

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Republique Algerienne Democratique et Populaire

Ministere de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique
Universite Ibn Khaldoun – Tiaret –
Faculté des SSciences de la Nature et de Vie
Departement Nutrition et Technologie Agro-alimentaire



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité: Agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par:

GUERROU SABAH
GUEZOUL FATIMA ZOHRA

Thème:

**Valorisation des activités biologique
de l'huile essentielle de *Thymus* dans l'optique de son
utilisation dans la conservation des aliments**

Soutenu publiquement le

Jury:	Grade
Président : MADJBER NACIRA	Maitre de conférence A
Encadreur : BENARABA RACHIDA	Maitre assistant B
Co-encadreur: ABDALLAH FATIHA	Ingénieur de laboratoire
Examineur: BENGHIAR RACHIDA	Maitre assistant A

Annee Universitaire: 2018 – 2019

Remerciements

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à Dieu le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener ce travail à terme.

Nous tenons à exprimer mes sincères remerciements à notre promotrice **Mme BENARABA Rachida** enseignante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **IBN KHALDOUNE**–Tiaret, notre co-promotrice **Mme ABDELAH Fatiha** responsable de laboratoire de recherche «Amélioration et valorisation des productions animales locales ».

Pour ses confiances, ses soutiens, ses attentions, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, nous tenons à lui exprimer toute ma gratitude. Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'elles ont manifestées, nous nous trouvons incapable de formuler notre remerciements à lui.

Aujourd'hui nous témoignons que nous vous somme redevable et nous vous remercions par l'occasion, pour avoir bien voulu examiner notre travail

Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, nous vous en sommes très reconnaissante et en espérant être à l'hauteur de votre confiance.

Nos sincères remerciements à **Mme MADJBAR Nacira** enseignante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **IBN KHALDOUNE** –Tiaret pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

Nous remercions également à **Mme BENGUIARE Rachida** enseignante à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **IBN KHALDOUNE** –Tiaret et chef de spécialité « Agro- alimentaire et contrôle de qualité» pour l'honneur qu'elle nous allons réserver d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Notre profonde gratitude a aussi à tout le personnel du laboratoire pédagogique de recherche microbiologique de la faculté de science de la nature et de vie de l'université **IBN KHALDOUN**-Tiaret.

Dédicace

Avec l'aide de bon DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie A:

Mes parents

Pour leur soutien moral et financier tout au long de ces années d'études.

Merci de m'avoir fait confiance, d'avoir été mes piliers, dans les bons comme dans les mauvais moments, et d'avoir tout fait pour me permettre de réaliser mes rêves.

À mes frères **MADJID et BRAHIM**, mes sœurs **CHAIMA et AYA**

À mes **amis**

A mon promoteur madame **BENARABA RACHIDA** et Co-promoteur mademoiselle **ABDELLAH FATIHA.**

Fatima Zohra

Dédicace

A mes chers parents

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A toute la promo de la spécialité agr-alimentaire et contrôle de qualité

Sabah

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Sommaire	
Introduction.....	01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralité sur la contamination des denrées alimentaires.....	02
I.2. Généralité sur <i>Thymus fontanesii</i>	02
I.2.1. Définition de <i>Thymus fontanesii</i>	02
I.2.2. Systématique de <i>Thymus fontanesii</i>	03
I.3. Généralité sur l'huile essentielle de thym.....	04
I.4. Composition de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	04
I.5. Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de thym	04
I.6. Les activités biologiques de l'huile essentielle de thym.....	05
I.6.1. Activité anti-oxydante	05
I.6.2. Activité antibactérienne.....	05
I.6.3. Activité antifongique.....	05
I.6.4. Activité anti-inflammatoire	06
I.6.5. Activité anti cancéreuse.....	06
I.7. Utilisation de l'huile essentielle de thym.....	06
I.7.1. Utilisation de l'huile essentielle de thym en agro-alimentaire	06
I.7.2. Utilisation de l'huile essentielle de thym en pharmacologie.....	07

Partie Expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Objectif	08
II.2. Lieu et période de travail.....	08
II.3. Matériel	08
II.3.1. Matériel végétal.....	08
II.3.2. Matériel de laboratoire et milieux de culture	08

II.4. Méthodes	09
II.5.Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	11
II .6. Détermination de rendement d'extraction de l'huile essentielle de <i>T.fontanesii</i>	12
II.7. Evaluation des activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	12
II.7.1.Evaluation de l'activité anti-oxydante	12
II.7.1.1. Test de pouvoir réducteur du fer (FRAP)	12
II.7.1.2. Test de Piégeage du radical libre DPPH	14
II.7.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	15
II.7.2.1. Souches bactériennes.....	16
II.7.2.2. Préparation de l'inoculum standard	16
II.7.2.3.Méthode d'incorporation en milieu gélose (MH).....	16
II.7.2.4.Méthode des disques	16

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1.Rendement de l'extraction en l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i>	25
III.2. Résultat de l'activité antioxydant	26
III.2.1. Activité anti-oxydante évaluée par le test du pouvoir Réducteur.....	26
III.2.2. Activité anti-oxydante évaluée par le test de DPPH.....	27
III.3. Résultat de l'activité antibactérienne	30
III.3.1. Méthode des disques.....	30
III.3.2. Méthode d'incorporation en milieu gélose (MH).....	32
Conclusion	36
Bibliographie	
Annexes	
Résumé	

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs : Absorbance.

AFNOR : association Française de Normalisation.

ATCC : American Type Culture Collection

BHA: Butyl Hydroxy Anisol.

BHT: Butyl Hydroxy Toluène

CE 50 : Concentration effectrice à 50%

CI50: Concentration à 50 % d'inhibition.

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DPPH : 2,2 –diphényl -1- picrylhydrazyl

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

HE : huile essentielle.

MH : Muller – Hinton

PH : potentiel d'hydrogène

PR: Pouvoir réducteur

T : Thymus.

UFC : Unité Formant Colonie

UV-Vis : Ultra Violet-Visible

Vol /Vol : Volume sur Volume

Vit C : vitamine C

LISTE DES PHOTOS

Photo 01: <i>Thymus fontanesii</i>	03
Photo 02: Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> par hydro-distillation	11
Photo 03: l'huile essentielle de <i>Thymus fontanessi</i>	25

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Protocole expérimental	10
Figure 02: Principe de test de pouvoir réducteur (FRAP)	13
Figure 03: Principe de piégeage du radical libre DPPH.....	14
Figure 04: Concentration efficace (CE50) responsable de pouvoir réducteur (FRAP)	26
Figure 05: Concentration responsable à 50% d'inhibition de radicale DPPH° (CI 50)	28

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Classification botanique de <i>Thymus fontanesii</i>	03
Tableau 02: Composés chimiques de <i>Thymus fontanesii</i>	04
Tableau 03: Matériel, produits chimiques et milieux de culture utilisés dans cette étude.....	09
Tableau 04: Valeurs de CE50 de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> et les antioxydante standard: vitamine C et l'acide gallique	26
Tableau 05: Valeurs de CI50 de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> et les antioxydante standard: vitamine C et l'acide gallique	28
Tableau 06: Zones d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> vis-à-vis les souches bactérienne testées.....	31
Tableau 07: Valeurs de CMI de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> vis-à-vis les souches bactérienne testées	33

Introduction

Il est largement établi que la plupart des agents conservateurs de synthèse utilisés en industrie agro-alimentaire présentent des effets négatifs sur la santé des consommateurs. Ces agents peuvent libérer des composés toxiques ayant un potentiel cancérigène et peuvent avoir à long terme des répercussions défavorables sur la santé du consommateur (**Chahardehi et al., 2010**).

Plusieurs conservateurs synthétiques cancérigènes tels que: anhydride sulfureux (E220), sulfites (E221 à 226) et lécithines (E322) ont été limités dans plusieurs pays, à cette effet la recherche scientifique de l'heure actuelle s'oriente vers des solutions alternatives à l'utilisation des conservateurs de synthèse. Les substances conservatrices d'origine naturelle possédant des propriétés anti oxydantes et antimicrobiennes s'embleraient des candidats d'excellence.

Parmi ces substances, on peut citer les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales. Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, de leurs activités biologiques (anti-oxydante, antibactérienne et antifongique) (**Dung et al., 2008**). Aussi, la plupart des huiles essentielles sont classées dans la liste des substances généralement reconnues comme saines (*Generally Recognized As Safe GRAS*). ce qui leur donne un intérêt croissant en tant que conservateurs naturels dans les industries agroalimentaire (**Gachkar et al., 2007; Rasooli et al., 2008**).

Dans ce contexte et dans un but de réduire au de remplacer les agents de conservation de synthèse, le recours aux huiles essentielles s'avère être un choix très pertinent face aux risques de contamination (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Dans cette optique s'inscrit notre étude qui a pour objectif de mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et ce à fin d'être exploitée comme substitution aux agents conservateurs de synthèse.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralité sur la contamination des denrées alimentaires

Les denrées alimentaires subissent au cours du temps des altérations chimiques, physiques et biologiques qui se traduisent par des modifications organoleptiques, nutritionnelles et/ou sanitaires,

La détérioration des aliments peut avoir diverses origines comme l'attaque d'insectes ou de rongeurs, physiques (gel, écrasement au cours de la récolte ou du transport, flétrissement par déshydratation, etc.), chimiques (brunissement, rancissement par oxydation), évolution naturelle des aliments (ramollissement exagéré des fruits, etc) et altérations d'origine microbienne (**Becila., 2009**).

Pour limiter cette dégradation et prolonger la durée de vie des aliments plusieurs techniques de conservation ont été utilisées : les traitements thermiques, le froid, la déshydratation, la pression osmotique, les radiations ionisantes (seuls certains traitements sont autorisés), ces fermentations industrielles, le nettoyage et la désinfection du matériel utilisé dans le stockage et la fabrication des aliments, utilisation des additifs alimentaires, les antioxydants et les conservateurs (**Gounelle de Pontane.,1980**).

Les industriels et les consommateurs ont exprimés leur désir de réduire l'utilisation des composés synthétiques dans la conservation des aliments, alors, les plantes aromatiques et leurs extraits (huile essentielle) possédant d'une activité antimicrobienne et anti-oxydante pourront constituer une source d'additifs naturels (**Delaquis, 2002**).

I.2.Généralité sur *Thymus fontanesii*

I.2.1.Définition de *Thymus fontanesii*

Le Thymus fontanesii est une plante aromatique, spontanée appartenant à la famille des *Lamiacées* (labiées) et originaire d'Algérie et de Tunisie (**Quezel P. et Santa S., 1963**).

Appelée communément Zaâteur par les populations locales. Cette famille est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghbi et al., 2005**).

C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique elle est plus utilisée comme source mondiale d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, inflammatoire et antioxydant (**Ghermanet al., 2000; Bouhdid et al., 2006; Hilan et al., 2006**).



Photo N° 01 : *Thymus fontanesii*

I.2.2. Systématique de *Thymus fontanesii*

D'après **Quezel et Santa (1963)** la classification qu'occupe *Thymus fontanesii* dans la systématique est la suivante:

Tableau 01: Classification botanique de *Thym fontanesii*

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus fontanesii</i>

I.3. Généralité sur l'huile essentielle (HE) de Thym

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires, lipophiles, volatils, odorants, et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (Bruneto., 1993; Kalemba et Kunucka., 2003).

L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Rasooli et al., 2006).

Les huiles essentielles de Thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. La variabilité chimique des huiles essentielles de thym dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais, qui peuvent être aussi d'ordres génétiques et saisonniers (stade végétale) (Loziene et al., 2007).

I.4. Composition de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*

D'après Nabet et al (2017) les composés majeurs de l'huile essentielle de *T.fontanesii* de la wilaya de Tiaret extraite par hydro-distillation sont : thymol, Carvacrol , *p*-cymène et γ -terpinene comme il est indiqué dans le tableau suivant :

Tableau N°2: Les composés chimiques de T.fontanesii

Composés	Pourcentage (%)
Carvacrol	67.6
γ -terpinene	13
<i>p</i> -cymène	7.3
Thymol	0.9

I.5. Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle de Thym

On trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide et à température ordinaire. Toutes les huiles sont volatiles, odorantes et inflammables, leurs densité est le plus souvent inférieure à 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 (Jaques et Paltz., 1997).

I.6. Activités biologiques de l'huile essentielle de Thym

I.6.1. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante est un ensemble des actions qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, c'est un système de protection qui permet de lutter contre les radicaux libres (**Amazal., 2010**). Les antioxydants sont capables de réagir avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs (neutraliser et les dégrader). Les huiles essentielles de thym constituent une bonne source d'antioxydants naturels recherchées pour leur innocuité relative (**Burits, Bucar., 2000; Canda et al., 2003; Tepe et al., 2005**).

Certains constituants de ces huiles présentent un effet antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés c'est le cas : du thymol, du carvacrol....etc.

I.6.2. Activité antibactérienne

L'huile essentielle de Thym a montré une activité antibactérienne contre une large gamme des microorganismes qui avaient développé une résistance aux antibiotiques (**Nelson., 1997**). **Juven et al., (1994)** confirment que ce sont les phénols (Thymol, Carvacrol), qui donne à l'huile essentielle le caractère antibactérien. Ces terpènes se lient à l'amine et aux groupes hydroxylamines des protéines de la membrane bactérienne modifiant leur perméabilité et entraînant la mort de la bactérie.

I.6.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles des plantes aromatiques sont connues pour avoir des propriétés antifongiques (**Pinto et al., 2007**).

Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (**Edris., 2007**).

L'activité antifongique des huiles du Thym est attribuée au thymol et au carvacrol. Ils provoquent une dégénérescence des hyphes des champignons qui semblent vider leur contenu cytoplasmique (**Zambonelli et al., 1996**).

I.6.4. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires tel que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (**Bourkhiss et al., 2010**). Ces huiles ont la faculté de bloquer la formation et ou la sécrétion des médiateurs de l'inflammation comme l'histamine, les cytokines, les pro-inflammatoires les prostaglandines, l'oxyde d' azote et les radicaux libres produits par les neutrophiles (**Souza et al., 2003**).

I.6.5. Activité anti cancéreuse

Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré l'attention des chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (**Edris., 2007**).

Dans un test de dépistage, *in vitro*, (test d'inhibition de la cycloxygénases) de plusieurs huiles essentielles, l'huile de Thym exerce un effet inhibiteur sur la biosynthèse des prostaglandines (**Peter., 2004**).

I.7. Utilisation de l'huile essentielle de Thym

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Amarti et al., 2010**).

I.7.1. L'utilisation de l'huile essentielle de Thym en agroalimentaire

Les huiles essentielles sont utilisés depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (**bouchra., 2003 ; bouhdid., 2006**).

Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles de thym, ont un effet inhibiteur sur la croissance de plusieurs bactéries et champignons responsables des infections alimentaires ceci est dû à la présence dans ces dernières des composés ayant des propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes (**Dimitrijevir., 2007**).

Des études faites à travers le monde, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles de thym, sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries, les légumes et les céréales.

Toutefois, quelques limites existent à l'utilisation des huiles essentielles comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines d'entre elles. Cependant des techniques de dés-aromatisation existent et sont de plus en plus efficaces (**Caillet et Lacroix., 2007**).

I.7.2.Utilisation de l'huile essentielle de Thym en pharmacologie

Les espèces de plantes aromatiques de genre *Thymus* sont des plantes médicinales importantes fortement recommandées en raison d'une gamme de propriétés thérapeutiques de leurs huiles essentielles anti-hématologiques, anthelminthiques antiseptiques elles sont utilisées comme désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique pour le traitement des infections des voies respiratoires supérieures .Ses principaux constituants montrent une action vermifuge et vermicide (**Bazytko et Strzelecka., 2007**).

Elles sont utilisées comme agents analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, et anesthésiques localement (**Bakkali et al., 2008**).

CHAPITRE II

Matériel et Méthodes

II.1.Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*, dans l'optique de son utilisation dans la conservation des aliments.

II.2. Lieu et période de travail

L'étude expérimentale de ce travail a été menée dans le laboratoire de recherche « Amélioration et Valorisation des Productions animales Locales » et le laboratoire de microbiologique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret et ce pendant la période allant du mois de Novembre 2018 au mois d'Avril 2019.

II.3.Matériel

II.3.1. Matériel végétal

La plante *Thymus fontanesii* utilisée dans cette étude a été achetée chez un herboriste. Elle a été récoltée en juin 2018 au niveau de la commune de Tidda- wilaya de Tiaret. Cette plante a été identifiée par un botaniste au niveau de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université Ibn khaldoun de Tiaret, comme étant de l'espèce *Thymus fontanesii*.

II.3.2.Matériel de laboratoire et milieux de culture

Le matériel nécessaire à l'accomplissement du protocole expérimental, ainsi que les milieux de culture utilisés sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau N° 03: Matériel, produits chimique et milieux de culture utilisés dans cette étude

Matériel de laboratoire	Produits chimiques	Milieux de cultures
-Spectrophotomètre (Optizen) 1412V	-Trichloro acide acétique (TCA) 10% (PM=163 ,875 g/mol)	-Gélose nutritive
-Etuve (Heraeus)	-DPPH° (PM= 349, 32g/mol)	-Gélose Muller Hinton
-Balance de précision (Ohaus)	-Vitamine C(PM=176,1241 g/mol)	
-Vortex (Technokartell) TK 3S	-Ferrocyanure de potassium à 1% (PM=422,39 g/mol)	
-Autoclave (Sanoclave)	-Ethanol absolu	
-Chauffe ballon (Phywe)	-Acide gallique (PM= 188,14 g/mol)	
-Thermostat (Lauda).	-Chlorure de fer (FeCl ₃) à 0.1% (PM=162,2 g/mol)	
	-Sulfate de sodium anhydre (PM= 142,042g/mol)	

II .4 Méthodes

Les différentes étapes réalisées dans le protocole expérimental sont : l' extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* par hydro-distillation et l'évaluation *in vitro* de ses activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne) ,ces dernières sont indiquées dans la figure N°01 .

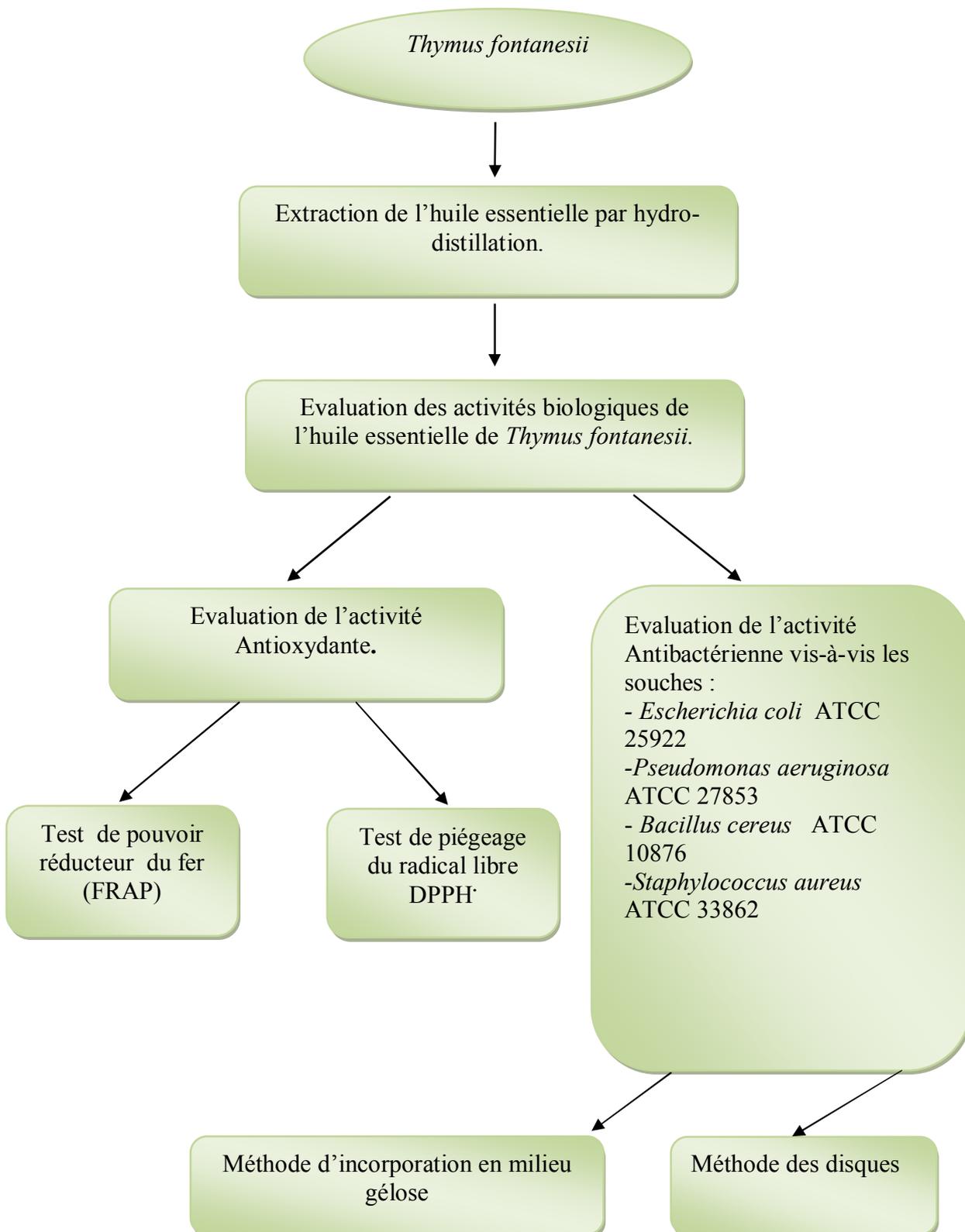


Figure N°01: Protocole expérimental

II .5 Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii*

L'extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* a été réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (1928). Cinquante gramme (50g) de la partie aérienne de la plante sont mis dans un ballon d'un litre additionnés de 500 ml d'eau distillée, le ballon est surmonté d'une colonne de 60cm de longueur relié à un réfrigérant ; la distillation a été réalisée par ébullition pendant 02 heures.

Les vapeurs chargées d'huile en traversant le réfrigérant se condensent dans une ampoule à décanter qui reçoit l'huile de la distillation (Photo N°02) après décantation l'huile essentielle est récupérée est déshydratée par le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et conservée à 4°C dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium (Amarti et al., 2010).



Photo N°02: Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* par hydro-distillation.

II.6 Détermination du rendement d'extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii*

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$\text{RHE} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE: Rendement en huile essentielle en %.

M': Masse d'huile essentielle en gramme.

M: Masse de la plante en gramme.

II.7. Evaluation des activités biologiques de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*:

II.7.1 Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de huile essentielle de *Thymus fontanesii* a été évalué par deux méthodes: le test de FRAP et le test de DPPH.

II.7.1.1. Test de pouvoir réducteur du fer (FRAP: Ferric Reduction Antioxydant Power)

Ce test est basé sur l'aptitude d'un antioxydant donné à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}). La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert du fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Karagözler et al., 2008).

La réaction peut être représentée par l'équation suivante:

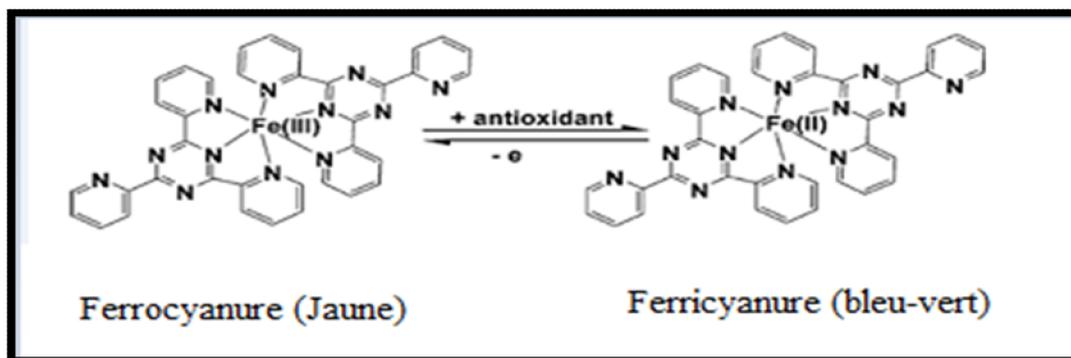


Figure N° 02 : Réaction de réduction de fer

Le pouvoir réducteur de l'huile essentielle a été déterminé selon la méthode décrite par de **Oyaizu. (1986)**. Pour ce faire, 0,5ml de l'huile essentielle à différentes concentrations (1µg/ml à 0.015µg/ml) préparé dans l'éthanol, est mélangé avec 0,5 ml de tampon phosphate (pH= 6.6) et 0,5 ml d'une solution de ferrocyanure de potassium à 1%.

Le mélange à 10% et ajouté pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000g pendant est incubés à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 0,5 ml d'acide trichloracétique à 10% est ajouté. 1 ml du surnageant sont ajoutés à 1 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃) à 0.1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'huile essentielle par l'éthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique et l'acide gallique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le potentiel réducteur de l'huile et des standards (Acide gallique et la vitamine C) est exprimé par les valeurs des concentrations effectives à 50% (CE50) qui correspondent à la concentration de l'huile nécessaire pour donner une absorbance égale à 0,5 à 700 nm.

II .7.1.2. Test de piégeage du radical libre (DPPH)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°) est un radical organique stable de couleur violette, qui absorbe à 517 nm. Sa stabilité est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote.

En présence d'agents antioxydants qui sont des donneurs d'hydrogène (AH), le radical est réduit en une forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) et vire au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (**Brand-Williams et al., 1995; Maataoui et al., 2006**).

La réaction peut être représentée par l'équation suivante:

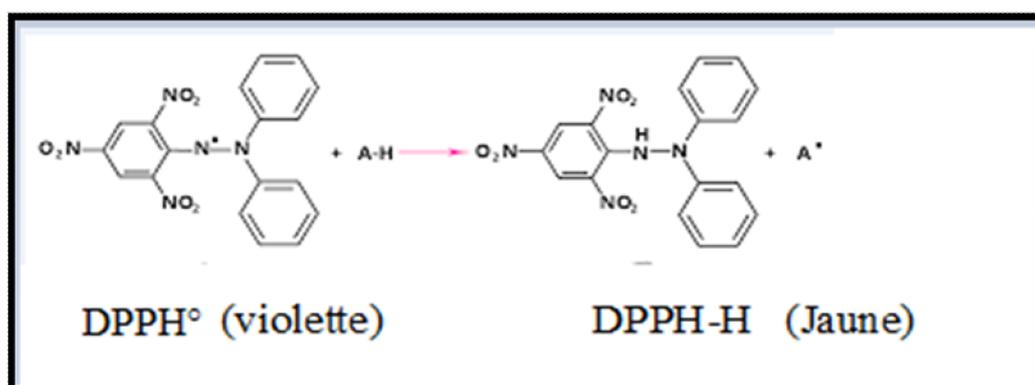


Figure N° 03 : Réaction de réduction de DPPH°

L'effet scavenger de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* vis-à-vis du radical DPPH° est évalué selon la méthode décrite par Que *et al.*, (2006). Un volume de 2 ml de la solution de DPPH (0.1mM) est mélangé avec 2 ml des solutions éthanoliques de l'huile essentielle (0.15µg/ml à 1µg/ml) et des antioxydants standards (acide ascorbique, acide gallique) à différentes concentrations (de 6.25 à 100 µg/ml).

Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage de réduction de la solution de DPPH° (Dongmo et al., 2010). D'après Dung et al, (2008) et Eyob et al., (2008), le pouvoir de réduction est déterminé en appliquant la formule suivante:

$$\text{PR (\%)} = (\text{AC} - \text{AE}) / \text{AC} \times 100$$

PR : Pouvoir de la réduction exprimé en pourcentage.

AE : Absorbance de la solution de DPPH° en présence de l'huile essentielle ou de l'acide ascorbique .

AC : Absorbance de la solution de DPPH° en absence de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'huile essentielle et des antioxydants standards, permet également de calculer la concentration inhibitrice à 50 (CI50). Cette dernière est définie comme étant la concentration de l'huile essentielle (ou antioxydants standards) nécessaire pour réduire 50% de l'activité du radical DPPH° (Molyneux., 2004).

La valeur de CI50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de CI50 est exprimée en µg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

II.7.2.Evaluation de l'activité antibactérienne

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* deux méthodes ont été utilisées ; la technique d'incorporation en milieu gélose qui permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle vis-à-vis les souches bactériennes testées et la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier.

II .7.2.1.Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai antibactérien sont: les bactéries à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 et les bactéries à Gram positif *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

Elles proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire Mustapha Pacha Alger.

II.7.2.2. Préparation de l'inoculum standard

A partir des cultures pures de 24h sur milieu d'isolement, des suspensions bactériennes des souches testées ont été préparées en raclant à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Bien homogénéiser les suspensions bactériennes, leur opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625nm, équivalent à 1×10^8 ufc/ ml. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

II.7.2.3. Méthode d'incorporation en milieu gélose (MH)

A fin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches testées, la méthode d'incorporation en milieu gélosé a été utilisée. Dans des tubes à essai stériles différents concentrations de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* (de 1ul/ml à 70 ul/ml) sont mélangées avec le milieu Mueller Hinton préalablement fondu et maintenu à 50°C, les tubes ont été agités à l'aide d'un vortex afin de bien disperser l'huile dans le milieu de culture avant de les verser dans des boites de pétri de 60 mm de diamètre. Des témoins contenant le milieu de culture seule sont également préparés. Ensuite les boites ont été ensemencées par écouvillonnage avec l'inoculum standard de 0.5Mc Farland de chaque souche testée. Après cela les boites sont incubées à 37°C pendant 24h (Yakhlef., 2010).

La lecture des résultats se fait visuellement par l'observation de la croissance ou de l'inhibition des bactéries à tester par rapport à la croissance bactérienne boites témoin sans huile. La CMI est définie comme étant la plus petite concentration du produit (huile essentielle de *Thymus fontanesii* pour la quelle aucune croissance n'est visible à l'œil nue. les valeurs de CMI sont exprimées en pourcentage (vol/vol).

II.7.2.4. Méthode des disques

La gélose appropriée Muller Hinton est coulée dans des boites de pétri de 90 mm de diamètre et inoculée avec une suspension bactérienne de 0.5 Mac Ferland pure et fraîchement préparée. Des disques de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre sont imbibés de 5 et 10 µl de l'huile est déposés à la surface de la gélose ensemencée, l'ensemble est incubé

pendant 24 heures à 37°C. Dès l'application des disques imprégnés de l'huile diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance des bactéries dénote la sensibilité des souches à cette huile. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de cette zone à l'aide d'une règle graduée ou un pied à coulisse (**Yakhlef., 2010**).

CHAPITRE III

Résultats et discussion

III.1. Rendement de l'extraction en huile essentielle de *Thymus fontanesii*

L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante (photo N°03).



Photo N° 03: Huile essentielle de *Thymus fontanesii*

Le rendement obtenu est de l'ordre de $2,3972 \pm 0,0105$ % ce résultat s'installe dans l'intervalle cité dans la bibliographie, selon **Bencheqroun et al.(2012)**, le rendement en huile essentielle de Thym varie de 2 à 2,75 %. Ce rendement est relativement élevé par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source des huiles essentielles et qui présentent généralement un rendement d'extraction de moins de 1%. Il est plus élevé que celui de la rose (0,1-0,35 %), de la menthe poivrée (0,5-1 %), (**Bencheqroun et al., 2012**).

Ce changement du rendement en huile essentielle entre ces plantes médicinales, peut s'interpréter par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (**Bouguerra., 2012**). Nous soulignons aussi l'importance du choix de la période de récolte du thym pour obtenir une huile de qualité et de quantité généralement le rendement diffère d'une période à l'autre (**Hudaib et al., 2002**).

III.2. Résultat de l'activité anti oxydante

III.2.1. Activité anti oxydante évaluée par le test de pouvoir réducteur (FRAP) :

Les résultats du pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*, et les antioxydants standards (l'acide gallique et la vitamine C) exprimés par les valeurs de CE50 sont présentés dans le tableau N°04, et la figure N03.

Tableau N° 04: Valeurs de CE 50 de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et les antioxydants standards: l'acide gallique et la vitamine exprimés se forme moyenne \pm écart type.

Substances	Acide gallique	Vit C	HE de <i>T. fontanesii</i>
CE 50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	21,334 \pm 0,564	64,33 \pm 8,0185	3,131 \pm 0,465

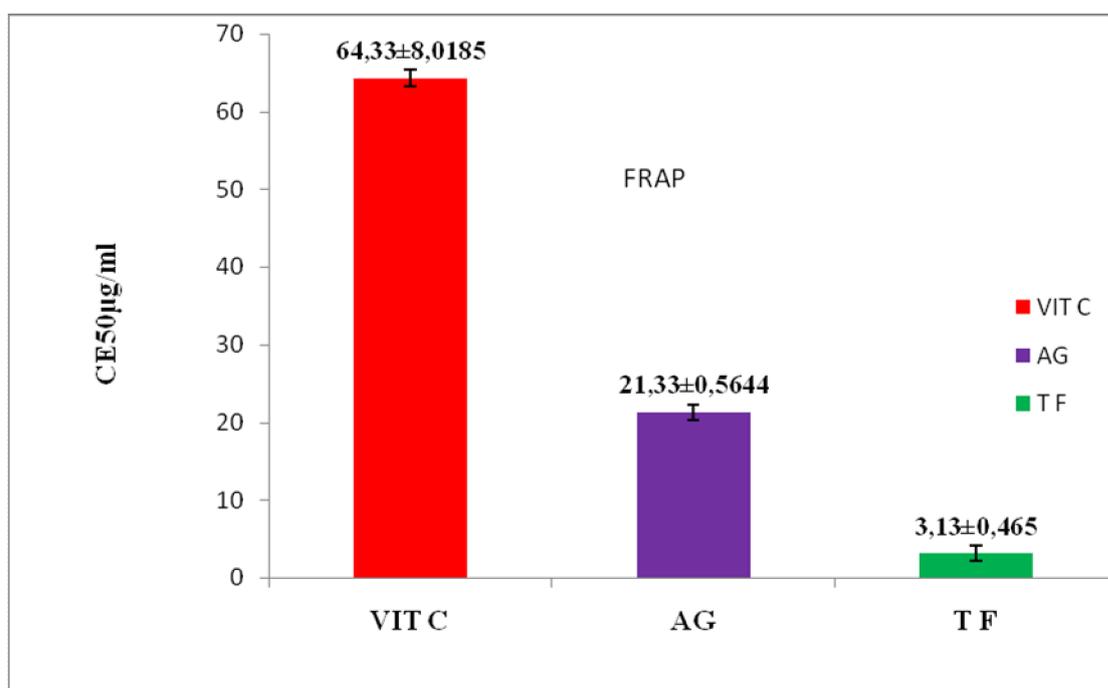


Figure N°04: Concentrations effectrice (CE50) responsable du pouvoir réducteur (FRAP).

Le résultat de l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* évalué par le test de potentiel réducteur (FRAP) a révélé que cette dernière possède un pouvoir réducteur puissant avec une CE 50 de l'ordre de $3,131 \pm 0,465 \mu\text{g/ml}$. Ce pouvoir est largement supérieur à ceux des antioxydants standards, acide gallique et la vitamine C qui représentent des CE50 de l'ordre de $21,334 \pm 0,564 \mu\text{g/ml}$ et $64,33 \pm 8,0185 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Un résultat similaire a été obtenu par des études faites par **Viuda-Martos et al., (2010)** et **Zouari et al., (2011)**.

Plusieurs études ont démontré l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de genre *Thymus* évaluée par le test de FRAP.

Sarikurkcu et al.,(2010) ont trouvé que l'huile essentielle de *Thymus longicaulis* présente un pouvoir réducteur important avec une CE50 de l'ordre de $94.15 \pm 0.12 \text{mg/ml}$ ce pouvoir est meilleur par rapport à ceux des antioxydants synthétiques BHT et BHA qui présentent des CE 50 de l'ordre de $98,17 \pm 0,49$ et $98,17 \pm 0,11 \text{mg/ml}$ respectivement.

Autre étude faite par **Abdelli., (2017)** montre les CE50 des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* de la région de Mostaganem et de Tlemcen obtenues par le test de FRAP sont de l'ordre de 1.73 mg/ml et 1.71 mg/ml respectivement.

III. 2 .2. Activité anti oxydante évaluée par le test de DPPH

L'évaluation de la capacité de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* à piéger le radical libre DPPH, a été réalisée par la mesure de son absorbance en présence de cette dernière.

Les résultats obtenus sont illustrés dans **le Tableau n° 05** et la **Figure n° 04**.

Tableau N° 05: Valeurs de CI50 de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et les antioxydants standards: acide gallique et la vitamine C exprimés se forme de moyen et écart type.

Substances	Acide gallique	Vit C	HE. <i>T. fontanesii</i>
CI 50 (µg /ml)	4,26±0,185	7,24±0,209	1,13±0,14

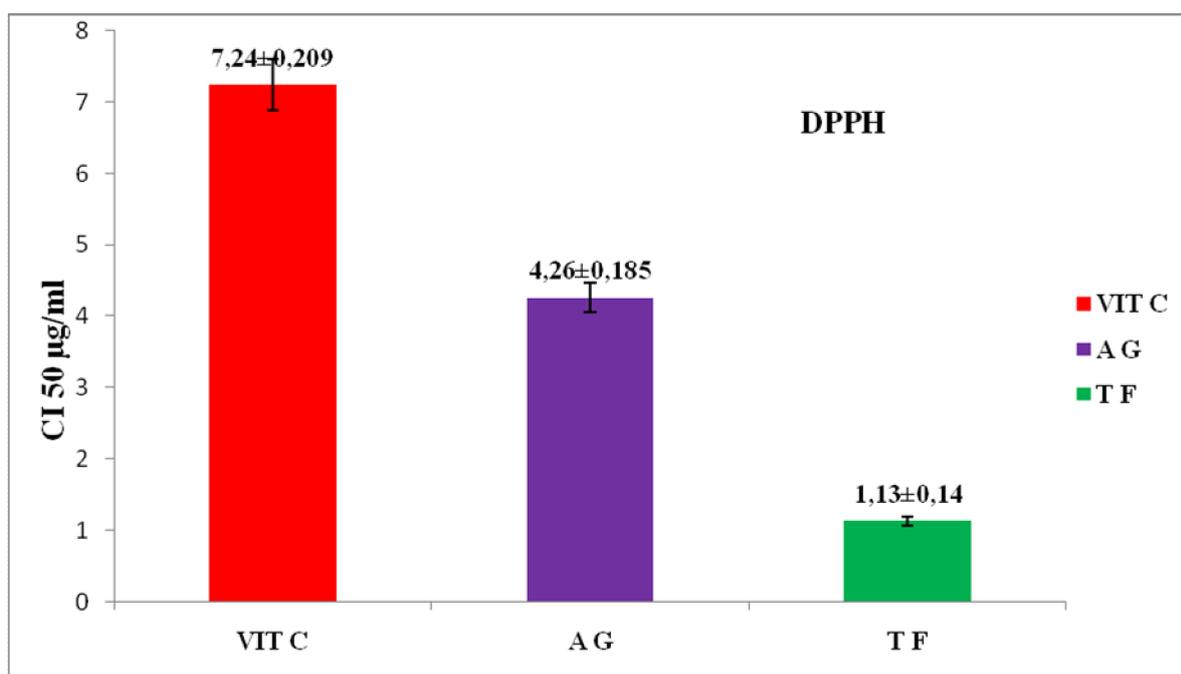


Figure N° 05: Concentrations responsables à 50% d'inhibition du radical DPPH•(CI50).

Les résultats de l'effet anti radicalaire de l'HE de *Thymus fontanesii* contre le radical DPPH illustrés dans la figure N°05 montrent que cette huile possède une activité antioxydante très puissante avec une CI50 de l'ordre de $1,13 \pm 0,14 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Ce résultat est largement supérieur à ceux des antioxydants standards la vitamine C et l'acide gallique qui présentent des CI50 de l'ordre de $7,24 \pm 0,209 \mu\text{g} / \text{ml}$ et $4,26 \pm 0,185 \mu\text{g} / \text{ml}$ respectivement. Plusieurs recherches scientifiques ont étudié l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles du genre *Thymus* dont on peut citer:

Kholkhal et al., (2013) ont trouvé que l'huile essentielle de *T. ciliatus* possède un effet scavengre du radical DPPH meilleur que ceux des standards le BHA et la vitamine C avec des CI 50 de l'ordre de 0,85 ; 1,61 et 1,12 mg/ml respectivement.

Le résultat d'une étude faite par **Djeddi et al., (2015)** montre que l'activité antioxydante évaluée par le test de DPPH de l'huile essentielle de *T. numidicus* est très importante avec une CI50 de l'ordre de $14,20 \pm 1,81 \text{mg} / \text{mL}$ par rapport à celle de l'antioxydant standard BHT qui présente une CI 50 de l'ordre de $64.73 \pm 0.68 \text{mg} / \text{ml}$.

Sarikurkcu et al., (2010) ont été démontré que HE de *Thymus longicaulis subsp. a* un effet antioxydant contre le radical de DPPH avec une CI 50 de l'ordre de 0.128 mg/ml cet effet est meilleur que ceux des antioxydants synthétiques BHT et BHA qui ont montré une activité modérée de piégeage des radicaux leurs CI50 a été enregistrées 2.938 et 2.440 mg /ml respectivement.

Cette capacité antioxydante puissante des HE du genre *Thymus* peut être attribuée au thymol et au carvacrol, qui sont présents en tant que composés majeurs dans ces HEs, et à l'effet synergique entre leur mineur et majeur composés. **Koleva et al., (2002)** ont démontré que le carvacrol, avait une activité antioxydante contre le radical libre DPPH, avec une CI50 de l'ordre de $263,09 \pm 0,62 \mu\text{g} / \text{mL}$.

Selon étude faite par **Nabet et al., (2017)** sur 3 composants d'huiles essentielles suivants (queter-terpinène, carvacrol et thymol,) ont montré une activité antioxydantes contre l'oxydation de l'acide oléique avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 61,6%, 59,1% et 25,5% ,respectivement.

III. 3 Résultat de l'activité antibactérienne

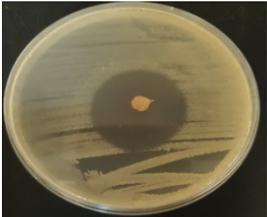
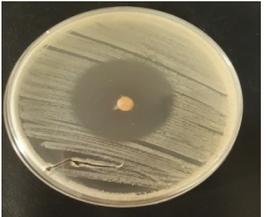
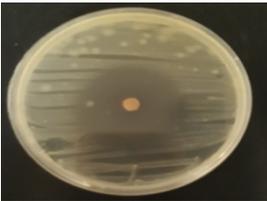
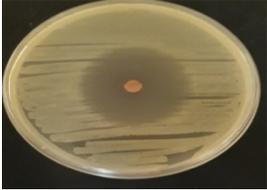
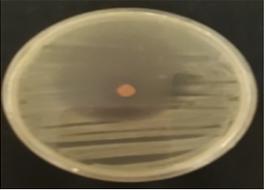
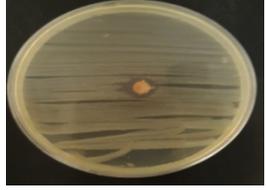
III.3.1 .Méthode des disques

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *T.fontanesii* évalué par la méthode de diffusion sur disque est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). Selon **Mutai et al., (2009)** ces diamètres de la croissance microbienne sont classées de la manière suivantes:

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

Les zones d'inhibitions exprimés en « mm » de l'huile de *T. fontanesii* vis-à-vis des souches testées sont présentées dans le tableau suivant

Tableau N° 06: Zones d'inhibitions (mm) de l'huile de *T. fontanesii* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	Disques imprégnés par 5µl de HE	Disques imprégnés par 10µl de HE
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	34 	39 
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	36 	39 
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	34 	39 
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11 	09 

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *T.fontanesii* exerce une activité fortement inhibitrice sur la croissance de *S.aureus*, *E. coli* et *B.cereus* avec des diamètres des zones de lyse de l'ordre de 39 mm pour les disques empreintes de 10µl d'huile essentielle alors que *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la moins sensible avec un diamètre de zone de lyse de 11mm, ce résultat est similaire à ceux obtenus par plusieurs études :

Mebarki. (2010) a démontré que l'huile essentielle de *T.fontanesii* présente une activité antibactérienne puissante vis-à-vis *S.aureus*, *E. coli* et *Bacillus cereus* avec des diamètres des zones d'inhibition de l'ordre de 58.50, 37.33 et 43.33mm respectivement et que *P.aeruginosa* est l'espèce bactérienne la plus résistante avec un diamètre de zone de lyse de l'ordre de 13.33mm. Cette souche est connue par sa très forte résistance à l'action de la plupart des huiles essentielles (**Dorman et Deans., 2000 ; Burt.,2004**).

Nabet et al., 2017 ont constaté que l'huile essentielle de *T.fontanesii* possède un pouvoir antibactérien puissant contre les souches pathogène impliquées dans la contamination des denrées alimentaires, *S.aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* résistant à la méthicilline, *Listeria innocua* et, *Candida albicans* avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 36,26 ; 35,53, 30, 63 ; 41,34 ; 40 ; 06 et 44,99 mm respectivement. Selon **Sidali et al., (2016)**.

Les résultats de diffusion sur disque exprimés en diamètres des zones de lyse montrent que l'huile de *T.fontanesii* possède une activité antimicrobienne maximale contre les espèces de candida (40 mm) suivies par les bactéries Gram positif *S. Lutea* (35mm), *B.subtilis* (25mm), *S.aureus* (36mm), et les bactéries Gram négatif *E.coli* (24mm) et *P.aeruginosa* (11mm), sauf *Pseudomonas aeruginosa* semble être la souche la moins sensible à l'action des huiles essentielles avec la plus petite zone d'inhibition (11 mm) ce résultat est similaire à notre résultat.

III.3.1 Méthode d'incorporation en milieu gélosé (MH):

Tableau N°07 présente les valeurs de CMI de l'huile essentielle de *T. fontanesii* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Tableau N° 07: Valeurs de CMI de l'huile essentielle de *T. fontanesii* vis-à-vis des souches testées.

Souches bactériennes	Valeurs de CMI ($\mu\text{l/ ml}$)
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	0.4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	0.4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	1

D'après les résultats obtenus on constate que l'huile essentielle de *T. fontanesii* présente une activité antibactérienne importante contre toutes les souches testées. Cette activité est probablement due aux composés phénoliques comme le thymol et carvacrol qui représentent les constituants majeurs de cette huile et leurs précurseurs le terpinène et le p-cymène.

Le carvacrol peut augmenter la perméabilité des membranes cellulaires et permet l'accumulation de γ -ocimène et de terpinène-4-ol dans les membranes cytoplasmiques jusqu'à des concentrations toxiques (**Di pasqua et al., 2005**).

On constate que *P.aeruginosa* est l'espèce la plus résistante avec une CMI de l'ordre de $1\mu\text{l/ ml}$ ceci peut être expliqué par la nature de sa paroi qui est formée principalement de lipoprotéine, lipopolysaccharide et de lipide. Ces composés jouent un rôle de barrière et limitent la pénétration des agents antimicrobiens à travers la paroi bactérienne. D'après **Chamberlain et Dagley. (1968)**

P.aeruginosa est capable de dégrader complètement le thymol et partiellement le carvacrol ce qui explique sa résistance à l'action de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*.

Plusieurs études scientifiques ont démontré l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de thym.

Abdellah et al (2018) ont trouvé que les huiles essentielles de *T.fontanesii* et *T. vulgaris* possèdent un effet antibactérien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Le résultat d'une étude réalisée par **Fani et Kohanteb (2017)** a révélé que l'huile de *Thymus vulgaris* présente une forte activité inhibitrice de certains agents pathogènes oraux. Notamment *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Alzahrani et al (2014) ont trouvé que les huiles essentielles de *T.fontanesii* et *T.vulgaris* ont une activité antifongique contre *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*.

Kabouche et al., (2013) ont démontré que l'huile essentielle de *Thymus guyonii* a une activité antibactérienne contre: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter airogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Morganella morganii*.

Ardalan et al (2011) ont démontré que l'huile essentielle *Thymus daenensis subsp* a une activité antifongique vis-à-vis *Alternaria solani*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*.

Conclusion

Conclusion

La présente étude a été menée dans le cadre de la valorisation de la plante médicinale et aromatique de genre *Thymus fontanesii* par l'utilisation de son huile essentielle comme agent naturel dans la conservation des denrées alimentaires. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de cette plante possède des propriétés anti-oxydantes et antibactériennes très importantes ce la est dû à sa composition quantitative et qualitative surtout en métabolites secondaires qui confèrent à cette huile un potentiel notable pour la lutte contre les altérations des denrées alimentaires.

Nous pouvons conclure que l'huile essentielle de *T. fontanesii* peut être considérée comme un agent conservateur très prometteur pour l'industrie agro- alimentaire et peut être utilisée comme alternative aux conservateurs synthétiques en raison de sa capacité d'empêcher l'oxydation des aliments et d'inhiber la croissance bactérienne responsables d'altération des denrées alimentaires.

Ce résultat obtenu *in vitro* ne constitue qu'une première étape de la recherche des produits antibactériens et antioxydants naturels qui sont proposés dans le domaine agro alimentaire .Dans la perspective de cette présente étude, il serait utile de cibler un des produits alimentaires pour lequel on utilise cette huile comme alternative naturel au conservateur synthétique déjà employé.

Références bibliographiques

A

Abdelli Wafae (2017) thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat 3ème cycle LMD ; Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* . Université ABDELHAMID IBN BADIS – Mostaganem.

AFNOR (Association Française de Normalisation), Recueil des Normes Françaises : Huiles Essentielles, Editions AFNOR, 2000.

Alzahrani, H.A., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bakhotmah, B. & Hammoudi, S.M. (2014) *In vitro* synergistic action of honey and essential oils against two Species of *Aspergillus*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 93-100.

Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Abdellah F, Aarab L, El Ajjouri M, Chaouche A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Thymus algeriensis* Boiss et Reut et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth du Maroc. *Biothechnol. Agron. Soc. Environ.* (4). 141-148.

Ardalan A , Omid A , Golnaz A , Mahdi Z. (2013). Essential Oil Composition, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antifungal Properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as influenced by Ontogenetical Variation, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1), 59-70.

B

Bakkali, F and Averbeck S. (2008). "Biological effects of essential oils—a review." *Food and chemical toxicology* 46(2): 446-475.

Bazylko A. and Strzelecka H. (2007). *Fitoterapia.*, 78 , 391-39 .

Becila A (2009). Prévention contre les altérations et les contaminations microbiennes mémoire de magister en *Alimentation, Nutrition et Santé*. Université Mentouri – Constantine. p20, 23.

Benaraba R (2015) Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential oils of Some Algerian and Turkish Medicinal Plants Bazı Cezayir ve Türk Şifalı Bitkilerinin Uçucu Yağlarının Kimyasal Bileşimi ve Antibakteriyel Aktivitesi Journal of Apitherapy and Nature/Apiterapi ve Doğa Dergisi, 1(2), 8-19.

Bouchra C, Achouri. M, Hassani, L.M.I et Hmamouchi, M.(2003). « Chemical Composition And Antifungal Activity Of Essential Oils Of Seven Moroccan Labiatae Against Botrytid Cinereapers» : Fr-Journal Of Ethno Pharmacology ; Vol 89 , 165-169.

Bouhdid S , Idaomar M , Zhiri A , Baudoux D, Skali N.S.et Abrini J . (2006). Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12.

Bourkhiss, M. B , Hnach, M , Paolini, J , Costa, J, Farah, A, & Satrani, B. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences de liege.*

Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C.(1995), Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*, 28(1), 25-30.

Bruneton J, (1993), Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915.

Burits M, Bucar F. (2000). Antioxidant Activity Of *Nigella Sativa* Essential Oils .Phytotherapy Research, 14, 323-328.

Burt .(2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-- a review. *Int J Food Microbiol.* Aug 1;94 (3), 223-53.

C

Caillet S, Lacroix M. (2007) .Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS- Institut Armand- Frappier, Université de Laval, Québec, Canada, 89 .

Canda F., Unlu M.T.B, Daferera, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A, Akpulat A. (2003). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Methanol Extracts Of Achillea Millefolium Subsp. Millefolium Afan. (Asteraceae).Journal Of Ethnopharmacology 87, 251-220.

Chahardehi A. M, Ibrahim D, and Sulaiman S.F. (2010). Antioxidant, antimicrobial activity and toxicity test of pileamicrophylla. International Journal of Microbiology, Article ID 826830, 6.

Chaouche A. (2010). Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de doctorat. Université de Rabat, 67.

D

Di pasqua, R., De feo, V., Villiani, F., & Mauriello, G. (2005). *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from mediterranean. Apiaceae,Verbenaceae and lamiaceae against foodborne pathogens and spoilage bacteria. Annals of Microbiology. 55, 139-143.

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

Djeddi S, Yannakopoulou E , Papadopoulos K et Skaltsa H . (2015). Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de Thymus numidicus Poiret., Algérie ISSN 1813-548X Afrique SCIENCE 11(2), 58 – 65.

Références bibliographies

Dongmo P.M.J, Tchoumboungang F, Ndongson B, Agwanande W, Sandjon B, Zollo P.H.A , Menut C.(2010). Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agric. Biol. J. N. Am*, 1(4), 606-611.

Dorman HJ, Deans SG.(2000) .Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils *J Appl Microbiol.* Feb; 88(2),308-16.

Dung N.T, Kim J.M, Kang S.C. (2008). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3632-3639.

E

Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy research*,21 (4), 308-323.

Eyob S, Martinsen B.K , Tsegaye A, Appelgren M , Skrede G.(2008).Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of *korarima* (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology*, 7(15), 2585-2592.

F

Fani, M.M , Kohanteb, J. (2017). *In Vitro* Antimicrobial Activity Of *Thymus Vulgaris* Essential Oil Against Major Oral Pathogens. *Journal Of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine.* 22, 660-666.

G

Gachkar L, Yadegari D, Rezaei M.B, Taghizadeh M, Astaneh S.A. and Rasooli I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102, 898-904.

Références bibliographiques

Gherman C, Culea M, Cozar O. (2000). Comparative analysis of some active orincipales of herb plants by GC/MS- Talanta; VOL.53, 253-262.

H

Hassania K. Bencheqroun , Ghanmi M, Satrani B , Aafi A et Chaouch A (2012).Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante endémique du Maroc Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 81, 4 – 21.

Hilan C, Sfeir R, Jawich D, et Aitour S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae. Lebanese.

Hudaib M, Speroni E, Pietra A.M.Di, Cavrini V.(2002). GC/MS évaluation Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as in Influenced by Ontogenetical Variation ;Journal of Essential Oil Bearing Plants ISSN: 0972-060X (Print) (Online) Journal homepage ,976-5026.

J

Jaques G, Paltz S.A. (1997). Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule de laboratoire « Jaque Pltz ».

K

Kabouche A; Lehbili M, Chibani S , Semra Z, Smati F , S. Abuhamdah , Touzani R,and Kabouche Z.(2013). Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus guyonii* de Noé from Algeria Der Pharmacia Lettre, 5 (2),306-310.

Karagözler A, Erdag B , Calmaz Emek Y(2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. Food Chemistry, *111*(2), 400-407.

Références bibliographies

Kholkhal F, Lazouni H , Bendahou M, Boublenza I, Chabane S , D et Chaouch T .(2013) .étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus ssp. Coloratus* Afrique SCIENCE 09(1) ,151 – 158.

Koleva, I. I., Teris, A. B., Jozef, P. H., Linssen, A. G. and Lyuba, N. E.(2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13, 8-17.

L

Loziene K, Venskutonis P.R, Sipailiene A, Labokas J.(2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extract from different *tymus puelegioides L.* chemotypes food chemistry, 103 (02), 546-559.

M

Maataoui B.S, Hmyene A, Hilali S.(2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1), 3-8.

Mebarki N. Mémoire de magister génie des procédés chimique et pharmaceutique ,université M'HAMED BOUGUARA BOUMERDES des hydrocarbure et de la chimie ..

Molyneux P.(2004).The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.

Mutai C, Bii C, Rukunga G, Ondicho J, Mwitari P, Abatis D, Vagias C, Roussis V, and Kiru J.(2009). Antimicrobial Activity of Pentacyclic Triterpenes Isolated from *Acacia Mellifera*) *Afr J Tradit Complement Altern Med.* ; 6(1), 42–48.

N

Références bibliographies

Nabet, N., Boudries, H., Loupassaki, S., Souagui, S., Madani, K. and Carbonell-Barrachina, Á.A.(2017).Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. and *Origanum glandulosum* Desf. essential oils International Food Research Journal 24(6), 2518-2525.

Naghibi F, Mossadegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to pharmacology – Iranian journal of pharmaceutical Research; Vol. 2;pp, 63-79.

Nelson, R.(1997). In-vitro activities of five plant *essential* oils against methicillinresistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant Enterococcus faecium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40(2), 305-306.

O

Oyaizu M.(1986). *Antioxidative Activities Of Browning Products Of Glucosamine Fractionated By Organic Solvent And Thin-Layer Chromatography.* Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi., 35, 771-775.

P

Peter, K. V. (Ed.). (2004). Handbook of herbs and spices (*Vol. 2*). Woodhead publishing

Pinto, E, Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Palmeira, A, & Gonçalves, M. J. (2007). In vitro susceptibility of some species of yeasts and *filamentous* fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. Industrial Crops and Products, 26(2), 135-141.

Q

Quezel P,et Santa S.(1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II.

R

Références bibliographies

Rasooli, I , Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes* .International journal of infectious diseases, *10*(3), 236-241.

S

Sarikurkcu C , Ozer S , Eskici M , Tepe B , Can , Mete E . (2010). Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis* . Food and Chemical *Toxicology* 48, 1801–1805.

Souza M.C, Siani AC.,Ramos M.F.S.,Ramos M.F.S, Menezes-de-Lima Jr ,O.Henriques M.F.S, M.G.M.O .(2003) .Evaluation of Anti- Inflammatory activity of Essential Oils from two Asteraceae Species , Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol .58, 8 ,582-586.

Sidali L , Brada M , Fauconnier M , Lognay G, Heuskin S. (2017). Chemical composition, acute toxicity, *antimicrobial* and anti-inflammatory activities of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria *PhytoChem BioSub Journal* Vol. 11 ISSN 2170-1768 CAS-CODEN:PBJHB3.

Stéphanie Heuskin. (2017). Chemical composition, acute toxicity, antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Thymus fontanesii essential* oil from Algeria. *PhytoChem & BioSub Journal* Vol. 11(1) ISSN 2170-1768.

T

Tepe B, Daferera,D.,Sokmen A ,Sokmen, M,&Polissiou,M.(2005). Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Essential Oiel And Various Extracts Of *Salvia Tomentosa* Miller (Lamiaceae).*Food Chemistry*, 9(3), 333-340.

V

Références bibliographiques

Viuda-Martos M., El Gendy A.-N., Sendra E., Fernández-López J., Abd El Razik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A. (2010). Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. *J Agric Food Chem*, 58(16), 9063-9070.

Y

Yakhlef Ghania.(2010). Magister en chimie appliquée; étude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L.* et *Laurus nobilis L.* Université EL HADJ LAKHDAR BATNA.

Z

Zambonelli, A, d'Aulerio, A. Z, Bianchi, A, & Albasini, A. (1996). Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *Journal of Phytopathology*, 144(9-10), 491-494.

Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougateg A., Karray A., Neffati M., Ayadi M.A. (2011). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (*Lamiaceae*). *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 257-265.

Annexes

Annexe 01: Pouvoir réducteur de fer

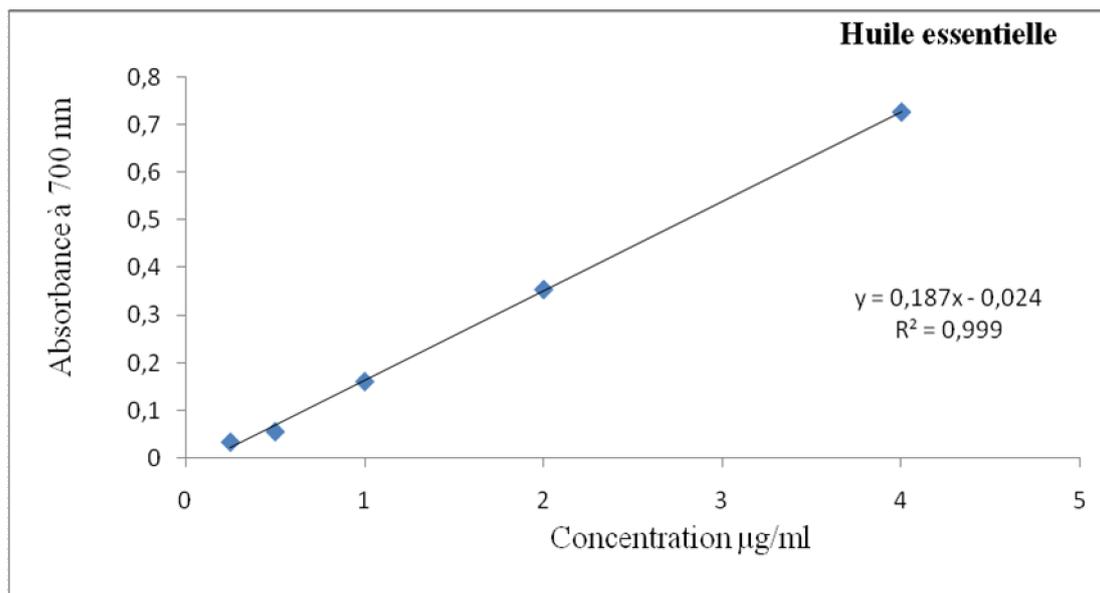
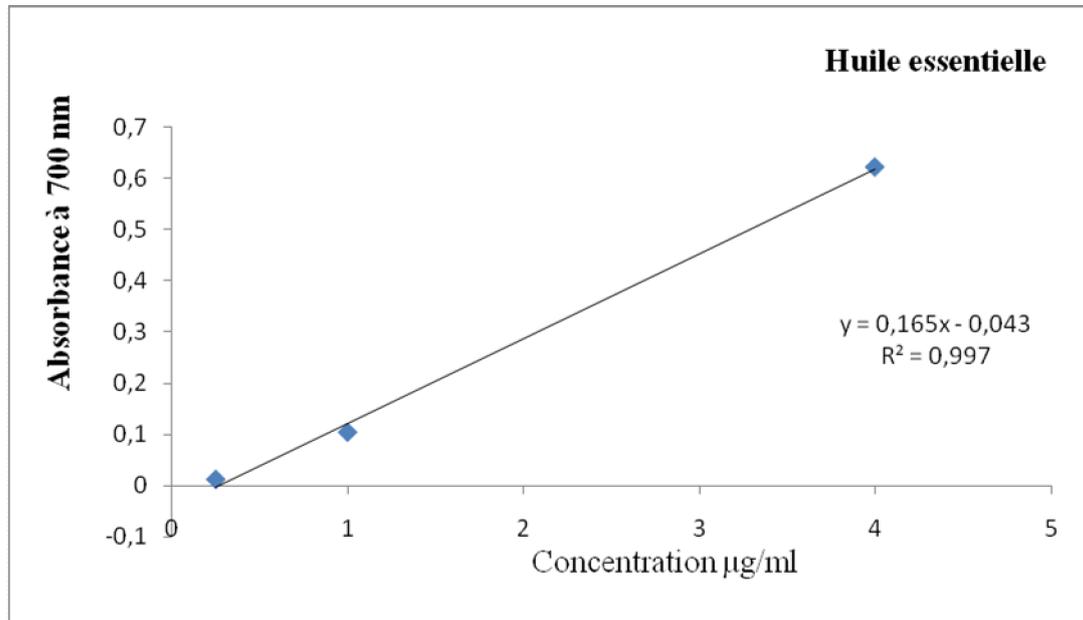


Figure N°06 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *T.fontanesii*

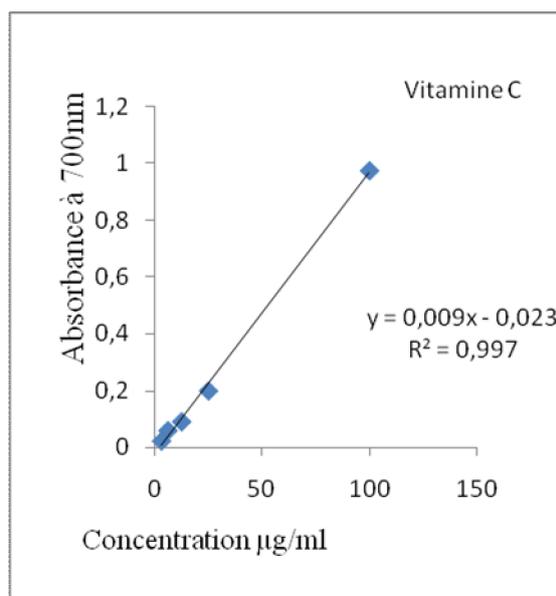
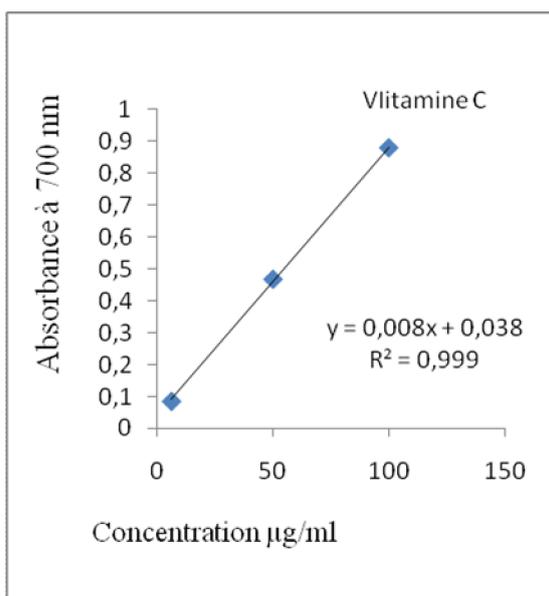


Figure N°07: Pouvoir réducteur de la vitamine C

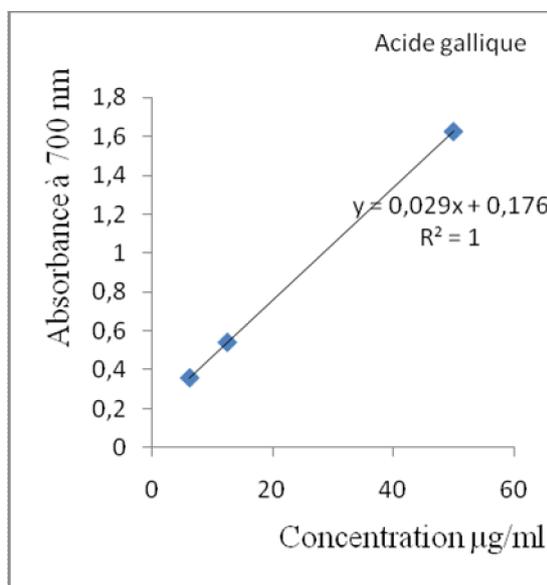
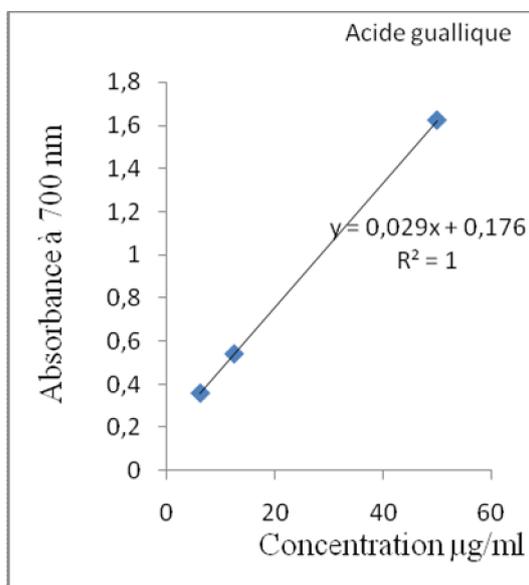


Figure N°08: Pouvoir réducteur de l'acide gallique

Annexe 02: Test de DPPH

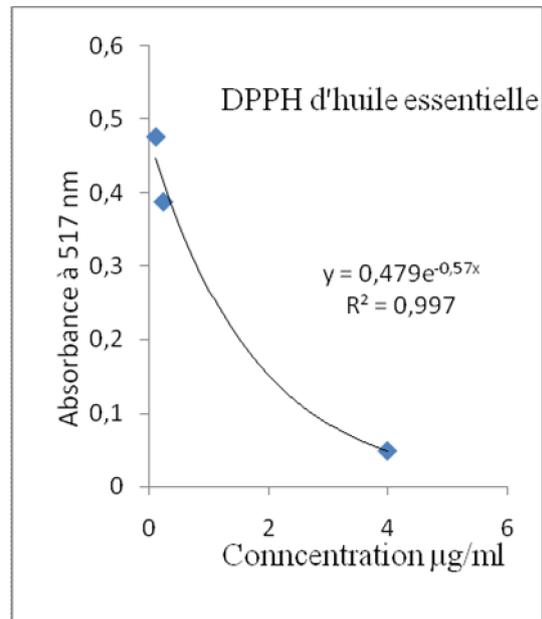
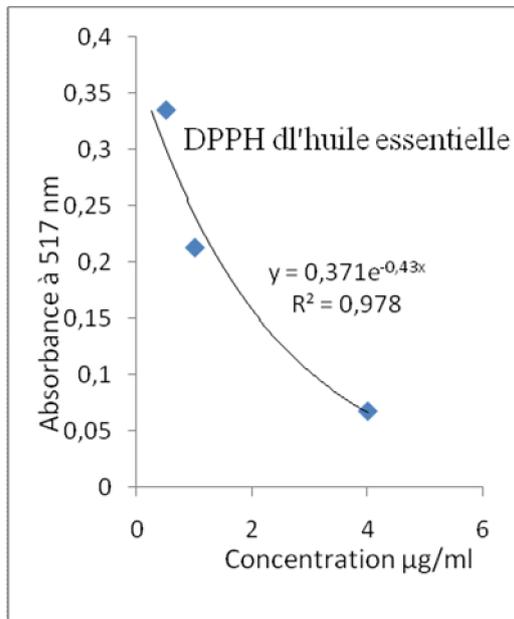


Figure N°09: DPPH de l'huile essentielle de *T.fontanesii*

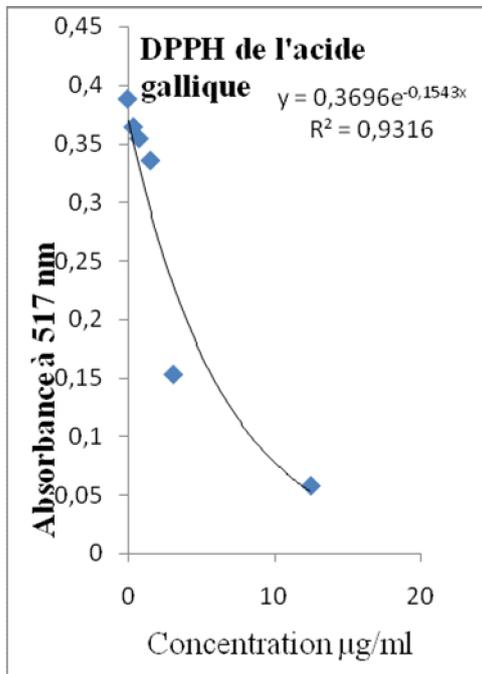


Figure N°13 : DPPH de la vitamine C

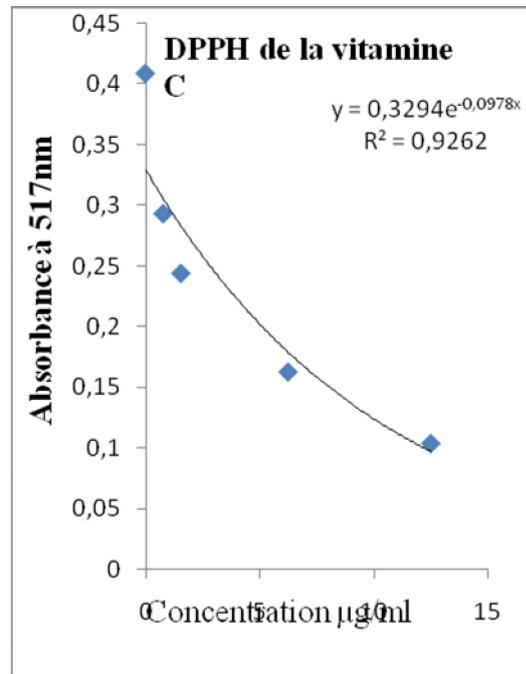


Figure N°14 : DPPH de l'acide gallique

Annexe 03: Valeurs de CMI de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* vis-à-vis les souches testées

Escherichia coli ATCC 25922



Témoin (+)

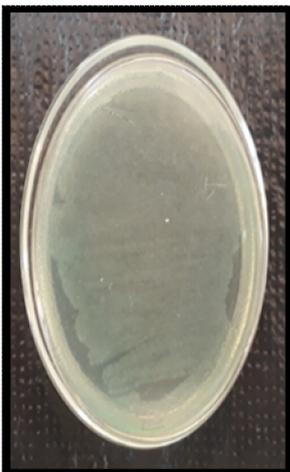


1 µl/ml



CMI=2 µl/ml

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853



Témoin (+)



4 µl/ml



CMI=5 µl/ml

Staphylococcus aureus ATCC 27853



Témoin (+)



1µl/ml



CMI=2 µl/ml

Bacillus cereus ATCC 10876



Témoin (+)



1µl/ml



CMI=2 µl/ml

Annexe 04: Compositions des milieux de culture

Gélose de Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	2g/L
Amidon	1,5g/l
Hydrolysate de caséine	17,5g/l
Agar	17 g /l
PH.....	7,4

Gélose nutritif

Extrait de viande.....	1 g/l
Extrait de levure	2,5 g/l
Peptone	5 g/l
Chlorure de sodium	5 g/l
Agar	15 g /l
PH.....	7

Annexe 05 : Description de *Thymus fontanesii*

Le *Thymus fontanesii* possède des dents de la lèvre supérieure du calice non longuement aristées, tube aussi long ou plus long que les dents, feuilles caulinaires ovales, lancéolées ou lancéolées-linéaires, planes, à marges non révolutes, obtuses feuilles caulinaires linéaires ou linéaires lancéolées à marges révolutes, en général aiguë au sommet, feuilles florales très différentes des autres, lancéolées linéaires longuement rétrécies en pointe aiguë, ciliées, au moins aussi longues que les fleurs; les caulinaires spatuliformes glabres. Tiges plus ou moins dressées. Inflorescences lâches, ramifiées (**Quezel et Santa, 1963**).

Résumé

Les agents conservateurs généralement utilisés en industrie agro-alimentaire présentent des effets négatifs sur la santé des consommateurs. Plusieurs conservateurs synthétiques ont été limités dans nombreux pays, et ce en raison de leurs effets indésirables à long terme. Pour ces raisons, il est nécessaire voire obligatoire de chercher des nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et anti-oxydantes dans le but de les utilisés comme solutions alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine agroalimentaire, c'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui visé à mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* à fin d'être utiliser comme un agent naturel dans la conservation des denrées alimentaires.

Le résultat de l'effet antibactérien de cette étude révèle que l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* présente un pouvoir antibactérien puissant contre toutes les souches testées, on note que *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus résistante avec une CMI évaluée à 1 µl/ml. Le résultat de l'effet antioxydant montre que l'huile essentielle *Thymus fontanesii* est un antioxydant puissant avec une activité supérieur, comparativement aux antioxydants standards, la vitamine C et l'acide gallique.

A la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que cette huile peut être utilisée comme un agent conservateur avec un potentiel prometteur pour l'industrie agro alimentaire via l'inhibition de l'oxydation et de réduction de la croissance bactérienne impliquées dans l'altération des aliments.

Mots clés: *Thymus fontanesii*, Huile essentielle, Activité antibactérienne, Activité anti-oxydante, Conservateurs naturels.

المواد الحافظة المستخدمة عادة في صناعة المواد الغذائية لها آثار سلبية على صحة المستهلكين. تم تقييد العديد من المواد الحافظة الاصطناعية في العديد من البلدان بسبب آثارها الضارة على المدى الطويل. لهذه الأسباب، من الضروري أو حتى إلزامي البحث عن منتجات طبيعية جديدة ذات خصائص مضادة للمكروبات ومضادة للأكسدة لغرض استخدامها كحل بديل للمواد الحافظة الاصطناعية في قطاع الأغذية الزراعية، في هذا السياق، إن دراستنا تهدف إلى تسليط الضوء على القوى المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة من الزيوت الأساسية المستخرجة من نبات الزعر *Thymus fontanesii*، وذلك لاستخدامها كمواد طبيعية بديلة للمواد الحافظة الاصطناعية المستعملة في قطاع الصناعات الغذائية.

تكشف نتيجة التأثير المضاد للبكتيريا في هذه الدراسة أن الزيت العطري لنبات *Thymus fontanesii* لديه قوة مضادة للجراثيم قوية ضد جميع السلالات التي تم اختبارها، ويلاحظ أن *Pseudomonas aeruginosa* هي أكثر أنواع البكتيريا مقاومة مع تقييم CMI 1 ميكرو لتر/مل. تظهر نتيجة تأثير مضادات الأكسدة أن الزيت العطري *Thymus fontanesii* هو أحد مضادات الأكسدة القوية ذات النشاط المتفوق، مقارنة بمضادات الأكسدة القياسية وفيتامين C وحمض الغاليك.

في ضوء هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أنه يمكن استخدام هذا الزيت كمادة حافظة في قطاع الصناعات الغذائية عن طريق تثبيط الأكسدة وتقليل نمو البكتيريا التي تتسبب في تلف الأغذية.

الكلمات المفتاحية: *Thymus fontanesii*، الزيت الأساسي، نشاط مضاد للجراثيم، النشاط المضادة للأكسدة،

المواد الحافظة الطبيعية.

Summary

The preservatives generally used in the food industry have a negative effects on the health of consumers. Several synthetic preservatives have been limited in many countries due to their long-term adverse effects. For these reasons, it is necessary or even mandatory to search for new natural products with antimicrobial and antioxidants prporties for the purpose of being used as alternative solutions to synthetic preservatives in the agri-food sector, it is in this context that our study aimed at highlighting the antibacterial and antioxidative power of the essential oil of *Thymus fontanesii* to be used as a natural agent in the preservation foodstuffs.

The result of the antibacterial effect of this study reveals that the essential oil of *Thymus fontanesii* has a strong antibacterial effect against all tested strains, it is noted that *Pseudomonas aeruginosa* is the most resistant species with a MIC evaluated at 1 µl/ml. The result of the antioxidant effect showed that the essential oil *Thymus fontanesii* is a powerful antioxidant with superior activity, compared to standard antioxidants, vitamin C and gallic acid.

In light of these results we can conclude that this oil can be used as a natural preservative with promising potential for the food industry via inhibition of oxidation and reduction of bacterial growth involved in the alteration of food.

Keywords: *Thymus fontanesii*, essential oil, antibacterial activity, antioxidant activity, natural preservatives