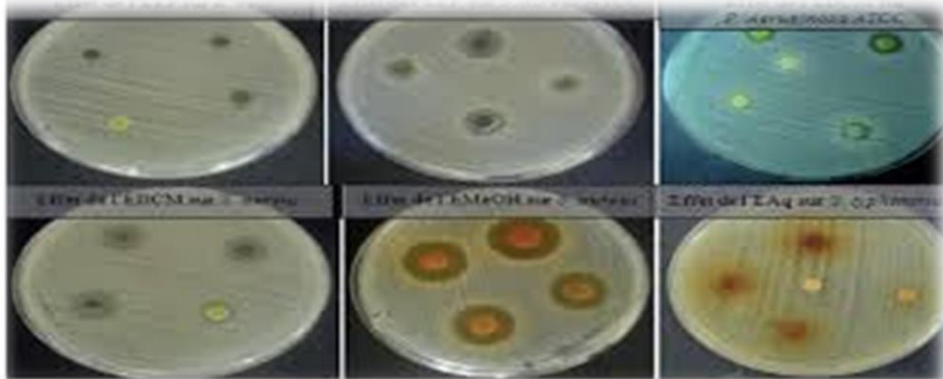


Figure17 :Evaluation de bactérie

VII. Souches bactériennes utilisé.

VII.1. Escherichia coli.

Elle a été isolée pour la première fois par Escherichia en 1885. Elle est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes Elle est actuellement la seule espèce homologuée du genre Escherichia. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire.

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles



Figure .18. la bactérie Escherichia coli.

VII.2. Staphylococcus aureus.

Elle a été identifiée de l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur en 1820. Les bactéries de l'espèce *S.aureus* sont des coques à gram positif de 0.5 à 1.5 μm de diamètre, les toxiques infections alimentaires à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliments, et responsable d'un très grand nombre d'infections chez l'homme et animale, le plus souvent impliqués dans les infections cutanées muqueuses et digestives.



Figure.19. la bactérie Staphylococcus aureus

VII.3. Pseudomonas aeruginosa.

Pseudomonas aeruginosa, autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu, est une bactérie gram-négative du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles. Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, elle est avec d'autres bactéries à gram négatif de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés)[72].

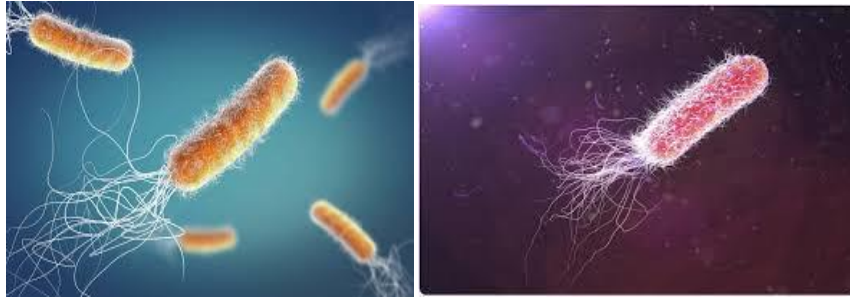
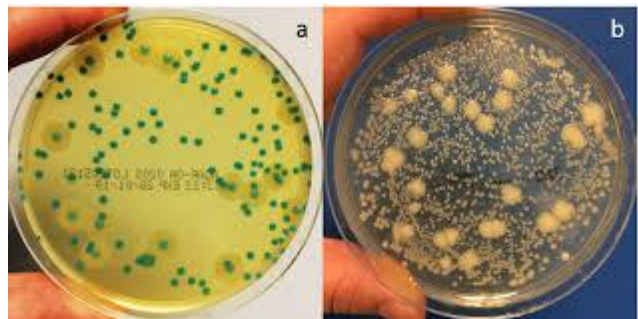


Figure. 20. la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

VII.4 *Listeria*.

Listeria est un genre bactérien, qui compte 20 espèces, dont *Listeria monocytogenes*, seul pathogène pour les humains où il provoque la listériose (l'une des zoonoses les plus graves). Les autres espèces comprennent, entre autres, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovi* subsp. *ivanovii*, *Listeria ivanovi* subsp. *londoniensis*, *Listeria grayi*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria costaricensis*, *Listeria goaensis* et *Listeria thailandensis*. Les *Listeria*, nommées d'après Joseph Lister, qui les a découvertes, sont des bacilles de petite taille, mobiles à 20 °C (grâce à des flagelles), gram positif. Toutes les espèces sont catalases positives, non sporulées, et anaérobies facultatifs. Ce sont des bactéries ubiquistes qu'on trouve presque partout ; dans le sol, en épiphyte sur les végétaux, l'eau, etc. Très résistantes, elles peuvent survivre aux traitements de nettoyage-désinfection et ainsi persister dans les ateliers de production de l'industrie agroalimentaire[73].



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

VIII. Les facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

VIII.1. L'activité liée à leur composition chimique.

Les composés chimiques connus pour leur efficacité antibactérienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures.

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent. Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles, les autres composés chimiques doivent également être pris en compte, car les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique. D'autres groupements fonctionnels, comme les acétates, contribuent à accroître l'activité des molécules antibactériennes.

VIII.2. Le type de bactérie ciblé

Les bactéries n'ont pas la même sensibilité vis à vis des huiles essentielles néanmoins une sensibilité supérieure des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobiose. Par exemple, *Escherichia coli* est plus sensible vis à vis de l'huile de *Melaleuca alternifolia* que *Staphylococcus aureus*. Toutefois, la sensibilité des bactéries peut varier selon le genre et la souche testée, l'espèce botanique et le chémotype de l'huile essentielle mis en évidence.

VIII.3. Le mode d'action des huiles essentielles.

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+) : ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positifs telle que *Staphylococcus aureus* et à Gram négatifs telle que, *Escherichia coli*, Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des bactéries comme

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez Enterobacter aerogenes a aussi été rapportée. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides [68].

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

conclusion

un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés physicochimique , antibactérien très importantes Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur l'huile essentielle extraite de cette plante aromatique.

Par contre pour l'activité antibactérienne de l'huile essentielle est très important, avec une inhibition peut aller jusqu' à 60 mm de diamètre.

Partie 3 :
Aromathérapie des huiles
essentielles



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Introduction.

Branche de la phytothérapie ,l'aromathérapie a acquise ses lettres de noblesse est de devenue une thérapeutique à part entière .si l'on se réfère à l'acception étymologique et moderne du terme, l'aromathérapie se définit comme << le traitement, à titre préventif ou curatif, des maladies physiques et psychosomatiques par les aromes végétaux'' : les huiles essentielles et les essences extraites des plantes odoriférantes qui possèdent des vertus médicinales sont administrées par les différentes voies compatibles avec leur nature huileuse>> .

Les HE diffèrent fondamentalement des antibiotiques qui sont par définition des substances mortes ,hostiles à la vie et perturbatrices des métabolismes naturels vitaux Au contraire, les HE sont des <<eubiotique>> dépourvus d'effets secondaires , qui améliorent le terrain et <<participent à la vie>> en favorisant une profonde revitalisation de l'organisme.[76]

Dans notre société moderne, la médecine courante, d'orientation allopathique, se trouve confrontée à des problèmes majeurs :l'inefficacité des antibiotiques face à certains germes pathogènes devenus résistants, le manque de substances antivirales, l'augmentation des déficiences immunitaires des individus, le cercle vicieux auquel aboutit la prescription continue de médicaments psychotropes.

L'aromathérapie propose des solutions alternatives à ces problèmes. Alors que les microbes deviennent de plus en plus résistants aux structures moléculaires de synthèse des antibiotiques,ils seheurten plus difficilement à l'infinie diversité et à la complexité des HE. Elles apportent à l'organisme, les concentrés de la nature les plus précieux pour rétablir ou conserver l'équilibre indispensable à la santé.

I.Aromathérapie.

L'aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques, préventives ou curatives. Celles-ci sont utilisées soit par voie interne ou cutanée, soit par inhalation.[77]



Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Chémotype ou chimiotype.

La notion de chémotype (chimiotype ou encore race chimique) est une notion clé en aromathérapie. Terme utilisé pour la première fois en 1968 par le Dr R. Santesson et son fils, le chémotype est alors défini comme un « groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables ».



Le concept de chémotype permet de distinguer deux ou plusieurs huiles essentielles de composition chimique différente produites à partir de plantes de la même espèce, définie par sa dénomination scientifique et non à partir de sa dénomination commune. Ainsi, la différence entre le thym à thymol et le thym à linalol (tous deux issus de *Thymus vulgaris* L.) n'est pas la même que celle entre la lavande fine et la lavande aspic (*Lavandula angustifolia* Mill. et *Lavandula latifolia* Medik.).

Cela signifie que des individus de la même espèce botanique, ayant donc le même génome et le même phénotype, peuvent présenter des différences significatives au niveau de leur composition chimique. Celle-ci est en effet sous l'influence de nombreux facteurs autres que la détermination génétique, comme la qualité du sol, le climat, l'altitude, l'hygrométrie, etc. Nous montrerons plus tard que les huiles essentielles sont particulièrement sujettes à ce phénomène.

Les composés chimiques présents dans une huile essentielle ne sont pas constants. Deux plantes identiques, morphologiquement et caryologiquement, peuvent produire des essences différentes. Ces différences de composition peuvent être extrêmement importantes et changer les propriétés de l'huile essentielle du tout au tout. De ce fait, il est primordial pour le thérapeute de respecter cette notion.

Les termes « chimiotype » et « chémotype » permettent de distinguer ces types chimiques. Introduite il y a plusieurs dizaines d'années, la notion de chémotype a été officialisée par l'union européenne avec l'adoption de la réglementation REACH (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des produits chimiques) en 2006. Le plus souvent, on utilise pour désigner la race chimique le ou les composés chimiques. [78]

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

Ces entités chimiques distinctes au sein d'une seule et même espèce sont le fruit de l'expression de différentes voies métaboliques présentes chez les individus, elle-même sous l'influence de nombreux facteurs extérieurs[79]. Les facteurs influençant la composition chimique ne sont pas toujours faciles à appréhender. Des études menées par Granger et Passet sur *Thymus vulgaris*. ont montré que des plants chimiquement distincts peuvent grandir côte à côte.[80]

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*.), pour lequel trois chémotypes ont été définis, permet d'illustrer l'importance de cette notion.

Le chimiotype *Rosmarinus officinalis*. ct 1,8-cinéole, récolté en Tunisie et au Maroc présente des propriétés fluidifiantes et expectorantes, faisant de son huile essentielle un outil dans les pathologies broncho-pulmonaires.

Le chimiotype *Rosmarinus officinalis*. ct acétate de bornyle, verbénone, que l'on trouve en Corse, est employé dans les pathologies hépatiques.

Rosmarinus officinalis. ct camphre, qui croit en Provence et Espagne, est employé pour faciliter l'effort musculaire et l'activité cardiaque. Il présente cependant une certaine toxicité hépatique .[79]

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles



III .Généralités.

L'aromathérapie est l'utilisation à des fins thérapeutiques des fractions aromatiques de la plante (essence et huile essentielle). Cette utilisation se fait par voie interne, cutanée ou encore par inhalation. Elle se différencie de la phytothérapie qui utilise l'ensemble des éléments de la plante (ou partie de plante). Cette différence n'est pas anodine. En effet, la phytothérapie fait appel à l'ensemble des composés chimiques présents dans la plante. Les huiles essentielles ne peuvent contenir que la fraction lipophile de la plante, mais celle-ci se retrouve à un niveau de concentration bien plus élevé que dans la plante totale.

D'autres utilisations des huiles essentielles ne doivent pas être confondues avec l'aromathérapie. L'aromathérapie fait un usage des huiles essentielles comparable à celui des médicaments allopathiques. L'aromatologie emploie les huiles essentielles à des fins de bien-être et non thérapeutiques. L'aromachologie, s'intéresse à l'action des odeurs sur la psychologie et le comportement[81]. Cependant, des études tendent à montrer que l'action des odeurs ne concerne pas uniquement la sphère psychologique, elles pourraient également avoir des effets physiologiques (notamment sur la peau). Les mécanismes d'actions restent cependant à confirmer[82]. On différencie également l'approche anglo-saxonne de l'aromathérapie, qui se contente généralement des voies externes (applications cutanées et bains) et de la voie respiratoire, visant principalement une action comportementale et de bien-

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

être ; et l'approche française qui utilise toutes les voies d'administration avec de réelles ambitions thérapeutiques[83].

En aromathérapie, une grande attention est portée à l'origine de l'huile essentielle. Afin de garantir la meilleure qualité, la plante et son environnement doivent être clairement identifiés. Sa récolte doit se faire dans de bonnes conditions et à la période propice. Seuls certains procédés d'extraction sont reconnus pour une utilisation expression). Ce point est particulièrement important car susceptible de modifier la qualité de l'extrait obtenu. Les conditions de conservation doivent également être contrôlées pour garantir la plus grande stabilité de l'huile essentielle dans le temps.



Figure .21. des plantes

IV .Les applications thérapeutiques de l'aromathérapie

Les spécialistes Français, chefs de file de l'aromathérapie scientifique contemporaine comme R.M. Gattefossé, J. Valnet, J.C. Lapraz, C. Duraffourd, , P. Belaiche, D Baudoux, ont identifié plus de 80 propriétés s'appliquant à la quarantaine d'huiles essentielles courantes.

Le mode d'action des huiles essentielles se manifeste de différentes manières et montre une importante diversité. Elles ont une activité directe sur les micro-organismes pathogènes (bactéricides, anti-virale, anti-fongique..) , sur plusieurs fonctions physiologiques particulières (elles peuvent par exemple avoir la même analogie structurale que les oestrogènes) et sur notre métabolisme (exemple : action sur notre système neuro-végétatif).

D'où de nombreuses vertus : antalgique, antispasmodique, anti-inflammatoire, cholérétique, cholagogue, anti-prurit, vermifuge..en passant par hypotenseur et stimulant gastrique, etc...

Cependant, les preuves de l'efficacité de l'aromathérapie dans les traitements médicaux restent pauvres avec un manque d'études employant des méthodes cliniques

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles

rigoureuses. Cependant, les conséquences de leur usage semblent clairement indiquer leur véritable potentiel thérapeutique.

La difficulté d'établir des études en double aveugle, puisque la présence d'huile essentielle se détecte par l'odeur, crée un problème méthodologique important.



Néanmoins, des parutions de plus en plus nombreuses démontrent leur efficacité.[84]

V .L'aromathérapie en pratique

L'aromathérapeute et l'aromatologue

Un aromathérapeute ou aromatologue est un praticien de santé allopathique ou de santé naturelle spécialisé dans l'utilisation des pratiques médicales utilisant les huiles essentielles. Celui-ci conseille le patient sur l'utilisation des huiles essentielles ou d'extraits aromatique des fleurs dit hydrolats.

Pour les utiliser en toute sécurité et obtenir un résultat probant, il est nécessaire que chaque utilisateur bénéficie des conseils individualisés d'un aromathérapeute. L'usage des huiles essentielles n'étant pas du tout anodin, un tel métier exige une connaissance approfondie des plantes, et de leurs propriétés. L'aromathérapeute a également une très bonne connaissance en biochimie, en physio-pathologie du corps humain. Un aromathérapeute traite tous les petits maux de la vie quotidienne ainsi que des problématiques chroniques plus complexe. Les méthodes d'administration des huiles essentielles sera en fonction des besoins, de la pertinence et des goûts de chacun : bain, massage, diffusion, inhalation, usage interne, application locale, etc.

Chapitre III : L'activité antibactérienne et aromathérapie des huiles essentielles



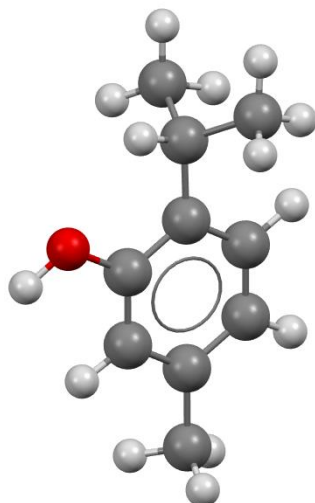
Conclusion

L'aromathérapie figure parmi les outils dont dispose les aromathérapeutes, aromatalogues et les naturopathes. Elle est très utile contre les affections (problèmes de la sphère oreille-nez-gorge, troubles digestifs divers, problèmes de sommeil, douleurs diverses, problèmes liés au cycle menstruel et à la ménopause, les usages sont vastes). Son action la plus probante est de nature antiseptique (contre les bactéries, virus, champignons et autres parasites). On s'en sert donc très efficacement pour l'hygiène des espaces intérieurs à la maison, en soins esthétiques et pour la détente, et de plus en plus fréquemment en prévention et traitement des maladies infectieuses nosocomiales dans les milieux hospitaliers. Certaines huiles essentielles ont également une action bienfaisante sur le plan psycho-émotionnel et pour contrer le stress et l'anxiété, et tous les troubles liés à la gestion des émotions.

Chapitre IV :

Etude structural du thymol

*Empilement, Graphes de Bernstein et
Analyse de la surface de Hirshfeld*



Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

Introduction

Dans le monde végétal, les terpènes sont connus comme principe odorant des végétaux mais aussi dans les huiles essentielles pour leurs propriétés thérapeutiques.

Le thymol, appartenant au groupe des terpénoïdes, est un monoterpène cyclique possédant une fonction phénol. Le chimiste allemand Cas par Neumann a extrait pour la première fois en 1719 ce principe actif de l'huile essentielle de thym. Sa structure a en suite été élucidée en 1853 par M. Lallemand qui lui a donné le nom de thymol.

Le thymol est ainsi accumulé par les végétaux au sein de l'huile essentielle. Pour la pharmacopée européenne (9e éd.), une huile essentielle est un « produit odorant ,généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par un entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ,soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. ».

Ces huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux. Bien que la fonction biologique des constituants des huiles essentielles ne soit pas toujours précisément connue, elles joueraient vraisemblablement un rôle dans la protection contre les prédateurs (insectes, champignons) ou encore dans l'attraction des pollinisateurs.

Par vulgarisation, le terme « phénol » est généralement utilisé en aromathérapie pour désigner la famille biochimique des monoterpènes à fonction phénol dont fait partie le thymol.

Alors que les différentes sources bibliographiques étudient en général la famille biochimique des monoterpènes à fonction phénol, cette thèse vise à étudier en profondeur les propriétés et les applications du thymol.

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

I. Caractéristiques générales

I.1. Généralités sur les monoterpènes à fonction phénol

Les monoterpènes à fonction phénol constituent l'une des grandes familles biochimiques des huiles essentielles. Ils ont pour structure commune un cycle aromatique (benzène) sur lequel est branché un groupement hydroxyle (figure 22).

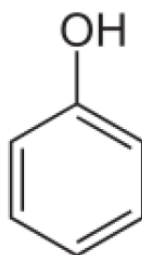


Figure. 22. Phénol

Dans cette famille biochimique, le thymol, le carvacrol et l'australol sont issus de la voie des terpénoïdes et l'eugénol, le gaïacol et le chavicol sont directement dérivés du phénylpropane (squelette en C6 ou C9) (figure 23).

Leur nom se termine par le suffixe « -ol », faisant référence à la fonction phénol. Ce suffixe est également utilisé pour désigner les terpènes possédant une fonction alcool (tel que le menthol).

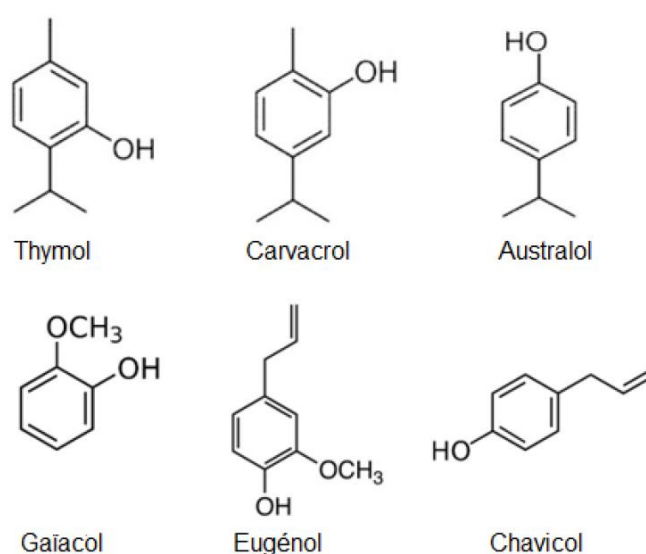


Figure 23. Structure des composés volatils à fonction phénol.

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

Le thymol se distingue des autres monoterpènes phénoliques par la position de la fonction phénol sur le cycle, située en ortho du groupement isopropyle et en meta de la fonction méthyle.

Même si cette famille biochimique semble avoir une activité anti-infectieuse comme une ,chaque molécule est douée de propriétés particulières, le thymol possède des propriétés biochimiques et pharmacologiques qui lui sont propres et fait l'objet de nombreuses études scientifiques.

I.2. Caractéristiques physico-chimiques

Le thymol se présente sous forme de cristaux incolores (**figure24**) avec une odeur aromatique caractéristique.



Figure.24. Cristaux de thymol et observation d'un cristal au microscope optique.

Le thymol est soluble dans les alcools, les graisses et les huiles et peu soluble dans l'eau. Ses caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans le tableau08.

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

Tableau .08. Caractéristiques physico-chimiques du thymol

Formule moléculaire	C ₁₀ H ₁₄ O
Poids moléculaire	150 g/mol
Point d'ébullition	233°C
Point de fusion	49,6°C
Densité	0,9699 g/cm ³ à 25°C
Constante de dissociation (pKa)	10,62
Solubilité à 25°C de 1g de thymol :	
- Eau	1 litre
- Alcool	1 millilitre
- Chloroforme	0,7 millilitre
- Ether	1,5 millilitres
- Huile d'olive	1,7 millilitres

I.3. Etude structurale du thymol.

Le thymol, monoterpène à fonction phénol, se caractérise donc par un groupement méthyl et un groupement isopropyl situé en para l'un de l'autre. Le groupement isopropyl est en ortho de la fonction -OH. Il s'agit donc du 2-isopropyl-5-méthylphénol. Sa formule brute est C₁₀H₁₄O.

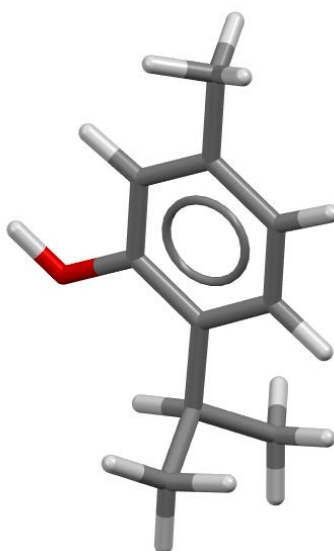


Figure. 25. La structure du thymol

D'autres noms peuvent lui être donnés comme le p-cymen-3-ol ou encore 3-hydroxyp-cymène. Le carvacrol, phénol que l'on retrouve également dans l'huile essentielle de thym,

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

souvent associé au thymol, est son isomère. Le groupement méthyl est alors situé en ortho de la fonction hydroxyle.

a) Données cristallographiques.

Une recherche bibliographique effectuée sur la banque de donnée CSD [85].[86].[87] (Figure 3.) a montré la présence du composé « Thymol ». Sa structure a été étudiée par diffraction des rayons X en 1980 par A. THOZET AND M. PERRIN[88]. Nous présentons dans ce qui suit une étude structurale détaillée de ce composé.

La structure cristalline du thymol, a été déterminée à partir de la Radiation Cu Ka par les méthodes directes et affinée à un R de 0,054. Les cristaux sont trigonaux, groupe d'espace R3, avec les paramètres de mailles suivants : $a = b = 14,730(2)$, $c = 23,115(3)$ Å

Refcode: IPMEPL	
Author(s)	A.Thozet, M.Perrin
Reference	Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem. (1980), 36, 1444
Publication DOI	10.1107/S0567740880006243
Deposition	CCDC 1180630 ; IUCr A18901
Formula	$C_{10}H_{14}O$
Compound	2-Isopropyl-5-methylphenol
Synonym	Thymol; PDB Chemical Component code: IPB; DrugBank: DB02513
Spacegroup	Name: R-3 Number: 148
Cell	a: 14.730(2) b: 14.730(2) c: 23.115(3) alpha: 90.00 beta: 90.00 gamma: 120.00 Volume: 4343.402
Reduced Cell	a: 11.476 b: 11.476 c: 11.476 alpha: 79.85 beta: 79.85 gamma: 79.85 Volume: 1447.799
Molecular Volume	241.300

Figure. 26. Résultat de la recherche sur le composé 2-Isopropyl-5-methylphenol « thymol » effectuée sur la CSD

Les données cristallographiques et les conditions d'enregistrements du Thymol [88] sont consignées dans le tableau suivant .

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

Tableau. 09. Données cristallographiques et conditions d'enregistrement du thymol

	Thymol
Formule chimique	C ₁₀ H ₁₄ O
Unité asymétrique	C ₁₀ H ₁₄ O
Température (K)	100(2)
Système cristallin, groupe d'espace	Hexagonal, R3
Paramètres de maille	a =14.730 (2) Å, b =14.730 (2) Å, c =23.115(3) Å Alpha = 90° Beta = 90° Gamma =120°
Volume Å ³	4343.402
Z	18

b) Description de la structure.

La maille élémentaire du composé thymol contient 18 molécules du 2-Isopropyl-5-methylphenol (**Figure27**)

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

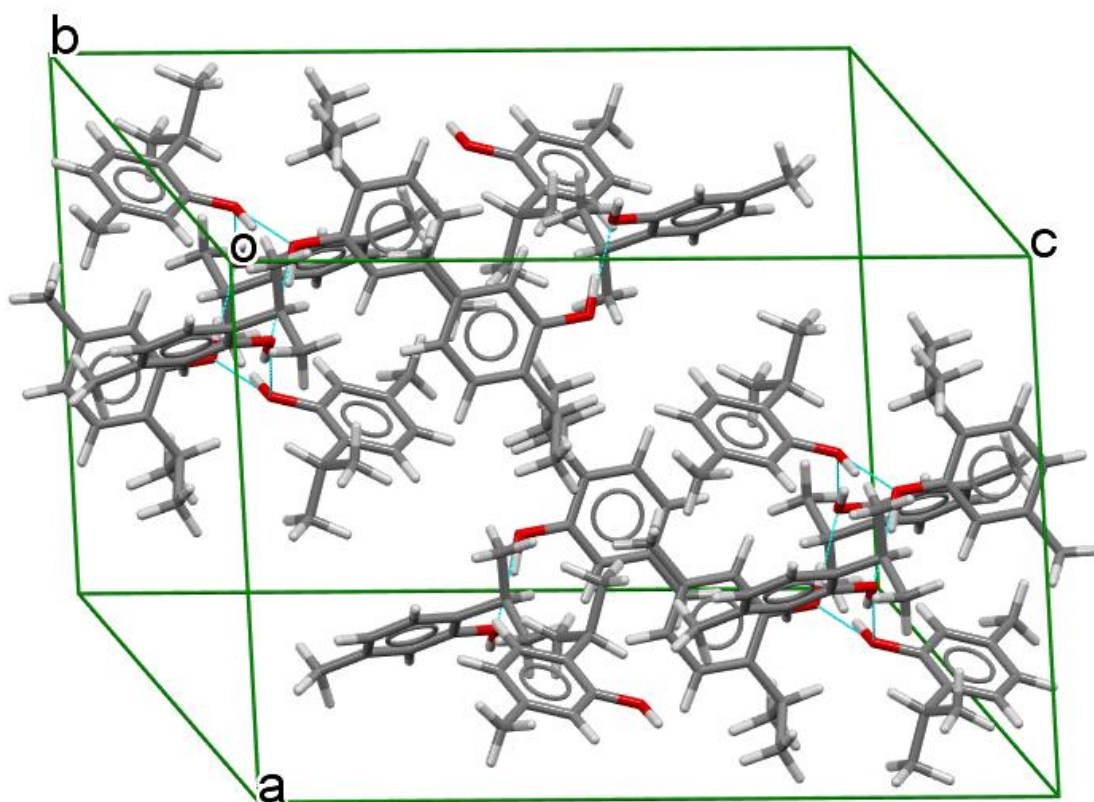


Figure 27. Maille Hexagonal du 'thymol' contenant 18 molécules.

Dans l'empilement cristallin, les molécules sont liées par six liaisons hydrogène liées par un axe 3, donnant ainsi naissance à un hexamère (Dans une structure, c'est un ensemble comportant six éléments). Les molécules de thymol forment ainsi un cycle $R_6^6(12)$ via l'interaction O–H...O [$d_{D...A} = 2.703 \text{ \AA}$], ce cycle fermé inclus 6 donneurs et 6 accepteurs de liaisons hydrogènes (**Figure 28**).

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

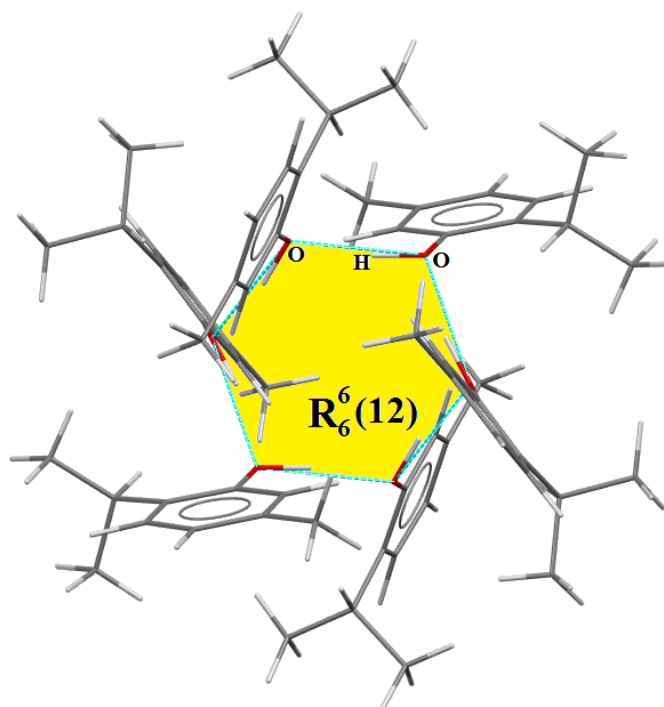


Figure 28. Cycle $R_6^6(12)$ formé via l'interaction forte O–H...O.

La structure cristalline du thymol se compose d'hexamères maintenus ensemble par des contacts de van der Waals (**Figure 29**).

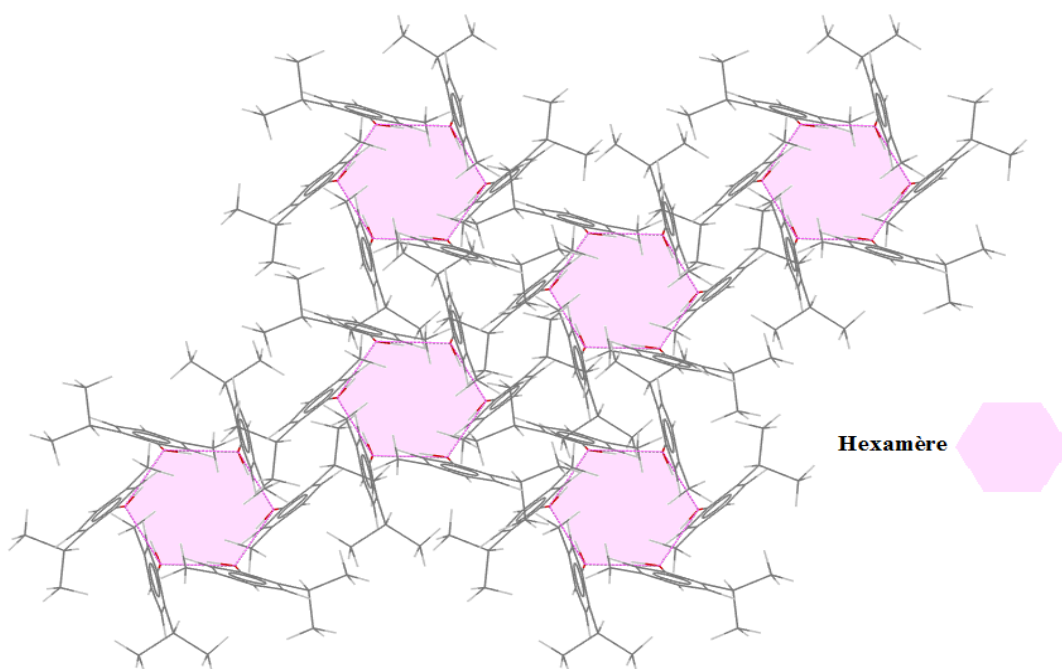


Figure 29. Empilement cristallin de la structure du thymol montrant la formation d'hexamères.

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

c) Analyse de la surface de Hirshfeld

La surface de Hirshfeld (*SH*) du composé thymol est générée par le programme *CrystalExplorer*[89]. L'analyse de la *SH*, fournit des informations sur toutes les interactions existantes dans la structure d'un composé et aide à comprendre son empilement cristallin, en identifiant les interactions intermoléculaires. La surface de Hirshfeld générée autour du thymol montre la présence d'une seule tache rouge vif sur la surface (**Figure30**)

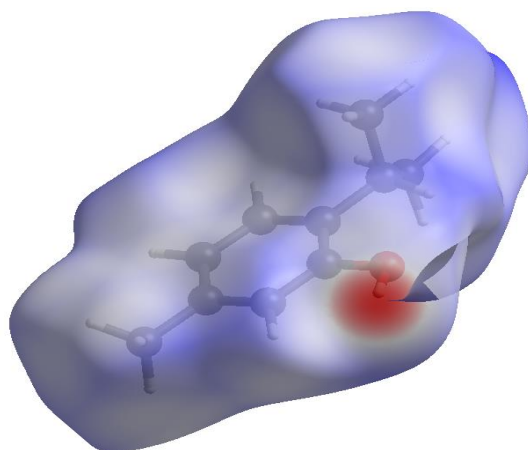


Figure30. La SH autour du thymol montrant la présence d'une seule tache rouge sur la surface. Cette tâche lumineuse est dû à l'interaction forte O–H···O entre deux molécules de thymol.

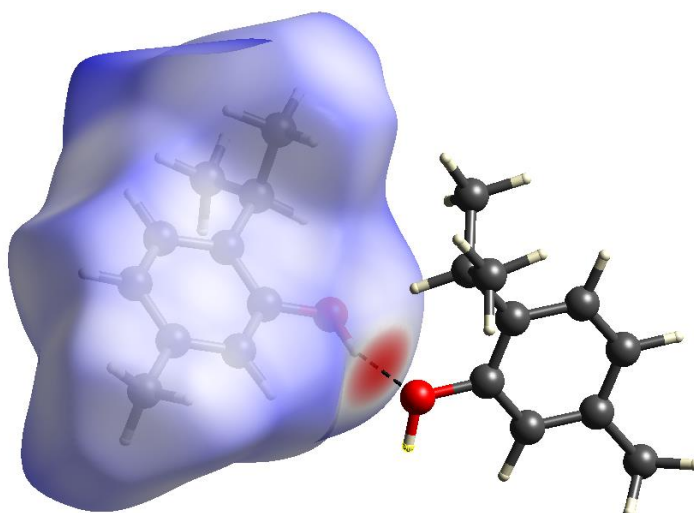


Figure.31. La molécule environnante la surface de Hirshfeld du thymol

La Figure 32 représente les tracés d'empreintes digitales (Fingerprint plot) de la surface de Hirshfeld et les contributions en pourcentage des divers contacts intermoléculaires

Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

au sein du thymol. Pour notre structure, les contacts H...H ont la contribution la plus importante à la surface totale de Hirshfeld avec un pourcentage de 75.1%, suivi des contacts de type C...H/H...C avec un apport de 17%. Les contacts O...H/H...O arrivent en Troisième position avec une contribution de 7,4%, ils apparaissent sur les cartes d'empreintes digitales bidimensionnelles comme deux pointes symétriques nettes, ces deux pics pointus sont caractéristiques des liaisons hydrogène les plus courtes.

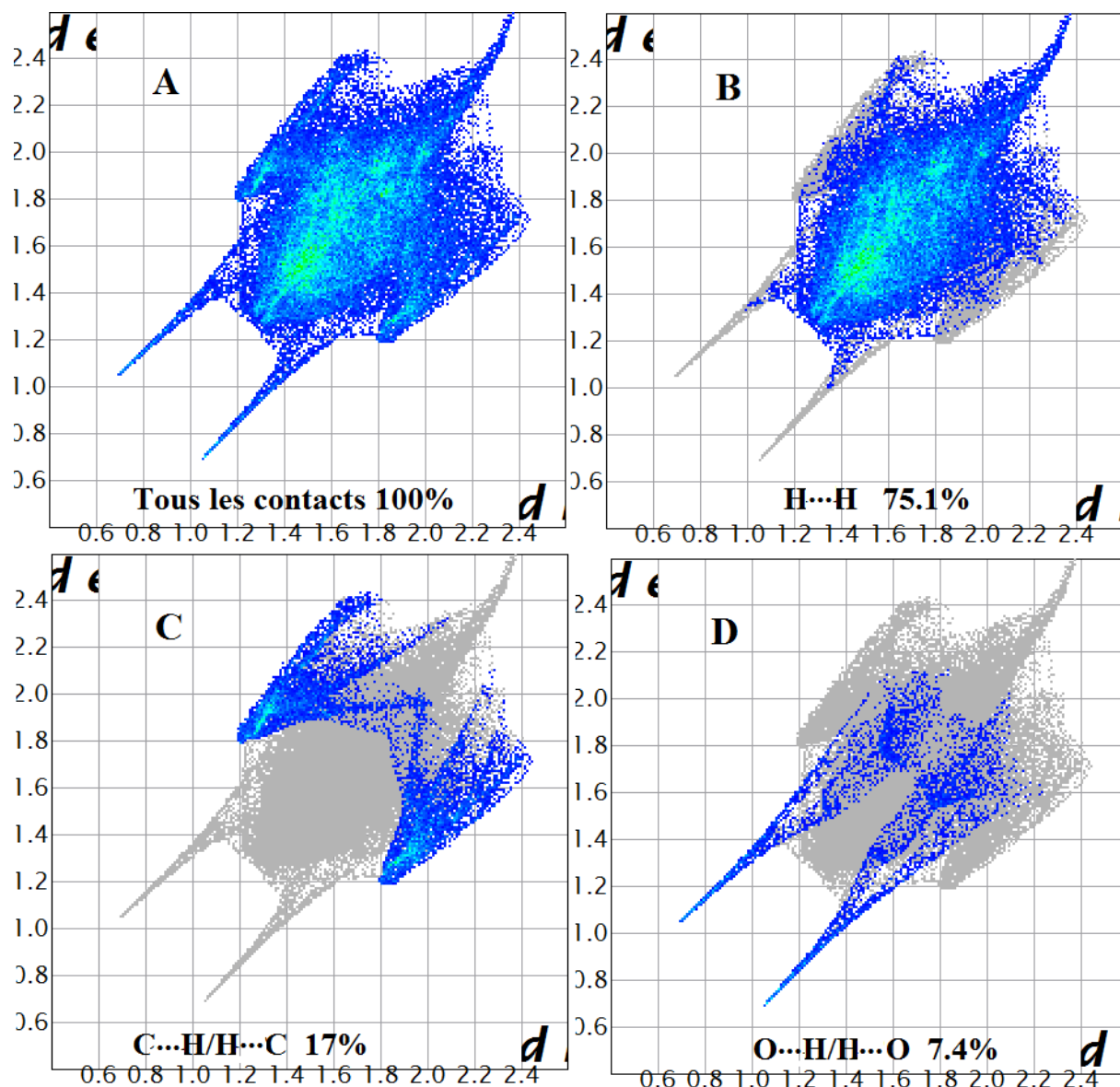


Figure 32. Tracés d'empreintes digitales 2D du thymol montrant le pourcentage des différents contacts contribuant à la surface totale de Hirshfeld.

Conclusion

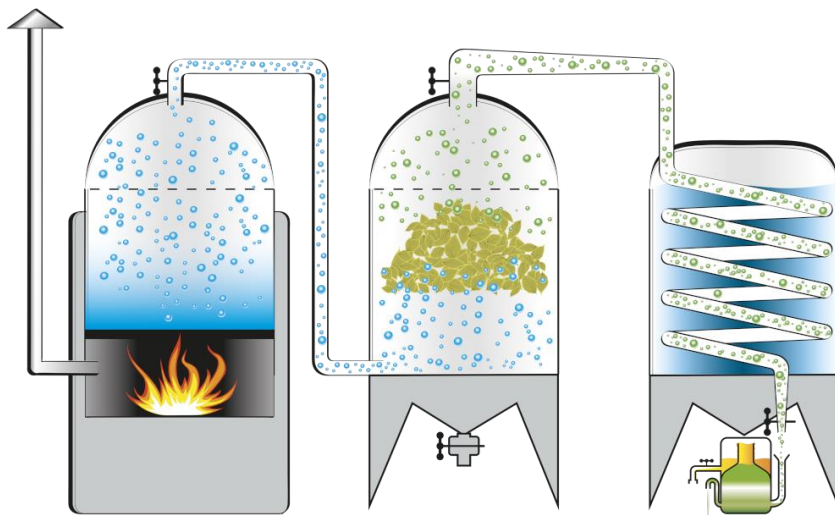
Chapitre IV : Etude structural du thymol empilement, Graphes de bernstein et analyse de la surface de Hirshfeld

Une recherche bibliographique détaillée effectuée sur la banque de donnée CSD a montré la présence du composé 'thymol'. Sa structure a été étudiée pour la première fois par diffraction des rayons X en 1980. Les cristaux du thymol sont en forme de prisme transparents, il cristallise dans le système cristallin trigonal, et dans le groupe d'espace R3, avec 18 molécules du 2-Isopropyl-5 methylphenol dans l'unité asymétrique.

L'édifice cristallin est principalement basé sur des liaisons hydrogène modérées de types O–H···O formées par l'interaction des molécules du thymol donnant ainsi naissance à un hexamère. Les molécules de thymol forment ainsi un cycle $R_6^6(12)$.

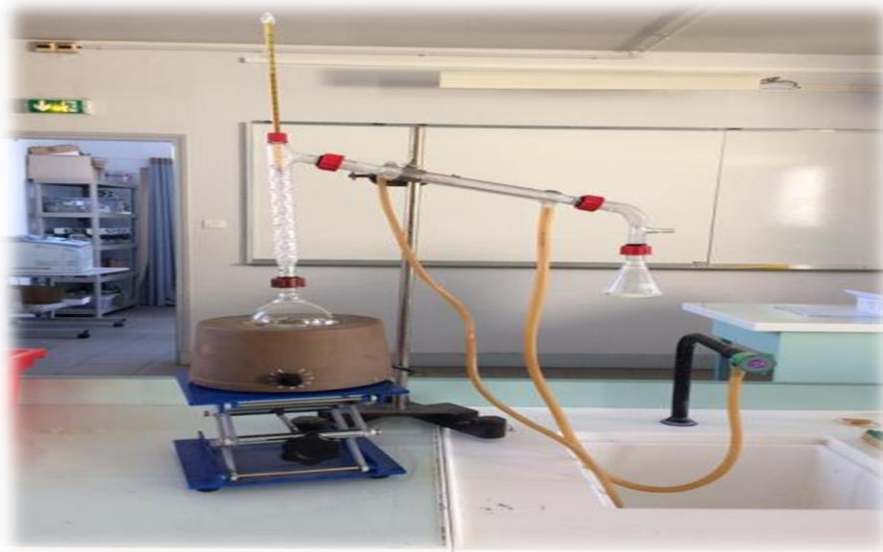
L'analyse de la *SH* de ce composé montre la présence d'une seule tache rouge vif sur la surface qui est due à l'interaction forte O–H···O établies entre les molécules du thymol. Les tracés d'empreintes digitales ont montré que les contacts H...H ont la contribution la plus importante à la surface totale de Hirshfeld avec un pourcentage de 75.1%

Partie Expérimentale



Chapitre V :

Matériels et méthodes



Chapitre V : Matériels et Méthodes

MATERIELS ET METHODES.

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein du laboratoire d'analyses médicales de Dr A. Zibouche à Ain defla, au laboratoire de biologie végétale, et de microbiologie de l'Université DjillaliBounaama de Khémis Miliana pendant une durée de quatre (4) mois [69]

I. Préparation et analyses physico-chimiques des extraits du *thymus. vulgaris*

I.1. Matériels

I.1.1. Matériels végétaux

L'espèce *Thymus vulgaris* L. a été récoltée dans la période allant du mois de Mai jusqu'au mois de Septembre 2017 dans la région de Kafsehab, wilaya de M'sila.

I.1.2. Appareillage

- Hydrodistillateur de type clévenger,
- Etuve
- Autoclave,
- Plaque chauffante
- Réfractomètre,
- Papier pH,
- Balance de précision.

I.1.3. Produits et réactifs chimiques

- Hydroxyde de sodium (KOH) 0.1mol/l.
- Potasse éthanolique à 0.2M.
- Acide sulfurique à 0.25M.
- Phénolphtaléine.
- Ethanol à 95%.

I.2. Méthodes

I.2.1. Séchage de plante

Les feuilles de *T. vulgaris* fraîchement récoltées (Figure 33), ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 21 jours. Une fois séchées (Figure 34), elles ont été

Chapitre V : Matériels et Méthodes

récupérées dans des sacs en papier, puis transportées au laboratoire de biologie végétale afin de commencer les procédés d'extraction.

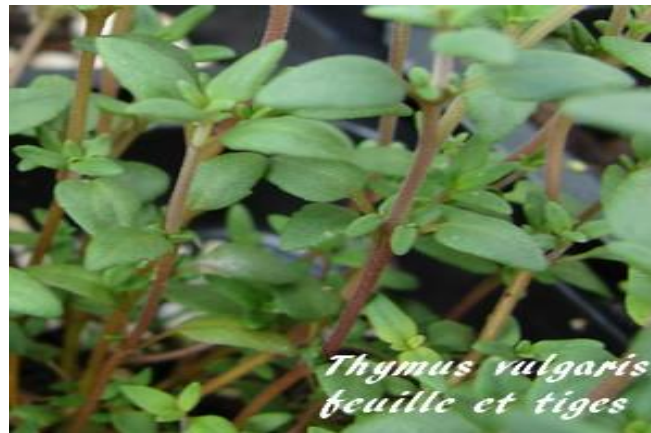


Figure. 33. La plante *Thymus. vulgaris*



Figure. 34. Les feuilles sèches de *Thymus. vulgaris*

Une certaine quantité de la plante fraîche est récupérée pour mesurer le taux d'humidité.

I.2.2. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une masse de $5g \pm 0.01$ a été exposée à une température de $105^{\circ}C \pm 5$ dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant [69]

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

Chapitre V : Matériels et Méthodes

$$H\% = (\text{poids}\alpha - \text{poids}\beta) / \text{poids}\alpha$$

Considérons :

α : Poids de l'échantillon (plante fraîche) en gramme ;

β : Poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme;

H%: Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

I.2.3. Extraction des huiles essentielles

➤ Principe.

L'hydrodistillation (water distillation) est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée.

Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon, un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient.

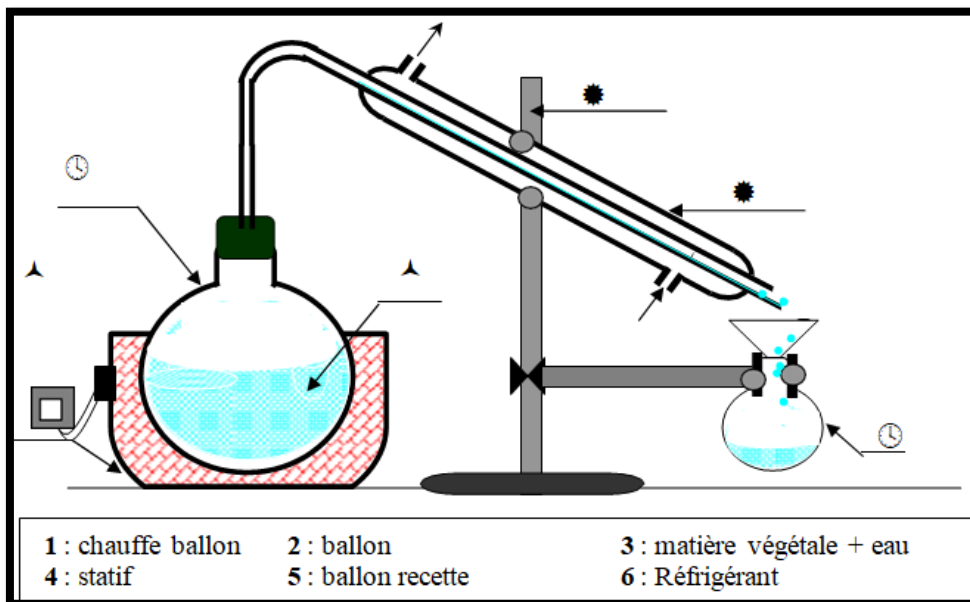


Figure. 35. Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Chapitre V : Matériels et Méthodes

➤ Mode opératoire.

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de *Thymus vulgaris* a été effectuée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été rincé avec de l'eau distillée (mis à blanc) afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction (Figure36),[69]

Cette méthode consiste à introduire 40g de matériel végétal dans un ballon de 1 L contenant 650 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 1h30 à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité.

Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un eppendorf stérile. L'eppendorf a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour les tests chimiques et biologiques.



Figure.36.Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger.

I.2.4. Rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (MHE) et la matière végétale utilisée (MS), [69]Il est donné par la formule suivante:

Chapitre V : Matériels et Méthodes

$$R_{HE} (\%) = M_{HE} / MS.100$$

R_{HE} : Rendement de l'huile essentielle de T. vulgaris en %.

M_{HE}:Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

MS : Masse en gramme de la matière végétale sèche.

Rendement moyen.

$$R_{HE} = (R_{HE1}+ R_{HE2}+ R_{HE3}...+R_i)/n$$

n: le nombre des extractions

I.2.5. Caractérisation des huiles essentielles

I.2.5.1. Caractérisation organoleptique

Chaque huile essentielle est caractérisées par ces caractères organoleptique tels que: l'odeur, l'aspect physique et la couleur.

L'aspect physique : l'aspect d'une huile dépend des produits qui la constituent, elle peut apparaître sous forme liquide, solide ou bien semi solide.

L'odeur : elle appartient aux sens chimiques les plus sensibles.

La couleur : la coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent, donc la couleur change d'une huile essentielle à une autre; elle peut être déterminée à l'œil nu.

I.2.5.2. Détermination des propriétés physico-chimiques

Aujourd'hui, les propriétés physico-chimiques des HE (densité, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester) sont exigées pour leur évaluation commerciale.

I.2.5.2.1. Les propriétés physiques

➤ L'indice de réfraction (NF T 75 112,1977)

L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse d'un rayon lumineux (la raie D du sodium 589 nm) dans le vide et sa vitesse dans le milieu. Autrement dit, c'est la mesure de la réfringence d'un corps donné par rapport à la raie D de sodium.

Chapitre V : Matériels et Méthodes

➤ Mode opératoire.

Régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à 20°C. Ouvrir le prisme secondaire et déposer 2 à 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Fermer ensuite doucement le prisme secondaire.

L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. Attendre que la température soit stable à 20°C et effectuer la mesure. L'indice de réfraction (IR), à la température de référence t est donnée par l'équation suivante :

$$I_{20} = I_t + 0.00045 (t - 20C^\circ)$$

I₂₀: indice à 20°C.

I_t : indice à la température de chambre.

t : température de mesure.

❖ Le Ph.

Le pH est exprimé par une valeur numérique. Il indique si une solution est acide ou basique, et représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. Le pH est déterminé à l'aide d'un papier pH.

I.2.5.2.2. Propriétés chimiques

➤ L'indice d'acide (NF T 75 103,1982)

L'indice d'acide est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un 1g de substance.

➤ Mode opératoire.

Peser 1g d'HE. Introduire la prise d'essai dans un ballon. Ajouter 2,5ml d'éthanol à 95% et 2 à 3 gouttes de phénolphaléine. Titrer le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes. Noter le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé. L'indice d'acide (I.A) est donné par l'équation suivante :

Chapitre V : Matériels et Méthodes

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

v: volume (ml) de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage.

m: masse de la prise d'essai.

➤ L'indice de saponification.

L'indice de saponification d'un corps gras est le poids de KOH exprimé en milligramme pour neutraliser les acides gras provenant de l'hydrolyse de 1 g de ce corps gras, la réaction de saponification aura lieu quand les acides gras libérés se combinent avec la potasse pour donner un savon.

➤ Mode opératoire.

Choisir 2 ballons à saponification, qui s'adaptent au bouchon du réfrigérant. Peser le ballon à saponification. Introduire à l'aide de la pipette de 1 ml un volume de 0,5 ml d'huile essentielle de *T. vulgaris* et repeser. Déterminer la masse (**m**) de l'huile essentielle. Ajouter 10 ml de KOH alcoolique à la pipette et agiter le contenu du ballon. Poursuivre la saponification 30 minutes. Ajouter 5 gouttes de phénolphtaléine et doser la potasse en excès par l'acide sulfurique H₂SO₄ à 0,25N et noter **V1**. En parallèle, verser la même quantité de KOH dans le 2^{ème} ballon à saponification (témoin), chauffer pendant 30 minutes sous réfrigérant. Ajouter 5 gouttes de phénolphtaléine. Doser la potasse par l'acide sulfurique H₂SO₄ à 0,25N et noter **V2**. L'indice de saponification est donné par la formule suivante:

$$Is = M (KOH) \times T \times (V2 - V1)/m$$

M: masse molaire de KOH.

V1: volume de la solution d'acide sulfurique H₂SO₄ utilisée pour le corps gras.

V2: volume de la solution d'acide sulfurique H₂SO₄ utilisée pour l'essai à blanc.

T: normalité de la solution d'acide sulfurique H₂SO₄ utilisée.

m: masse en gramme de prise d'essai.

Chapitre V : Matériels et Méthodes

➤ L'indice d'ester (NF T 75 104, 1982)

L'indice d'ester (IE) est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres par l'hydroxyde des esters présents dans 1 g de substance. Selon la norme de la **pharmacopée européenne**, (2001) l'indice d'ester est donné par la relation suivante :

$$\mathbf{IE = I_s - I_A}$$

➤ La densité (AFNOR NF T 75-006)

Elle constitue un point de repère important car sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE. La densité est donnée par l'expression suivante :

$$\mathbf{d = m_2 - m_0 / m_1 - m_0}$$

m0 : la masse du flacon vide.

m1 : la masse du flacon rempli d'eau distillée.

m2 : la masse du flacon rempli d'HE.

1.2.6. Préparation de l'extrait aqueux

La préparation des extraits aqueux a été effectuée par la technique de la décoction.[69].

➤ Mode opératoire.

Pour 40 g de poudre obtenue à partir des feuilles de *Thymus vulgaris* on ajoute 320 ml d'eau distillée. Le tout a été porté à ébullition pendant 5 minutes à 100°C (**Figure 37**).

Le décocté refroidi a été filtré sur du coton hydrophile puis sur du papier filtre wattman N°1 (Figure 37 et 38). Les filtrats obtenus ont été concentrés par évaporation dans une étuve portée à 50 °C jusqu'à l'obtention d'un résidu à poids constant puis stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes. La conservation est effectuée au réfrigérateur à 4°C



Figure .37.Broyage des feuilles.



Figure .38.Filtration sur le coton.

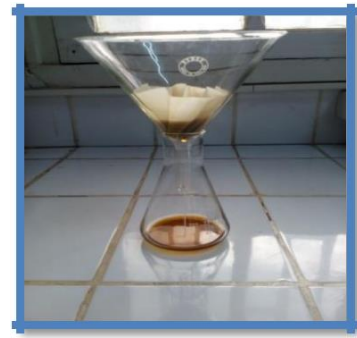


Figure .39.Filtration sur le papier filtre.

II. Etude de l'activité antibactérienne et prébiotique.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériels biologiques

Les bactéries sélectionnées.

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne des extraits de *Thymus.vulgaris* sont donnés dans le **Tableau 10**.

Chapitre V : Matériels et Méthodes

Nom de la souche	ATCC	Famille	Gram	Source
<i>Klebsiella</i> <i>Pneumonia</i>	70803	Enterobacteriaceae	-	Institut
<i>Listeria</i> <i>Monocytogenes</i>	15313	Listeriaceae	+	
<i>Proteus mirabilis</i>	7739	Enterobacteriaceae	-	pasteur d'Alger
<i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i>	9027	Pseudomonadaceae	-	
<i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i>	13311	Enterobacteriaceae	-	
<i>Staphylococcus</i> <i>Aureus</i>	6538	Microccocaceae	+	
<i>Escherichia coli</i>	Clinique	Enterobacteriaceae	-	Laboratoire d'analyses médicales
<i>Bacillus subtilis</i>	Clinique	Bacillaceae	+	
<i>Serratia</i>	Clinique	Enterobacteriaceae	-	

Les extraits.

Nous avons testé l'activité antibactérienne et prébiotique des extraits (huileux et aqueux) de nos plantes.

II.1.2. Les milieux de culture.

Chapitre V : Matériels et Méthodes

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants (**annexe 01**) :

- Bouillon nutritif (milieu de maintien et de repiquage).
- Bouillon MRS (milieu de repiquage).
- Gélose nutritive (milieu de repiquage et de dénombrement).
- Gélose MRS (milieu de repiquage et de dénombrement).
- Gélose Mueller Hinton (pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits).

II.1.3. Les réactifs chimiques et autres matériels .

- Les colorants de Gram,
- Antibiotique (Amoxicilline, Pénicilline, Gentamicine),
- DMSO.

II.2. Méthodes.

II.2.1. Caractérisation microscopique des souches étudiées.

Après une culture de 24 h à 37 °C sur milieu sélectif, la pureté des souches est vérifiée par un examen microscopique après coloration de Gram (**annexe 02**).

II.2.2. Préparation des suspensions bactériennes.

II.2.2.1. Préparations des prés cultures.

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le bouillon nutritif, puis incubées à 37°C pendant 24 h.

II.2.2.2. Préparations des cultures jeunes.

A partir des prés cultures, des cultures jeunes de 18 h à 37°C, ont été préparées sur bouillon nutritif.

II.2.2.3. Ajustements de la concentration bactérienne.

Après la préparation des dilutions décimales, 1 ml de chacune des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} sontensemencés en masse dans la gélose nutritive. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Le dénombrement est effectué avec un compteur de colonies.

II.2.3. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux.

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antibactérien des extraits bruts des feuilles de *T. vulgaris*; la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier (l'aromatogramme) qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne des différents extraits, et la méthode de microdilution qui a pour objectif la détermination des CMI (concentrations minimales inhibitrices) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans le milieu de culture [69].

II.2.3.1. L'aromatogramme.

La réalisation de cette méthode repose sur le principe de l'antibiogramme. Des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre, contenant 10 µl d'extraits à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé approprié pour chaque souche, préalablement ensemencé avec une suspension bactérienne (10^8 UFC/ml), (**Figure 39**). Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 20 min avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h [69].

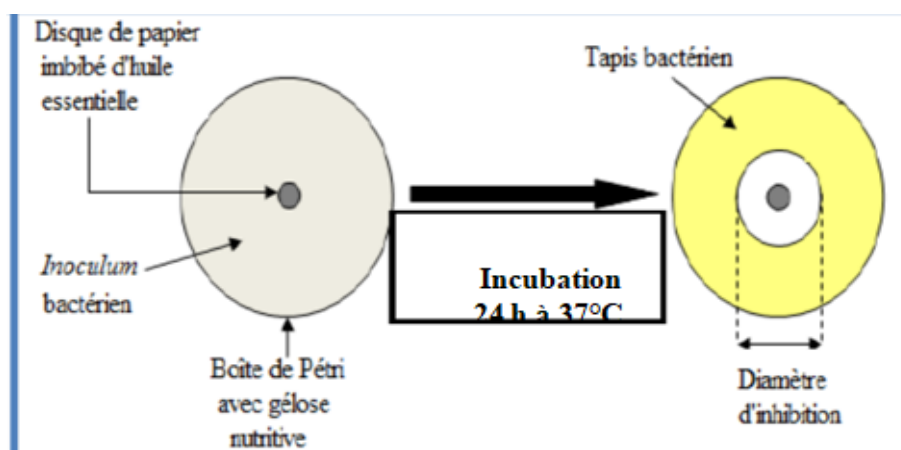


Figure. 40. Principe de la méthode de diffusion par disque [69]

-Les essais sont effectués en triple.

-La boîte de contrôle, réalisée pour chaque expérience, est une boîte ensemencée dont le disque déposé au centre de la gélose n'est pas imbibé d'extrait végétale.

Lecture des résultats.



L'activité antibactérienne de l'huile essentielle est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée (**Figure 41**). L'importance des diamètres des zones reflète l'impact de l'huile essentielle sur les souches testées

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité [69]

- (-) souche résistante ($D < 8$ mm)
- (+) souche sensible ($9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$)
- (++) souche très sensible ($15\text{mm} \leq D \leq 19$ mm)
- (+++) souche extrêmement sensible ($D > 20$ mm)

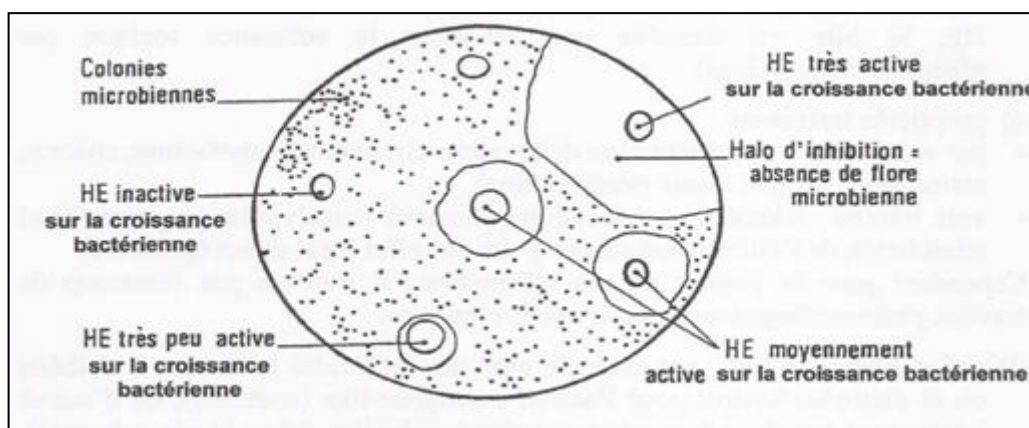


Figure. 41.Exemple pour la lecture de l'aromatogramme.

II.2.3.2. Méthode de microdilution en milieu solide (détermination des CMI).

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe la croissance de 90 % de la population bactérienne après un temps d'incubation à 37 °C.

➤ **Mode opératoire.**

La détermination de la CMI a été réalisée par la méthode de microdilution en milieu solide recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007) pour évaluer la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens.

Une solution-mère de chaque extrait (d'une concentration finale de 50 % = 0.5 g/ml) est obtenue en eau distillée stérile ou le DMSO, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée à partir de la solution-mère.

Après l'inoculation de la suspension bactérienne sur le milieu MH, les disques stériles de papier buvard sont imbibés dans 10 µl des dilutions préalablement préparées de telle façon avoir 5 disques par boîte correspondant à une gamme de concentrations finales obtenue : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32.

Après incubation à 37°C pendant 24h, la croissance est comparée à celle du témoin.

II.2.3.3. Test de synergie.

La synergie est le résultat de l'interaction entre plusieurs composés, de sorte que les effets biologiques d'une plante ou d'une partie de la plante soient supérieurs à l'effet de ses constituants étudiés isolément.

Le test de synergie entre l'huile essentielle de *T. vulgaris* d'une part, et entre leurs extraits aqueux d'autre part, a été réalisé par la méthode de l'aromatogramme.

➤ **Mode opératoire.**

Après inondation des boîtes, deux disques de papier buvard sont imbibés respectivement dans 10 µl de chaque extrait (huileux et aqueux) et déposés par la suite à la surface de la gélose, de sorte qu'ils soient proches l'un de l'autre avec une distance de quelques millimètres au centre de la boîte de pétri [69].

Les boîtes de pétriensemencées sont laissées durant 20 minutes à la température ambiante, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition

Chapitre V : Matériels et Méthodes

a été mesuré en millimètres (disque inclus). La combinaison a été considérée comme synergique lorsque le diamètre d'inhibition est supérieur à 5 mm.

II.2.4. L'antibiogramme.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été évaluée par la méthode de diffusion de disque sur milieu gélosé. Un volume d'1 ml de suspension bactérienne (10^8 UFC/ml) a étéensemencé par inondation sur le milieu MH. Des disques d'antibiotique ont ensuite été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface du milieuensemencé. En parallèle, des témoins ont été utilisés pour le contrôle de la croissance des souches testées. Les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 20 minutes. Elles ont été par la suite portées à incubation à 37°C pendant 24 h.

II.2.5. L'activité prébiotique.

Pour mettre en évidence cette activité, nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme. Nos expériences ont été effectuées sur les bactéries du yaourt, tout en testant l'effet prébiotique des extraits de nos plantes. Cet effet a été évalué par la suite, par un test de synergie entre les deux huiles essentielles, et aussi, entre les deux extraits aqueux.

Chapitre VI :

Résultats et discussions



Chapitre VI : Résultats et discussions

Introduction.

Parmi les techniques d'extraction d'une huile essentielle, l'hydrodistillation ou entraînement à la vapeur est l'une des plus anciennes (remonte à l'Antiquité). Elle est très facile à mettre en œuvre. Le principe est le suivant : dans un ballon, on porte à ébullition un mélange d'eau et de

la plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient.

Chapitre VI : Résultats et discussions

I. Préparation et analyses physico-chimiques des extraits de *T. vulgaris*

I.1. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

La **figure 42** nous montre que le *T. vulgaris* est très riche en eau avec un taux d'environ 80%. [69]

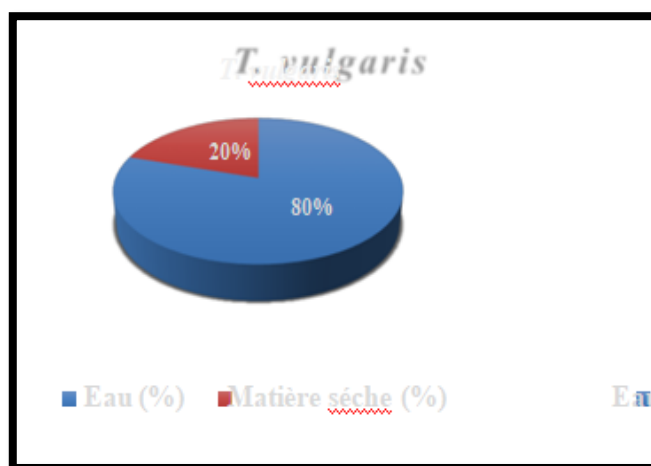


Figure .42. Teneur en matière sèche et en humidité de plante étudiée.

L'espèce *T. vulgaris* de M'sila a montré un taux d'humidité supérieur à celui obtenu par [69], de l'espèce provenant de Tlemcen (50.89%) et de Mostaganem (72.20%). Notre taux est aussi élevé que celui obtenu par [69] l'espèce en provenance du nord d'Italie (75.15%). Par ailleurs, les taux de nos deux plantes sont largement supérieurs par rapport à celui obtenu par [69] pour le thym originaire de Batna (9.40%).

Les variations rencontrées dans la teneur en eau du genre *Thymus* peuvent être dues à l'espèce, à des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques et la répartition géographique. M'sila est une wilaya principalement agropastorale, ce qui explique son pourcentage élevé en eau. Alors que Chlef est une des régions les plus chaudes de l'Algérie malgré son climat subhumide.

I.2. Rendement en huile essentielle

Les valeurs indiquant la moyenne des rendements en huiles essentielles de plante étudiée sont illustrées par la **Figure 43**.

Chapitre VI : Résultats et discussions

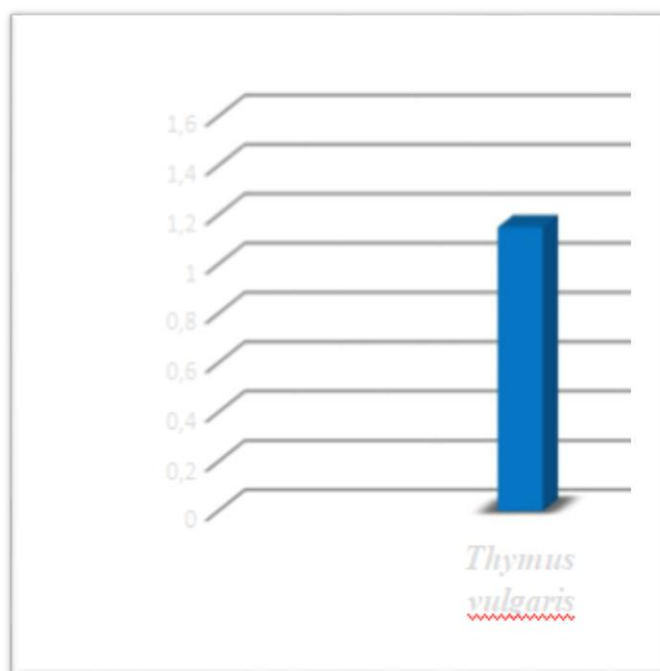


Figure.43. Rendement en huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Le rendement obtenu en huile essentielle des feuilles sèches du *T. vulgaris* est de 1.15%, comme le montre les résultats de la Figure 43

Le genre *Thymus* est réputé pour son taux élevé en huile essentielle par rapport à beaucoup d'autres plantes. En effet, une étude réalisée en 2017 par Abdelli, a permis d'obtenir des rendements moyens en huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *T. vulgaris* de Tlemcen et de Mostaganem allant respectivement de 4.2 à 2.2%. Ces résultats sont cependant supérieurs aux rendements de nos huiles.

Une autre étude faite par [69]) sur la plante *T. vulgaris* de Blida a donné un taux de 1.58%. Benbouali a trouvé en 2015 la valeur de 1.13% comme rendement en huile essentielle de *T. vulgaris* récolté en printemps. Ce résultat est proche du notre (1.15%).

I.3. Caractérisation des huiles essentielles

I.3.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles sont présentées dans le tableau 11 et la figure 44.

Chapitre VI : Résultats et discussions

Tableau .11.Caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles.

Espèce caractéristique	L'odeur	La couleur	L'aspect physique
<i>T. vulgaris</i>	Aromatique âcre caractéristique de l'espèce végétale	Jaune claire	Liquide

L'aspect physique, la couleur et l'odeur de nos huiles essentielles sont en accord avec ceux rapportées par [69]



Figure.44.Le huile essentielle de plante *T.vulgaris*

I.3.2. Caractéristiques physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques telles que : l'indice de réfraction, le pH, l'indice d'acide, l'indice d'ester...etc, constitue un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle .Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles analysées ont été déterminées selon les normes de l'association française de normalisation (AFNOR). Les moyennes des paramètres étudiés sont représentées dans le tableau 12.

Chapitre VI : Résultats et discussions

Tableau.12.Caractéristiques physico-chimiques de nos huiles essentielles.

Propriétés Physico-chimiques	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. vulgaris</i> (Haddouchi et al.,2009)
IR à 20°C	1.503	1.491 à 1.510
Ph	6	-
IA	2.24	8.4
Is	10.69	66.6
IE	1.45	11.2
La densité	0.79	0,9 - 0.9550

Nos résultats ont été mis en parallèle avec ceux de [69]. Les paramètres physico-chimiques diffèrent suivant l'origine de l'huile essentielle. Ainsi, une huile essentielle provenant de la France n'aura pas les mêmes valeurs de paramètres que celle provenant de l'Algérie, de la Tunisie, de Madagascar. Tous ces paramètres sont influencés par les conditions édaphiques, climatique ainsi que les conditions de culture des plantes.

L'indice de réfraction IR de nos huiles est de 1.503 pour *T. vulgaris*. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par [69]. En effet un indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé.

Le pH obtenu indique que nos HE sont légèrement acides. Pour les constantes chimiques, l'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acide gras libres, ce paramètre peut nous aider à connaître la qualité de nos produits. L'IA de nos huiles est de 2,24 pour *T. vulgaris*. Ces résultats sont comparables à ceux de *T. vulgaris* enregistrés par [69]. Un produit avec un indice d'acidité faible est un produit de bonne qualité. En effet une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telles que l'hydrolyse des esters.

La valeur de l'indice d'ester de *T. vulgaris* sont faibles comparativement à celles enregistrées [69]. La densité de nos HEs est de 0.79 pour *T. vulgaris*. Elle est proche de celle obtenue par [69], pour les deux espèces de thym étudiées.

Chapitre VI : Résultats et discussions

II. Étude de l'activité antibactérienne et prébiotique

II.1. L'activité antibactérienne

II.1.1. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de plante sélectionnée

L'évaluation de l'activité antibactérienne et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de *T. vulgaris* par la méthode de diffusion des disques sur le milieu MH, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau 11. Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais \pm écart type.

Tableau.13. Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *T. Vulgaris*

Souches	<i>T. vulgaris</i>		
	Zones d'inhibitions(mm)	CMI(%)	Activité
Kp	66.50 \pm 1.17	0.003	Bactéricide
Lm	66.80 \pm 1.01	0.031	Bactéricide
Pm	27.20 \pm 1.34	0.007	Bactéricide
Pa	60.70 \pm 1.52	0.015	Bactéricide
St	50.30 \pm 1.56	0.0009	Bactéricide
Sa	51.70 \pm 0.82	0.015	Bactéricide
Ec	37.00 \pm 0.46	0.0009	Bactéricide
Bs	77.80 \pm 0.53	0.015	Bactéricide
Ss	27.50 \pm 0.52	0.001	Bactéricide

Nous remarquons que toutes les neufs (09) souches bactériennes ont été inhibées par les huiles essentielles extraites respectivement des feuilles sèches de *T. vulgaris*. Elles ont toutes montrées une sensibilité extrême face aux huiles. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 27.20 à 77.80 mm pour l'HE de *T. vulgaris*. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère donc d'une bactérie à une autre et d'une huile à une autre.

Les résultats illustrés par le tableau 13 indiquent que les valeurs des CMI de nos huiles varient de 0.031 à 0.0009 % pour l'HE de *T. vulgaris*.

Chapitre VI : Résultats et discussions

Par ailleurs, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* ont présentées la valeur de CMI la plus faible (0.0009 %), suivie de : *Serratiasp* (0.001 %) ; *Klebsiellapneumoneae* (0.003 %) ; *Proteus mirabilis* (0.007 %) pour l'HE de *T. vulgaris*.

la valeur de la CMI la plus faible a été constatée chez *Klebsiellapneumonia*(0.0004 %), suivie de :*Serratiasp*(0.001 %) ; *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* ayant toutes les quatre la même CMI (0.003 %) ; *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* ayant toutes les deux la même CMI (0.007%). A l'opposé, *Bacillus subtilis* a montré la valeur de la CMI la plus élevée (0.015 %).

D'une manière générale, les huiles testées ont montré leur efficacité remarquable sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻. Les HEs des plantes aromatiques étudiées semblent avoir un pouvoir bactéricide vis-à-vis des souches testées. En effet, après sept (07) jours d'incubation, aucune croissance bactérienne n'a été observée dans les différentes zones d'inhibition.

Les études mettant en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles à la fois sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ ont été effectuées. En effet, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* testée *in vitro* a inhibé la prolifération de *Helicobacter pylori*. L'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité antibactérienne intéressante sur les bactéries Gram⁺ comme sur les bactéries Gram⁻ montrés que la plante *Thymus hirtus* démontra une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Bacillus amyloliquefaciens*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp* et *Proteus vulgaris*.

Le travail de tous ces auteurs confirme donc nos résultats dans la mesure où toutes les (09) souches testées ont été extrêmement sensibles aux deux huiles essentielles. On a aussi démontré l'effet bactéricide de l'HE du thym sur *Bacillus cereus* ATCC 10876 ; *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Proteus mirabilis* ; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ; *Escherichia coli* ATCC 4157 et *Bacillus subtilis* ATCC 9372 avec des CMI allant de 1.25 à 0.312 µl/ml et de 1 à 0.06 %, ce qui est relativement pareilles aux nôtres.

Cette grande activité antibactérienne des huiles essentielles est liée à la présence des phénols (thymol, carvacrol) qui sont majoritaires dans l'huile du thym.

Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces. Cependant, les phénols ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de cette activité. La totalité de la composition chimique de ces deux huiles doit être prise en compte car les

Chapitre VI : Résultats et discussions

composés minoritaires jouent aussi un rôle important en renforçant les effets des composés principaux par synergie.

Par ailleurs, certaines études ont montrées que les bactéries *Gram négatifs* apparaissent plus résistantes que les *Gram positifs* vis-à-vis des huiles essentielles grâce à la structure de leur membrane externe. C'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa* qui a une faible sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *T. vulgaris*. Des résultats similaires ont été obtenus par, qui ont montré que l'activité de l'huile de thym a été plus efficace contre les bactéries *Gram positives* (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes* et *Staphylococcus pneumoniae*) que les *Gram négatifs* (*Escherichia coli*). ont montré que les huiles essentielles de *Corydthymuscapitatus* et de *Thymus vulgaris thymoliferum* témoignent d'une activité antibactérienne intéressante contre *Listeria monocytogenes*.

Ainsi, la membrane extérieure des *Gram négatifs* est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que celle des *Gram positifs* qui la rendent plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. antimicrobienne sélective vis-à-vis des *Gram positifs* ou des *Gram négatifs*. Ceci confirme les conclusions de qui affirme que chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe et une action moindre, voire même nulle sur un autre.

II.1.2. L'antibiogramme

L'évaluation de la sensibilité des neufs (09) souches bactériennes testées par antibiogramme nous a permis d'obtenir les résultats du tableau 14.

Tableau .14. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques.

Souches	<i>Amoxicilline</i>	<i>Gentamicine</i>	<i>Penicilline</i>
Kp	00.00	14.00	00.00
Lm	00.00	13.00	14.00
Pa	00.00	15.00	10.00
St	00.00	14.00	10.00
Sa	00.00	16.00	10.00
Ec	00.00	22.00	20.00
Bs	00.00	23.00	14.00
Ss	00.00	22.00	19.00

Chapitre VI : Résultats et discussions

D'après les résultats présentés dans le tableau 14, nous remarquons la résistance des neufs (09) souches bactériennes contre l'Amoxicilline.

La Gentamicine par contre a inhibé la croissance de ces neufs (09) souches pathogènes. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 13.00 à 23.00 mm. Les trois (03) souches cliniques (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Serratiasp*) sont plus sensibles que les autres souches de référence.

La Pénicilline quant à elle, a montré une efficacité modérée sur l'ensemble des souches en générale. Les diamètres des zones d'inhibition varient de 00.00 à 20.00 mm. *Klebsiellapneumonias*'estmontrée résistante à la pénicilline alors que, *Escherichia coli* et *Serratiaspse* sont montrées sensible face à cet antibiotique. Les six autres souches ontcependant montrées une sensibilité modérée avec des zones d'inhibitions allant de 10.00 à 14.00 mm.

II.1.3. Les tests de synergies

II.1.3.1. La synergie des huiles essentielles

Les résultats du test de synergie de l'huile essentielle de *T. vulgaris* sont représentés dans le tableau 15. Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais \pm écart type.

Tableau .15.Résultats du test de synergie entre l'huile essentielle de *T. Vulgaris*

Souches	<i>T. vulgaris</i>	Activité
Kp	66.50 \pm 1.17	Synergie
Lm	66.80 \pm 1.01	Synergie
Pm	27.20 \pm 1.34	Synergie
Pa	60.70 \pm 1.52	Synergie
St	50.30 \pm 1.56	Synergie
Sa	51.70 \pm 0.82	Synergie
Ec	37.00 \pm 0.46	Synergie
Bs	77.80 \pm 0.53	Synergie
Ss	27.50 \pm 0.52	Synergie

Chapitre VI : Résultats et discussions

Les huiles testées séparément étaient largement active sur les (09) souche pathogènes étudiée.

Les études portant sur le mélange des huiles essentielles des plantes médicinales ont été décrites par plusieurs auteurs. Cette stratégie est en effet d'un grand intérêt en vue d'une application clinique efficace, car elle permet de réduire les éventuels effets secondaires des traitements actuels en diminuant la dose des composés utilisés, limitant ainsi le développement des phénomènes de résistances. C'est dans cette optique que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a été testée en association sur neuf (09) souches pathogènes. De façon générale, ces résultats ont permis de mettre en évidence un effet potentialisateur de les huiles sur les souches bactériennes testées . En effet, ont mis en évidence des phénomènes de synergie pour la combinaison entre quarante et un (41) huiles essentielles sur onze (11) souches microbiennes dont huit souches bactériennes (*Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus non regroupable* et *Streptococcus D*) dans le but d'évaluer et de valider scientifiquement les propriétés antimicrobiennes du mélange de ces 41 huiles. Ils ont trouvé que les diamètres d'inhibition induits par l'addition du mélange des 41 HE sont supérieurs par rapport à ceux obtenus séparément. Ce qui est en parfaite conformité avec nos résultats.

Cette activité antibactérienne de nos des huiles serait due aux différents chémotypes présents dans le mélange (thymol, carvacrol, linalol, α -pinène, 1,8-cinéol et α -terpinéol) et surtout à leur synergie, car il apparaît évident que l'efficacité optimale ne pourrait être attribuée à un seul support ou constituant, ce qui a induit un large spectre de sensibilité des neuf (09) souches pathogènes testées. D'autres travaux récemment publiés mettent également en évidence l'intérêt des mélanges des HE dans l'optimisation de leurs effets et la synergie de leurs composés. L'efficacité de ces mélanges d'HE semble reposer sur des mécanismes tels que la fragilisation de la membrane microbienne, la rendant ainsi très perméable et entraînant une forte fuite du potassium ayant pour conséquence irréversible la mort microbienne.

II.2. L'activité prébiotique

L'étude de l'activité prébiotique des huiles essentielles de *T. vulgaris* ainsi que de leurs extraits aqueux par la méthode de diffusion des disques sur le milieu MH, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau 16 .

Chapitre VI : Résultats et discussions

Tableau. 16.Résultats de l'activité prébiotique des extraits de *T. Vulgaris*

Souche	<i>T. vulgaris</i>	
	Huile Essentielle	Extrait aqueux
<i>Bifidobacterium Spp</i>	+++	+++
<i>Lactobacillus Spp</i>	+++	+++
<i>Streptococcus Thermophilus</i>	+++	+++

(+++): **Croissance accrue.**

Les résultats du tableau 16 nous montrent clairement la croissance effective des trois souches lactiques retrouvées dans le yaourt, ayant été testées avec les extraits respectifs des deux plantes étudiées séparément. Cependant, la combinaison entre l'HE de *T. vulgaris* d'une part, et entre l'EA de *T. vulgaris* d'autre part a montré un potentiel effet synergétique des performances de croissance des bactéries lactiques. Nous avons observés un nombre important de colonies autour des disques lors des tests combinatoires par rapport aux tests séparatives.

Comme décrit précédemment, les extraits (huileux et aqueux) de *T. vulgaris* ont montrés une activité antibactérienne très remarquable sur les neuf (09) souches pathogènes testées. En effet, ces extraits ont exercés une forte inhibition des pathogènes avec une activité allant d'un effet sensible à un effet bactéricide. Ainsi, ce présent test vient non seulement nous montré la résistance des bactéries lactiques aux extraits (huileux et aqueux) de plante misent en évidence, mais aussi la stimulation de leur croissance grâce aux différents composés chimiques que renferment ces extraits.

Plusieurs auteurs ont étudiées l'activité prébiotique des HE sur les bactéries jouant un rôle bénéfique sur la santé de l'homme.[69] Selon les HE du thym, d'origan et du romarin inhibent le développement de nombreuses bactéries pathogènes comme les *Streptocoques*, les *Salmonelles*, les *Coliformes* ou *Clostridium perfringens* associé aux entérites nécrotiques, mais inhibent peu celui des bactéries bénéfiques comme les *Bifidobactéries* ou les *Lactobacilles* qu'elles peuvent même stimuler. Les effets inhibiteurs des HE de *T. vulgaris* sont attribués en partie à l'action de leurs composants majoritaires (carvacrol et thymol) contre les bactéries pathogènes. Ces terpènes peuvent aussi exercer un effet stimulateur de la croissance des *Bifidobactéries* et des *Lactobacilles*. L' α -pinène exerce aussi une forte stimulation des bactéries lactiques. Tous ces résultats concordent donc avec les nôtres.

Chapitre VI : Résultats et discussions

Par ailleurs, les HE n'entraînent pas de désagréments sur la microflore intestinale de l'être humain qui est accoutumée depuis des milliers d'années à être en contact avec ces molécules aromatiques que l'on trouve pour la plupart dans les épices et les herbes condimentaires. Leur utilisation ne nécessite donc pas la mise en place d'une thérapie adjuvante, contrairement aux antibiotiques.

L'activité prébiotique des extraits aqueux de *T. vulgaris* est due en partie à l'apport de substrats spécifiques tels que les flavonoïdes et les tanins qui empêchent la prolifération des espèces pathogènes, et qui favorisent ainsi le développement des *Lactobacilles* et des *Bifidobactéries*. Ces polyphénols (flavonoïdes et tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante. Ils entrent dans la composition des produits de consommation les plus courants, en particulier les fruits, les légumes et les produits transformés comme le chocolat, et le thé.

Quant à l'effet synergétique des extraits, c'est-à-dire le mélange de les HE d'une part et entre les deux EA d'autre part a été rapporté maintes fois par certains auteurs. En effet [69], ont montrés que le mélange des extraits végétaux entraîne une baisse abondante des bactéries pathogènes et augmente la stimulation de la croissance des germes bénéfiques pour la santé animale et humaine. ont aussi étudié l'effet des flavonoïdes naturels et synthétisées sur des probiotiques et des pathogènes. Ils ont trouvés que le mélange de flavonoïdes ont exercés une forte action inhibitrice des pathogènes et une stimulation remarquable des probiotiques. Nous constatons dès lors qu'un extrait peut avoir une activité prébiotique importante pour le bon fonctionnement de la flore intestinale de l'homme, mais que son mélange avec un autre extrait peut engendrer une activité antibactérienne et prébiotique plus prononcée. Ce qui confirme parfaitement nos résultats obtenus lors des tests combinatoires les extraits de *T. vulgaris*.

somme, il a été montré que les bactéries commensales retrouvés dans l'organisme humain, exprimaient une résistance aux HE de 8 à 32 fois supérieures par rapport aux bactéries pathogènes. Nous pouvons donc utiliser les HE de *T. vulgaris* comme agents alternatifs aux antibiotiques ou additifs pour détruire la flore pathogène et stimuler la croissance des bactéries bénéfiques pour l'organisme humain dans le but de rééquilibrer la microflore intestinale après une infection bactérienne. Il en est de même pour leurs extraits aqueux. Ces extraits (huileux et aqueux) peuvent aussi être utilisés pour prévenir la contamination dans les aliments.

Chapitre VI : Résultats et discussions

conclusion

Cette étude nous confirme la possibilité d'utiliser les feuilles sèches de thym vulgaris ou ses composants dans la prévention de nombreuses maladies ainsi que d'en valoriser l'utilisation par l'industrie pharmaceutique et alimentaire car l'extrait d'huile a une activité anti-pathogène et répond fortement à leur activité, et l'effet bactéricide a également été prouvé.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle est étroitement liée à la présence de phénol, car les propriétés chimiques des huiles essentielles jouent un rôle important dans l'activité bactérienne.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Nous avons appris à travers cette étude les propriétés physiques et chimiques du thym qui lui ont permis d'être utilisé dans de nombreux domaines tels que la nutrition, la médecine et la cosmétique, car le thym possède des propriétés anti-âge et oxydantes qui sont utilisées pour soulager les troubles osseux et articulaires tels que les rhumatismes ou l'ostéoporose. Le monde est comme l'Europe et l'Afrique, et principalement en Méditerranée.

La production de l'huile essentielle de la plante étudiée (*Thymus vulgaris*) est acceptable et pourrait être rentable à l'échelle industrielle. L'huile essentielle de thymus est riche en γ -terpinène (22,25%) et en thymol (41,39%). Les résultats préliminaires de l'étude antibactérienne ont montré que l'huile, *Thymus vulgaris*, qui Testé montrant une activité antibactérienne in vitro sur des bactéries hautement pathogènes responsables d'infections à toxines alimentaires.

La technique d'extraction utilisée dans cette étude est l'hydrodistillation .Et le thymol reste toujours le constituant principal des HES sa plus forte proportion a été obtenue en début de floraison

La plante de thym contient des composés chimiques, des propriétés physiques et chimiques très importants, ainsi que des propriétés antioxydantes et antibactériennes. De nombreuses recherches se sont concentrées sur l'huile essentielle extraite de cette plante, au moyen de diverses méthodes comme l'aromatogramme, où ces analyses ont révélé que l'huile de la plante de thym est efficace contre la plupart des bactéries et champignons, et que les résultats obtenus au cours de cette étude permettent d'ouvrir des horizons pour investir ces huiles aromatiques naturelles dans le traitement des maladies. Maladie infectieuse causée par des germes bactériens et fongiques comme alternative à la chimiothérapie (médicaments)

les références

Les references:

[1] : Tisserand R, Balacs T (1995) Essential Oil Safety. Churchill Livingstone, Edinburgh.

[2] : Miyazawa M, Shindo M, Shimada T (2001) Oxidation of 1, 8 cineole, monoterpene cyclic ether originated from *Eucalyptus polybractea*, by cytochrome P450 3A enzymes in rat and human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 29: 200-5.

[3] :F.BabaAïssa Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb. Edt. Edas. 1999.

[4] :H.Richard ; B.Bejlali ; N.Banquoir ; O.Baritoux Etude de diverses huiles essentielles de thym du maroc. *Lebensm- Wiss.U. –Technol.*1985.

[5] :P.Quezel ;M.S.Santa Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. CNRS, Paris. 1962-1963.

[6] :Y.Haddaf ; J.Kaloustian ; R.Giordan ; P.Regli ; A.Chefrour ; L.Abou ; C.Mikail ; H.Portugal Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiretd'Algérie.

6^e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France. 2004.

[7] :De 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

[8] :file:///C:/Users/pc/Downloads/ACFrOgBX6Ks5NnKZ5XqEyfH-y5K7LjGhWARNVsfk5ukNTjIF8vJaJ13S1XpmH59OuBzKkUh-E7DYu08xZtPd4QGpPkxJ8xr05eEkDlc3Pe5fOncMngz1lNcViak039w=.pdf

[9] : Thym _ Propriétés, Arômes, Bienfaits, Effets secondaires, Recettes

- [10] :Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: the genus Thymus*, 1-43.
- [11] : P. Quezel ; M.S. Santa Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. CNRS, Paris. 1962-1963.
- [12] : [www. Docteur- nature.com/ toute- thérapeutiques/ produis- végétaux/plantes- médicinales/ thym.htm](http://www.Docteur-nature.com/toute-therapeutiques/produis-vegetaux/plantes-medicinales/thym.htm).
- [13] : Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10(3), 236-241.
- [14] : Pina-Vaz, C., Gonçalves Rodrigues, A., Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., ... & Martinez -de-Oliveira, J. (2004). Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 18(1), 73-78.
- [15] : El Bouzidi, L., Jamali, C. A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., & Abbad, A. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products*, 43, 450-456.
- [16] : Miura, K., Kikuzaki, H., & Nakatani, N. (2002). Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 1845-1851.
- [17] : Nickavar, B., Mojab, F., & Dolat-Abadi, R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*, 90(4), 609-611
- [18] : Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., & Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43-48.

- [19] : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.
- [20] : Epices-aromates leurs huiles essentielles et oléorésines. parfums, cosmétiques, arômes n°34- août/septembre 1980 ; pp 39-44.
- [21] : Les huiles essentielles by Nelly Grosjean (z-lib.org) (1).pdf
- [22] : UN1901. Laboratoire de pharmacognosie. Dr Sahraoui
- [23] : Guide pratique de l'aromathérapie : Mieux être, mieux vivre par l'aromathérapie. Ed. De Vecchis S.A., Paris, 138.
- [24] : Agnihotri V.K., Agarwal S.G., Dhar P.L.,Thappa Baleshwar R.K., Kapahi B.K., Saxena R.K. & Qazi G.N., 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Frag. J.* 20: 607–610.
- [25] : Aberchane M. , Fechtal M. , Chaouch A. , Bouayoune T. Influence de la durée et de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* manetti). *Annales de la recherche forestière au Maroc* ISSN 0483-8009 CODEN AFRMA. : 2001, 34, 110- 118.
- [26] : Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Boughdad A, Farah A, Satrani B. Effet de l'Age et du Stade Végétatif sur la Teneur et la Composition Chimique des Huiles Essentielles de *Thuya de Berbere*. *Les technologies de laboratoire* : 2011, 6(23), 64-68.
- [27] : <https://www.aude-maillard.fr/les-huiles-essentielles-de-thym/>
- [28] : Saidj, F. (2006). Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus kabylica* (Doctoral dissertation, Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Université Boumerdes, Algérie).
- [29] : CHIKHOUNE, A. (2007). Huiles essentielles de thym et d'origan (Doctoral dissertation, INA)..
- [30] BAUDOUX, D., ZHIRI, A. Huiles essentielles chemotypées et leurs synergies
Edition Inspir, 2009.

[31] Luisa.PISTELLI ,comparaison des systèmes d'extraction des huiles essentielles avec une référence particulière aux liquides

[32]: **Basil A., jimenez-carmona M.M. and Clifford A.A., 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. Journal of food chemistry, **46**, 5205-5209.

[33]:Lagunez Rivera L. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe ,2006, pp 31-42.

[34] :Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (AFSSAPS). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Mai 2008.

[35]: Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, R.R.R., et Eyele Mve Mba, C. (2015). Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. Phytothérapie, 13: 283–287

[36] : Lagunez-Rivera L. (2006) - Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe

[37] : **Garnero J., 1996.** Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, 1-45.

[38]: **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} Ed. Lavoisier, 385-623.

[39]:**Blackeway J., Salerno M., 1987.**Pour la science. Institut des renseignements scientifiques et techniques, Paris.

[40] : Djabou N -Sambucus Nigra L., une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine - Thèse de Magistere en chimie, université Abou-Bekr Belkaid; Tlemcen.2006

[41]: guignard,J.L.(Biochimie végétale),Masson ,paris,2000,166

[42] : Caude M. et Jardy A. (1996) - Méthodes chromatographiques. Dossier P1445. Base documentaire : Techniques d'analyse. vol ; papier TA2.

[43] : Audigie C.L., Dupon G. et Zonsgain F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, 1995, p. 44.

[44] : De Maack F. et Sablier M. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse. 1994. Référence: P2614.

[45] : Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. Analysis 1997; 25 (6) : 13- 16.

[46] : M.COTTE, J.SUSINI, P.DUMAS « les nouveaux développements en micro spectroscopie infrarouge utilisant le rayonnement synchrotron » Colloque SFμ-2007-Grenoble.

[47] : Platzer N. Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Référence : P1092, 2002.

[48] : 20 Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. Analysis 1997; 25 (6) : 13- 16. 21 M.COTTE, J.SUSINI, P.DUMAS « les nouveaux développements en microspectroscopie infrarouge utilisant le rayonnement synchrotron » Colloque SFμ-2007-Grenoble. 22 Platzer N. Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Référence : P1092, 2002.

[49] : Rasooli I, Rezaei M.B, Allameh A- Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*- International Journal of Infectious Diseases; Vol. 10; pp 236-241.2006

[50] : Silou T, Malanda M, Loubaki L - Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de

Cymbopogon citratus grâce à un plan factoriel complet 2³ -Journal of Food Engineering;Vol 65; pp 219–223. 2004

[51] : Loziene K, Venskutonis P.R, Sipailiene A, Labokas J- Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes- Food Chemistry; Vol. 103; pp 546–559. 2007

[52] : Dob T, Dahmane D, Chelghoum C- Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss et Reuter- The International Journal of Aromatherapy; Vol. 16; pp 95-100.2006

[53] : Etude des activités Antibactérienne et Antifongique de l'huile Essentielle du thym (*thymus vulgaris*) ; TACHEFINE Aziz .

[54] : Fellah S, Romadhane M, Abderraba M- Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie - Journal de la Société Algérienne de Chimie J. Soc. Alger. Chin.; Vol. 16; N°2; pp 193-202.2006

[55] : Cosentino S, Tuberoso C.I.G, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E and Palmas F- In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils- Letters in Applied Microbiology; Vol. 29; pp 130–135.1999

[56] : Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-Shanab F - Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*- Turk J Biol; Vol. 30; pp 239-242.2006

[57] : 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

[58] : Pauli A, Knobloch K- Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contaminating fungi- Z Lebensm Unters Forsch; Vol. 185; pp 10-13.1987

[59] : Botelho M.A, Nogueira N.A.P, Bastos G.M, Fonseca S.G.C, Lemos T.L.G, Matos

F.J.A, Montenegro D, Heukelbach J, Rao V.S, Brito G.A.C-Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens *Lippia sidoides* essential oil against oral pathogens- Brazilian Journal of Medical and Biological Research; Vol. 40; pp 349-356.2007

[60] : Ipek E, Zeytinoglu H, Okay S, Tuylu B.A, Kurkcuoglu M, Can Baser K.H- Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test- Food Chemistry; Vol. 93; pp 551–556.2005

[61] : Szentandrassy N, Szentesi P, Magyar J, Nánási P.P and Csernoch L - Effect of thymol on kinetic properties of Ca and K currents in rat skeletal muscle- BMC Pharmacology; Vol. 3; pp 9.2003

[62] : CU, M. M. N. M. P. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne.

[63] : J.Bruneton Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 2^e Edt. Tech.& Doc, Lavoisier, Paris. 1993.

[64] : Ipek E, Zeytinoglu H, Okay S, Tuylu B.A, Kurkcuoglu M, Can Baser K.H- Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test- Food Chemistry; Vol. 93; pp 551–556.2005

[65] : CHIKHOUNE, A. (2007). Huiles essentielles de thym et d'origan (Doctoral dissertation, INA).

[66] : Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 83, 2014, p. 118 – 132

[67] : Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de Doctorat, Biologie Végétale, UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR – ANNABA, 15 ; 24-25 ; 34p.

[68] :L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Thèse de Doctorat, Pharmacie, Université de Nantes, 25 ; 27 ; 34 ; 42 ; 62 ; 67p

[69] : Etude de l'effet antibactérien et prébiotique des extraits de *Thymus vulgaris* et de *Thymus serpyllum*. Mr BINATE GAOUSSOU, Mlle DIKES LOUBNA

[70] : Thèse Présentée par BOUZID DJIHANE Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Filière: Biologie ,Spécialité: MICROBIOLOGIE Thème :Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON.

[71] :Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223- 253

[72] :Monteil. H, Avril. J (1992) : Bactériologie chimique. ére Ed. MarKeting. Paris

[73] :Renato H. Orsi et Martin Wiedmann, « Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009 », *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 100, no 12, 1er juin 2016, p. 5273–5287 (ISSN 0175-7598 et 1432-0614, PMID 27129530, PMCID PMC4875933, DOI 10.1007/s00253-016-7552-2, lire en ligne [archive], consulté le 18 avril 2017)

[74] :Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : Etude in vitro. Thèse de doctorat, Sciences Odontologiques, Université Mohammed V de Rabat, 6 ; 38-45p

[75] :Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448

[76] :Zhiri ,& Baudoux, D.(2005) Huiles essentielles chémotypées et leur synergies aromathérapie scientifique. Luxembourg :Edition Inspir Development

[77] : Keefover-Ring K., Thompson J.D., Linhart Y.B. *Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction.* *Flavour and*

fragrance journal, 24 : 117-122, 2009.

[78] : Franchomme P., Pénéol D. *L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles*. Roger Jollois (2001). 445p.

[79] : Faucon M. *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale*. Sang de la terre (2012). 880p.

[80] : Granger R., Passet J. *Thymus vulgaris spontané de France : Races chimiques et chemotaxonomie*. Phytochemistry, 12 : 1683-1691. 1973.

[81] : Baser K.H.C., Buchbauer G. *Handbook of essential oils : science, technology and applications*. CRC Press (2009). 1ère éd. 991p.

[82] : Ravindra P.N., Nirmal Babu K., Shylaja M. *Cinnamon and Cassia, the genus Cinnamomum*. CRC Press (2003). 384p.

[83] : Clarke S. *Essential chemistry for aromatherapy*. Churchill Livingstone (2009). 2ème éd. 320p.

[84] : https://www.passeportsante.net/fr/Therapies/Guide/Fiche.aspx?doc=aromatherapie_th

[85] : F. H. Allen, Acta. Cryst. B58 (2002) 380-388

[86] : C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot & S. C. Ward, Acta. Cryst. B72 (2016) 171-179

[87] : C. H. Görbitz, Acta. Cryst. B 72 (2016) 167-168)

[88] : A. Thozet and M. Perrin., Acta Cryst. (1980). B36, 1444-1447.

[89] : S.K. Wolff, D.J. Grimwood, J.J. McKinnon, M.J. Turner, D. Jayatilaka, M.A. Spackman, CrystalExplorer (Version 3.0), University of Western Australia, 2012

