



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre De L'enseignement Supérieur et

De La Recherche Scientifique

Faculté Des Sciences et Technologies

Université ABBES LAGHROUR- KHENCHELA

Département De Science De La Matière



N° de série :

**Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme
de master chimie**

Option

Chimie analytique et environnement

Thème

**Extraction d'huile essentielle de la plante du Thym
(Thymus Vulgaris). De la région de Souk-Ahras**

Réalisé par :

- Zidane Khaoula

- Lalawna Sawsan

Dirigé par :

- Dr Hamadi Faouzia

Membres de Jury :

Président : Dr. Allouche Fatima

Univ. Abbes Laghrou-Khenchela

Encadreur : Dr. Hamadi Faouzia

Univ. Abbes Laghrou-Khenchela

Examineur : Dr. Ben Ali Rim

Univ. Abbes Laghrou-Khenchela

Année Universitaire 2021/2022

Remerciements

Nous remercions **Allah**, le tout puissant de nous avoir guidé tout au long de nos années d'études et de nous avoir donné le courage, la santé pour réaliser ce travail.

الحمد لله

Nos remerciements les plus sincères et notre reconnaissance vont particulièrement à notre encadreur **Dr Hamadi Faouzia** pour son aide très précieuse qu'elle nous a apportée tout au long de notre préparation de ce mémoire, et du fait qu'elle a bien voulu diriger ce travail et nous faire profiter de son savoir et de ses expériences.

Nous vifs remerciements pour **Dr Allouche Fatima & Dr Ben Ali Rim** a accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions le corps administratif de notre institut.

Par la même occasion, nous tenons à remercier également tous ceux qui ont accepté de juger notre travail et tous les notre département Science de la matière.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réalisation de ce projet de fin d'études et surtout nos familles.

A tous Merci....

Dédicaces

A Ceux que Allah le Tout Puissant nous oblige à respecter et à chérir : mes parents
: « Djalal Eddine & Djamila » source de tendresse, d'amour et de bonheur et à qui j'exprime ma gratitude pour leur soutien, leurs sacri-fices, conseils et prières qui m'ont permis

D'arriver à terme de ce travail « Que Allah vous garde ».

A mes chers frères et ma chère sœur :

Mohamed Amine et Redha. Pour leur Soutien et encouragements de moi.

Lamia. De toujours être là pour me faire avancer et de pouvoir tout partager avec toi.

A ma chère grand-mère :

Fatiha. De me soutenir à n'importe quel moment, de toujours croire en moi et fier de moi.

A toutes les familles

A mes très chères amies :

Ahlem, Maissa, Warda, Sonia. Qui partagent tous ces bons et mauvais moments ensemble et dans la joie et la tristesse ensemble.

A ma binôme de beaux yeux verts et ma collègue dans mémoire : Sawsan. De tous les moments passés ensemble à la fac en tant que binôme et ailleurs.

A tous mes collègues et mes amies Promotion 2022 Chimie analytique et environnement :

Nariman, Rania, Rana, Aicha, Manel, Wafa, Malak, Maroua, Amina, Djouhaina, Chahrazed. Pour les moments que vous avez vécus ensemble et les souvenirs.

A tous ceux que J'aime

Khaoula

Dédicaces

Je dédie ce travail à chaque étudiant en sciences qui cherche à acquérir des connaissances et à apporter ses son équilibre culturel.

A celle qui m'a soutenu dans ses prières et ses supplications

A celle qui m'a aidé dans les nuits qui ont illuminé mon chemin

A celle qui a partagé mes joies et mes peines

A la source de gentillesse et tendresse, le plus beau sourire de ma vie

A la femme la plus merveilleuse qui soit, **ma chère maman Noura**

A celle qui m'a appris que le monde est un combat

Et son arme c'est la science et la connaissance

A celui qui ne m'a rien épargné

A celui qui cherchait mon confort et ma réussite

A l'homme le plus grand et le plus cher de l'univers, **mon cher père Salim**

A ceux qui ont gagné un cadeau de frères de prédestination, afin qu'ils connaissent le sens de la fraternité.

Mes frères bien-aimés **Atef, Baha Eddine & Hamada** et le mari de ma sœur **Abd El Halim**

A ma chère sœur **Ikram** et son fils, la lumière de la maison **Siredj El Assil**.

A ma binôme la plus belle **Khawla** et sa famille son exception (**Zidane**).

Je fais un cadeau spécial à tous mes camarades de classe **promo 2022 chimie analytique**.

A mes amis les plus chers **Samira, Wissal, Abir, Jalila, Fadhila, Malak, Sara, Randa, Wafia & Houda**.

Aux êtres chers sous la saleté, que dieux ait pitié d'eux, mon oncle : **Bouzid** et le mari de ma tante : **Mohamed** et mes grands-parents.

A ma grand-mère et toute la famille de ma mère sans exception.

Je dédie un salut spécial a toutes les familles de **Lalaouna, Bakhouche, Athmani, Saaoudi, Gouasmia**.

Liste des abréviations

AFNOR = Association Française de Normalisation.

ATCC = American type culture collection.

Cm = Centimètre.

D = Diamètre.

G = Gramme.

H = Heure.

HD = Hydrodistillation.

HE = Huile essentielle.

MVS = Matière Végétale Sèche.

M_{H.E} = Masse d'huile essentielle.

MH = Muller – Hinton.

Mg = Milligramme.

ml = Millilitre.

mm = Millimètre.

min = Minute.

ORL = Oto-Rhino-Laryngologiste.

R_{H.E} = Rendement en Huile essentielle.

T. Vulgaris = *Thymus. Vulgaris*.

T = Température.

µl = Microlitre.

% = Pourcentage.

°C = Degré Celsius.

(+) = Positive.

(-) = Négative.

Liste des figures

Figures	Titre	Page
I.1	Différentes espèces du Thym	6
II.2	Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L	14
II.3	Les différentes parties de <i>Thymus vulgaris</i>	15
II.4	La plante <i>Thymus vulgaris</i>	15
II.5	Tige de <i>Thymus vulgaris</i>	16
II.6	Feuilles de <i>Thymus vulgaris</i>	16
II.7	Racines de <i>Thymus vulgaris</i>	17
II.8	Fleurs de <i>Thymus vulgaris</i>	17
II.9	(1) Calice de <i>T. vulgaris</i> et (2) : Etamines de <i>T. vulgaris</i>	18
II.10	(3) : Carpelles de <i>T. vulgaris</i> et (4) : Corolle de <i>T. vulgaris</i>	18
II.11	Les chémotypes de <i>Thymus vulgaris</i>	21
III.12	Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes	31
III.13	Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane	32
III.14	Action des huiles essentielles et de leur constituant sur la cellule bactérienne	36
IV.15	Montage utilisé pour l'extraction des HEs par Entraînement à la vapeur d'eau	39
IV.16	Montage utilisé pour l'extraction des HEs par hydrodistillation	40
IV.17	Méthode d'extraction aux solvant organique	42

V.18	La plante de thym sèche (Photo originale, 2022)	47
V.19	Montage de l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation du thym (Photo originale, 2022)	49
V.20	Les étapes d'extraction de l'H.E du thym par décantation (Photo originale, 2022)	50
V.21	Elimination de toute trace d'eau dans la phase organique par sulfate de magnésium anhydre, MgSO ₄ (s). (Photo originale, 2022)	51
V.22	Filtration simple (Séchage de la phase organique) (Photo originale, 2022)	52
V.23	Evaporateur rotatif ou Rotavapeur à 45°C (Photo originale, 2022)	52
V.24	Organigramme exprimant le protocole expérimental suivie pour l'obtention d'H.E de Thym	53
V.25	Extraction des H.Es de thym (Photo originale, 2022)	54
V.26	Broyage de la plante du thym (Poudre de thym). (Photo originale, 2022)	55
V.27	Les étapes d'extraction des extraits aromatiques de la plante de thym par macération (Photo originale, 2022)	56
V.28	Schéma représente les différent étapes d'extraction des extraits aromatiques	57
V.29	Les résultats des tests phytochimiques	60
V.30	Principe de la diffusion sur disque	61
V.31	Les disques	62
V.32	Ensemencement des souches microbiennes	63

V.33	A : Dépôt des disques, B : Dépôt de l'huile essentielle pure	63
VI.34	Activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de <i>Thymus</i> sp sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d)	67
VI.35	Activité antimicrobienne de la macération du thym sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> (b), <i>Escherichia coli</i> (c), <i>Candida</i> sp (d)	68

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I.1	Classification du thym	5
I.2	Localisation de quelques espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie	7
I.3	Principaux constituants des huiles essentielles (HEs) de différentes espèces de thymus	10
II.4	Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	13
II.5	Distribution géographique de <i>Thymus vulgaris</i> en Algérie	19
II.6	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i>	20
II.7	Différents Chémotypes de <i>Thymus vulgaris</i>	21
III.8	Classification des composés terpéniques et aromatiques	29
IV.9	Les solvants d'extraction	42
IV.10	Les agents desséchants	43
V.11	Liste des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique	47
V.12	Liste des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique	55
VI.13	Résultats des tests phytochimiques pour <i>Thymus Numidicus</i> Bousoir	66
VI.14	Résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle pure de <i>Thymus Sp</i>	67
VI.15	Résultats de l'aromatogramme des différentes préparations à partir de la poudre du thym	68

Sommaire

Remerciement	I
Dédicace I	II
Dédicace II	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VIII
Introduction Générale	1
Partie théorique	
Chapitre I : La plante du thym (<i>Thymus Vulgaris</i>)	3
Introduction	3
I.1 Définitions	3
I.2 Historique	4
I.3 Classification du Thym	5
I.4 Description botanique du Thym	6
I.5 Répartition géographique	7
I.6 Principes actifs du Thym	8
I.7 Propriétés du Thym	8
I.8 Usage et vertus thérapeutiques du thym	9
I.8.1 Usage traditionnel	9
I.8.2 Vertus du thym	9
I.9 Composition chimique de l'HE du thym	10

I.10 Culture	10
Chapitre II : Genre <i>Thymus Vulgaris</i> L	11
Introduction	11
II.1 Généralités	11
II.2 Dénomination	12
II.3 Origine et distribution de la plante	12
II.4 Place dans la systématique	13
II.5 Description botanique de la plante	14
❖ Appareil végétatif	15
❖ Appareil reproducteur	17
II.6 Répartition de <i>Thymus vulgaris</i> en Algérie	19
II.7 Habitat et Culture	20
II.8 Composition chimique	20
II.9 Chémotypes de <i>Thymus Vulgaris</i>	21
II.10 Utilisation de <i>Thymus vulgaris</i>	22
Chapitre III : Les Huiles Essentielles	23
Introduction	23
III.1 Définitions	24
III.2 Historique et origine	25
III.2.1 Historique	25
III.2.2 Origine	26
III.3 Localisation et Répartition botanique des HEs	26
III.3.1 Répartition botanique	26

III.3.2 Localisation	26
III.4 Rôle physiologique et écologique des HEs	27
III.4.1 Rôle physiologique	27
III.4.2 Rôle écologique	28
III.5 Caractéristiques physico-chimiques des HEs	28
III.6 Propriétés physico-chimiques des HEs	28
III.7 Composition chimique des HEs	29
III.7.1 Classification des composés terpéniques et aromatiques	29
III.7.2 Les Composés Terpéniques (Terpènes & Terpénoïdes)	29
III.7.2 .1 La nomenclature des composés terpéniques	30
III.7.3 Composés aromatiques	31
III.7.4 Composés d'origine diverse	32
III.8 La notion de Chémotype	33
III.9 Huile essentielle du thym	33
III.10 Utilisation des HEs	33
III.11 Toxicité des HEs	34
III.12 Activité antimicrobienne des H.E	34
III.12.1 Définition activité antibactérienne des H.E	35
III.12.2 Activité antibactérienne des H.E	35
III.12.3 Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne des HE	36
III.12.3.1. Activité liée à la composition chimique	36
III.12.3.2. Activité liée au microorganisme	37

Chapitre IV : Méthode d'extraction d'huiles essentielles	38
Introduction	38
IV.1 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	38
IV.1.1 Extraction liquide-liquide	38
IV.1.2 Entraînement à la vapeur d'eau	39
IV.1.3 Hydro-diffusion	39
IV.1.4 Hydrodistillation	40
IV.1.5 Extraction aux solvants organique	41
IV.1.5.1 Solvants d'extraction	42
IV.1.5.2 Agents Desséchants et leurs propriétés	43
IV.1.6 Macération	44
IV.2 Principaux paramètres d'extraction	45
Partie expérimentale	
Chapitre V : Extraction des huiles essentielles du thym	46
Introduction & objectif	46
V.1 Extraction des huiles essentielles du thym par hydrodistillation	46
V.1.1 Matériels	46
V.1.1.1 Matériel végétal	46
V.1.1.2 Matériel chimique (Réactifs et solvants)	47
V.1.1.3 Matériel de laboratoire	48
V.1.2 Méthodes expérimentales	48
V.1.2.1 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Hydrodistillation	48
V.1.2.2 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Décantation	49

V.1.2.3 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Filtration & Evaporation	51
V.1.3 Détermination des rendements en huiles essentielles	54
V.2 Extraction des extraits des aromatiques de la plante de thym par macération	55
V.2.1 Matériels	55
V.2.1.1 Matériel végétal	55
V.2.1.2 Matériel chimique (Réactifs et solvants)	55
V.2.1.3 Matériel de laboratoire	56
V.2.2 Méthodes expérimentales	56
V.2.2.1 Protocole expérimental d'extraction des extraits des aromatiques de la plante de Thym : Macération	56
V.3 Tests phytochimiques sur les extraits de plante sèches (thym)	58
V.3.1 Protocole d'identification des Tanins	58
V.3.2 Protocole d'identification des Saponosides	58
V.3.3 Protocole d'identification des alcaloïdes	59
V.3.4 Test d'identification des Terpénoïdes : test de Lakowski	59
V.3.5 Test d'identification des flavonoïdes	59
V.3.6 Protocole d'identification des leuco anthocyanes	59
V.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HETS	60
V.4.1 Evaluation qualitative : Aromatogramme	60
Chapitre VI : Résultats et discussions	65
VI.1 Calcul des rendements en huiles essentielles	65
VI.1.1 Par hydrodistillation	65
VI.1.1.1 Rendement des H.Es du thym par hydrodistillation	65
VI.1.2 Par macération	65

VI.1.2.1 Rendement des H.Es du thym par macération	65
VI.2 Tests Phytochimiques	66
VI.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>Thymus Vulgaris</i>	67
VI.3.1 Aromatogramme	67
VI.3.1.1 Huile essentielle pure	67
VI.3.2 Les extraits aromatiques	68
VI.3.2 Les extraits aromatiques	68
Conclusion Générale	69
Références Bibliographiques	



**Introduction
Générale**

Introduction Générale

Dans le monde, 2,1 millions d'adultes et 3 millions d'enfants meurent à cause de la consommation d'eau et/ou l'ingestion d'aliments contaminés. La contamination est généralement causée par un microorganisme nocif ou par un contaminant chimique engendrant ainsi des intoxications alimentaires de conséquences graves. Les bactéries sont, à côté des virus et des parasites, les microorganismes les plus souvent mises en cause dans le cas d'intoxications alimentaires et leurs traitements par des agents antibactériens chimiques conduits régulièrement à la sélection de souches bactériennes résistantes. Ainsi, les chercheurs et scientifiques tentent d'ores et déjà de trouver des alternatives efficaces et accessibles à partir de produits naturels qui connaissent de nos jours un regain d'intérêt et jouissent d'une popularité grandissante.

Les huiles essentielles font partie de cette gamme, de produits naturels extraits de plantes médicinales et aromatiques, qui sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobienne. En effet, beaucoup d'entre elles ont des propriétés anti-toxiques, anti-virales, anti-oxydantes et anti-parasitaires. Plus récemment on leur connaît des propriétés anti-cancéreuses. Le thym est l'une des plantes les plus utilisées comme épices et extraits à fort pouvoir antibactérien et anti-inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle. En effet, le thym "Zaatar" est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Les feuilles de thym sont riches en huile essentielle dont les propriétés mises à profit en phytothérapie. Elle est très antiseptique et utilisée à ce titre pour soigner les infections pulmonaires. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée et il est aussi vermifuge. *Thymus vulgaris*, à titre d'exemple, est largement utilisé comme antitussif, antispasmodique, antibroncholitique, propriétés anthelminthiques, carminatives et diurétiques. Les espèces Iraniens et Turques du thymus ont été, respectivement, déclarées pour leur activité antibactérienne.

Cet espèce endémique; riche en huiles essentielles, en composés phénoliques, terpéniques et notamment en flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques. Le principal objectif de notre modeste travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, extraites de plante médicinale et aromatiques

originaires du Souk-Ahras : *Thymus vulgaris*, sur des germes responsables de toxi-infections alimentaires.

Ce mémoire est composé de deux parties structurées comme suit :

Première Partie : Synthèse bibliographique Cette partie comporte quatre chapitres :

- Le premier chapitre rassemble des généralités sur la plante médicinale ainsi qu'une description de la famille botanique de *Thymus*.
- Le second sera consacré à l'étude des huiles essentielles d'une manière générale, tandis que le troisième essentielles consacré à l'étude phytochimique sur les extraits de plante.
- Le quatrième chapitre concernera l'activité antimicrobienne des huiles ainsi que les techniques utilisées pour l'obtention de ces extraits.

Deuxième Partie : Partie expérimentale Cette partie regroupe deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit le matériel et les protocoles expérimentaux utilisés pour l'obtention des différents extraits de la plante ainsi que ceux adoptés pour l'étude phytochimique.
- Le second chapitre est consacré à la présentation et à l'interprétation des différents résultats expérimentaux obtenus.

Partie Théorique

Chapitre I :
La plante du thym
(*Thymus vulgaris*)



Chapitre I : La plante du thym (*Thymus Vulgaris*)

Introduction

Le thym, également appelé thym commun, thym cultivé ou farigoule, est un sous-arbrisseau vivace aromatique mesurant de 7 à 30 cm de haut. On en retrouve dans les garrigues et les steppes du sud de l'Europe et du Nord de l'Afrique. Très présent dans la culture méditerranéenne, le thym est maintenant présent dans le monde entier. Toute la partie aérienne de la plante peut être utilisée, mais ce sont généralement les fleurs et les feuilles du thym qu'on utilisera après les avoir fait sécher.

Le thym est une plante utilisée couramment, en cuisine comme en phytothérapie. Le thym s'utilise depuis des millénaires autant en cuisine que pour ses bienfaits sur de nombreux maux. Tonique, puissant antiseptique, stimulant de l'immunité, c'est la plante incontournable et efficace contre les troubles respiratoires.

I.1 Définitions

Le mot « **Thym** » : qui désigne une plante aromatique utilisée en cuisine.

Le thym est un arbuste vivace à feuilles persistantes d'environ 45cm, aux feuilles aromatiques gris vert et aux fleurs mauve pale ou blanches. [1]

Le thym est une plante condimentaire qui appartient à la famille des Labiées. *Thymus vulgaris* est le thym des garrigues ou des jardins, qui pousse spontanément sur les coteaux arides du Méditerranée. C'est un sous-arbrisseau de 30 à 50 cm de hauteur, touffu, aux tiges I très ligneuses, aux feuilles petites, sessiles. [2]

Le genre *thymus* comprend plus de cinquante espèces. [3]

Le thym est l'une des plantes pourvues de plus nombreuses propriétés. On l'utilise sous forme d'infusion (feuilles et sommités fleuries) ou sous forme d'huile essentielle.

C'est l'une des plantes aromatiques les plus employées en thérapeutiques depuis les temps les plus anciens.

I.2 Historique

Le thym est une des plantes aromatiques les plus employées en thérapeutique depuis les temps les plus anciens. Il a toujours accompagné la vie quotidienne des humains, tant pour ses usages médicaux et cosmétiques que culinaires. [4]

L'origine du mot Latin « *Thymus* » n'est pas tout à fait tranchée. Certains auteurs supposent qu'il provient du Grec *thyo* (**parfumer**). Une autre interprétation étymologique considère qu'il provient du mot grec « *thymos* » (**courage, force**). [5] Cette dernière supposition est la plus rapportée dans la littérature.

Plante sacrée dans l'antiquité, le thym était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs, on s'en servait aussi pour aromatiser les fromages et les boissons alcooliques et les militaires en mettaient dans leur bain pour se donner de la vigueur.

Les sumériens et les égyptiens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts. Une vieille tradition indique que cette plante était l'une des herbes qui ont formé le lit parfumé de la vierge Marie. Connue par Hippocrate et Dioscoride, elle était parmi les premières plantes médicinales dans la région méditerranéenne. Le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne en tant que condiment. [6]

Théophraste et Dioscoride, en Grèce, le disaient propre à calmer les convulsions, à réduire les inflammations de l'intestin et du foie, à provoquer les règles lorsqu'elles sont défectueuses, et à calmer les spasmes de toute nature. Charlemagne, quant à lui, en avait ordonné la culture dans ses capitulaires. [7]

I.3 Classification du Thym

Le Thym appartient à la famille des Lamiacées appelée aussi Labiacées. C'est l'une des familles botaniques les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant et antibactérien. Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3200 et 6500 espèces. [8]

Les labiacées sont des plantes à fleurs présentant 4 étamines et une symétrie bilatérale : les pétales ressemblent à deux lèvres, d'où le nom de Labiacée (*Labium* signifie lèvre en latin). *Thymus* est l'un des huit genres les plus importants par rapport au nombre d'espèces chez la famille des Labiacées. [9]

La classification botanique de thym est représentée dans le **tableau I. 1**. [10]

Tableau I. 1 : Classification du thym. [10]

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Gamopétales (Astérisées)
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>

I.4 Description botanique du Thym

Plante originaire du bassin méditerranéen, elle se présente sous la forme d'un sous-arbrisseau de type vivace et particulièrement touffu, à tiges quadrangulaires et ligneuses et à feuilles sessiles. Ces dernières sont assez petites, de forme lancéolée et de couleur gris-vert. Sa taille peut atteindre une trentaine de centimètres et sa fleur affiche une teinte rosâtre. Petite, de 4 à 6 millimètres, elle se regroupe en épis foliacés et est visible de juin à octobre. La plante préfère les terrains plutôt rocaillieux, secs et très ensoleillés et peut pousser jusqu'à des altitudes supérieures à 1500 mètres. La récolte est généralement effectuée à la fin de l'été. [11]

De façon générale, le thym est une plante sous-ligneuse érigée ou prostrée, odorante, il forme des touffes compactes très ramifiées qui s'élèvent à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocaillieux et dans les garrigues. [12]

Les feuilles du thym sont plus ou moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui, est tubuleux à deux lèvres et la corolle est plus ou moins exserte à deux lèvres aussi. [13]



Figure I. 1 : Différents espèces du Thym.

I.5 Répartition géographique

▪ **Dans le monde** : Le thym est distribué dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d’Ethiopie et la péninsule du Sinaï en Egypte. Passant par les régions arides de l’Asie occidentale jusqu’à Himalaya. Dans le nord il pousse en Sibérie et en Europe nordique. [14, 15]

▪ **En Algérie** : Le *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu’au zones arides. Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces. Le **tableau I. 2** montre la localisation des principales espèces de thym en Algérie. [16]

Tableau I. 2 : Localisation de quelques espèces de genre *Thymus* en Algérie. [16]

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>Thymus Capitatus</i>	Hoffman et Link.	Rare dans la région de Tlemcen.
<i>Thymus Fontanasii</i>	Bois et Reuter.	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie.
<i>Thymus Commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus Numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous-secteur de l’atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<i>Thymus Guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts Plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus Pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de L’Atlas Saharien et constantinois
<i>Thymus Hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>Thymus Glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois
<i>Thymus Algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus Munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

I.6 Principes actifs du Thym

- Les composants du thym sont assez nombreux, en particulier dans ses **huiles essentielles** : thymol, un anti-infectieux puissant ; géraniol, antifongique et antiviral (pour la peau) ; linalol, antifongique (pour les affections de type candidose) et vermifuge. [11]
- **Les huiles essentielles** contiennent différents composants, et en particulier le paracymène (ou p-cymène, antalgique) et le bornéol. [11]
- Le thym contient encore des flavonoïdes (apigénol, lutéolol, etc.) Le thym frais est aussi une source importante de vitamine C, et le thym séché de calcium, de manganèse et de vitamine K. [11]
- **Les acides phénoliques** : acide caféique [17], acide rosmarinique. [18]
- **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotréicine, narirutine [18], lutéoline. [19]
- **Les polyphénols** : tannin. [17, 20]

I.7 Propriétés du Thym

Les principaux constituants du thym montrent des propriétés :

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides. [19]
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose). [21]
- Propriétés anthelminthiques. [22]
- Propriétés antioxydantes. [18, 23] en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons Tunus thymnus durant leur stockage. [24]

En générale, Le thym est un antiseptique puissant, considéré comme un remède efficace dans les affections dues au refroidissement (rhume, grippe, courbature, angine). En infusion, il est stimulant. Il combat les douleurs articulaires ou musculaires. Il est également antispasmodique et antirhumatismal. Il peut soigner l'asthénie physique et psychique, les toux convulsives, les affections pulmonaires et l'asthme.

I.8 Usage et vertus thérapeutiques du thym

I.8.1 Usage traditionnel

Le thym est utilisé comme aromate en cuisine, c'est une plante condimentaire très appréciée en Algérie et dans différentes parties du monde pour aromatiser les plats, les fromages et les boissons alcoolisées. C'est une plante médicinale recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires les palpitations, ainsi que les affections de la bouche. [25, 26, 27]

Il est considéré aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine par trempage des feuilles sèches. Également Utilisé dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, l'expulsion des gaz intestinaux et contre la mauvaise digestion, grâce à ses propriétés stomachiques antiseptiques des voies respiratoires et pectorale. [28, 29]

Le thym est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques [30] et pour traiter les troubles digestifs tels que la diarrhée, la fièvre, la toux et les plaies. [31]

I.8.2 Vertus du thym

- Le thym est dit plante aromatique, c'est-à-dire qu'il sert en cuisine et qu'il offre ses bienfaits à la phytothérapie, sous forme d'huile essentielle.
- Il recèle de nombreuses composées parmi lesquels du thymol, un anti-infectieux puissant, du géraniol et des flavonoïdes.
- Les feuilles et les fleurs sont employées fraîches ou séchées. Le thym est vertueux sur la sphère ORL, sur les intestins (diarrhées, ventre ballonné) et contre les ulcères de l'estomac provoqués par la bactérie *helicobacter pylori*.
- Il soulage les maux de gorge, les quintes de toux et décongestionne les nez qui coulent.
- C'est un excellent antiseptique et antifongique pour la bouche, dont il soulage les affections.

I.9 Composition chimique de l'HE du thym

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives. Leur composition renferme des alcools, des phénols des aldéhydes, des cétones, des esters et quelques dérivés du phényle propane.

Le thymol et le carvacrol sont les plus importants constituants du genre *Thymus* **tableau I. 3** sauf pour le *thymus serpyllum* qui est caractérisé par l'absence de ces composés. [32]

Tableau I. 3 : Principaux constituants des huiles essentielles (HEs) de différentes espèces de *thymus*. [32]

	Espèces	Composés majoritaires	Composition (HE)
Thym	T. officinalis	Thymol	10 à 64%
		carvacrol	2 à 11%
		γ -terpinène	2 à 31%
		p-cymène	10 à 56%
	T. herbabarone	thymol	50.3 %
		p-cymène	27.6 %
	T. capitatus	Carvacrol	70.92%
		p-cymène	6.34%
		γ -terpinène	4.92%

I.10 Culture

Le thym est très résistant, il pousse bien sur des collines arides et rocailleuses des régions méditerranéenne. Il nécessite des endroits ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur ce genre de sols que se développe mieux son arôme. Dans les endroits de forte gelée, une protection est recommandée durant l'hiver. La reproduction se fait par semis ou bouturage, réalisée mis avril ou plus rarement en aout.

Chapitre II :

Genre *Thymus Vulgaris* L



Chapitre II : Genre *Thymus Vulgaris L*

Introduction

Thymus Vulgaris est un genre de plantes (couramment appelées **thym**) de la famille des Lamiacées. Ce genre comporte plus de 300 espèces. Ce sont des plantes rampantes ou en **coussinet** portant de petites fleurs rose pâle ou blanches. Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques. La principale **huile essentielle** de *Thymus vulgaris* est un terpénoïde qui lui doit son nom, le thymol, une substance bactéricide. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris L.*

La phytothérapie est connue pour ses vertus découvertes empiriquement. C'est une méthode qui utilise l'action des plantes médicinales et qui consiste à traiter certaines pathologies à l'aide de plantes. Les plantes et les autres substances naturelles ont d'abord été connues pour leurs propriétés nutritives puis ensuite pour leurs vertus curatives. On retrouve le thymus vulgaris, le bon vieux thym des garrigues, sous toutes les formes aussi bien dans les cosmétiques que dans les assiettes voire même dans les armoires à pharmacie.

II.1 Généralités

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen. [5] Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris L.* localement connu "**zaatar**". En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre ("**thym**" et "**thyme**" respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris*. [33]

Le thym, communément appelé "**zaater**" en Algérie ou en latin appartient à la famille des Lamiaceae, à la tribu des Mentheae et à la sous-famille des Nepetoideae. [34] Ce genre inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie. [35]

Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec « **thymos** » qui signifie "**parfumer**" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage. [36] L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales. [37]

II.2 Dénomination

Thymus vulgaris a été ainsi nommé par Carl Von Linné en 1753 et reste le nom utilisé par toutes les nomenclatures scientifiques. C'est une plante des pharmacopées méditerranéennes. Il a la particularité de présenter une diversité de chémotypes très importante, ce qui lui confère ainsi une grande variété de constituants médicinaux.

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

- **Arabe** : saatar, zaatar (en arabe صعتر ou زعتر). [13]
- **Français** : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule.
- **Anglais**: common thym, garden thym, [38]

II.3 Origine et distribution de la plante

Thymus vulgaris L : est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française. [20, 33] Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale. [39]

Le *Thymus vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages. [40] plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne. [41]

II.4 Place dans la systématique

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure [5] synthétisée dans le **Tableau II. 4.**

Tableau II. 4 : Classification botanique de *Thymus vulgaris*. [5]

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	Thymus
Espèce	Thymus vulgaris L

II.5 Description botanique de la plante

Thymus vulgaris L : est un arbuste aromatique à tiges ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur.

Il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique [42, 5] (Figure II. 2).



Figure II. 2 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris L*. [37]

❖ Appareil végétatif

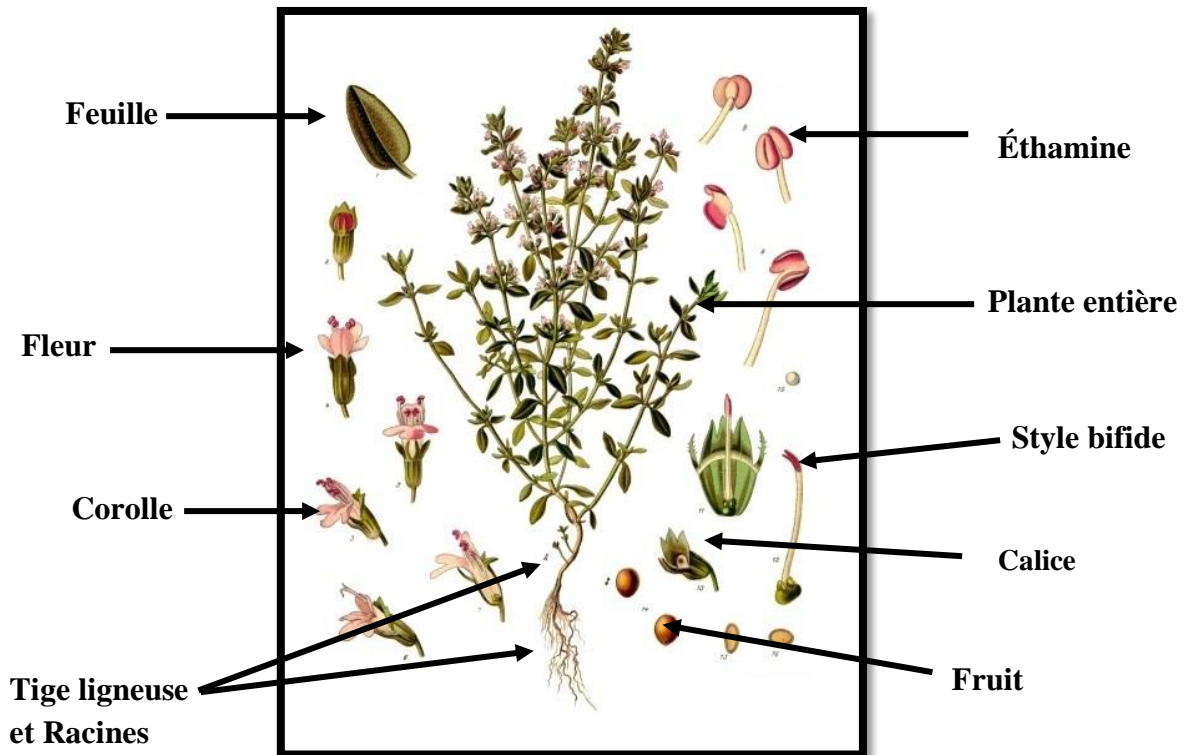


Figure II. 3 : Les différents parties de *Thymus vulgaris*.

- a. **Plante :** *Thymus vulgaris* est un petit sous-arbrisseau vivace, touffu et très aromatique de 7 à 30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert-grisâtre (Figure II. 4).



Figure II. 4 : La plante *Thymus vulgaris*.

- b. Tige :** Elles sont ligneuses à la base, herbacées supérieurement, sont presque cylindriques. Ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Elles peuvent acquérir, vers leur base, une assez grande épaisseur (**Figure II. 5**).



Figure II. 5 : Tige de *Thymus vulgaris*.

- c. Feuilles :** Elles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court, et blanchâtres à leur face inférieure (**Figure II. 6**).



Figure II. 6 : Feuilles de *Thymus vulgaris*.

- d. **Racines** : les racines sont pivotantes, ce qui permet à la plante d'aller chercher l'eau en profondeur. (**Figure II. 7**)



Figure II. 7 : Racines de *Thymus vulgaris*.

❖ **Appareil reproducteur**

- e. **Fleurs** : Elles, sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures. Elles forment ainsi une sorte d'épi foliacé au sommet des ramifications de la tige (**Figure II. 8**).



Figure II. 8 : Fleurs de *Thymus vulgaris*.

- f. **Calice** : à 5-12 lobes égaux ou disposés en 2 lèvres. (**Figure II. 9**)
- g. **Corolle** : généralement caduque, constituée d'un tube se terminant par 4 ou 5 lobes, soit subégaux, soit formant une lèvre inférieure (la supérieure étant très réduite), soit le plus souvent formant 2 lèvres. De taille variable, elle est un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice. La lèvre supérieure est à peine échancrée, l'inférieure est à trois lobes égaux et obtus. (**Figure II. 10**)
- h. **Étamines** : elles sont insérées sur le tube de la corolle, soit accompagnées parfois de 2 autres étamines stériles et réduites, soit 4, en 2 paires souvent inégales. (**Figure II. 9**)

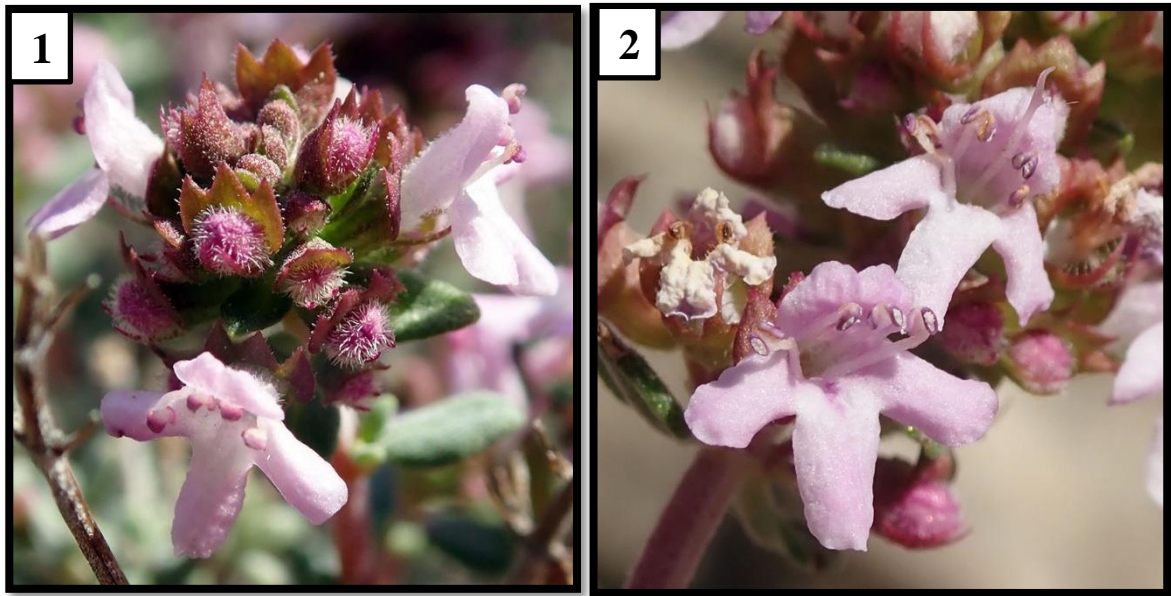


Figure II. 9 : (1) : Calice de *T. vulgaris* et (2) : Etamines de *T. vulgaris*.

- i. **Carpelles** : 2, soudés entre eux ; l'ovaire est supère, à 4 ovules ; 1 style bifide, naissant le plus souvent entre les lobes de l'ovaire. (**Figure II. 10**)



Figure II. 10 : (3) : Carpelles de *T. vulgaris* et (4) : Corolle de *T. vulgaris*.

II.6 Répartition de *Thymus vulgaris* en Algérie

La répartition de l'espèce *Thymus vulgaris* en Algérie et selon différentes études est représentée dans le **tableau II. 5. [43]**

Tableau II. 5 : Distribution géographique de *Thymus vulgaris* en Algérie. [43]

Wilaya	Partie utilisée
Chlef	Feuilles +fleurs
Mostaganem	Feuilles +fleurs
Naama	Feuilles +fleurs
M'sila	Feuilles
Constantine	Feuilles
Tlemcen	Feuilles
Bouira	Feuilles, tiges, et fleurs
Alger	Tige +feuilles
Ain defla	Partie aérienne.
Relizane	Feuilles + tige
Tipaza	Feuilles et tiges
Souk-Ahras	Feuilles
Boumerdès	Partie aérienne
Ghardaïa	Partie arienne
Sétif	Toute la plante

II.7 Habitat et Culture

En termes d'exigence édaphiques, le thym pousse bien dans des endroits naturels, sur sol légers et calcaires mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux non détrempés. [41]

Quant au bioclimat idéal à son développement, *Thymus vulgaris* est peu exigeant à l'humidité car il nécessite des endroits à conditions extrêmes caractérisés de sécheresse. C'est d'ailleurs sur sols pauvres que se développe le mieux son arôme. Dans des endroits de fortes gelées, une protection est recommandée durant l'hiver sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangées encadrées environ 20 à 30 cm ; de préférence sur sol léger et sablonneux. [44]

II.8 Composition chimique

Thymus vulgaris renferme une huile volatile de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche, et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé. [45] L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est composée d'une quantité très variable en phénols dont le thymol et le carvacrol en sont les majeurs constituants. Elle contient également d'autres composants minoritaires comme présentés dans le **tableau II. 6**. [46]

Tableau II. 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de *T. vulgaris*. [46]

Espèce	Familles	Composition
<i>Thymus vulgaris</i>	Phénols (20 – 80%)	- Thymol (30 – 70%) - Carvacrol (3 – 15%)
	Alcools	- Linalool (4 - 6.5%) - α -terpinéol (7.8 – 8.9%)
	Monoterpènes hydrocarbonés	- p-cymène (15 – 20%) - γ -terpinène (5 – 10%) - Bornéole, camphre, limonène, myrcène, β -pinène, trans sabinène hydrate, terpinène-4-ol (0.5 – 1.5%)
	Sesquiterpènes Hydrocarbonés	- β -caryophyllène (1 – 3%)

II.9 Chémotypes de *Thymus Vulgaris*

L'espèce *T. vulgaris* est très connue pour son polymorphisme chimique. En effet, elle est représentée par au moins sept chémotypes différents, définis en fonction du constituant principal de son huile essentielle. Deux ont une structure phénolique et cinq une structure non phénolique. [47] Comme présentés dans le **tableau II. 7**.

Tableau II. 7 : Différents Chémotypes de *Thymus vulgaris*.

Phénols	Non Phénols	Référence
- <i>Thymus vulgaris</i> à Thymol - <i>Thymus vulgaris</i> à Cavarcol	- <i>Thymus vulgaris</i> à Géraniol - <i>Thymus vulgaris</i> à Linalool - <i>Thymus vulgaris</i> à Thujanol - <i>Thymus vulgaris</i> à α -Terpinéol - <i>Thymus vulgaris</i> à 1,8-cinéole	[47]

Cette variabilité chimique dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques, environnementaux, génétiques, saisonniers, [46] et peut aussi être due aux conditions de séchage, de stockage et des méthodes d'études [48, 49] (**Figure II. 11**).

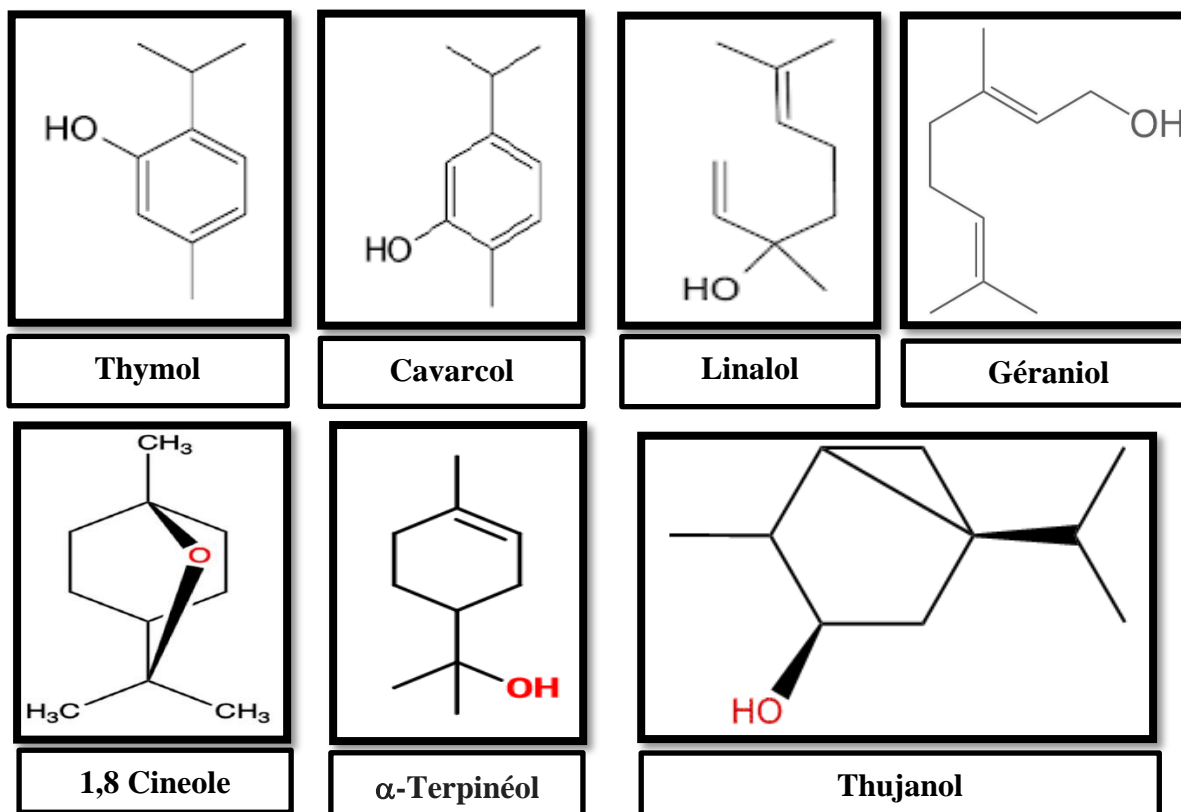


Figure II. 11 : Les chémotypes de *Thymus vulgaris*.

Les espèces du thym peuvent être regroupées selon des chémotypes identifiés par leur richesse en certains composants par exemple :

- **Chémotype 1** : huile essentielle riche en carvacrol.
- **Chémotype 2** : huile essentielle riche en monoterpènes aromatiques (principalement thymol) et plus pauvre en carvacrol.
- **Chémotype 3** : huiles essentielle riche en 1,8 cinéol. [50]

II.10 Utilisation de *Thymus vulgaris*

Thymus vulgaris est une des plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde. Il est vastement appliqué et touche particulièrement le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle. [51]

L'huile essentielle de cette plante est exploitée en aromathérapie et dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. [52] Elle entre dans la composition de divers produits pharmaceutiques tels que : les pommades antiseptiques et cicatrisantes, les émulsions, les cataplasmes, ainsi que, les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules pour le traitement des affections des voies respiratoires ainsi que des préparations pour inhalation. [53, 54]

En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, *Thymus vulgaris* est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomatique, antitussif, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, diaphorétique et diurétique. [55, 56]

Chapitre III :

Les Huiles Essentielles



Chapitre III : Les Huiles Essentielles

Introduction

Une huile essentielle est la fraction odorante volatile des végétaux. C'est le parfum de la plante, un véritable concentré. Elle peut être extraite de différentes parties d'un végétal : les feuilles, les fleurs, l'écorce, le bois, le zeste, les graines, les fruits, etc. Lorsque vous épluchez une orange et que ça pique un peu les yeux, c'est de l'huile essentielle.

Contrairement aux médicaments classiques, parfums et désodorisants pour la maison, les huiles essentielles sont entièrement naturelles et écologiques.

Le qualificatif "essentielle" vient du fait que les fractions odorantes extraites se classent d'un point de vue chimique parmi les essences ... En fait, les huiles essentielles ne sont pas exactement des huiles. Ceci explique pourquoi une huile essentielle ne tache pas. Vous pouvez déposer sur votre taie d'oreiller quelques goutte d'huile essentielle de lavande, aucun risque de l'abîmer.

Chaque huile essentielle est unique, possède son odeur, ses caractéristiques spécifiques, est plus au moins visqueuse, à sa couleur particulière (jusqu'au vert foncé).

Les plantes fabriquent les huiles essentielles pour de multiple raisons :

- Pour se protéger très efficacement : antibiotique, antiviral, antisolaires, ...
- Pour attirer des insectes pollinisateurs grâce à leurs parfums,
- Pour se protéger des prédateurs, ...etc.

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes et luttent contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne.

III.1 Définitions

Il est très difficile d'attribuer une seule définition au terme « **huile essentielle** », car il en existe plusieurs. [57] Il y a plusieurs définitions d'huile essentielle :

Le nom d'essences ou huiles essentielles désigne les principes volatils généralement odoriférants synthétisés par l'organisme végétal. Ces composés ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses. Par conséquent, ils ont reçu empiriquement le nom d'huile essentielle. Le terme « **huile** » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme « **essentielle** » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons. [58]

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatique produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air. [59]

Selon l'AFNOR (2000), [60] les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

En industrie agro-alimentaire, les huiles essentielles sont des matières grasses, liquides à température ordinaire, extraites des végétaux (olive, colza, arachide...) et utilisées en cuisine pour les sauces et les fritures. [61]

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives, [62, 63] composées de molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. La variabilité chimique des huiles essentielles 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) selon. [64]

III.2 Historique et origine

III.2.1 Historique

L'utilisation connue des plantes se prolonge sur environ 5000 années, commençant par les civilisations égyptiennes, chinoises, et indiennes antiques.

Les huiles essentielles sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité. Les arômes et les parfums furent parmi les premiers signes de la reconnaissance qui marquèrent la vie de l'Homme. [65]

L'importance de ces huiles était fondamentale, elles sont à l'origine de l'industrie des arômes. Bien qu'on connaisse plus de 3000 essences, il n'y en a guère que 150 qui aient actuellement une importance commerciale. [66]

La première extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau a été réalisée par le médecin arabe, Ibn Sina « Avicenne » (980-1037), qui mit au point un alambic et produit la première huile essentielle pure. Il faudra attendre la fin des Croisades vers le XIIème siècle et le retour des chevaliers en Europe, afin qu'ils rapportent les découvertes de la distillation à la vapeur d'eau et l'emploi des huiles essentielles. C'est ainsi que l'aromathérapie s'installera en Occident. [67]

En 1910, René-Maurice Gatte fossé, chimiste, parfumeur et père de l'aromathérapie scientifique, se brûla la main lors d'une explosion dans son laboratoire, il eut le réflexe génial de plonger ses mains dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande. Soulagé instantanément, sa plaie se guérit avec une rapidité déconcertante. Etonné par ce résultat, il décida d'étudier les huiles essentielles et leurs propriétés et créa le mot Aromathérapie du grec « **Aroma** » (arome) et « **therapeia** » (soin). [68, 69]

Aujourd'hui, l'aromathérapie est répandue dans le monde entier et les connaissances quant à l'utilisation des plantes sont précises. De nombreux laboratoires travaillent sur la recherche de l'aromathérapie certifiée bio. [70]

III.2.2 Origine

Les plantes vertes puisent l'eau et utilisent l'énergie solaire et le gaz carbonique présent dans l'air pour synthétiser les glucides, ce processus est appelé photosynthèse, il se déroule au niveau des feuilles, plus précisément au niveau des chloroplastes qui renferment la chlorophylle, les produits issus de la photosynthèse sont (glucides, NADPH, ATP) constituent une source d'énergies, ils contribuent à la génération de nouvelles cellules, ils interviennent indirectement dans la biosynthèse de divers composés secondaires tels que les lipides, les hétérosides et les essences, ainsi les HE font parties des résidus du métabolisme végétal.[71]

III.3 Localisation et Répartition botanique des HEs

III.3.1 Répartition botanique

Les huiles essentielles ne sont pas présentes chez tous les végétaux. Uniquement 10% des plantes sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont dites aromatiques.[42] Les huiles essentielles sont rencontrées dans diverses familles botaniques elles se localisent dans les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme des cellules spécialisées. [72]

Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, qu'il concentre dans des poches ou des poils comme pour les lamiacées situées dans les poils sécrétrices dans certaines parties de la plante (soit endogènes ou exogènes) : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce...etc. [73]

Certaines familles de végétaux sont particulièrement riches telles que : Conifères, Myrtacées, ombellifères composées. [74] Elles peuvent être présentes dans différents organes de la même plante. La compilation des huiles essentielles peut alors varier d'un organe à l'autre. [75]

III.3.2 Localisation

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal avec des familles à haute teneur en matières odorantes. Les genres riches en huile essentielle appartiennent aux familles de Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Zingiberaceae, etc. Les huiles essentielles sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. [76]

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle. [14]
Les fleurs, exemples : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang).

- Les feuilles le plus souvent, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin.
- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore).
- Les fruits, exemples : fenouil, anis, épicarpes des Citrus.
- Les graines : noix de muscade, coriandre.
- Le bois et les écorces, exemples : cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.

- Les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, Géraniacées et Verbénacées.
- Les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacées, Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Apiacées.

III.4 Rôle physiologique et écologique des HEs

III.4.1 Rôle physiologique

Il y a beaucoup de spéculations au sujet du « **Rôle** » d'huiles essentielles des plantes. Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu. [77]

Certainement plusieurs effets apparents « **utiles** » ont été décrits : protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux. [78] En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. [79]

III.4.2 Rôle écologique

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteurs de la germination, mais aussi lors des interactions végétales-animal, comme agents de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateur. D'autres considèrent l'huile comme conservateur de l'humidité des plantes dans les climats désertiques. [80]

III.5 Caractéristiques physico-chimiques des HEs

La couleur des huiles essentielles varie du jaune au vert en passant par le rouge ou le marron foncé. En général, les huiles essentielles sont plus légères que l'eau avec laquelle elles sont peu miscibles et ont une densité qui oscille entre **0.75 et 1.18 g/cm³**. Exception faite pour la cannelle, l'œillet, la moutarde qui est plus lourde que l'eau [81] Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles, Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organique, mais insolubles dans l'eau. [82]

III.6 Propriétés physico-chimiques des HEs

Généralement les huiles essentielles sont : [58, 42]

- Les huiles essentielles sont le plus souvent liquide à température ambiante, incolores ou jaune pâle, d'une odeur forte et très caractéristique.
- Toutes les huiles essentielles volatiles, odorantes et inflammables.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois huile essentielle officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle. De girofle et de sassafras.
- Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées d'un pouvoir rotatoire.
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.

III.7 Composition chimique des HEs

Les composants des HE sont génériquement dits « **aromatiques** » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique, ce qui peut prêter à confusion [83]. Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de molécules organiques appartenant aux classes les plus diverses. Ces molécules sont généralement des :

- **Hydrocarbures** : Au sein de ce groupe, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques ($C_{10}H_{16}$) et sesquiterpéniques ($C_{15}H_{24}$) et plus rarement diterpéniques (C_{20}). Quelques fois on rencontre des hydrocarbures saturés (heptane, octane, nonane, ...etc.).
- **Composés Oxygénés** : A l'intérieur de ce groupe on rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des éthers oxydes, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes - phénols, des lactones, des composés sulfurés. [84]

III.7.1 Classification des composés terpéniques et aromatiques

Tableau III. 8 : Classification des composés terpéniques et aromatiques.

Hydrocarbures terpéniques	Composés terpéniques oxygénés	Composés aromatiques
- Les monoterpènes - Les sesquiterpènes	- Alcools - Cétones - Ethers-oxydes - Esters - Aldéhydes	- La vanilline - L'eugénol - L'anéthole - L'estragole

III.7.2 Les Composés Terpéniques (Terpènes & Terpénoïdes)

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des HES, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont retrouvés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des HES sont très variés. On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres. [85]

III.7.2.1 La nomenclature des composés terpéniques

a. Monoterpènes

Les monoterpènes sont des composés à 10 carbones ($C_{10}H_{16}$), souvent volatils, aromatiques. Ils sont présents dans les huiles essentielles extraites de nombreuses plantes y compris les fruits, les légumes, les épices et les herbes. Ces composés contribuent à la saveur et arôme de la plante à partir de laquelle ils sont extraits [86]

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE. [42] Elles peuvent être :

- Acycliques (Myrcène, myrte, ocimène, sécoïdane...)
- Monocycliques (α -terpinène, p-menthane, iridane...)
- Bi et tricycliques (Carene, pinene, bornane, camphène...)

Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple :

- **Alcools** : acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).
- **Aldéhydes** : le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal).
- **Cétones** : acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- **Esters** : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isobomyle)
- **Ethers** : 1,8-cinéole eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- **Peroxydes** : ascaridole.
- **Phénols** : thymol, carvacrol. [42]

b. Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{24}$ (Assemblage de trois unités isoprènes). Ils s'agissent de la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000

molécules. Elles présentent plusieurs catégories structurales : acycliques (Le farnésol), monocycliques (L'Humulène « α -humulène »), bicycliques (L' α -cadinène,...), tricycliques et polycycliques.

Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature.[76]

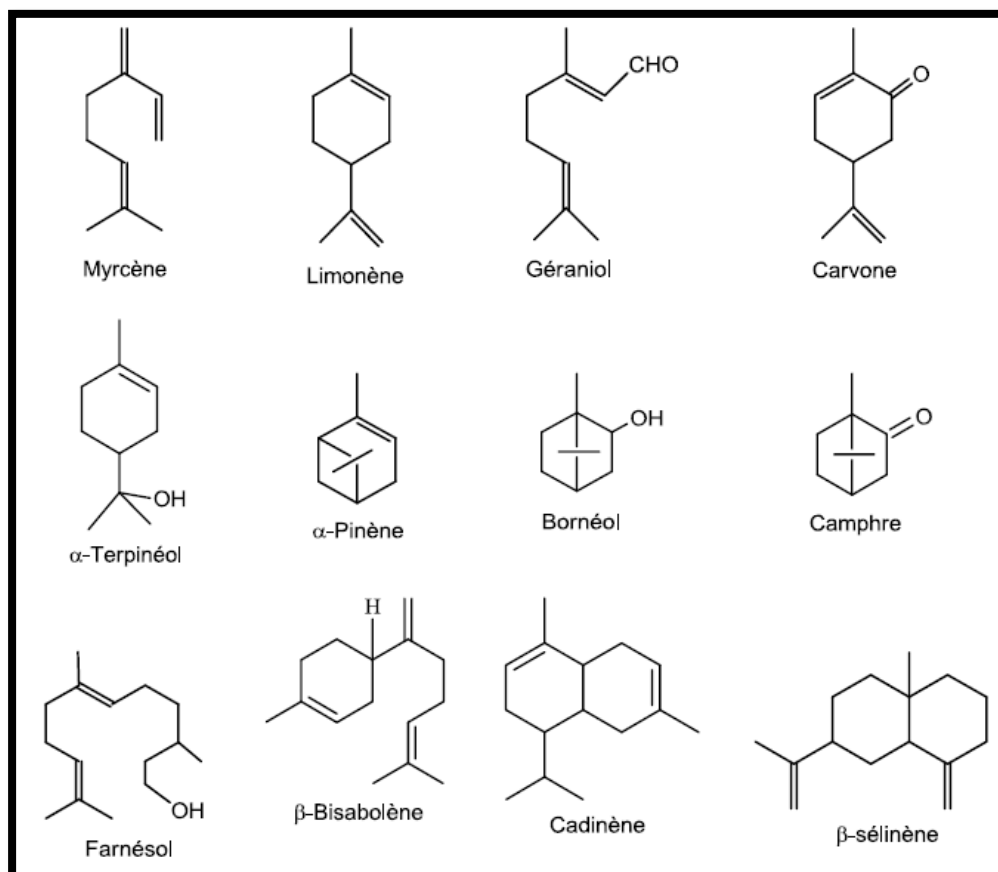


Figure III.12 : Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes.

c. Les Diterpènes

Ce sont des composés terpéniques à 20 carbones. Ils se retrouvent dans la queue phytol des chlorophylles a et b, le tocophérol (Vitamine E) et la phylloquinone (Vitamine K1).

III.7.3 Composés aromatiques

Ce sont les dérivés du phénylpropane (C6-C3), ils sont beaucoup moins présents dans la composition de l'huile essentielle. Mais ils sont considérés comme un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles.

Très souvent, il s'agit des phénols (Eugénol, chavicol) qui sont présents dans l'huile essentielle de girofle (Eugénol), des alcools (Alcool cinnamique) qui sont très répandues dans l'huile essentielle Baume du Pérou, des aldéhydes (Cinnamaldéhyde) qui se trouvent dans l'huile essentielle de cannelle, des dérivés méthoxy (Anéthol, estragol, élémicine) comme l'huile essentielle de fenouil (Anéthole) ou méthylène dioxy (Apiole, myristicine, safrole) qui composent l'huile essentielle de persil (Apiole). [27]

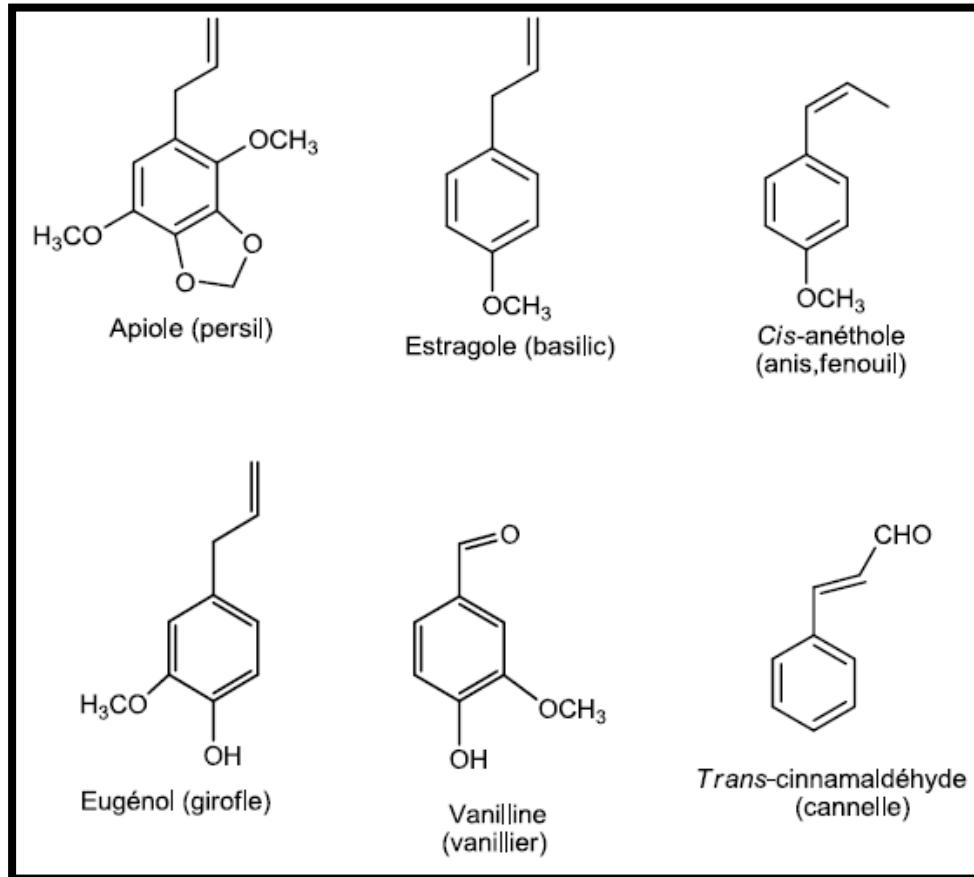


Figure III.13 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane.

III.7.4 Composés d'origine diverse

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes, des acides gras (Acide hexanoïque, acide dodécanoïque, acide hexadécanoïque, ...etc.), des alcools (Menthol, linalol, géraniol, bergamote), des aldéhydes (Géranial, citronellal), des esters (Acétate de géranyle), des cétones (Camphre, pipéritone) [87]

III.8 La notion de Chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer de H.E extraite d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. [14]

Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, et plus efficace. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotype différent présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables. [83]

III.9 Huile essentielle du thym

L'HE du thym est extraite principalement à partir des feuilles et des sommités fleuries. [88] L'HE du thym est une huile susceptible de présenter de grandes variations, qui sont principalement d'origine génétique et édaphoclimatiques, elle dépend également de la saison de cueillette (stade végétatif). [89]

III.10 Utilisation des HEs

Les huiles essentielles sont utilisées principalement comme fragrance pour parfumer une pièce ou un produit cosmétique, mais aussi comme médicaments et comme exhausteurs de goût dans les condiments.

Sont aussi employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains.

Elles peuvent être utilisées pour usage externe (inhalations, compresses, massage, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.) ou interne (infusions, sirops, pastilles, etc.). Chaque huile essentielle a ses caractéristiques et ses fonctions qui lui sont propres. [90]

III.11 Toxicité des HEs

Les HEs sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, Il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocif. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques). [91]

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées, ... L'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épiléptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques. [92]

La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des tests : **la famille des cétones** : (une neurotoxicité et un risque abortif), **la famille des phénols et des aldéhydes** : (dermocausticité, hépatotoxicité, irritation des muqueuses respiratoires, déclenchement de crises d'asthmes), **la famille des furocoumarines et pyrocoumarines** : (réactions érythémateuses sous l'effet prolongé du soleil), **la famille des monoterpènes** : (enflamme et détériorer, les néphrons). [14, 93]

Les huiles essentielles sont composées de molécules aromatiques très puissantes, et il est important de respecter les modes d'utilisation, dosages et précautions d'emploi afin d'éviter tout risque.

III.12 Activité antimicrobienne des H.E

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment.

Cependant, en raison du souci majeur des consommateurs de denrées sans additifs chimiques, la recherche d'additifs naturels, notamment d'origine végétale, s'est développée particulièrement ces dernières années. Par conséquent, l'utilisation de produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire. [94]

En effet, les huiles essentielles (H.Es) sont connues pour posséder une activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants. [95]

III.12.1 Définition activité antibactérienne des H.E

❖ Bactéries

La **bactérie** est un **micro-organisme** ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (**procaryote**) dont le génome est constitué d'**ADN**. Celui-ci consiste en un seul chromosome, et on note éventuellement la présence de plasmides (petit morceau d'ADN circulaire). L'ensemble des bactéries forme le règne des eubactéries (*Eubacteria*).

Les bactéries font partie de ce que l'on appelle **les germes**, ou encore **les microbes**, de même que les virus ou les parasites.

Les bactéries se trouvent dans tous les types de biotopes rencontrés sur Terre - eau, sol, air - et dans les organismes vivants - homme, animaux, plantes. La plupart des bactéries présentes dans l'organisme humain sont bénéfiques ou inoffensives.

Elles mesurent environ 1 micromètre et sont donc invisibles à l'œil nu. Au microscope optique, elles peuvent être observées soit à l'état frais ou après coloration de gram. La coloration de Gram permet de distinguer deux groupes de bactéries : les bactéries à gram positif (colorées en violet) et les bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de la réponse à la coloration est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactérienne. [93]

III.12.2 Activité antibactérienne des H.E

Le mécanisme d'action antibactérien des huiles essentielles n'est pas bien élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles essentielles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires. [96]

Parmi les mécanismes qui seraient mis en jeu, on cite :

-Précipitation des protéines et des acides nucléiques.

- Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéine et peptidoglycanes).
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire.
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique.
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne.
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion [97]. (Figure III. 14).

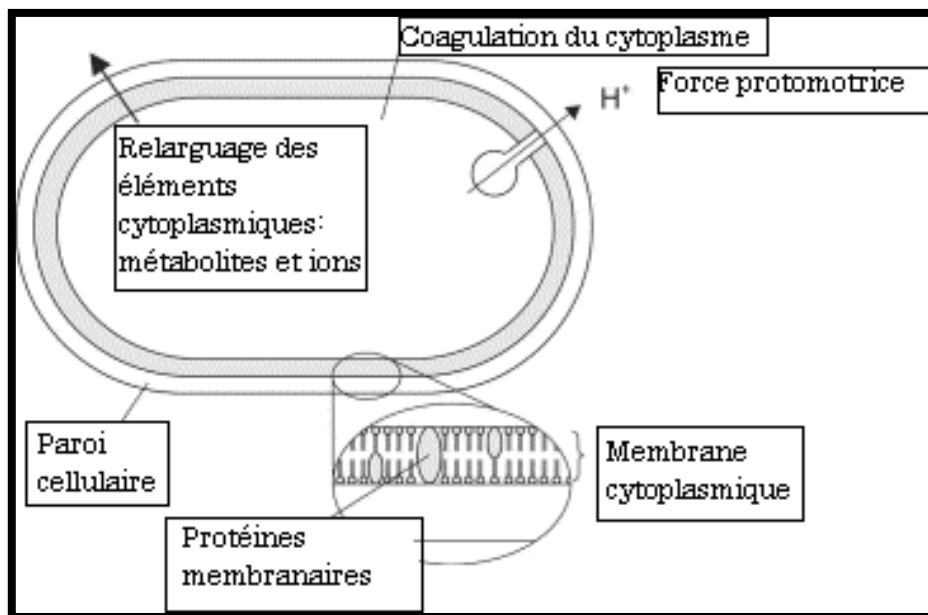


Figure III. 14 : Action des huiles essentielles et de leur constituant sur la cellule bactérienne. [98]

III.12.3 Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne des HE

L'efficacité antimicrobienne des HE dépend de deux paramètres principaux : la composition chimique de l'HE d'une part et le micro-organisme d'autre part. [97]

III.12.3.1. Activité liée à la composition chimique

L'activité des huiles essentielles est souvent attribuée à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Toutefois, les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique. [97]

Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont Les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, 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. [97]

- Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les Cellules végétatives, en dénaturant les protéines.

- Les aldéhydes, fortement électronégatif à double liaison, deviennent de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries. [97]

III.12.3.2. Activité liée au microorganisme

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à son métabolisme et à sa résistance. [97]

En effet, les bactéries Gram négatif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram positif la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. [99]

Chapitre IV :

Méthode d'extraction d'huiles essentielles



Chapitre IV : Méthode d'extraction d'huiles essentielles

Introduction

Les essences ou huiles essentielles sont ce que les plantes produisent de plus précieux. Depuis les temps les plus reculés, les hommes se sont ingéniés à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments, des cosmétiques, des parfums. Ainsi, après la récolte, et suivant la partie de la plante à extraire (plante entière, pétales de fleurs, feuilles, racines ou fruits), le procédé d'extraction mis en œuvre est différent et par conséquent la composition de l'extrait en est affectée.

Ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite la sensibilité considérable de certains parfums qui n'obligent à employer que des moyens peu violents sans interventions d'agents chimiques trop énergiques. [100]

IV.1 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction choisies en fonction de la partie où se trouve l'huile essentielle, ainsi que de la qualité et de la valeur thérapeutique. De chaque procédé résulte un produit différent. Tout système d'extraction requiert une méthodologie précise, due à la vitesse de libération, souvent longue, des molécules aromatiques, la quantité de matière première requise pour fabriquer une huile essentielle est importante. Ainsi les principes des techniques traditionnelles et des procédés innovants d'extraction sont décrits ci-dessous :

IV.1.1 Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est une technique de séparation qui semble être la plus adaptée pour des concentrations moyennes en soluté (acide carboxylique) ; En effet la majorité des acides carboxyliques présents dans les effluents agro-industriels (ciblés lors de notre étude) présentent des concentrations de cet ordre [101] et [102].

C'est une technique efficace et peu coûteuse, elle a fait l'objet de plusieurs études et améliorations portant sur la récupération et la purification de molécules chimiques ou de biomolécules [103].

IV.1.2 Entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HEs [104]. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (**HA**) et une phase organique (**HE**). 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. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters [105].

Les fractions dites « **de tête** », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils. [106,107,108]

IV.1.3 Hydro-diffusion

L'hydro-diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (**Figure IV.15**). Dans le cas de l'hydro-diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale [109].

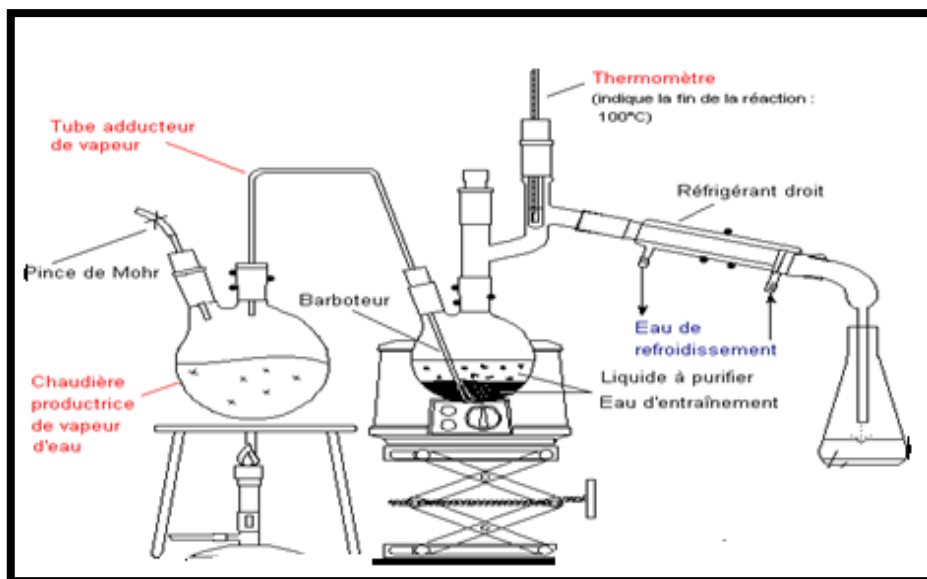


Figure IV .15 : Montage utilisé pour l'extraction des HEs par Entraînement à la vapeur d'eau.

IV.1.4 Hydrodistillation

La méthode d'extraction des huiles essentielles la plus simple est l'hydrodistillation (**Figure IV.16**). Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales.

Durant l'hydrodistillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle contenue dans les cellules de la plante (**le thym**). La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuse ensuite à travers le tissu de l'organe végétale vers la surface extérieure où l'huile essentielle sera vaporisée. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. À la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinées sont égales à la pression d'évaporation. Ainsi, les huiles essentielles, dont les points d'ébullition varient normalement de **200 à 300 °C**, s'évaporent à une température proche de celle de l'eau. Le mélange est ensuite refroidi. L'eau et les HE, une fois condensées, se séparent en deux phases **[110]**. Le contact du matériel végétal avec l'eau dans cette technique engendre notamment des phénomènes d'hydrolyse.

Bien que la distillation (**l'hydrodistillation ou la distillation à la vapeur**) soit la méthode normalisée pour l'extraction des huiles essentielles, l'effet de la chaleur peut causer des modifications chimiques et des dégradations des composants thermosensibles. Par conséquent, l'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère de l'essence originelle, d'autant plus que la durée de distillation est longue (**3 heures**).

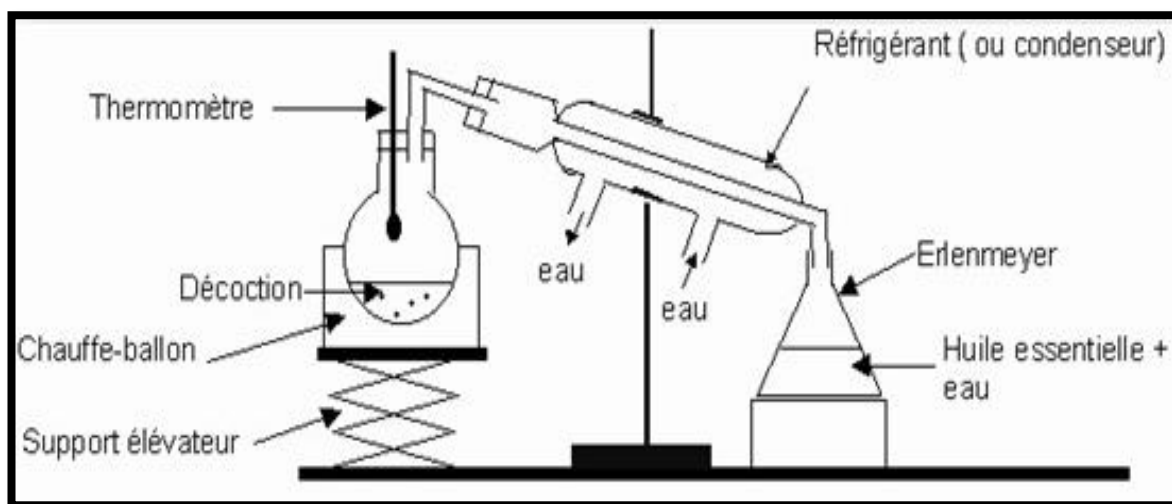


Figure IV. 16 : Montage utilisé pour l'extraction des HEs par hydrodistillation.

IV.1.5 Extraction aux solvants organique

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances [111].

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats (eau comme solvant), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers) [112].

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau [113].

L'extraction se passe dans une ampoule à décanter en suivant les étapes :

- Mise en contact du solvant avec l'espèce dissoute dans l'eau ;
- Agitation puis décantation ;
- Obtention de deux phases séparées : une phase aqueuse et une phase organique ;
- Récupération la phase organique ;
- Séchage (utilisation d'un agent desséchant) puis filtration [114].

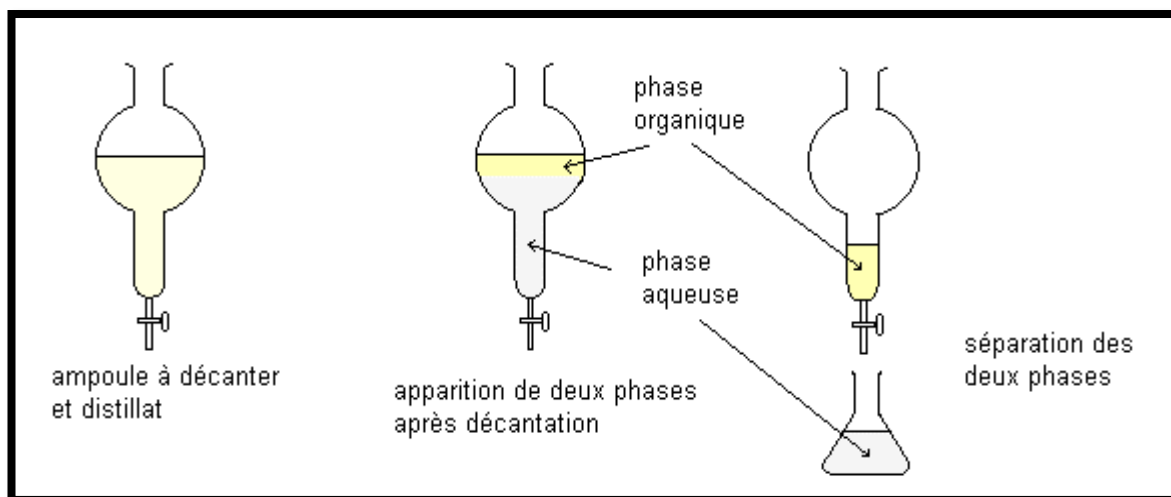


Figure IV.17 : Méthode d'extraction aux solvant organique.

IV.1.5.1 Solvants d'extraction

Les solvants d'extraction doivent être :

- Facilement éliminés après extraction et donc avoir un point d'ébullition bas. Leur point d'ébullition doit être le plus éloigné possible de celui des produits à extraire.
- Inertes chimiquement vis-à-vis de la solution à extraire.
- Peu toxiques que possible.

Tableau IV. 9 : Les solvants d'extraction.





Solvants	T en °c	Densité	Avantages	Inconvénients
Acétate d'éthyle	77	0,90	Bon pouvoir de solubilisation	Inflammable, modérément difficile à éliminer
Cyclohexane	81	0,78	Peu toxique	Facilement inflammable
Dicloro-1,2éthane	83	1,26	Peu inflammable	Modérément toxique, vapeurs irritantes
Dichlorométhane	40	1,34	Facile à éliminer	Forme des émulsions, potentiellement cancérigène. Ne pas chauffer en milieu basique.
Ether éthylique	35	0,71	Facile à éliminer	Très inflammable
Hexane	69	0,66	Facile à éliminer	Très inflammable
Pentane	36	0,63	Facile à éliminer	Très inflammable
Toluène	111	0,87	Peu toxique	Inflammable
Trichlorométhylène	87	1,46	Ininflammable	Modérément toxique

IV.1.5.2 Agents Desséchants et leurs propriétés

Un desséchant est un composé capable d'absorber les dernières traces d'eau présentes dans un solide ou un liquide. Le séchage est essentiel car des traces de solvants peuvent jouer un rôle important sur la détermination de la pureté du composé synthétisé, ou peuvent réagir avec chimiquement avec le composé. Outre les desséchants chimique, il est possible d'effectuer un séchage par voir physique en utilisant un dessiccateur ou une étuve. Ils sont présentés dans le tableau suivant (**tableau IV. 10**) :

Tableau IV. 10 : Les agents desséchants.

Agent desséchant	Mode d'action et d'utilisation	Avantages	Inconvénients
Anhydride phosphorique P_2O_5 	Réagit avec l'eau pour former des acides phosphoriques. À utiliser suite à une première dessiccation.	Efficace et rapide	Délicat à manipuler, corrosif, potentiellement cancérigène
Sodium Na 	Réagit avec l'eau pour former de l'hydroxyde de sodium et du dihydrogène . L'utiliser sous forme de ruban ou fil (obtenus avec une presse), après une première dessiccation.	Très efficace sous forme de fils.	Dangereux si contact avec de l'eau. Détruire les résidus dans de l'éthanol sous hotte aspirante, attention au dégagement de dihydrogène
Oxyde de calcium CaO (chaux vive)	Réagit avec l'eau pour former de l'hydroxyde de calcium $Ca(OH)_2$ (chaux éteinte)		
Sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4	Capte l'eau pour former un sel heptahydraté et décahydraté	Inerte chimiquement	Assez lent et peu efficace pour de grandes quantités

Sulfate de magnésium anhydre MgSO₄	Capte l'eau pour former un sel hydraté	Grand pouvoir desséchant, rapide, insoluble, inerte chimiquement . Peut se recycler par chauffage dans un creuset.	
Chlorure de calcium anhydre CaCl₂ 	Capte l'eau pour former un sel hydraté.	Peu cher et efficace, mais lent.	Incompatible avec certains composés (amines, alcools, acides, cétones, aldéhydes, esters)
Carbonate de sodium anhydre Na₂CO₃ 	Capte l'eau pour former un sel hydraté.	Moyennement efficace et lent.	
Hydroxyde de sodium NaOH  et hydroxyde de potassium KOH 	Captent l'eau.	Rapides et efficaces pour des bases organiques.	Incompatible avec de nombreux produits organiques.
Gel de silice et tamis moléculaires	Adsorption des molécules d'eau sur leur surface ou dans leurs pores.	Efficaces pour éliminer une grande partie de l'eau. Recyclage par chauffage.	

IV.1.6 Macération

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (**10 ou 12 heures**). [115]

Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide [115]. Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients [115]. Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche. [116]

Afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion). Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés d'artichaut. [117]

Ont utilisés deux méthodes d'extraction à savoir la décoction et la macération et quatre solvants (eau, méthanol, éthanol et acétone). Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la décoction soit une moyenne de 17,34 % versus 15,64 % pour la macération.

IV.2 Principaux paramètres d'extraction

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- La taille et la forme des molécules constitutives ;
- L'adsorption.[118]



Partie Expérimentale

Chapitre V :

Extraction des huiles essentielles



Chapitre V : Extraction des huiles essentielles du thym

Introduction & Objectif

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche de l'université de kenchela. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'obtention du diplôme master en chimie analytique et environnement.

L'objectif de ce travail est :

- ✓ Le principal objectif de notre travail est l'étude phytochimique sur des extraits de la plante de : Thym.
- ✓ En première partie, Nous avons mis en place des protocole extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, & en seconde partie, par la macération qui a été effectuée sur les feuilles sèches de plante (Thym).
- ✓ Détermination des rendements en huiles essentielles du Thym.
- ✓ Nous avons réalisé des tests d'identification sur des extraits obtenus à partir des feuilles sèches de cet plante. Ces tests ont pour but de vérifier et de quantifier la présence des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tannins ; alcaloïdes, saponines...etc.

V.1 Extraction des huiles essentielles du thym par hydrodistillation

V.1.1 Matériels

V.1.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal, utilisé pour thym qui a été acheté dans la région de Souk-Ahras en Algérie Mars 2022.

Tandis que, pour l'étude l'extraction des huiles essentielles, la plante pulvérisée a été acheté auprès d'un épicier à Khenchela ville.

La plante testée utilisée dans notre expérimentation est la plante du thym, L'huile essentielle est obtenue suite à une extraction par la méthode d'hydrodistillation de la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles et fleurs). Voir (Figure V. 18).

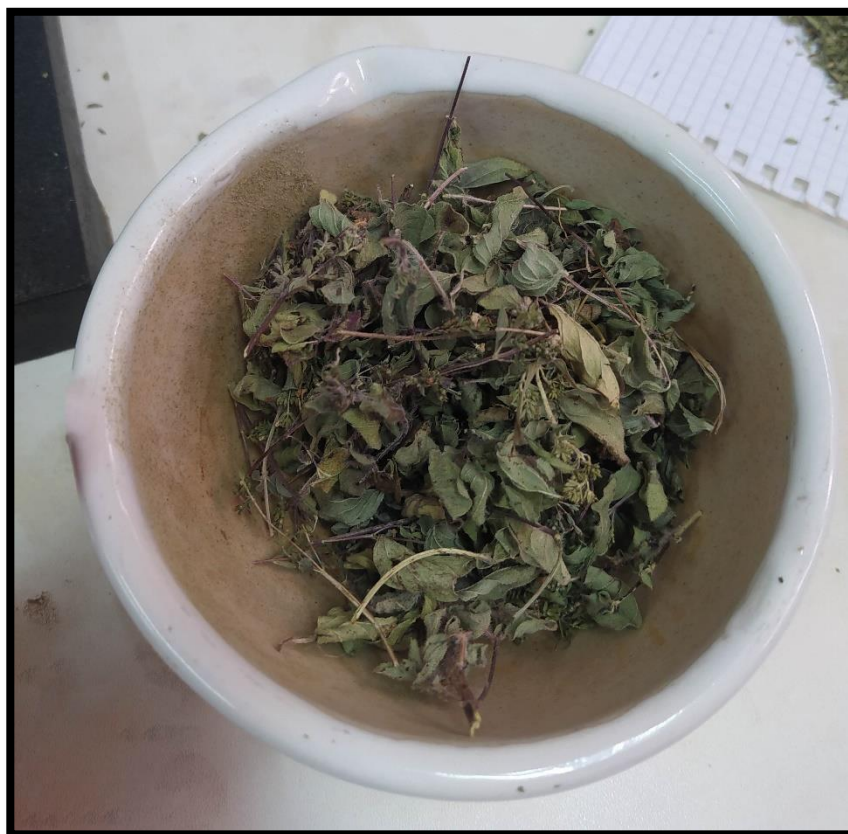


Figure V. 18 : La plante de thym sèche (Photo originale, 2022).

V.1.1.2 Matériel chimique (Réactifs et solvants)

Les réactifs et les solvants employés sont cités dans le tableau suivant (Tableau V. 11) :

Tableau V. 11 : Liste des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique.

Réactifs	Solvants
Poudre de Thym	Eau distillé
Sodium chloride (NaCl)	Ethanol 80%
Magnésium sulfate anhydrous (MgSO ₄)	Dichlorométhane

V.1.1.3 Matériel de laboratoire

❖ Verrerie

- Eprouvette graduée.
- Béchers.
- Ballon mono col.
- Erlenmeyer.
- Verres de montre.
- Réfrigérant à boule.
- Ampoule à décanter.
- Entonnoir.

❖ Appareillage

- Chauffe ballon.
- Balance électronique.
- Evaporation rotative.

V.1.2 Méthodes expérimentales

V.1.2.1 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Hydrodistillation

- ✓ Peser 50 g de poudre de la plante (thym).
- ✓ Introduire la poudre dans un ballon de 1000 ml.
- ✓ Ajouter 500 ml d'eau distillé et pierre ponce.
- ✓ Réaliser le montage ci-contre et le faire vérifier.
- ✓ Faire circuler l'eau froide dans le réfrigérant à eau, puis, à l'aide du chauffe-ballon, porter le mélange à ébullition (thermostat maximum) pendant 45 minutes environ.
- ✓ Recueillir **le distillat** dans un erlenmeyer et stopper le chauffage. Lorsque l'hydrodistillation est terminée, éteindre le chauffe-ballon et le descendre grâce au support élévateur. Couper ensuite l'alimentation d'eau.
- ✓ Nous avons débuté l'expérience à 11h et après environ deux heures d'extraction, nous avons recueilli 250 ml de distillat et avons observé une fine couche d'huile essentielle à la surface. Voir (Figure V. 19).



Figure V. 19 : Montage de l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation du thym (Photo originale, 2022).

V.1.2.2 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Décantation

- ✓ Transvaser le distillat dans une ampoule à décanter dont le robinet est fermé.
- ✓ Verser 200 ml de dichlorométhane dans l'éprouvette graduée 1000 ml. Transvaser dans l'ampoule à décanter. Puis agiter.
- ✓ Ajouter 6 g de sodium chloride (NaCl) dans une ampoule à décanter, Puis agiter.
- ✓ Boucher l'ampoule. Agiter 2 minutes en effectuant un dégazage de temps à autre puis laisser décanter.
- ✓ Vider la phase organique dans un bécher. Voir (Figure V. 20).

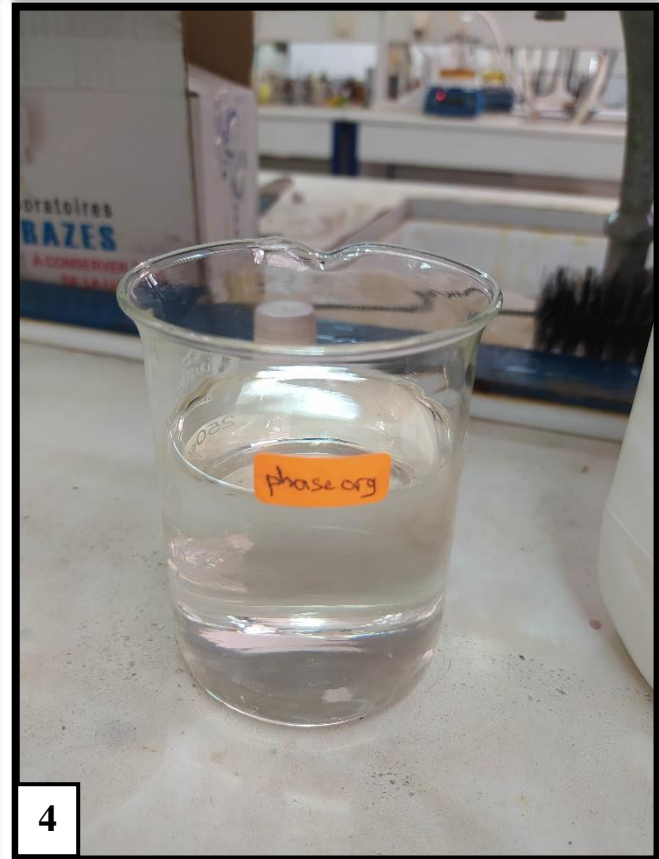
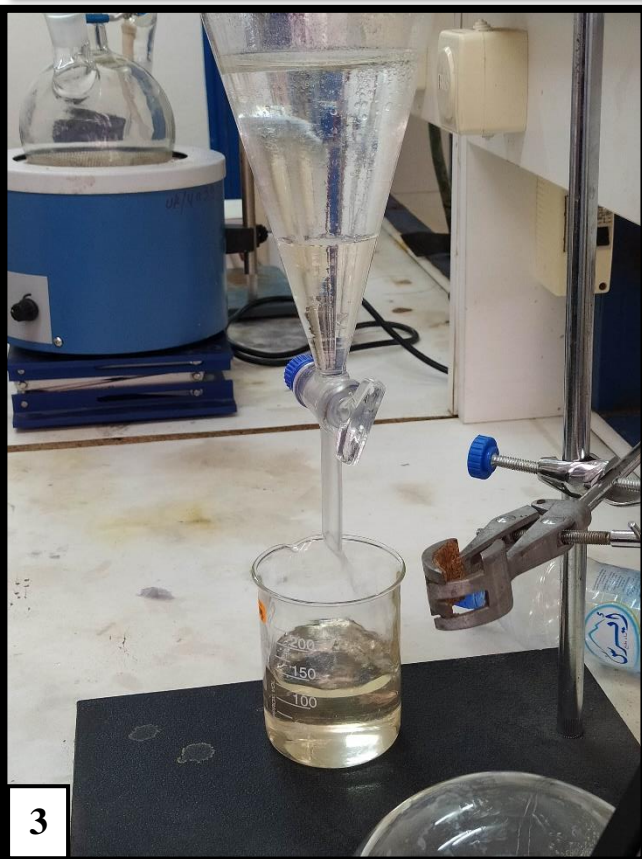


Figure V. 20 : Les étapes d'extraction de l'H.E du thym par décantation (Photo originale, 2022).

V.1.2.3 Protocole expérimentale d'extraction de l'H.E du Thym : Filtration & Evaporation

Il a pour but d'éliminer les traces d'eau encore présentes dans la phase organique. On ajoute pour cela des cristaux d'un agent desséchant, par exemple le sulfate de magnésium anhydre, MgSO_4 (s). Voire (**Figure V. 21**).

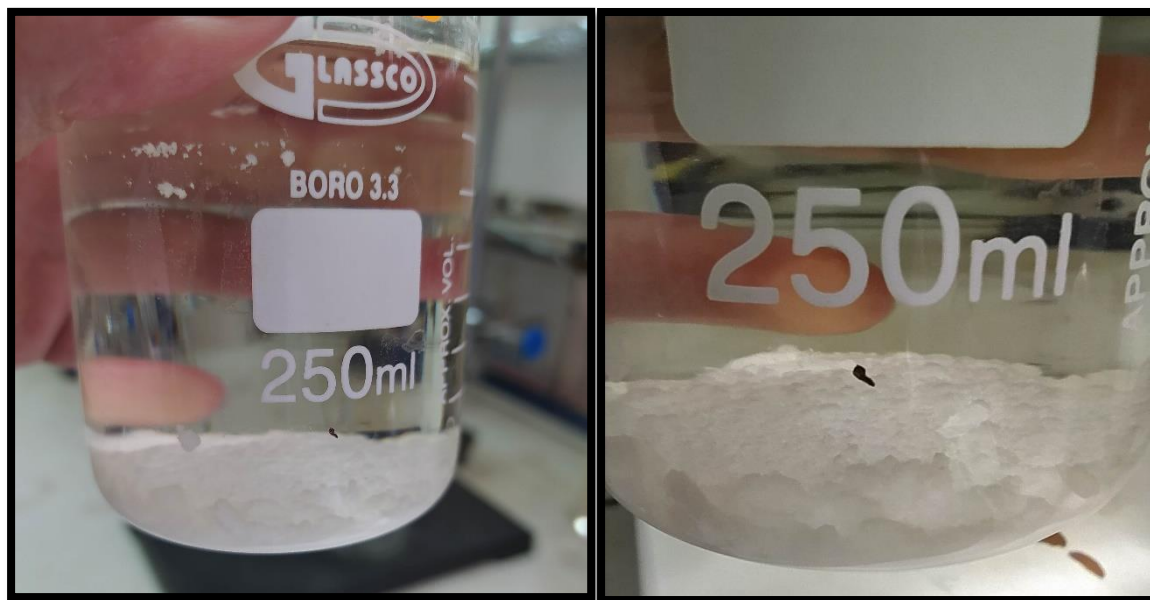


Figure V. 21 : Elimination de toute trace d'eau dans la phase organique par sulfate de magnésium anhydre, MgSO_4 (s). (Photo originale, 2022).

- ✓ Peser 8 g de sulfate de magnésium anhydre, MgSO_4 (s).
- ✓ Introduire le sulfate de magnésium anhydre (MgSO_4) dans un bécher à phase organique. Puis agiter et on laisse agir pendant 15 min.
- ✓ Eliminer le solide par filtration simple (à l'aide d'un entonnoir et d'un filtre plissé, Voire (**Figure V. 22**)).
- ✓ Transvaser un bécher à phase organique dans un filtre dont vider la phase organique dans un bécher. Puis évaporation du solvant dans un évaporateur rotative à 45°C . Voire (**Figure V. 23**).
- ✓ Récupérer l'extrait dans un flacon en verre.

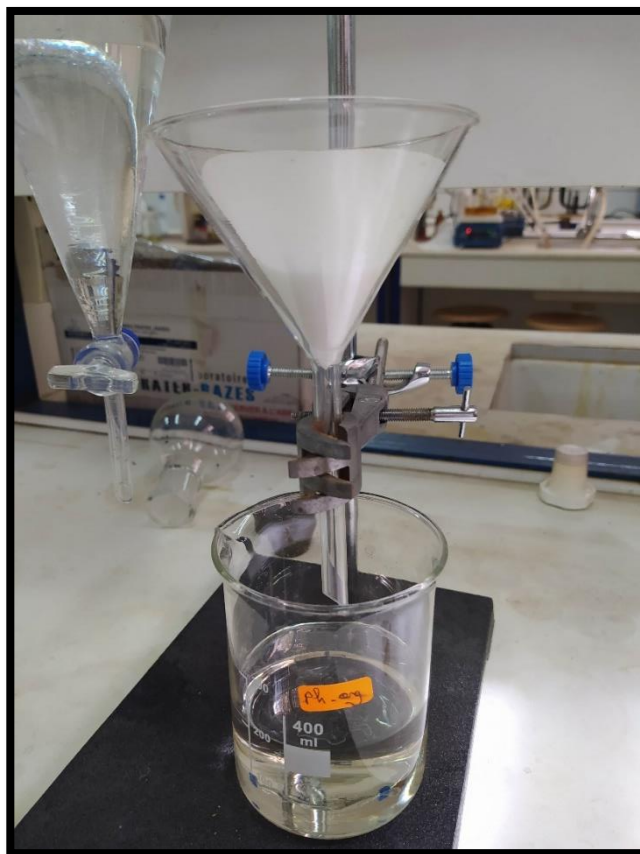


Figure V. 22 : Filtration simple (Séchage de la phase organique) (Photo originale, 2022).



Figure V. 23 : Evaporateur rotatif ou Rotavapeur à 45°C (Photo originale, 2022).

Les différentes étapes de la procédure d'extraction de l'huile essentielle de thym sont représentées dans le schéma suivant :

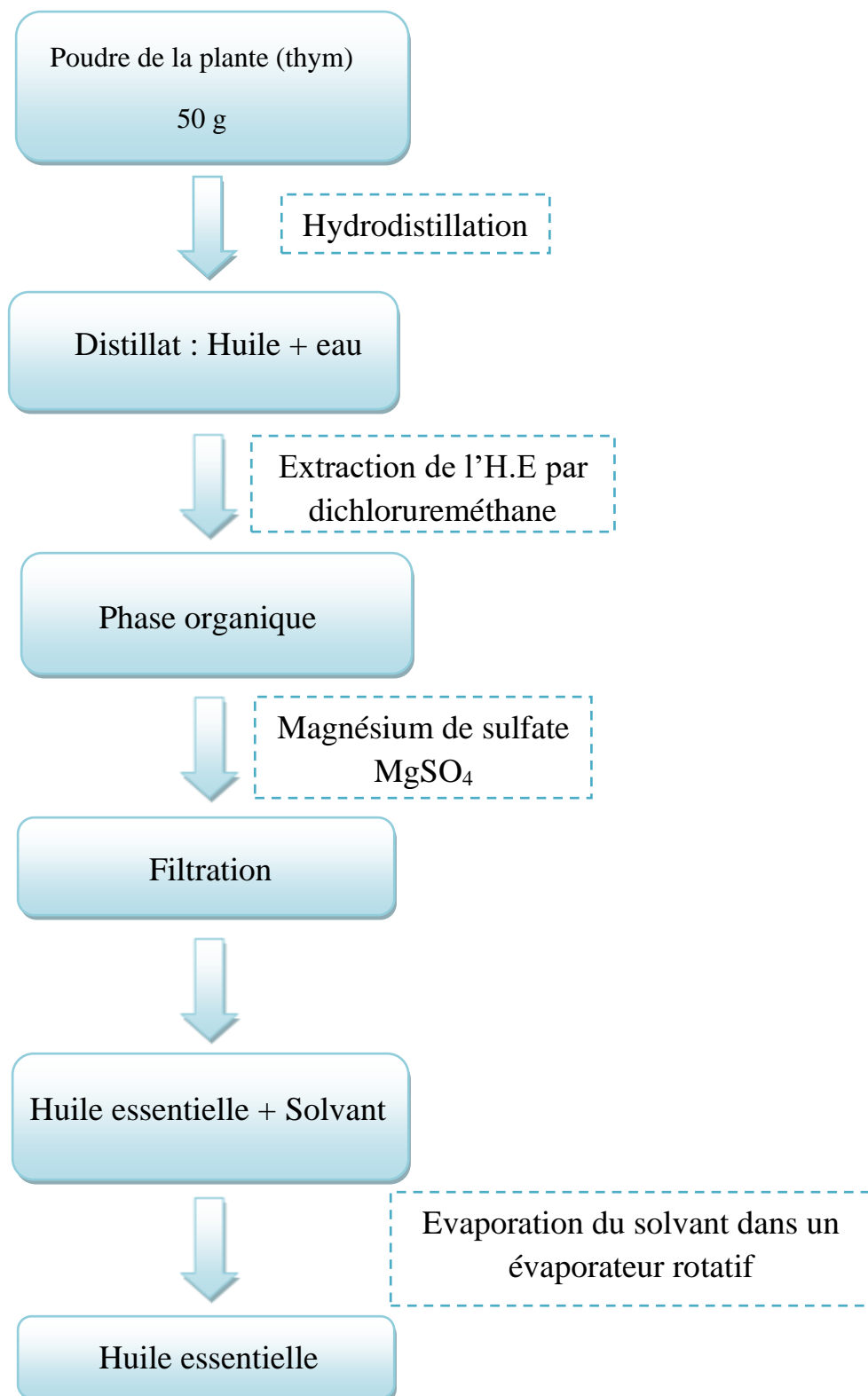


Figure V. 24 : Organigramme exprimant le protocole expérimental suivie pour l'obtention d'H.E de Thym.

V.1.3 Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal sèche utilisé pourcent. Après récupération des huiles essentielles, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = \frac{M_{HE}}{M_{MVS}} \cdot 100$$

Avec :

- R_{HE} : Rendement en huiles essentielles en (%).
- M_{HE} : Masse d'huiles essentielle en (g).
- M_{MVS} : Masse du matériel végétal sèche en (g).

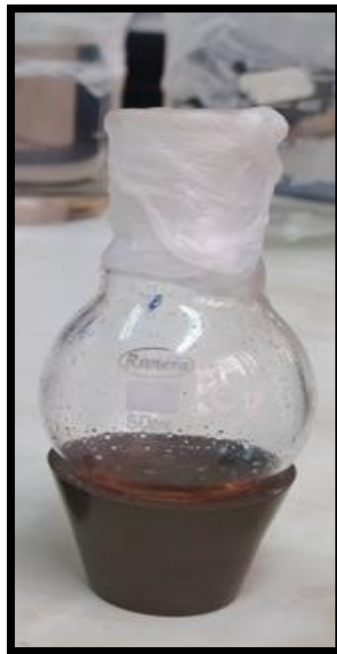


Figure V. 25 : Extraction des H.Es de thym (Photo originale, 2022).

V.2 Extraction des extraits aromatiques de la plante de thym par macération

V.2.1 Matériels

V.2.1.1 Matériel végétal

La plante testée utilisée dans notre expérimentation est la plante du thym, Des extraits aromatiques sont obtenus suite à une extraction par macération de la partie aérienne de la plante séchée (thym) après broyage (**Figure V. 26**).



Figure V. 26 : Broyage de la plante du thym (Poudre de thym). (Photo originale,2022).

V.2.1.2 Matériel chimique (Réactifs et solvants)

Les réactifs et les solvants employés sont cités dans le tableau suivant (**Tableau V. 12**) :

Tableau V. 12 : Liste des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique.

Réactifs	Solvants
Poudre de Thym	Eau distillée & Ethanol (20-80) %

V.2.1.3 Matériel de laboratoire

❖ Verrerie

- Eprouvette graduée.
- Bécher.
- Ballon.
- Entonnoir.

❖ Appareillage

- Balance électronique.
- Evaporation rotative.

V.2.2 Méthodes expérimentales

V.2.2.1 Protocole expérimental d'extraction des extraits aromatiques de la plante de Thym : Macération

- Peser 50 g de la poudre de la plante (thym).
- Introduire la poudre dans un bécher de 1000 ml.
- Ajouter 400 ml d'éthanol & 100 ml d'eau, Puis agité le mélange.
- Conserver le bécher à l'abri de la lumière par du papier aluminium à température ambiante durant 24 heures.
- Filtrer puis évaporer à 78°C et récupérer l'extrait dans un flacon en verre.



Figure V. 27 : Les étapes d'extraction des extraits aromatiques de la plante de thym par macération

(Photo originale, 2022).

L'organigramme suivant récapitule les différentes étapes d'extraction des extraits aromatiques :

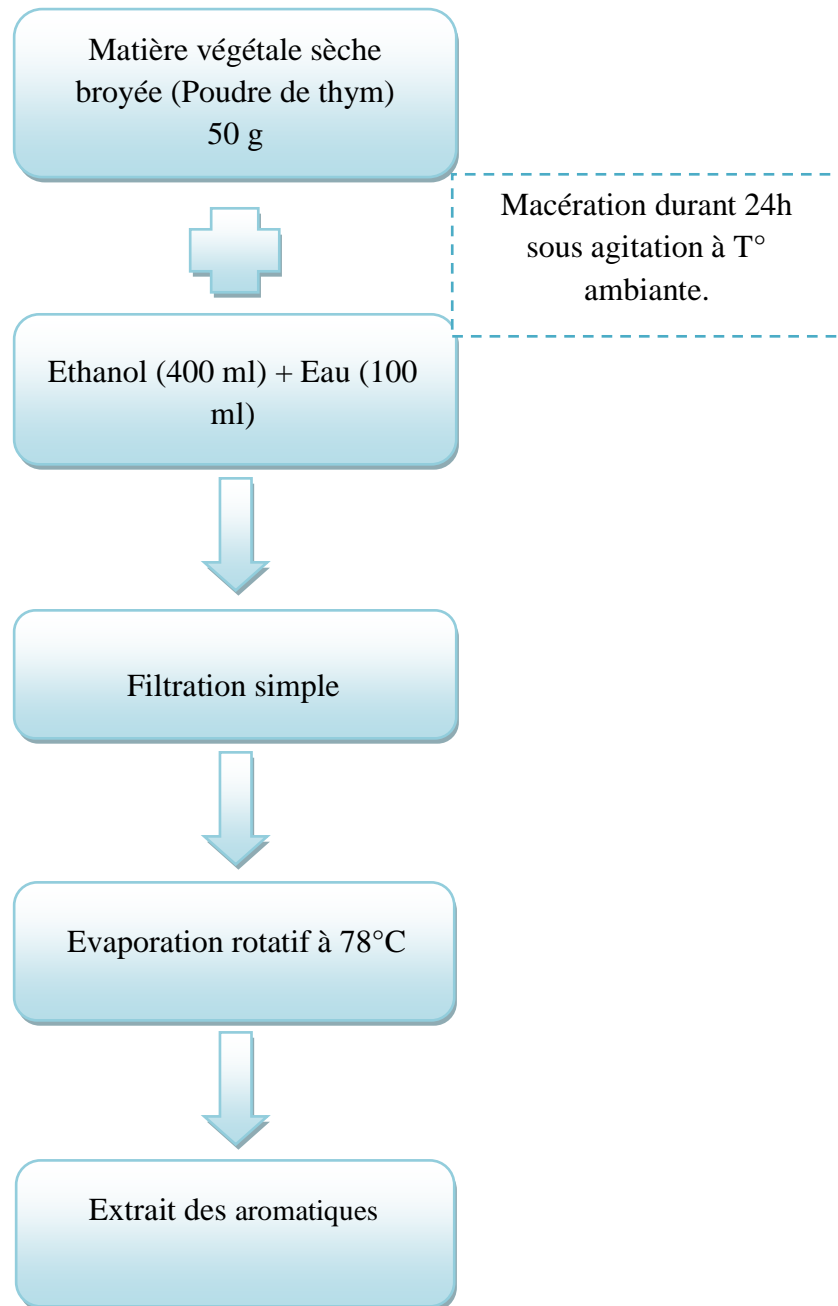


Figure V. 28 : Schéma représente les différentes étapes d'extraction des extraits aromatiques.

V.3 Tests phytochimiques sur les extraits de plante sèches (thym), [119]

Les tests phytochimiques sur des extraits végétaux sont une étape préliminaire d'une grande importance. Puisqu'ils révèlent la présence des constituants connus par leurs activités physiologiques et leurs vertus médicinales.

Ces tests nous permettent d'obtenir des informations sur la composition chimique des différents extraits. Ils sont basés sur des réactions colorimétriques et de précipitation par ajout de réactifs spécifiques.

Les tests phytochimiques ont été effectués sur les extraits obtenus en milieu aqueux (décoction, infusion, macération) et en milieu organique (en utilisant l'éthanol comme solvant).

Les protocoles expérimentaux d'identification et de recherche des tanins, Saponosides, alcaloïdes et Terpénoïdes sont décrits par Trease et al. (1989) et Harbone (1998).

V.3.1 Protocole d'identification des Tanins

- Introduire dans un tube à essai 5ml d'extrait à analyser.
- Ajouter 1ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 2%.
- Une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence des tanins.

V.3.2 Protocole d'identification des Saponosides

- Introduire dans un tube à essai 2 ml de la solution aqueuse à analyser.
- Agiter fortement. La formation d'une écume persistante témoigne de la présence des Saponosides.
- Laisser le mélange reposer pendant 20 minutes puis mesurer la hauteur de la mousse pour classer la teneur en Saponosides :
 - ✓ L'absence de mousse confirme l'absence de Saponosides donc test négatif
 - ✓ Hauteur de mousse inférieure à 1 cm témoigne d'une faible présence des Saponosides.
 - ✓ Hauteur de mousse comprise entre 1 et 2 cm témoigne d'une bonne présence des Saponosides donc test positif.
 - ✓ Hauteur de mousse supérieure à 2 cm implique test très positif.

V.3.3 Protocole d'identification des alcaloïdes

- Introduire 1 ml d'extrait à analyser dans deux tubes à essais.
- Acidifier le milieu par ajout de quelques gouttes de HCl.
- Ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube.
- Ajouter quelques gouttes de réactif Wagner dans le second tube.
- L'apparition d'un précipité blanc dans le premier tube révèle la présence des alcaloïdes. De même, l'apparition d'un précipité brun dans le second tube révèle la présence des alcaloïdes.

V.3.4 Test d'identification des Terpénoïdes : test de Lakowski

- Verser dans un tube à essai 2,5 ml de l'extrait à analyser.
- Ajouter 0,4 ml de chloroforme puis 0,6 ml d'acide sulfurique concentré.
- La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des Terpénoïdes.

V.3.5 Test d'identification des flavonoïdes

- Sur 5 ml d'infusion de feuilles de plante.
- Ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique puis 1 ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium.
- L'apparition d'une coloration :
 - ✓ Rose orangé indique la présence des flavones
 - ✓ Rose violacée indique celle des flavanones
 - ✓ Rouge indique la présence de flavanols et flavanonols.

V.3.6 Protocole d'identification des leuco anthocyanes

- Sur 5 ml d'infusion de feuilles de plante.
- Ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique puis 1ml d'alcool iso amylique.
- Chauffe au bain marin pendant 15 minutes.
- L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence des leuco anthocyanes.

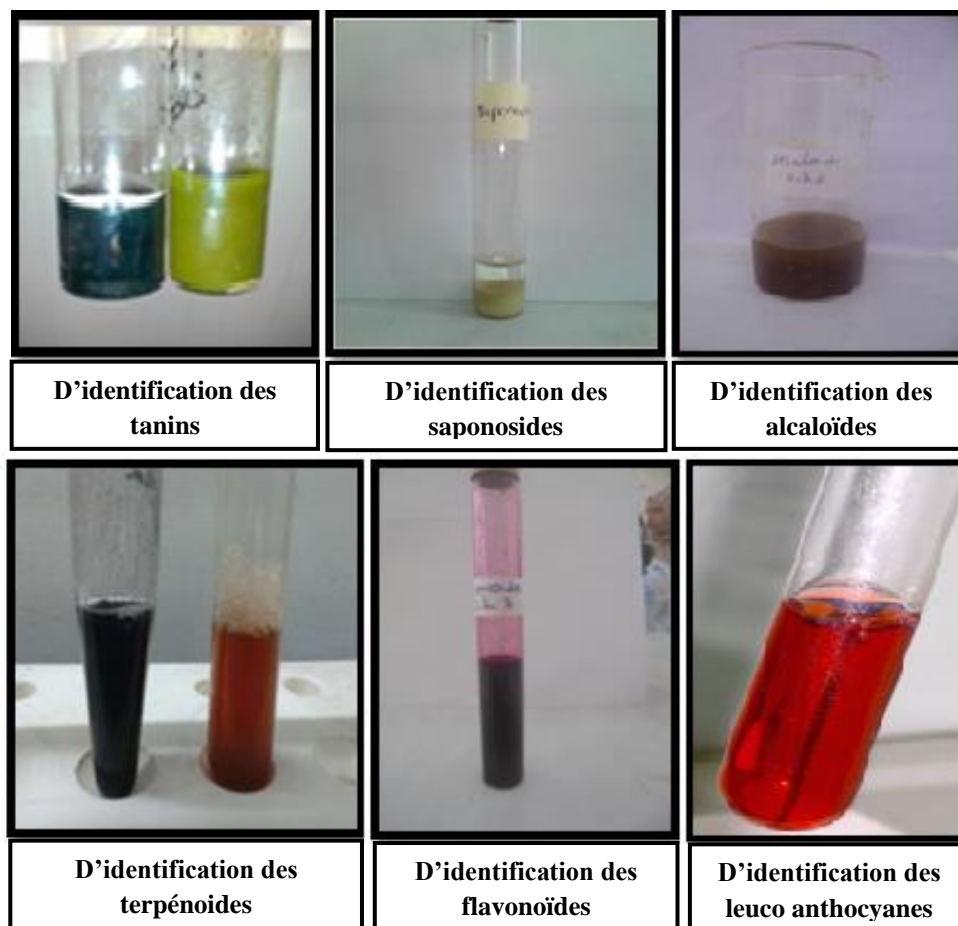


Figure V. 29 : Les résultats des tests phytochimiques.

V.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HETS

V.4.1 Evaluation qualitative : Aromatogramme

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'HE ou d'un extrait aromatique est réalisé par la méthode de diffusion sur disque, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries.

Le principe de la méthode repose sur le pouvoir migratoire du composé testé en milieu solide (MH) dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition.

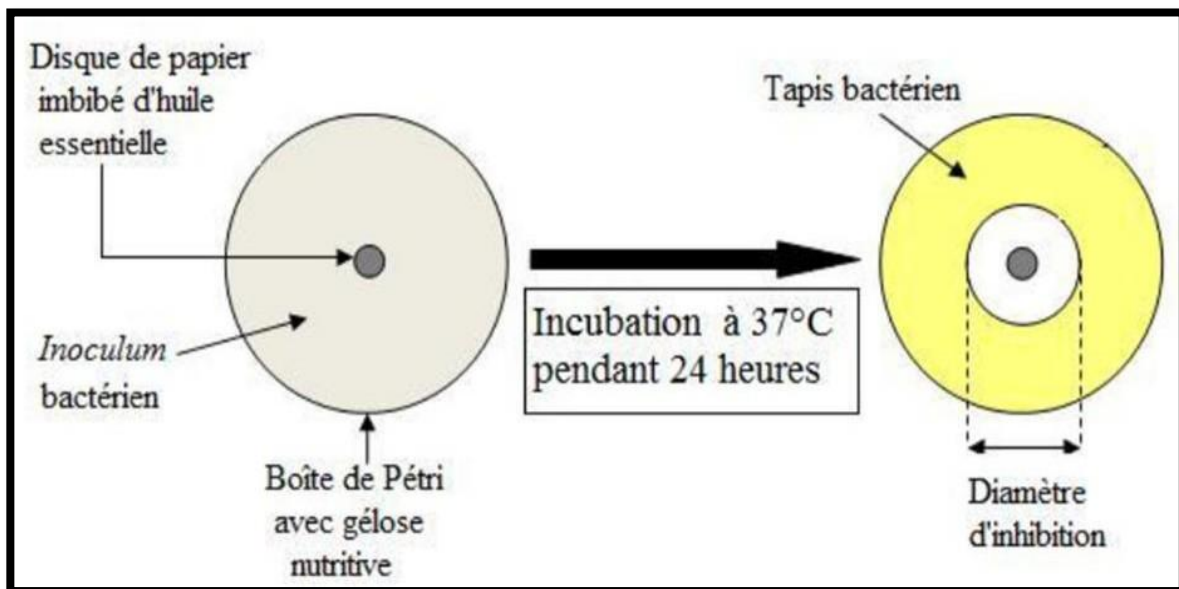


Figure V. 30 : Principe de la diffusion sur disque.

❖ Souches microbiennes

Les germes qui ont été testés pour détecter l'activité antimicrobienne des extraits de *Thymus Sp* sont les suivantes :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ces souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) ont toutes été fournies par le laboratoire de microbiologie parasitologie du CHU Nédir Mohammed de Tizi Ouzou.

Une souche fongique *Candida sp* a été isolée à partir de prélèvements de malades hospitalisés.

❖ Ré-isolement des souches microbiennes

Afin d'obtenir des souches microbiennes pures et jeunes, des re-isolements réguliers ont été effectués selon la méthode des stries, avec la pipette pasteur sur le milieu Hektoen pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, le milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* et le milieu Sabouraud pour *Candida sp*.

❖ Préparation des disques d'aromatogramme

Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à partir du papier buvard, ensuite ils sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).



Figure V. 31 : Les disques.

❖ L'Ensemencement

- Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

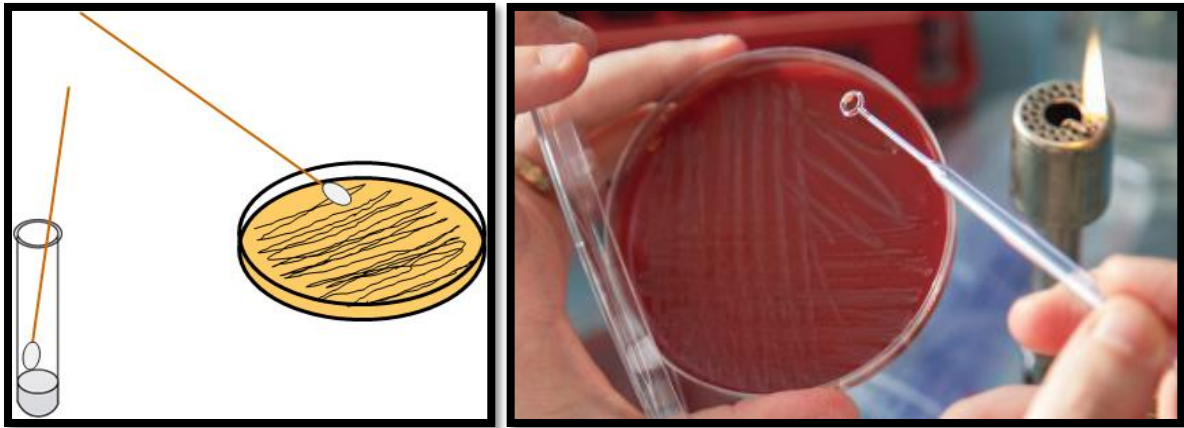


Figure V. 32 : Ensemencement des souches microbiennes.

❖ Dépôt des disques d'aromatogramme

Une fois les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques préalablement préparés sont disposés sur la surface de la gélose dans des conditions stériles, à raison de trois disques par boîte de pétrie pour les différentes dilutions et un disque par boîte pour l'huile essentielle pure et les autres préparations, à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Puis, ils ont été imbibés par 10 μ l de chaque composé testé.

Les boîtes ont été maintenues à température ambiante pendant 20 minutes pour que les composés puissent diffuser.

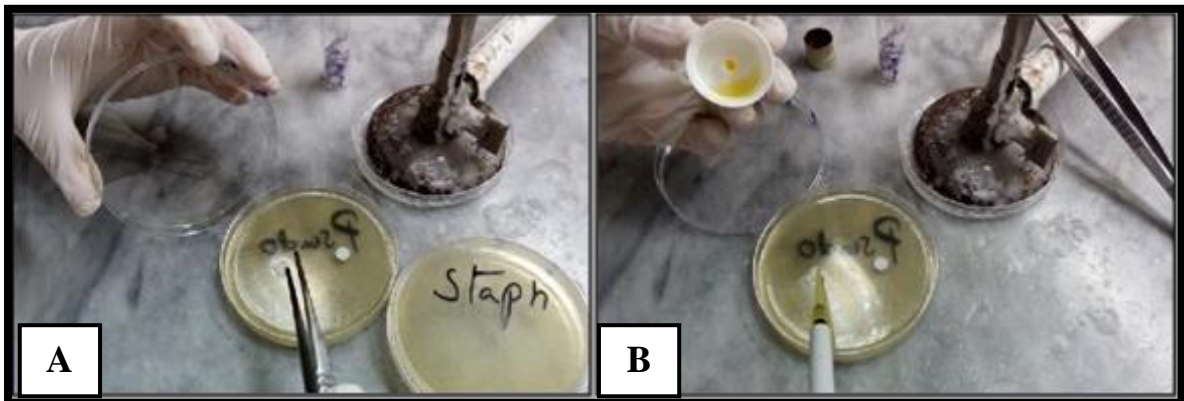


Figure 33 : A : Dépôt des disques, B : Dépôt de l'huile essentielle pure.

❖ Contrôle négatif

Dans chaque boîte de pétri, Un disque de papier buvard a été déposé sans être imbibé.

❖ Incubation

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h pour les souches bactériennes, et pendant 48 à 72 h pour la souche fongique.

❖ Expression des résultats

L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo autour des disques, dont le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre du disque de 6 mm).

Une échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle en se basant sur les diamètres des zones d'inhibition (D) permet de distinguer 5 classes d'HE.

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice : $D \leq 10$ mm

La sensibilité des souches aux agents antimicrobiens a été classifiée en fonction des diamètres d'inhibition des zones d'inhibition selon Djeddi et Al, 2000 comme suite :

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

Chapitre VI :

Résultat et discussion

Chapitre VI : Résultats et discussions

VI.1 Calcul des rendements en huiles essentielles

VI.1.1 Par hydrodistillation

- Masse d'huile essentielle : $M_{HE}=3.51$ g.
- Masse de la matière végétale sèche (poudre de thym) : $M_{MVS}=50$ g.

VI.1.1.1 Rendement des H.Es du thym par hydrodistillation

Ona:

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MVS}} \cdot 100$$

A.N:

$$R_{HE} = \frac{3.51}{50} \cdot 100$$

Donc :

$R_{HE} = 7.02 \%$

VI.1.2 Par macération

- Masse d'huile essentielle : $M_{HE}=15.98$ g.
- Masse de la matière végétale sèche (poudre de thym) : $M_{MVS}=50$ g.

VI.1.2.1 Rendement des H.Es du thym par macération

Ona:

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MVS}} \cdot 100$$

A.N:

$$R_{HE} = \frac{15.98}{50} \cdot 100$$

Donc :

$R_{HE} = 31.96 \%$

VI.2 Tests Phytochimiques

Les résultats des tests préliminaires de présence ou non des tanins, Saponosides, alcaloïdes, terpénoïdes, flavonoïdes et leuco-anthocyanes dans les deux extraits de la plante séché sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau VI.13 : Résultats des tests phytochimiques pour *Thymus Numidicus* Bousoir.

	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyane
			Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flava-ol	
Hydro-distillation	+	+			+				-
			-	+		+	-	-	
Macération (éthanol)	+	-	+	+	+	+	-	-	+

Remarque :

(+) : Présence, (-) : Absence, (++) : Fortement positif, (+++) : Très positif.

Nous avons détecté la présence des terpénoïdes, tanins et alcaloïdes quelque soit la méthode d'extraction utilisée. Les terpénoïdes sont dans tous les extraits analysés. Ceci indique la facilité des terpénoïdes à être extrait. Des propriétés antibactériennes, cardiotoniques sont décrites chez les terpénoïdes. Leur présence signifie que les plantes sont riches en substances antimicrobiennes (Mohammedia, 2013).

Nous avons remarqué aussi la présence des flavones avec les deux différentes méthodes d'extractions. Ce qui nous permet de conclure que les flavones sont plus abondants dans le *Thymus Numidicus*.

Concernant les alcaloïdes, nos résultats confirment leur présence dans les différents extraits analysés des plantes étudiées.

VI.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Thymus* sp

VI.3.1 Aromatogramme

La sensibilité des différentes souches microbiennes se traduit par un halo autour du disque imprégné du composé testé. Le diamètre du halo est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

VI.3.1.1 Huile essentielle pure

Les résultats sont présentés dans le **tableau VI. 14**

Tableau VI.14 : Résultats de l'aromatogramme de l'huile essentielle pure de *Thymus* Sp.

Souche microbienne	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida sp</i>
Diamètre d'inhibition	7 mm	40 mm	32 mm	50 mm

Les espèces microbiennes testées présentent des diamètres d'inhibition différents vis-à-vis de l'huile essentielle du thym.

L'espèce qui présente le plus grand diamètre étant *Candida sp*, suivie de *Staphylococcus aureus*, puis *Escherichia coli* et enfin *Pseudomonas aeruginosa* avec le plus faible diamètre.

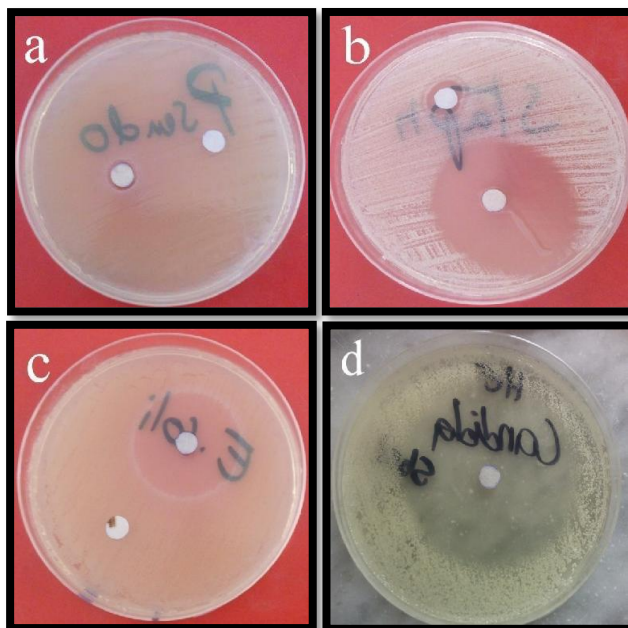


Figure VI. 34 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle pure de *Thymus* sp sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d).

VI.3.2 Les extraits aromatiques

VI.3.2.1 Macération

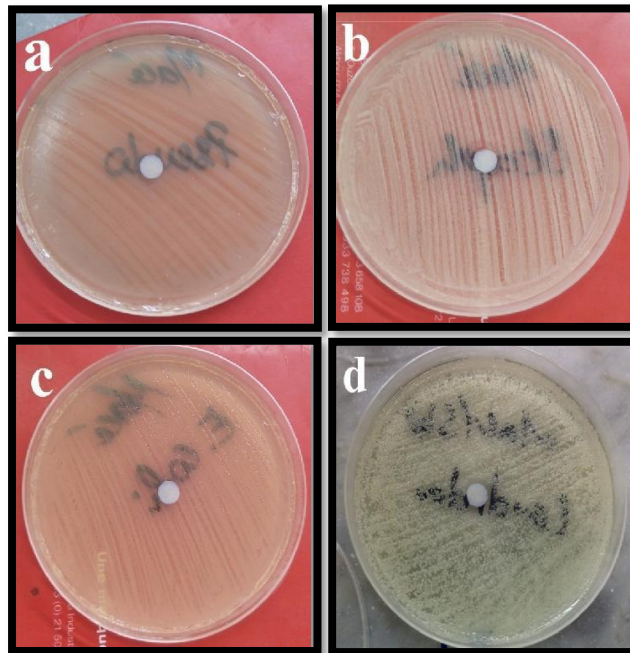


Figure IV.35 : Activité antimicrobienne de la macération du thym sur *Pseudomonas aeruginosa* (a), *Staphylococcus aureus* (b), *Escherichia coli* (c), *Candida sp* (d).

Les résultats sont présentés dans le **tableau VI. 15** :

Tableau VI.15 : Résultats de l'aromatogramme des différentes préparations à partir de la poudre du thym.

Souche microbienne	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Candida sp</i>
Diamètre d'inhibition	0 mm	0 mm	0 mm	9 mm

Pour la macération, seul *Candida sp* présente un diamètre d'inhibition considérable.

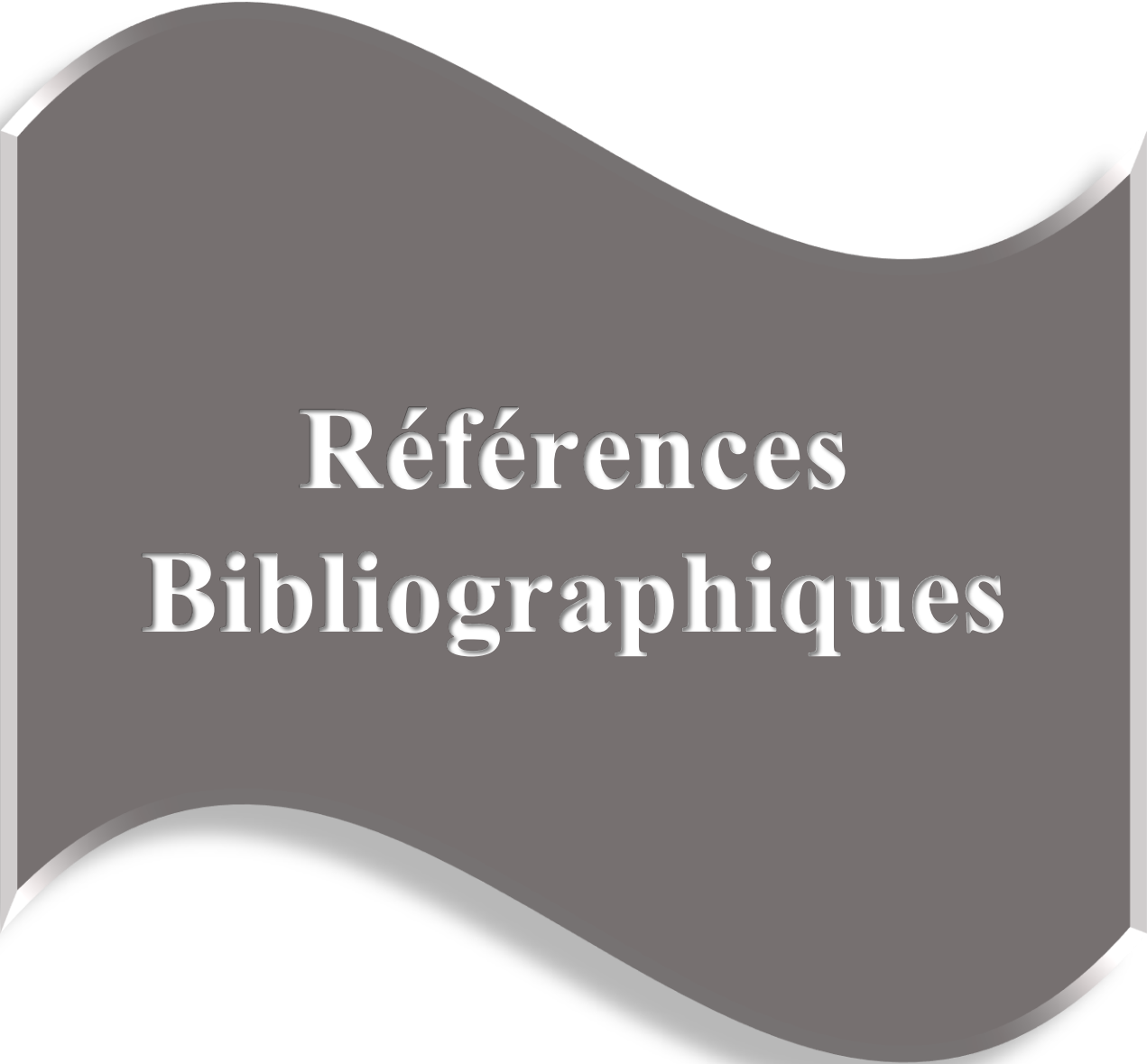
Conclusion Générale

Conclusion Générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie présente un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

En premier lieu, les tests phytochimiques, sur les différents extraits des feuilles de plante étudiée, ont révélé la richesse de cette plante en tanins, terpénoïdes et alcaloïdes. En second lieu, le rendement des huiles essentielle obtenue par hydro-distillation et des flavonoïdes obtenue par macération à partir des feuilles de *Thymus* de Souk-Ahras sont respectivement de l'ordre de 7.02 % et 31.96 %.

Et enfin, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* a été réalisée in vitro sur trois souches bactériennes. Les résultats de l'aromatogramme ont démontré que notre HE présente un important pouvoir inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et aucun pouvoir inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa*. Par ailleurs, les résultats négatifs de l'aromatogramme des préparations traditionnelles à base de plantes a permis de conclure que l'huile essentielle serait seule responsable de l'activité antimicrobienne.



**Références
Bibliographiques**

Références bibliographiques

- [1] : **Joanna, H. (2012)**. Le guide des huiles essentielles et leurs applications thérapeutiques. Le courrier du livre, paris.
- [2] : **Goust, J. (1999)**. Thym et sarriette, éd. Par Actes Sud, collection Chroniques du potager.
- [3] : **Berigaud, B. (2002)**. Aromathérapie, éd. Parades.
- [4] : **Mouhi, L. (2017)**. Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Élaboration d'une forme pharmaceutique. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie.
- [5]: **Morales, R. (2002)**. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: *Thyme: the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. Pp. 1-43.
- [6] : **Richard, H., Benjilali, B., Bauquour, N., Baritaux, O. (1985)**. Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss U-Technol*.
- [7] : **Mességué, M. (1975)**. *Mon herbier de santé*. Ed. Robert Laffont, Paris, p 333.
- [8]: **Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2006)**. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. *Pharm Biol*, 44(8): 607-612.
- [9]: **Morales, R. (1997)**. Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalia.*, 19 : 249-262.
- [10] : **Djedir, G. (2018)**. Etude comparative entre deux espèces du Thym : *Thymus coloratus* et *Thymus capitatus* dans la région de Tlemcen : Aspect écologique, cartographique et morphométrique. Mémoire de Master, Université Aboubakr Belkaid de Tlemcen, Algérie.
- [11] : <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/thym.htm>.

- [12] : **Hazzit, M. (2008)**. Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie.
- [13] : **Quezel, P. & Santa, S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris.
- [14] : **Benayache, F. (2013)**. Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret. Mémoire de Magister, Université Constantine 1, Algérie.
- [15] : **Chikhoun, A. (2007)**. Huiles essentielles de thym et d'origan : étude de la composition chimique, de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Institut National Agronomique El Harrach-Alger. Mémoire de Magistère en Agronomie.
- [16] : **Mebarki, N. (2010)**. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.
- [17] : **Cowan, M.M. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-570.
- [18]: **Takeuchi, H., Z.-G. Lu, and T. Fujita. (2004)**. New monoterpene glucoside from the aerial parts of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *journal of Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(5): 1131-1134.
- [19]: **Bazylo, A et Strzelecka, H. (2007)**. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, 78: 391-395.
- [20]: **Özcan, M et Chalcha, J.C. (2004)**. Aroma Profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulgarian journal of plant physiology.*, 30 (3-4): 68-73.
- [21]: **Jiménez-Arellanes, A., Martínez, R., García, R., León-Díaz, R., Aluna–Herrera, J., Molina –Salinas, G. et Saïd-Fernández, S. (2006)**. *Thymus vulgaris* as a potential source of antituberculosis compounds, *Pharmacologyonline.*, 3: 569-574.

- [22]: **Al-Bayati F. A. (2008)**. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts. Journal of ethnopharmacology.,166 (3): 403-406.
- [23]: **Golmakani, M.T et Rezaei, K. (2008)**. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food chemistry., 109: 925-930.
- [24]: **Selmi, S et Sadok, S. (2008)**. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus (Linnaeus)*) during chilled storage, Pan-American Journal of aquatic sciences., 3 (1): 36-45.
- [25] : **Daidj, N. (2007)**. L'évolution des chaînes de valeur dans le secteur des jeux vidéo. Edition Mutanier des STIC. Acteurs, Ressources et Activité, Paris, Pp 193-221.
- [26] : **Djeroumi, A et Nacef, M. (2004)**,100plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre, Pp 135 -131.
- [27] : **Mayer, F. (2012)**. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, p 17.
- [28] : **Baba Aissa, F. (1990)**. Les plantes médicinales en Algérie, édition le monde des pharmaciens, p 173.
- [29] : **Haddouche, K.H. (2011)**. Etude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* ssp coloratus. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, Algérie.
- [30] : **Akrouf A. (2004)**. Étude des huiles essentielles de quelque plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Med. 62: 289-292.
- [31]: **El Bouzidi, L., Jamali, CA., 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. Ind. Crops Prod. 43 : 450–456.

[32] : **Aomari, L et Sehaki, C. (2018)**. Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de thym. Caractérisation et évaluation de l'activité antimicrobienne. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.

[33] : **Amiot, J. (2005)**. *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier, France.

[34] : **Ronniger, K. (1924)**. Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Thymus* L. Die britischen Arten und Formen. Feddes Repert., 20 : 321-332.

[35] : **Remal, W et Khachouche, Z. (2017)**. Initiation à l'Elaboration d'une carte de répartition du genre *Thymus* et l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Thymus Serpyllum* L. récoltée du massif Dahra Zaccar région d'El Amra-wilaya de Ain Defla. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama khemis miliana de Ain Defla, Algérie.

[36] : **Pariante, L. (2001)**. Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2^{ème} Ed. Académie nationale de pharmacie, Paris, p 1643.

[37] : **Iserin, P. (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.

[38] : **Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A. (2005)**. Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, p 521.

[39] : **Kitajima, J., Ishikawa, T., Urabe, A., Satoh, M. (2004)**. Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65(24): 3279-3287.

[40] : **Kaloustian, J., El-Moselhy, T.F., Portugal, H. (2003)**. Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochimica Acta*. 401(2) : 77-86.

[41] : **Poletti, A. (1988)**. Fleurs et plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Delachaux & Nistlé S.A. Suisse. Pp : 103 et 131.

[42] : **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec & Doc. Paris.

- [43] : **Abed, S., Messaadia, B., Djessas, M. (2021).** Etude des propriétés physicochimiques et biologiques de *Thymus vulgaris* L. Mémoire de Master, Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- [44] : **Eberhard, T., Robert, A., Annelise, L. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed médicales internationales. Pp 475 - 480.
- [45] : **Farrell, G et Sulten, G.G.M. (2002).** Larger grain borer in Africa; a history of efforts to limit its impact. *Integr.Pest Manage. Rev*, 7, 67-84.
- [46] : **Abdelli, W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.
- [47] : **Benbouali, M. (2006).** Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : "*Mentha rotundifolia & Thymus vulgaris*". Mémoire de Magister, Université Hassiba Ben Bouali de Chlef, Algérie.
- [48] : **Madi, A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister, Biotechnologie végétale, Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- [49] : **Raymond, M. (2005).** L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Thèse de Doctorat, Pharmacie, Université de Nantes, France.
- [50] : **Zeghib, A. (2013).** Étude phytochimique et activité antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huile essentielle de quatre espèces endémiques du genre *thymus*. Thèse de Doctorat. Université Constantine 1, Algérie.
- [51] : **Adwanet, G., Abusafieh, D., Aref, R., Omar, J.A. (2005).** Prevalence of microorganisms associated with intramammary infection in cows and small ruminants in the north of Palestine. *Journal of Islamic, University of Gaza, Palestine.*
- [52]: **Tisserand, M. (2014).** Aromatherapy vs MRSA: Antimicrobial essential oils to combat bacterial infection, including the superbug. *Singing Dragon*, p 192.

[53]: **Tiwari, M et Tandon, V. (2004).** Medicinal plants. Vol 2, Gyan Publishing House, p 653.

[54] : **Zarzuelo, A et Crespo, E (2000).** The medicinal and non-medicinal uses of thyme. In: Thyme: The genus *Thymus*. Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles, New York, Taylor and Francis.

[55]: **Johnson, T. (1998).** CRC Ethnobotany Desk Reference. CRC Press, p 122.

[56]: **Razzaghi – Abyaneh, M et Rai, M. (2013).** Antifungal metabolites from plants. Springer Science & Business Media, p 469.

[57] : **Naves, Y.R. (1974).** Qu'est qu'une huile essentielle ? Ed. Masson, Paris.

[58] : **Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M & Gaset, A. (1988).** Extraction des huiles essentielles : Chimie et technologie. Information chimie, Paris, N°298, Pp 179-184.

[59] : **Bekhechi, C., abdelouahid, D. (2010).** Les huiles essentielles. Office Des publications universitaires.

[60] : **AFNOR (Association Française de Normalisation). (2000).** Recueil des normes françaises "huiles essentielles". Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.

[61] : **J. M. Clement. (1981).** Larousse agricole, éd. Larousse.

[62] : **Rasooli, I., Rezaei, M.B et Allameh, A. (2006).** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. International Journal of Infectious Diseases.10 (3): Pp 236-241.

[63]: **Naghdi, B.H., Yazdani, D., Mohammad, Ali S., Nazari, F. (2004).** Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products.19(3): Pp 231–236.

[64]: **Loziene, K., Venskutonis, P.R., Sipailiene, A., Labokas, J. (2007).** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. Food Chemistry. 103(2) : Pp 546–559.

- [65] : **Delaigne, R. (1930)**. Les essences naturelles et parfums, Ed. Armond colin, Paris.
- [66] : **Friedland, D. (1975)**. Industrie américaine des substances aromatiques. *Informations chimie*, 140 : 65-68.
- [67] : **Veyrune, P. (2019)**. Place des huiles essentielles en dermo- cosmétique. Thèse de Doctorat, Marseille Université, France.
- [68] : **Abadlia, M et Chebbour, A.H. (2014)**. Contribution à l'étude des huiles essentielles de la plante *mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de Master, Université Constantine 1, Algérie.
- [69] : **Laurent, J. (2017)**. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Mémoire de Doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse, France.
- [70] : **Desramaux, M. (2018)**. Huiles essentielles en dermocosmétologie. Sciences Pharmaceutiques, édition Dumas.
- [71] : **Lahrech, K. (2010)**. Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* et de *Saccocalyx Satureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques. Mémoire de magister, Université d'Oran Es-Sénia, Algérie.
- [72] : **Degryse, A.C., Delpla, I & Voinier, M.A. (2008)**. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement-IGS-EHESP. p 87.
- [73] : **Anonyme. (2002)**. Pharmacopée européenne. 4ème édition, Strasbourg. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba*.
- [74]: **Boulos, L. (1983)**. Medicinal plants of North Africa. Reference Publications, Inc. 218 St. Clair River Drive, Box 344. Algonac, Michigan 48001, 286 p.
- [75] : **Paris, M et Hurabielle. (1981)**. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. Pp : 102-103-104-107.
- [76] : **Bounab, S. (2020)**. Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.

[77] : **Rai, M., Acharya, D., Wadegaonkar, P. (2003).** Plant derived-antimycotics: potential of acteraceous plants. In: Plant-derived antimycotics: current trends and future prospects. Haworth press, N-York, London, oxford.

[78] : **Guidah, A. (2013).** Étude phytochimique des métabolismes secondaires (huiles essentielles, polyphénol) de la plante médicinale saharienne : Pituranthos chloranthuset l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de master en biotechnologie végétales et métagénomique. Université de M'sila, Algérie.

[79] : **De Billerbeck, V. G., Roques, C., Vanière, P., & Marquier, P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Hygiènes (Lyon), 10(3) : Pp 248-251.

[80] : **Belaiche, P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1. L'aromatogramme. Ed. Maloine S.A, Paris, p 204.

[81] : **Federico, T., Victoire, M. (2013).** Huiles essentielles : L'encyclopédie. Ed. Judena.

[82] : **Fabrice, B. (2009).** Les huiles essentielles : Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Éditions Lanore, Paris.

[83] : **Pibiri, M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielles. Thèse de Doctorat, École Polytechnique Fédérale, Lausanne.

[84] : **Kerbouche, L. (2010).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées. Mémoire de magister, Université École Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach, Algérie.

[85] : **Teisseire, P.J. (1991).** Chimie des Substances Odorantes. Tec et Doc., Lavoisier. Paris, France. p 480.

[86]: **Loza-Tavera, H. (1999).** Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and Properties. Pp 49-62.

[87]: **Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M & Orecchioni, A.M. (2001).** Le Préparateur en Pharmacie. Dossier 2, Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie- Homéopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.

[88]: **Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Date, H., Kataoka, S., Tamura, Y., Mizutani, K. (1996).** Antiperoxidative components *in Thymus vulgaris*. *Planta Medica*. 62(3): Pp 217-221.

[89]: **Viaud, H. (1993).** Cité par Michel Van hove. Aromathérapie. www.naturehelps.com/France/Viande2.htm.

[90] : **Turgeon, M. (2001).** Profil des produits forestiers : première transformation : huiles essentielles. Ministère des Ressources naturelles. Secteur des forêts. Direction du développement de l'industrie des produits forestiers, Québec.

[91] : **Degryse, A.C., Delpla, I., Voinier, M.A. (2008).** Atelier Santé Environnement, Risques et bénéfices des huiles essentielles. Ingénieur du Génie Sanitaire. EHESP.

[92] : **Baudoux, D. (1997).** Aroma News, Lettre d'information de N.A.R.D. : Natural Aromatherapy Research and Development, Belgique.

[93] : **Fekih, N. (2015).** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, Algérie.

[94] : **Rožman, T., Jeršek, B. (2009).** *Acta agriculturae Slovenica*, 93(1) : 51-580.

[95] : **Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A. & Rezaei M.B. (2008).** Antimycotoxicogenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Food Chemistry*, Pp 135-140.

[96] : **Ouis, N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat, Université d'Oran 1, Algérie.

[97] : **Cusson C.** L'Aromathérapie & Les huiles essentielles [Livre En ligne]. 2007 [consulté en Mars 2018]. Disponible sur : <http://www.doc-developpement-durable.org>.

[98]: **Burt, S. (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3) : 223-253.

[99] : **Toure, D. (2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire. Thèse de Doctorat. Université Felix Houphouët-Boigny, Cote d'Ivoire.

[100] : **Franchomme, P., Pénoél, D., Jollois, R. (2001)**. L'aromathérapie exactement, encyclopédie 4^{ème} Ed. Roger jollois. p 18.

[101] : **Myrtill-Celestine, D.A., Parfait, A. (1988)**. HPLC determination of organic acids in sugar cane and its industrial by-Products. *International sugar journal*, 90: 28-32.

[102] : **Mourgues, J., Maugenet, J, Vigne, H. (1970)**. Les eaux résiduaires des cuves de vinification et Récupération de l'acide tartrique dans les solutions alcalines de détartrage des cuves. *Ind Alim Agri*, 87(12) : 1535-1541.

[103]: **Madhavan, R. (2000)**. Liquid-Liquid Extraction – An Overview. *Chem Eng Word*, 35: 7.

[104] : **Pharmacopée Européenne. (2007)**. Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.

[105]: **Raaman, N. (2006)**. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing, New Delhi, India.

[106]: **Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F. (2012)**. La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie : entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. *Collection phytothérapie pratique*, Springer-Verlag, Paris, France.

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

[108]: **Gavahian, M., Chu, Y.H. (2018)**. Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam, 50: 34-41.

[109]: **Meyer-Warnod, B., Perfumer., Flavorist. (1984).** Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, 9(2): 93-103.

[110]: **Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (2010).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.

[111]: **Hubert, R. (1992).** Epices et aromates. Edition Tec & Doc, Lavoisier, France.

[112]: **Hernandez Ochoa, L.R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.

[113] : **Lucchesi, M.E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.

[114] : <https://www.maxicours.com> > cours > principe-de-l-ext

[115] : **M, Pierre & Lis., M. (2007).** Secrets des plantes. Editions Artémis, Paris 1 : 463.

[116] : **Konkon, N.G., Simaga, D., Adjoungova, A. (2006).** Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique, *Pharm. Méd Trad. Afr.* Vol.14, Pp 73-80.

[117] : **Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Nature & technologie. B- sciences agronomiques et biologiques*, N° 09 : 35-40.

[118] : **Peyron, L. (1992).** Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, Pp 217- 238. Cité In : Les arômes alimentaires. Coordinateurs.

[119] : **Djermane, M & Nehal, A. (2017).** Etude phytochimique des extraits de quelques plantes de la famille des Labiées. Mémoire de Master. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie.

❖ Résumé

L'objectif de cette étude est de contribuer à la prise en charge des résistances bactériennes en étudiant une alternative naturelle représentée par l'huile essentielle de *Thymus Vulgaris*. Ainsi qu'une estimation de l'efficacité de quelques usages traditionnels de cette même plante. Pour cela, le thym a fait l'objet d'une étude histologique. Puis une extraction de son huile essentielle par hydrodistillation a été effectuée. L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été effectuée sur 03 souches microbiennes. Les résultats ont montré une activité antimicrobienne importante de l'huile essentielle à l'égard de toutes les souches microbiennes utilisées sauf le *Pseudomonas aeruginosa*. Contrairement à une activité nulle des préparations. Ils ont également révélé que c'est l'huile essentielle qui est responsable de l'activité antimicrobienne. Par conséquent, l'usage traditionnel des plantes ne serait pas efficace contre les affections bactériennes.

Mots clés : Thymus, huile essentielle, hydrodistillation, activité antimicrobienne.

❖ Summary

The objective of this study is to contribute to the management of bacterial resistance by studying a natural alternative represented by the essential oil of *Thymus Vulgaris*. As well as an estimation of the effectiveness of some traditional uses of this same plant. For this, thyme was the subject of a histological study. Then an extraction of its essential oil by hydrodistillation was carried out. The study of the antimicrobial activity of the essential oil was performed on 03 microbial strains. The results showed an important antimicrobial activity of the essential oil towards all the microbial strains used except *Pseudomonas aeruginosa*. Contrary to a null activity of the preparations. They also revealed that it is the essential oil that is responsible for the antimicrobial activity. Therefore, the traditional use of plants would not be effective against bacterial diseases.

Keywords: Thymus, essential oil, hydrodistillation, antimicrobial activity.

❖ ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة في إدارة المقاومة البكتيرية من خلال دراسة البديل الطبيعي يمثلته الزيت العطري لـ *Thymus Vulgaris*. بالإضافة إلى تقدير فعالية بعض الاستخدامات التقليدية لنفس النبات. لهذا الغرض، تمت دراسة الزعتر نسيجياً. ثم تم استخراج زيتها الاساسي عن طريق التقطير المائي. أجريت دراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري على 03 سلالات ميكروبية. أظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للميكروبات للزيت العطري في جميع السلالات الميكروبية المستخدمة باستثناء *Pseudomonas aeruginosa*. على عكس النشاط الصفري للاستعدادات. وكشفوا أيضاً أن الزيت الأساسي هو المسؤول عن النشاط المضاد للميكروبات. لذلك، لن يكون الاستخدام التقليدي للنباتات فعالاً ضد الأمراض البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: *Thymus*، الزيت العطري، التقطير المائي، النشاط المضاد للميكروبات.