

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Présenté par :

BENHALIMA AHMED

Thème

Extraction et effet anti antibactérienne des huiles essentielles du *Thymus Ciliatus* dans la région de Méghila - Tiaret.

Soutenu publiquement le

Jury:	Grade
Président: NEGGADI M	MCB
Encadrant: BERRAYAH M	MCA
Co-encadrant: OMAR A	MCA
Examineur 1: SOUDANI L	MCB

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Avant tout je tiens à remercier celui qui nous a créés, protégé, aidé et celui qui m'a donné la patience et le courage pour pouvoir accomplir entre autre mon mémoire de master dans les meilleures conditions en disant « Dieu Merci ».

Ce mémoire n'aurait jamais été entrepris ni achevé sans la patiente assistance, les savants conseils et orientations, les méticuleux contrôles et suivis, que nous a prodigué notre promoteur, Mr.BERRAYAH M. qui a accepté de nous encadrer. Nous lui témoignons ici, de notre gratitude et reconnaissance, ainsi Melle. OMAR A la co-promotrice de ce travail.

Nous tenons également à remercier :

Melle. SOUDANI L. pour l'honneur qu'il nos fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Mr.NEGADI M. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions aussi, tous ceux et toutes celles qui nous ont aidé ou encouragé, a quelque titre ou degré que ce soit, a entreprendre et achever ce mémoire, qui est notre modeste contribution au domaine de la recherche scientifique.

Dédicace

*A mes parents qui ont consacré sa vie pour notre joie, que
Dieu vous protégé et vous accord une langue vie.*

*A ma femme et mes
enfants mohamed
islem, abdeljalile,
amira mlek*

A mes frères et mes sœurs

*A tous mes amis
spécialement
hichem, makroussi,
maarouf, houari,
bachir, abdelmajid,
abd elhamid, abdeljabbar,
hamza.*

A toute ma famille

Table des matières

Introduction générale.....	1
Partie bibliographique	3
Chapitre 01 : Généralité sur les plantes spontanées utilisées	
1. Généralité sur les plantes spontanées	5
1.1.Introduction.....	5
1.2. Thym	5
1.2.1. Classification botanique	6
1.2.2. Description botanique.....	7
1.2.4. Récolte.....	8
1.2.6. Composition chimique du principe actif.....	9
1.2.7. Propriétés du Thym	10
Chapitre 02: Généralité sur les huiles essentielles	
2.1. Introduction	13
2.2. Définition d'une huile essentielle	13
2.3. Répartition systématique	13
2.4. Synthèse et localisation	13
2.5. Rôle des Huiles Essentielles au niveau des plantes	14
2.6. Fonction de l'huile essentielle dans la plante	14
2.7. Caractères physico-chimiques	14
2.8. Propriétés générales des huiles essentielles	15
2.9. Domaine d'application des Huiles Essentielles	16
2.10 La composition chimique des huiles essentielles.....	16
2.10.1 Composition chimique.....	16
2.10.1.1 Les terpénoïdes :.....	16
2.10.2. Composition chimique des huiles essentielles du genre <i>artemisia</i>	17
2.10.3. La chémotype	17
2.11. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles	17
2.11.1. La distillation (hydro distillation).....	17
2.11.2. L'expression	18
2.11.3. L'enfleurage	19
2.11.4. L'extraction par solvant.....	19
2.11.5. L'extraction par CO ₂ supercritique.....	20
2.11.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche	21
Chapitre 03: Partie expérimentale	
3.1. Présentation de la zone d'étude	23
3.1.1. Situation géographique de la wilaya de Tiaret.....	23
3.1.2. Climat régional	24
Chapitre 04: Matériel et Méthodes	
3.2. Objectif de travail	26
3.3. Lieu et période d'étude.....	27
3.4. Matériels	27
3.4.1. Matière Végétale	27
3.4.2. Matériels au laboratoire	28

3.5. Méthodes	28
3.5.1. Extraction des huiles essentielles.....	28
3.5.2. Paramètres physico-chimiques des huiles extraites	30
3.5.3. Paramètres chimiques	32
3.5.4. Test microbiologique.....	34
Chapitre 05: Résultats et Discussions	
4.1. Résultats et interprétations.....	38
4.1.1. Calcul du rendement des huiles essentielles obtenues	38
4.1.2. Résultats des paramètres physico-chimiques.....	39
4.1.3. Résultats des paramètres chimiques	40
4.1.4. L'activité antibactérienne des huiles essentielles	42
4.2. DISCUSSION	48
Conclusion.....	51
Références Bibliographiques	53
Annexe	59
Résumé	66

Liste des abréviations

Bar : unité de mesure de la pression

C° : Degré Celsius

cm : centimètre.

E. Coli : Escherichia Coli

g : Gramme

Ha : hectare

H.E : Huile essentielle.

km : Kilomètre

Km² : Kilomètre carré

Kg : Kilogramme

M : Mètre.

MH : Mueller Hinton

Min : minute

ml millilitre :

mm : millimètre.

Nm : nanomètre.

P : Pression.

P.A : Pseudomonas Aeruginosa

S.A : Staphylococcus Aureus

T : Température.

µl: microlitre

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure 1: Thymus Ciliatus	6
Figure 2 : Fleur du Thymus vulgaris.	8
Figure 3 : Répartition géographique du Thymus vulgaris dans le monde (http: // www.cartograf.fr ,2017).	9
Figure 4: Extraction des huiles essentielles par hydro distillation (BENETEAUD,2011).	18
Figure 5: Extraction des huiles essentielles par expression (BENETEAUD,2011).	19
Figure 6: Extraction des huiles essentielles par enfleurage (LISAN,2014).	19
Figure 7: L'extraction par CO ₂ supercritique (BENETEAUD,2011).	20
Figure 8: L'extraction par entraînement à la vapeur sèche. (BENETEAUD, 2011).	21
Figure 9: La situation géographique de la wilaya de Tiaret (MIARA, 2011).	23
Figure 10: Lieu de récolte des échantillons de Thym (www .GoogleMaps.com).	24
Figure 11: Protocole expérimental.	26
Figure 12: Séchage et pesée des touffes du Thym.....	27
Figure 13: Dispositif d'hydro distillation.....	29
Figure 14: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boites de Pétri (ZAIKA, 1988)	36
Figure 15: Effet inhibiteur de H.E du Thym sur la ouche E.coli	43
Figure 16: La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'E. Coli suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.	43
Figure 17: Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique tétracycline avec l'E. Coli.	44
Figure 18: Comparaison entre l'effet inhibiteur d'H.E du thym et le disque antibiotique tétracycline sur 'E.Coli.Pour la deuxième bactérie « Staphylococcus Aureus», les tests réalisés ont montré une efficacité très importante de l'HE du Thym envers ces bactéries gram (+), les valeurs des diamètres moyennes de la zone d'inhibition varient entre 33,5 mm et 41 ,75mm.....	44
Figure 19: Effet inhibiteur d'H.E du Thym sur la souche S.A.	45
Figure 20 : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de S.A suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.	45
Figure 21: Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du Thym et celui du disque antibiotique avec la souche S.A.	46
Figure 22: Comparaison entre la zone d'inhibition d'H.E de thym et le disque antibiotique tétracycline sur le S.A.	46
Figure 23 : Diamètres des zones d'inhibition de la souche Pseudomonas Aeruginosa par l'effet d'H.E du thym.	47
Figure 24: La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche P.A suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.	47
Figure 25 : La comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E du Thym.	48

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : Principales composantes de l'huile essentielle du Thym (BURT, 2004).....	10
TABLEAU 2: Verreries et appareillages utilisés.	28
TABLEAU 3: le rendement des huiles essentielles obtenu par hydro distillation.....	38
TABLEAU 4 : Paramètres physicochimiques d'huile essentielle de Thym	39
TABLEAU 5: L'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie E.COLI.....	42
TABLEAU 6: l'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie Staphylococcus Aureus suivant différentes doses.	45
TABLEAU 7 : l'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie P.A.....	47

Introduction

générale

Introduction générale

De tous les temps, l'homme a été toujours considéré parmi les êtres vivants les plus puissants de la nature, mais reste néanmoins menacé par d'autres vivants qui peuvent lui causer des entraves et perturber son cycle de vie. Afin de se défendre, il a utilisé depuis l'antiquité des plantes possédant des pouvoirs curatifs, appelées communément des plantes médicinales.

D'après l'**O.M. S (2002)**, en Afrique, en Asie et en Amérique latine, différents pays font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de la santé primaire. En Afrique jusqu'à 80% des populations ont recouru à cette médecine. Dans les pays industriels, elle est considérée comme médecine complémentaire.

L'**O.M. S (2013)** indique que la médecine traditionnelle s'accélère fortement dans les pays, car elle représente un cumul de connaissances utilisées dans la préservation de la santé humaine ainsi que la prévention et le traitement des maladies.

De nos jours plus de 1000 espèces de plantes médicinales sont utilisées sous divers formes, 300 espèces dans la préparation pharmaceutique et 700 espèces utilisées directement tels, les tisanes, les extraits et les teintures (**FRANTŠEK, 1992**).

Parmi ces plantes, le *Thymus ulgari s*, appartenant à la famille des lamiacées, qui est une plante indigène du bassin méditerranéen. C'est une plante vivace très répandue en Algérie, possédant un principe actif avec des propriétés curatives des huiles essentielles. C'est une substance odorante concentrée, volatile jouissant de vertus thérapeutiques de différentes natures antibactérien, antifongique et antioxydant.

Afin de valoriser les huiles essentielles de cette plante, notre travail vise à étudier les caractéristiques physico-chimiques et leurs effets sur les bactéries les plus fréquentées par l'homme.

Afin de mener à bien ce travail, on a adopté la méthodologie suivante :

Dans un premier chapitre, on a présenté des généralités sur les plantes spontanées utilisées. Des généralités sur les huiles essentielles pour mieux les connaître, sont énumérées au niveau du chapitre 2.

Les informations relatives à la zone d'étude et matériels et méthodes sont détaillées dans le chapitre 03 et les résultats et discussion sont présentés dans le chapitre 04.

Enfin une conclusion des résultats obtenus de l'huile essentielle de cette plante ainsi que les perspectives futures pour mieux étayer et connaître d'autres intérêts et effets tant sur le plan médicinal qu'aromatique.

Partie

bibliographique

chapitre 01

Généralité sur

les plantes spontanées utilisées

1. Généralité sur les plantes spontanées

1.1.Introduction

Les plantes aromatiques constituent un groupe numériquement vaste, de plantes économiquement importantes. Elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies.

De nos jours quelques 1000 espèces de plantes médicinales et aromatiques sont utilisées dans le monde pour des préparations pharmaceutiques à des fins thérapeutiques.

La médecine populaire se base couramment sur des centaines d'espèces de plantes médicinales indigènes qui couvrent pratiquement toute la gamme des maladies courantes, bon nombre d'entre elles sont récoltés dans la nature (**FRANTŠEK, 1992**).

Parmi ces plantes les labiées qui comprennent environ 260 genres répartis sur plus de 6500 à 7000 espèces dont l'aire de répartition est extrêmement étendue, mais elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne : les Thym, les lavandes, les romarins et les origans etc. (**CRETE, 1965 ; SPICHIGER et al., 2004**) qui caractérisent la flore des garrigues. Cette famille est rare dans les régions arctiques (**GUIGNARD, 1994**).

1.2. Thym

Le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, ses feuilles sont riches en huiles essentielles, dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine. (**MEBARKI, 2010**).

Concernant le genre *Thymus*, présente beaucoup de confusion en Algérie. D'après la flore de Quézel et Santa, ce genre renferme une dizaine d'espèces dont certaines sont endémiques. Pour la région de Tiaret, il existe au moins trois espèces: *Thymus ciliatus* (ssp *Mynbyanus*); *Thymys vulgaris* (syn *Algériensis*) et *Thymus lanceolatus*. Néanmoins le *Thymys vulgaris* est le plus répandu.

Le nom du Thym est dérivé du verbe grec « thio » qui signifie « je parfume », se trouve sous différents appellations tel que : Thym de jardin ou farigoule ou barigoule ou bien frigoule. (**BIANCHINI et CORBETTA, 1975**).

Les Egyptiens ont toujours utilisé l'essence du thym pour embaumer les morts (**VOLÀK et al. 1983**), comme là mentionné déjà « **Dioscoride** » et « **Hippocrate** » dans leurs écrits, et les romains l'on introduit à toute l'Europe car il est considéré comme symbole de force (**TEUSCHER et al., 2005 ; RODET,2013**).



Figure 1: **Thymus vulgaris**.

1.2.1. Classification botanique

Cette espèce appartient, selon **CRETE**

,1965 au : **Règne**

Plantea **Embranchement**

Spermaphytes **Sous-embranchement**

Angiospermes **Classe**

Dicotylédones **Sous-classe**

Gamopétales **Ordre**

Lamiales **Famille**

Lamiacées **Genre**

Thymus

Espèce

Thymus

1.2.2. Description botanique

Le Thym est un sous-arbuste nain fortement aromatique, formant des massifs plus ou moins denses (SCHNEIDER, 2013). Il est formé par :

- Des tiges ligneuses à base, pubescentes au-dessus et atteignant 30 à 40 cm de haut, serrées, grêles, plus ou moins dressées et velues recouvertes de feuilles (BELOUED, 2009) ;
- Des racines longues et fusiformes ;
- de petites feuilles linéaires, lancéolées, rugueuses ne dépassant pas 1 à 2 cm de long sur 2 à 3 cm de large, dépourvues de pétioles à limbe entier (TEUSCHER *et al.*, 2005 ; WOLFGANG, 2008 ; SCHNEIDER, 2013 ; MAHBOUBI, 2014) décussées, glabres dessus, blanches poilus dessous et tachetées de glandes. (FRANTŠEK, 1992) opposées par deux sur la tige carrée (SCHNEIDER, 2013), effilées, un peu enroulées sur les bords (BELOUED, 2009). Leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs et la face supérieure est marquée par une nervure centrale déprimée. Généralement les marges du limbe sont enroulées sur la surface ventrale, leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs (FLUCK, 1977 ; TEUSCHER *et al.*, 2005) ;
- Une inflorescence en forme d'épi, composées de pseudo-verticilles avec 3 à 6 fleurs poussant à l'aisselle des feuilles supérieures ;
- Des fleurs petites et symétriques réunies en glomérules ; l'ensemble constitue des grappes terminales feuillées, ces fleurs ont des étamines didymes. Calice velu, hérissé de durs poils en forme de clochette et bilabié 3 à 4 mm de long, formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales. La Corolle, elle aussi bilabiée, blanche, roses à pourpre foncé. La lèvre inférieure à trois pétales ventraux et étalés, la supérieure est plate et bilobée formée de 2 pétales dorsaux et dressés. Les étamines sont saillantes, droites et divergentes, dressées se terminent par des anthères brunes. L'ovaire supérieur comporte deux loges. Les fruits renferment à maturité quatre minuscules graines (1 mm) brun clair à brun foncé. (BÉZANGER *et al.*, 1980 ; FRANTŠEK, 1992 ; TEUSCHER *et al.*, 2005) ;
- La floraison se fait en mai à septembre.



Figure 2 : Fleur du *Thymus vulgaris*.

1.2.3. Ecophysiologie

Il pousse sur des sols secs tels que les versants, les prairies et pentes rocailleuses arides (montagnes) (BIANCHINI et CORBETTA, 1975 ; THURZOVA, 1978 ; GILLY, 2005 ; SCHNEIDER, 2013) des sols légers et surtout calcaires et acides. Il peut être trouvé également sur sols fertiles argileux mais non affaiblis. Il nécessite des endroits ensoleillés exposition chaude et supporte la sécheresse comme il peut résister à des températures de (-10C°). Son arôme est meilleur quand il se développe sur les sols pauvres. (KRESANEK, 1985 ; GILLY, 2005 ; TEUSCHER et al., 2005).

1.2.4. Récolte

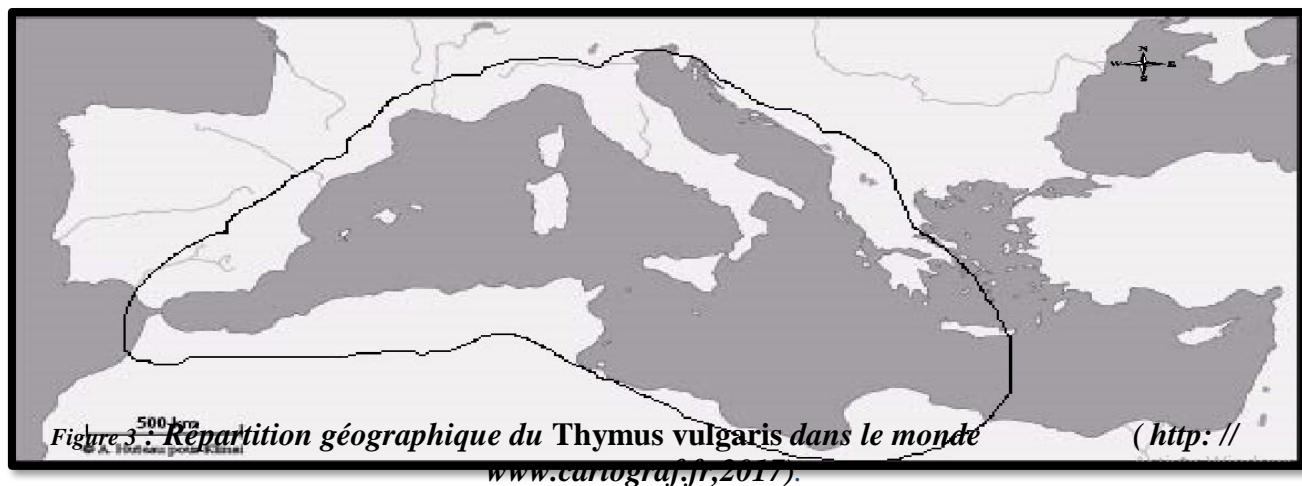
La récolte se fait toute l'année, la première en début de floraison et la seconde en automne mais l'arôme est meilleur entre juin et septembre, la teneur en huile est maximale en après-midi (TEUSCHER et al., 2005 ; SCHNEIDER, 2013). Cette dernière concerne les rameaux, les feuilles et les fleurs, on récolte seulement 10 cm de la longueur des rameaux.

1.2.5. Origine et distribution de l'espèce

1.2.5.1. Dans le monde

D'après GILLY (2005), le genre *Thymus* est très diversifié, pour cela son aire de distribution géographique est très vaste surtout pour le *Thymus vulgaris*, il est originaire de la région méditerranéenne occidentale, cultivé comme plante médicinale et aromatique en Europe centrale et y est très répandu jusqu'à 1500 m d'altitude (FLUCK, 1977 ;

WOLFGANG , 2008 ; MAHBOUBI , 2014) ,dans la péninsule ibérique du Sud de la France, de la côté Ouest et Sud de l'Italie ainsi que de la Grèce, le Nord d'Afrique, l'Espagne, le Portugal. (**FRANTŠEK , 1992 ; TEUSCHER et al. , 2005 ; RODET, 2013**).



1.2.5.2. En Algérie

Commun dans les régions montagneuses de l'Algérie (**MAHMOUDI**) dans les montagnes du Tell (**BELOUED, 2009**). Le *Thymus vulgaris* est réparti le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien et du Constantinois à l'Oranais, et y est réparti sur tout le littoral jusqu'aux zones arides (**MEBARKI, 2010**).

1.2.6. Composition chimique du principe actif

Contient des composantes principales et d'autres tels que les tanins et les saponines et des principes amers des antiseptiques végétaux et d'autres substances gluosidiques. Dans l'huile essentielles d'un Thym d'origine Française, la teneur en thymol et Carvacrol atteint 85%, le *p*-cymène jusqu'à 45%, le linalol, l' α -terpinol, le camphre, le mélange thymol jusqu'à 65% et le carvacrol entre 5 à 10 % (**TEUSCHER et al. , 2005**).

Les composantes principales

- **Thymol** : (2-isopropyl-5-méthylphénol) c'est le phénol monoterpénoïde, le composant principal dans le *Thymus vulgaris*, de couleur blanche possédant une odeur aromatique et présentant des propriétés diverses (**BUCKINGHAM in IBRAHIM et AKEDI, 2016**).

- **Carvacrol** : (5-isopropyl -2-méthylphénol), lui aussi est un monoterpénoïde phénol présent dans le Thym, ainsi que d'autres plantes aromatiques, Parmi ses effets biologiques : anti- inflammatoire, antimicrobien (**ENOMOTO et al et BEN ARFA et al in IBRAHIM et AKEDI ,2016**).
- **Flavonoïdes** : des flavones libres, notamment l'apigénine, la 6-hydroxylutéoline et la lutéoline) et d'autres flavanones et flavones méthoxylée accompagnés d'hétérosides flavoniques plus courants telque la vicénine-2.
- **Dérivés de l'acide hydroxycinnamique** : principes amers des lamiacées, environ 4 % avec l'acide rosmarinique (0.8à 2.6%)
- **Dérivés de l'acétophénone** : 4-hydroxyacétophénone et des hétérosides estérifiés avec dérivés de l'acide benzoïque.
 - **Triterpènes** : acide ursolique (1.9%), acide oléanolique(0.6%)(**TEUSCHER et al ., 2005**).

TABLEAU 1 : Principales composantes de l'huile essentielle du Thym (BURT, 2004).

Nom commun	Nom scientifique	Composants majeurs	A proximité % composition
Thym	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Thymol</i>	10-64%
		<i>Carvacrol</i>	2-11%
		<i>γ-terpinene</i>	2-31%
		<i>p-cymène</i>	10-56%

Cette huile est d'une odeur forte, pénétrante et aromatique et une saveur très prononcée légèrement amère et chaude et piquante (**TEUSCHER et al ., 2005, BIANCHINI et CORBETTA , 1975**).

1.2.7. Propriétés du Thym

Depuis l'antiquité, il a été employé à des fins thérapeutiques (**BIANCHINI et CORBETTA ,1975**) car il est pourvu de nombreuses propriétés et traite différents troubles organiques et dermatologiques (**MAHBOUBI, 2014**). Le Thym possède des propriétés pharmacologiques utiles. Il est utilisé dans le traitement des troubles digestifs (**FRANTŠK,1992 ; CHEVALLIER, 2007**) comme tisanes, salades, aromates des plats (**SCHNEIDER,2013**), pour la peau comme l'eczéma, le psoriasis, les brûlures légères sans oublier qu'il est important en cas de fatigue nerveuse (**LEFIEF,2012**). Il est également utilisée comme déodorant, son huile partie de dentisterie et cosmétologie (**VOLÀK et al ., 1983**), contre la coqueluche, ces tisanes sont utiles contre le gargarisme (**THURZOVA,1978 ; KRESANEK,1985**).

Cette plante présente un intérêt majeur et joue un rôle important dans l'industrie, la médecine et la pharmacie, elle possède des propriétés antioxydants grâce à la présence des fénols, flavonoides, l'acide rosmarinique.

chapitre 02

Généralité sur

les huiles essentielles

2.1. Introduction

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes. Les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique depuis des siècles, mais ce n'est que récemment que des recherches scientifiques sont menées à leur sujet.

2.2. Définition d'une huile essentielle

C'est une substance de nature volatile, car les molécules qui la constituent s'évaporent plus ou moins rapidement pour se déplacer dans l'air (**MORO BURONZO et al. , 2012**) , c'est pourquoi il est nécessaire de la conserver correctement à fin qu'elle garde intact son principe actif. Selon **BIANCHINI et CORBETTA (1983)**, ses liquides réfringents, optiquement actifs, voisins des huiles sont d'odeurs tout à fait caractéristiques. Se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produit du métabolisme secondaire.

2.3. Répartition systématique

D'après **MORO BURONZO et al (2012)**, sur terre, seulement environ 10% des espèces végétales répertoriées sont classées plantes aromatiques extraites des huiles essentielles appartenant aux diverses familles, parmi elles, on peut citer :

Les conifères : sapin, pin, cèdre

Les apiacées : aneth, angélique, le fenouil, le cumin...

Les astéracées : les achillées, l'armoise, la camomille...

Les lamiacées : la lavande, le romarin, la menthe...

2.4. Synthèse et localisation

Les parties dont lesquelles les huiles sont extraites sont diversifiées, elles peuvent être la plante entière ou en partie tels que l'écorce, les feuilles, les tiges, les racines, les fruits, les rhizomes etc. (**FESTY, 2008**)

En générale ses gouttes minuscules aromatiques se forment dans les chloroplastes des feuilles où s'effectue la photosynthèse (**MORO BURONZO, 2009**) , au niveau du cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans les cellules glandulaires spécialisées situés en surface d'elles et recouvertes d'une cuticule. Elles sont soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches

sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles, qui peuvent être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches sont localisées dans les tissus internes : comme le cas des rhizomes de fougère mâle (**TEUSCHER et al ., 2005**) .

Les huiles essentielles ne sont jamais les mêmes, chaque huile est unique puisque chaque plante à ses caractéristiques climatiques et édaphiques, qui la rend déférente des autres. Même au sein d'une même plante l'huile provenant de l'écorce et de la feuille n'auront pas les mêmes propriétés et aussi le même nom. (**FESTY, 2008**).

2.5. Rôle des Huiles Essentielles au niveau des plantes

Les plantes survivent grâce à leurs huiles essentielles, étant donné qu'elles ne peuvent se déplacer pour se mettre à l'abri. Elles devraient inventer un système de défense pour une protection extrêmement efficace : antibiotique, antisolaire, ce sont les H.Es qui servent à séduire les insectes pollinisateurs, servent aussi à réguler la température à l'intérieur de la plante lui permettant ainsi de mieux supporter la chaleur, aussi à se protéger des brûlures solaires, des maladies et des prédateurs et en fin de guérir (blessures, attaques diverses...) (**FESTY, 2008 ; LISAN, 2014**).

2.6. Fonction de l'huile essentielle dans la plante

D'appriis (**BELHADI, 2010**) l'existence des HE dans les végétaux même si leur fonction n'est pas toujours précisément connue, répondrait aux besoins d'une protection spécifique des espèces en fonction de leur environnement.

- Les plantes étant immobiles, elles auraient développé les HE pour constituer une défense chimique contre les micro-organismes. Elles repoussent les parasites et protègent la plante de certaines maladies grâce à leurs propriétés antifongiques, antivirales, antibactériennes ou insectifuges
- Elles se défendent également contre les autres plantes. Par exemple, *Erica canera*, la bruyère cendrée diffuse des substances télétoxiques afin d'éviter la poussée d'autres végétaux à proximité. (Une lande de bruyère ne comporte aucune autre végétation). (**LISBAICHIN , 2003**).
- Elles attirent au contraire les insectes pollinisateurs (fleurs parfumées, fécondées par certains insectes butineurs) et permettent ainsi à la plante d'assurer sa reproduction (**BENCHAA et BOUZADA, 2010**).

2.7. Caractères physico-chimiques

Selon **FESTY (2008)**, les H.E sont des liquides huileux mais pas gras, s'évaporent rapidement possédant des odeurs. Certaines sont particulièrement épaisses (visqueuses) et d'autres foncées, de couleurs variables du jaune au bleu, rouge, joli vert pâle et vert émeraude. Ce sont des essences très légères que l'eau non miscible avec lui, liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels.

Selon **TEUSCHER et al (2005)**, la composition d'une H.E est très complexe, les méthodes analytiques modernes rendent possibles la détection, l'identification. Jusqu'à présent, plus de 3000 constituants ont été isolés à partir des H.E.

MORO BURONZO (2009), les a nommées : des carbures monoterpéniques acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques ainsi des hydrocarbures sesquiterpéniques, des alcools sesquiterpéniques, des cétones et des époxydes sesquiterpéniques. Parallèlement à ces terpènes existe également des phénols, des asters et les acides.

TEUSCHER et al ., (2005) ajoutent, que les gouttelettes des H.E sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acide gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur lipophilie et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des H.E ainsi que leur oxydation à l'air.

2.8. Propriétés générales des huiles essentielles

Les plantes aromatiques forment des H.E qui ont des propriétés très variées à effet médicinal (**FRANTŠEK, 1992**). Ces huiles sont capables de lutter contre toutes sortes d'agents pathogènes comme, elles sont des anti-inflammatoires, des régulatrices d'action des organes (**LEFIEL, 2012**).

Elles ont aussi des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques par l'inhibition de la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures et la stérilisation des cultures.

Ainsi que des propriétés antivirales, cicatrisantes, circulatoires, digestives, antiparasitaires, régulation métabolique, antispasmodiques. Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil ou menthe de japon)

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles. Elles sont de ordre de 0, 1% à 1%, ceci qui explique le coût élevé de l'HE, à 1 exception de

quelques-uns, comme exemples le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence. L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarise, et sont plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétrique. Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Dans l'air c'est des propriétés désodorisantes et purifiantes. Ce sont les seules alternatives aux antibiotiques (**FESTY, 2008 ; MORO BURONZO, 2009**).

D'après **TEUSCHER et al ., 2005**, les H.E des arômes fascinant et particulièrement raffiné, rehaussent la saveur des plats.

2.9. Domaine d'application des Huiles Essentielles

FRANTŠEK (1992) et **WILSON (2010)**, ont montré que ces dérivés des plantes aromatiques sont d'une grande importance économique et sont commercialisés. On les emploie dans l'industrie pharmaceutique, la médecine, les industries alimentaires, cosmétologie, en parfumerie, en aromathérapie et en gastronomie.

Les H.E ont un gain dans l'industrie alimentaire puisqu'elles sont des substances bios. Elles sont utilisées dans la conservation des aliments. Ceci est dû à leurs vertus antimicrobiens importants contre plusieurs agents pathogènes tels que les moisissures. Elles sont utilisées aussi comme arômes alimentaires pour enrichir le goût ainsi que la couleur des aliments.

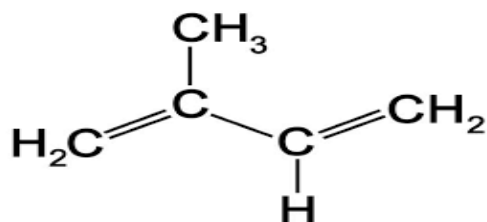
2.10 La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (**Sell, 2006**). Ces composés sont des molécules volatiles appartenant principalement à deux grandes familles de composées chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques (**VILA ET AL., 2002**).

2.10.1 Composition chimique

2.10.1.1 Les terpénoïdes :

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes (qui sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est (C_5H_X) (Figure n° : 1) avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, ... etc.) (**Akrout A (2004)**)

Structure chimique d'isoprène (C₅H₈)_n

2.10.2. Composition chimique des huiles essentielles du genre *artemisia*

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, obtenue par entraînement à la vapeur des sommités, a été étudiée par CPG-FID et CPG-SM. La détermination de l'HE correspond à 0,95ml pour 100 g de matière sèche. Quarante-six composés correspondant à 92,61% ont été identifiés. L'HE contient en majorité de l'acétate de cis-chrysanthényle (25,12%), du 2E,3Z-2-éthyliden-6-méthyl-3,5-heptadiène (8,39%), de l' α -thujone (7,85%), de l'acétate de myrtényle (7,39%), de la verbénone (7,19%), de la chrysanthénone (4,98%). La composition chimique est très spécifique pour cette plante algérienne. (AFNOR1993)(ABU-IRMAILEHAND B, AFIFI F (2003).)

2.10.3. La chémotype

Le profil chimiotypique d'une huile essentielle est établi au laboratoire par chromatographie en phase gazeuse ou spectrométrie de masse. Ces deux méthodes permettent de séparer et de quantifier les différentes substances chimiques présentes dans l'huile. Les fabricants ou importateurs d'huiles essentielles doivent également se conformer à la réglementation européenne REACH s'ils commercialisent plus d'une tonne par an dans les pays d'Europe. Ils doivent en particulier établir un dossier présentant les études menées pour déterminer les propriétés physico-chimiques et l'impact sur la santé et l'environnement de chaque huile essentielle. Certaines marques d'huiles essentielles proposent enfin des produits labellisés agriculture biologique. (HAOUARI, M., FERCHICHI, A.,2009)

2.11. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les végétaux renferment à l'intérieure de leurs cellules des essences, des sécrétions naturelles que l'on extrait pour obtenir les H.E. il existe plusieurs méthodes d'extraction qui se pratiquent selon la partie du végétal choisie (MORO BURONZO ,2009) parmi ces procédés les plus importantes on peut citer :

2.11.1. La distillation (hydro distillation)

C'est le procédé le plus ancien et le plus utilisé, nécessite l'emploi de trois cuves reliées par de minces tubes. Les parties choisies de la plante sont placées dans une première

cuve, traversée par la vapeur d'eau qui se charge au passage des huiles, elle passe à la deuxième cuve. Par la suite, la vapeur se refroidit et se condense en passant dans un compartiment pour arriver dans la troisième cuve où elle redevient liquéfiée (eau et essence), et les huiles se désolidarisent séparées de l'eau puisqu'elles sont légères et restent flottantes en surface gardant ses propriétés on les récupère après par la décantation. Le temps de la distillation varie selon l'essence concernée, cette méthode nécessite des températures élevées qui ne conviennent pas toujours aux fleurs plus fragiles. (ANSEL,2003 ; FESTY,2008 ; MORO BURONZO,2009 ; WILSON,2010).

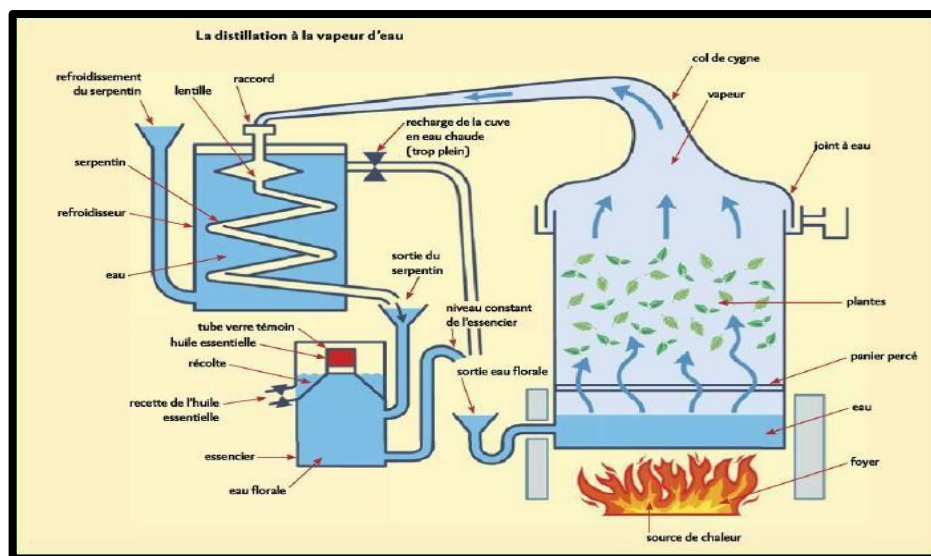


Figure 4: Extraction des huiles essentielles par hydro distillation (BENETEAUD,2011).

2.11.2. L'expression

Appelée aussi « pression à froid » ou « grattage », c'est un procédé très simple qui consiste à presser la partie de la plante concernée pour en récupérer les essences. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes qui renferment une quantité importante d'H.E. Cette opération mécanique vise à éclater les minuscules vésicules, les poches à essence, et pouvoir ainsi recueillir un mélange d'essence et d'eau. Dans le cas des agrumes on parle d'essence et non pas d'H.E, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur n'a eu lieu. (ANSEL,2003 ; FESTY, 2008 ; MORO BURONZO, 2009 ; WILSON, 2010).



Figure 5: Extraction des huiles essentielles par expression (BENETEAUD,2011).

2.11.3. L'enfleurage

C'est une ancienne méthode manuelle des essences, très coûteuse et complexe. Son principe est de disposer des plantes à température ambiante sur des plaques de graisse ou corps gras purifiés ont pour but d'absorber le parfum. Une fois la plaque bien imprégnée, la matière grasse sera séparée de l' H.E à l'aide d'un solvant tel que l'alcool. Cette méthode est pratiquée essentiellement pour les H.E fragiles, elle n'est plus tellement utilisée de nos jours mais les H.E obtenu par cette technique sont de grande qualité (ANSEL, 2003 ; MORO BURONZO,2009 ;BENETEAUD,2011).



Figure 6: Extraction des huiles essentielles par enfleurage (LISAN,2014).

2.11.4. L'extraction par solvant

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel, consiste à dissoudre les essences dans un solvant volatile et non pas dans l'eau tel que le benzène et l'éthanol. Elle est utilisée pour les fleurs délicates qui ne supportent pas la chaleur de la distillation, après être macérées dans le solvant, se charge des molécules odorantes en dissolvant les composantes parfumées

des plantes. Pour récupérer l'H.E on élimine le solvant par évaporation. On obtient ce qu'on appelle la concrète, un parfum cireux, demi solide.

Après un lavage à l'alcool, dans des batteuses pour séparer les cires végétales, un filtrage et une distillation, la concrète donnera l'absolue ou l'essence d'absolue, très prisée des parfumeurs. L'intensité et la finesse de son parfum est incomparable, c'est l'essence la plus coûteuse. L'H.E obtenue peut garder des traces du solvant utilisée dans l'opération (2 ou 3%), H.E. est utilisée en parfumerie, pas en thérapeutique. le résultat est appelé absolu comme le montre l'annexe 01. (FESTY, 2008 ; MORO BURONZO, 2009 ; WILSON, 2010 ; BENETEAUD, 2011).

2.11.5. L'extraction par CO₂ supercritique

Il s'agit d'une technique moderne, très coûteuse : du dioxyde de carbone à haute pression est employé pour faire exploser les poches végétales contenant l'essence qu'il est possible de les récupérer. (MORO BURONZO, 2009) passant dans un courant de gaz carbonique supercritique (intermédiaire entre l'état gazeux et liquide) à température basse, moins de 40° C et sous pression élève, plus de 75 bars. Cette méthode a beaucoup d'avantages, elle est propre, respecte l'environnement, préserve la qualité même de l'essence dans l'état exacte dans la nature, permet d'obtenir un H.E complète (FESTY ,2008 ; BENETEAUD, 2011).

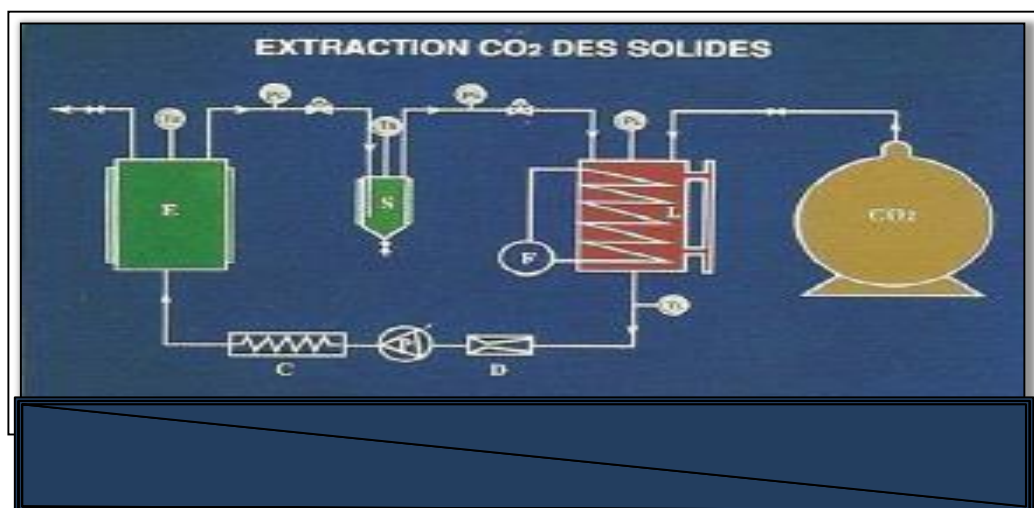


Figure 7: L'extraction par CO₂ supercritique (BENETEAUD,2011).

2.11.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche. Basée sur le principe suivant :

Dans la cuve, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée, les cellules se distendent et les particules d'essences se libèrent. ces dernières sont alors vaporisées et décondensées dans le serpentin réfrigéré et la récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydro distillation (**WILSON, 2010 ; LISAN,2014**).

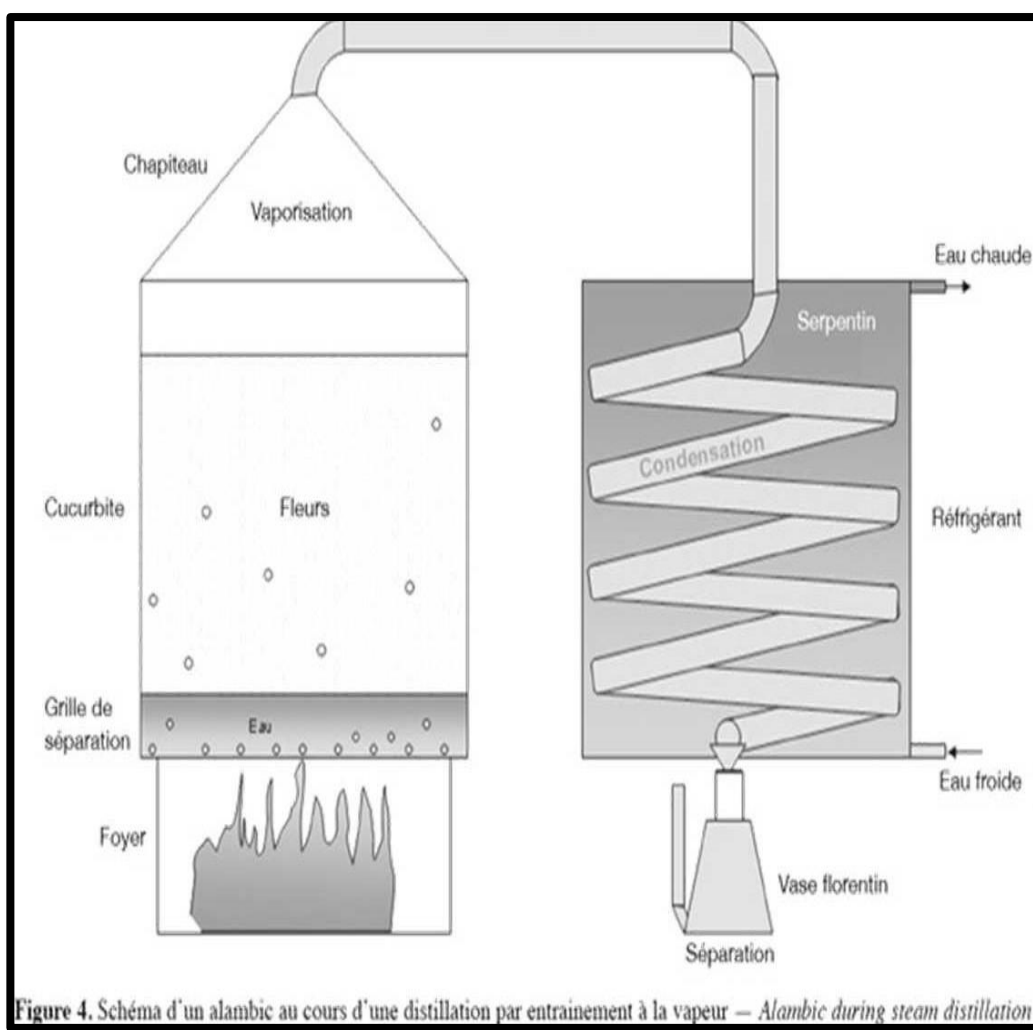


Figure 8: L'extraction par entraînement à la vapeur sèche. (BENETEAUD, 2011).

Partie

expérimentale

3.1. Présentation de la zone d'étude

3.1.1. Situation géographique de la wilaya de Tiaret

La wilaya de Tiaret est située au Centre-Nord-Ouest du Pays entre la chaîne de l'Atlas Tellienne au Nord et la chaîne Atlas saharienne au Sud, c'est une zone de contact entre le Nord et le Sud, dans l'Ouest des hautes plaines. Généralement son relief est constitué de zones montagneuses au Nord, de hauts plateaux au centre et des espaces semi-arides au Sud. Elle est délimitée entre 0.34° à 2.5° de longitude Est et 34.05° de latitude Nord à une altitude de 998 à 1080 m.

Elle est délimitée au Nord par les wilayas de Relizane et Tissemsilt, à l'Ouest par les wilayas de Mascara et Saida, à l'Est par la wilaya de Djelfa et Média, au Sud et Sud-Est par les wilayas de Laghouat et El Bayadh (**fig.09**).

Le territoire de la wilaya occupe une superficie totale de 208 793 Km². Elle englobe deux parties bien distinctes ;

- la région agricole au Nord, où la céréaliculture se trouve associée à l'élevage d'une superficie de 1,609,900 hectares ;
- la zone steppique au Sud, où l'élevage extensif est pratiqué sur 142.966 hectares
- Ainsi que les zones forestières qui occupent 142.422 hectares. (MIARA, 2008 in MIARA,

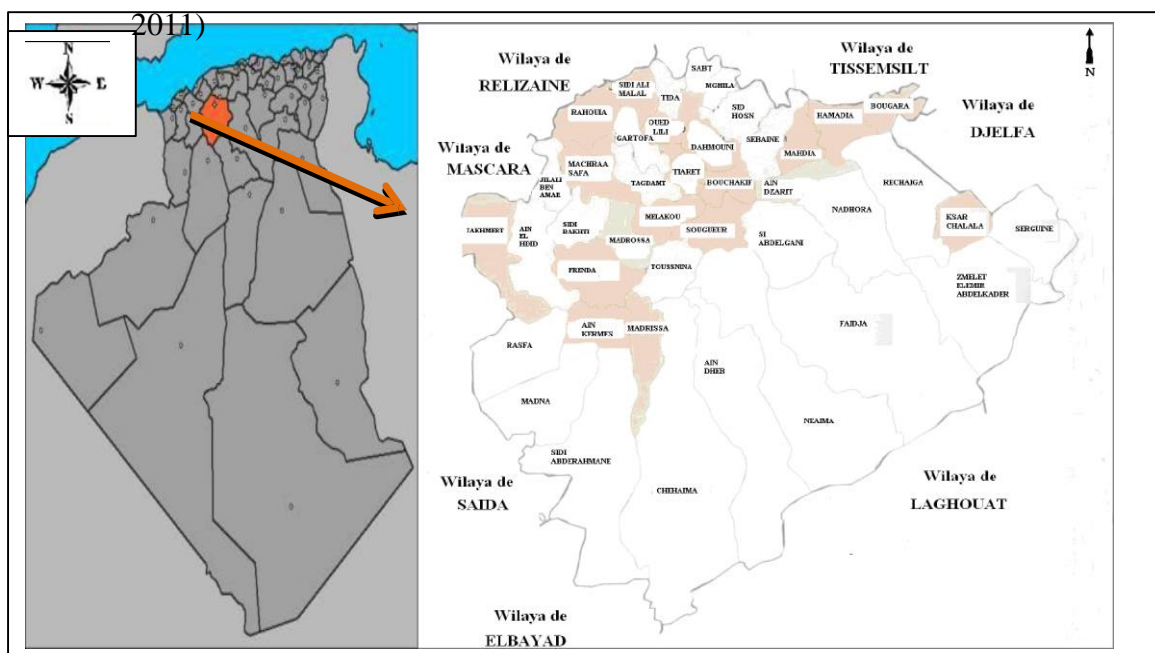


Figure 9: La situation géographique de la wilaya de Tiaret (MIARA, 2011).

3.1.2. Climat régional

Le climat de la région de Tiaret se caractérise par deux périodes distinctes qui expriment le contraste important qui sévit durant l'année à savoir, un hiver rigoureux, accompagné souvent par des chutes de neige et un été chaud et sec. Ces deux périodes sont séparées par des saisons intermédiaires instables : le printemps et l'automne.

La région de Meghila est située à 50 km au nord-ouest du chef-lieu de wilaya de Tiaret (**Fig.010**). Elle se trouve à une altitude de 463 m et jouit d'un climat méditerranéen avec un été chaud et sec. Elle s'étend sur une superficie de 41161 hectares.



Figure 10: Lieu de récolte des échantillons de Thym ([www .GoogleMaps.com](http://www.GoogleMaps.com)).

chapitre 04

Matériels et méthodes

3.2. Objectif de travail

Le but de notre étude se résume comme suit :

- L'extraction dès l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* par la méthode d'hydro distillation
- L'étude de quelques paramètres physico-chimiques et chimiques et leurs activités (effets) antibactériennes vis-à-vis des certaines souches (*Escherichia Coli* « E.Coli » , *Staphylococcus Aureus* « S.A » et *Pseudomonas Aeruginosa* « P.A ») selon un Protocole bien déterminé dans l'organigramme suivant.

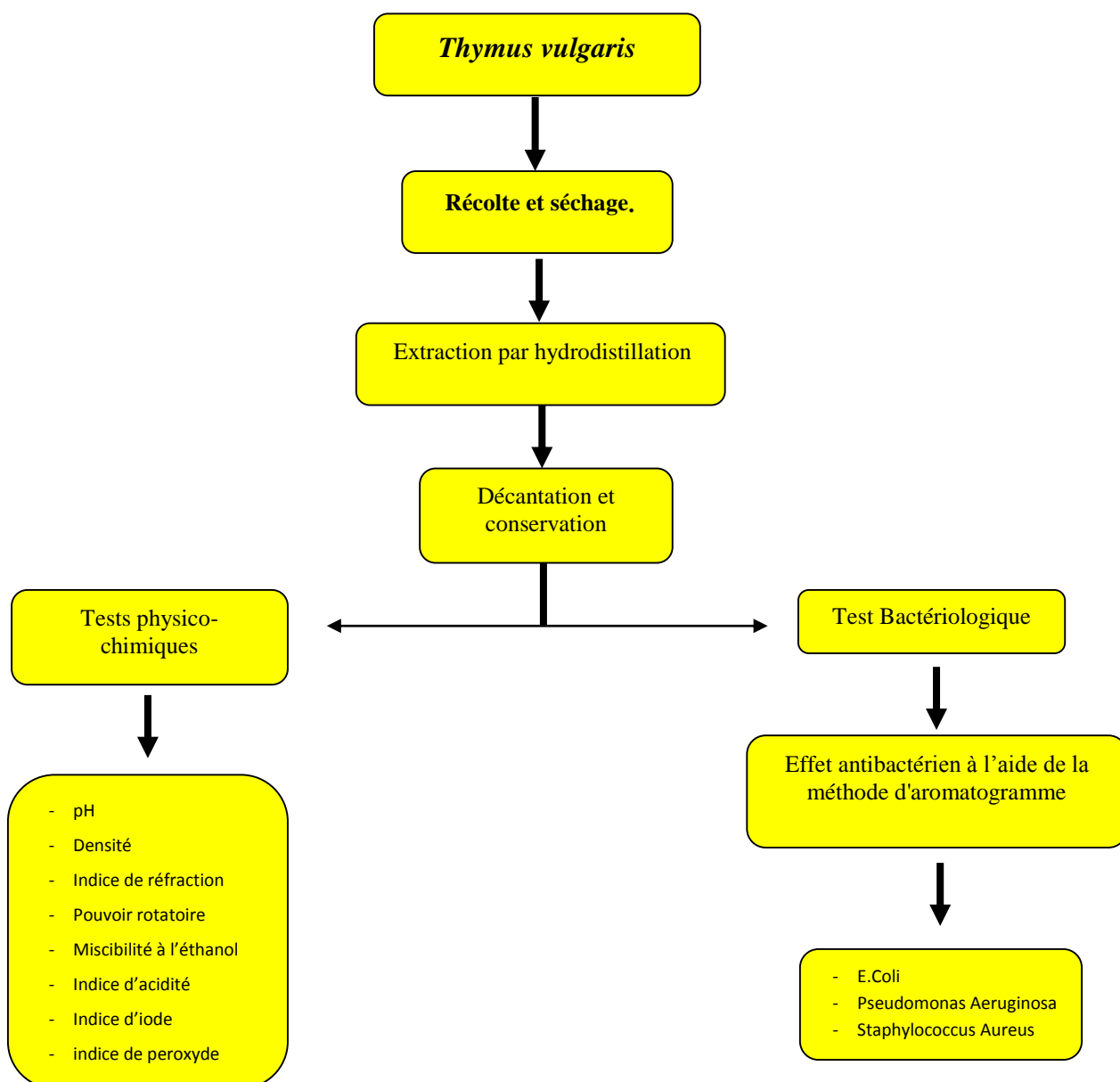


Figure 11: *Protocole expérimental.*

3.3. Lieu et période d'étude

L'extraction, l'étude de l'activité antibactérienne et les analyses physico-chimiques des huiles essentielles des touffes de *Thymus vulgaris* ont été réalisées au laboratoire des Technologies Alimentaires et de Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret. Elles se sont déroulées entre le 22 février et le 30 Mai 2021.

3.4. Matériels

3.4.1. Matière Végétale

Les touffes de *Thymus vulgaris* ont été récoltées au niveau de la commune de Méghila (wilaya de Tiaret). Les feuilles ont été fraîchement récoltées au mois de septembre 2020 sur des touffes spontanés. Après un séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et de l'humidité (fig. 12).



Figure 12: Séchage et pesée des touffes du Thym

3.4.2. Matériels au laboratoire

3.4.2.1 Verreries et appareillages

Les différentes verreries et appareillages utilisées sont mentionnées dans le tableau suivant;

TABLEAU 2: Verreries et appareillages utilisés.

Verreries et Autres Appareillages	
- Ampoule à décantation	- Hydro distillateur
- Ballon	- Bec Bunsen
- Barreau magnétique	- Autoclave
- Béchers	- Agitateur
- Burette	- Balance analytique
- Flacons	- Cuve
- Lance métallique	- Incubateur
- Micropipette	- Réfractomètre
- Papiers watt man	- Spectrophotomètre UV
- Pipette de Pasteur	- Etuve
- Pince	- Vortex
- Tubes à essais	- pH- mètre
- Verre de montre	- Pycnomètre
- Cristalliseur	- polarimètre
- Pissette	

3.5. Méthodes

3.5.1. Extraction des huiles essentielles

3.5.1.1. Montage d'extraction

D'après **BENETEAUD, (2011)** L'extraction des H.Es des touffes de *Thymus vulgaris* a été réalisée à l'aide d'un hydro distillateur de type Clevenger. Il est constitué d'une plaque chauffante, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur liée à un réfrigérant (**fig.13**).



Figure 13: Dispositif d'hydro distillation.

3.5.1.2. Procédé d'extraction

Selon **BURT, (2004)** le procédé d'extraction s'applique selon le dispositif présent : Cinquante grammes (50g) de touffes de *Thymus vulgaris* dans un ballon en verre, additionnées à 400 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, suivi par l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position verticale pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps nécessaire de cette extraction est d'environ trois à quatre heures.

Le distillat obtenu est récupéré dans un bécher mit d'une ampoule à décanter. Par la suite, le distillat est recueilli dans un tube à essai et les huiles essentielles récupérées dans un tube à essai.

3.5.1.3. Conservation de l'huile

Selon **BURT, (2004)** la conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cette raison que nous les avons conservées dans une température voisine de 4°C, dans un tube en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier Aluminium).

3.5.1.4. Détermination du rendement d'extraction

TOURE (2016), définit le rendement en huile essentielle (Rd), comme étant le rapport entre le poids de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la plante séchée. Il est donné par la formule suivante : $Rd \% = (m_1/m_0) * 100$

Rd: Rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%)

M₁ : la masse en gramme d'H.E

M₀ : la masse en gramme de la plante séchée.

3.5.2. Paramètres physico-chimiques des huiles extraites

3.5.2.1. Détermination du pH

Le pH mesure l'activité chimique des ions H⁺ en solution. Son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH- mètre (**Garcia, 1968**).

3.5.2.2. Densité spécifique

La densité de l'HE correspond au rapport entre la masse d'un certain volume de l'huile et la masse du même volume d'eau pris à la même température (**NF T 75-111,1998**).

La mesure de la densité de l'HE a été réalisée à l'aide d'un pycnomètre et calculée à partir de la formule suivante selon la norme (**AFNOR, 2000**).

$$D_{20} = m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

D₂₀ : Densité spécifique à 20°C.

m₀ : Masse du pycnomètre vide (g).

m₁ : Masse du pycnomètre rempli l'eau distillée (g).

m₂ : Masse du pycnomètre rempli d'huile (g).

3.5.2. 3. Indice de réfraction

Cet indice permet de mesurer le pouvoir réfringent des huiles à 20°C au moyen d'un réfractomètre par rapport à la raie (D) du sodium ($\lambda=589\text{nm}$) (NF T 75-112 ,1998).

Nous avons effectué la mesure de l'indice de réfraction de l'HE par la lecture directe sur le réfractomètre à température fixée à 20°C. Pour cela, on a opéré selon la méthode de (Solène, 2012):

- Etalonner l'appareil à l'aide d'une substance d'indice de réfraction connu à 20°C (avec l'eau distillée dont son indice de réfraction est égale 1.333).
- Nettoyer les prismes et déposer quelques gouttes d'HE entre les deux faces des prismes fixes.
- Regarder dans l'oculaire et tourner le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule.
- Supprimer les irisations pour obtenir une ligne nette entre les deux zones.
- Ajuster les deux zones claire et sombre et lire directement l'indice de réfraction.

3.5.2..4. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la propriété que possèdent certaines substances chimiques de dévier le plan de vibration de la lumière polarisée. Cette déviation est due à la présence d'un carbone asymétrique dans la molécule. Le pouvoir rotatoire ou rotation spécifique d'un échantillon mesurée à 20°C, en utilisant la raie D du sodium (Na) $\lambda=589\text{nm}$ comme source lumineuse, est exprimé par la loi de Biot (NF T 75-113,1998).

$$[\alpha]_D^{20} = \alpha / L \times C$$

$[\alpha]^{20}$: Pouvoir rotatoire à 20°C .

α : Valeur de l'angle de déviation de la lumière polarisée lue sur le polarimètre.

L : Longueur de la cellule (dm).

C : Concentration de la solution (g/l).

La mesure de pouvoir rotatoire d'une solution éthanolique (0.20g d'huile dans 100ml d'éthanol) a été effectuée à l'aide d'un polarimètre muni d'une cellule de 1dm de longueur. L'angle de rotation observé est lu directement sur l'appareil, ce qui nous a permis de déterminer la valeur du pouvoir rotatoire de l'HE à l'aide de l'équation citée précédemment (Ouis, 2015).

3.5.2.5. Miscibilité à l'éthanol

Une HE est dite miscible à un volume d'éthanol de titre alcoométrique déterminé à une température de 25°C; lorsque le mélange de un (01) volume d'huile essentielle considérée avec V volume de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre ; jusqu'à un total de 20 volumes (**NF T 75-101,1999**).

Dans un erlenmeyer contenant 1ml d'HE, on verse de l'éthanol à 70% par fraction de 0.2 ml à l'aide d'une burette de 20ml en agitant après chaque ajout. Lorsqu'une solution limpide est obtenue, on note le volume d'alcool ajouté (**AFNOR ,2000**).

3.5.3. Paramètres chimiques

3.5.3.1. Indice d'acidité

L'indice d'acide est le nombre de mg de potasse (KOH) nécessaires pour neutraliser des acides libres renfermés dans un 1 g d'HE (**ISO : 10519,1997**).

Dans un ballon, on introduit la prise d'essai (1g d'HE), puis on ajoute 5 ml d'éthanol à 96 % et environ 5 gouttes d'indicateur coloré (Phénophtaléine). Le mélange ainsi formé est titré par une solution alcoolique de potasse (KOH) 0.1 N, jusqu'à obtention d'une couleur rose (**AFNOR, 2000**).

L'indice d'acide est déterminé par la formule suivante (**Ouïs, 2015**) :

$$IA = V \times C \times 5611 / m \text{ avec}$$

Ia : Indice d'acide.

V : Volume de la solution de KOH utilisée pour le titrage (ml).

C : Concentration de la solution de KOH (mole/l).

m : Masse de la prise d'essai (g).

3.5.3.2 Indice d'iode

L'indice d'iode est le nombre de g d'iode que peuvent fixer les solubles liaisons par 100g de substance. Quel que soit le réactif halogène utilisé, le principe est le même (**NT ISO 3961, 1996**).

On introduit 1g d'HE, 20ml de tétrachlorure de carbone 0.1N et 25 ml d'une solution diode (1N) dans un erlenmeyer agité pendant 2h. Après ce temps, 20 ml d'une solution d'iodure de potassium à 50% et 20 ml d'eau distillée sont ajoutés. Ensuite, l'excès d'iode est titré par une solution de thiosulfate de sodium 0.1N en présence d'empois d'amidon 0.5% comme indicateur coloré. Un essai à blanc a été réalisé dans les mêmes conditions citées précédemment (**NT ISO 3961, 1996**).

L'indice d'iode est calculé par la formule suivante (**Oui, 2015**) :

$$I_i = N_T (V_0 - V_1) / m$$

I_i : Indice d'iode ;

N_T : Normalité de solution de thiosulfate de sodium.

V₀ : Volume de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée pour l'essai à blanc (ml).

V₁ : Volume de la solution de Na₂S₂O₃ utilisé pour la détermination d'I_i (ml).

m : Masse de la prise d'essai (g).

3.5.3.3 Indice de peroxyde

On définit l'indice de peroxyde comme étant le nombre milliequivalent d'oxygène par kg de corps gras et oxydant l'iode de potassium avec libération d'iode (**NT. 118. 22, 1996**).

On pèse 2g d'HE dans un flacon de 100 ml puis 10 ml de chloroforme sont ajoutés. 15 ml d'acide acétique pur et 1 ml d'une solution d'iodure de potassium saturée sont additionnés par la suite. Après avoir fermé le flacon, on laisse reposer 5 min à l'obscurité et on ajoute 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon 0.5%, L'iode libéré est titré par la suite avec une solution de thiosulfate de sodium 0.01N. Parallèlement, un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions (**AFNOR, 2000**).

L'indice de peroxyde est donné par la formule suivante :

$$I_p = V_0 - V / P \cdot 10$$

I_p: Indice de peroxyde.

V: Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai (ml).

V₀ : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc (ml).

P : Prise d'essai (g).

3.5.4. Test microbiologique

3.5.4.1. Souches bactériennes testées

Le choix des bactéries a porté sur trois souches isolées et qui sont fréquentés en pathologie animale et humaine. Ces espèces sont souvent connues par leurs résistances naturelles à divers agents antimicrobiens. Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries références:

Des bactéries Gram négatif : *E.Coli ATCC (25922)* et *P.A ATCC (27853)*.

Des bactéries Gram positif : *S.A ATCC (25923)*.

3.5.4.2 Milieux de Cultures utilisées

D'après **GACHKR et al (2006)**, selon les souches bactériennes et les méthodes employées, les milieux de cultures utilisés sont les suivants (**Annexe 02**) :

Milieux de cultures sélectifs: **Chapman** : La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans l'huile. La gélose de Mac Conkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Salmonella, des Shigella, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale.

Mueller Hinton : est le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Ce milieu est préparé selon la méthode suivante : on pèse avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente 29.4 g dans un ballon en y ajoutant 700 ml d'eau distillée (selon les flacons utilisés). Le mélange est chauffé et agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution de cristaux. Le milieu MH est ensuite reparti dans des flacons remplis $\frac{3}{4}$ avant d'être mis dans des autoclaves pendant 15 min à 121°C avec une pression de 1 bar.

3.5.4.3. Préparation des suspensions bactériennes

3.5.4.3.1. Revivification des souches

La revivification se fait par l'ensemencement de ces souches sur des milieux spécifiques:

- Milieu Chapman pour *S.A* et *P.A*

- Milieu Mac Conky pour *E. coli*.

Incubées pendant 24 heures pour l'obtention d'une culture jeune.

4.5.4.4. Préparation des aliquotes et standardisation

DURAFFOUR et *al.*, (1990) signalent que des cultures jeunes de 18 heures, sont préparées par l'ajout de quelques colonnes bactériennes à 9 ml d'eau physiologique (**Annexe03**) mit dans des cuves pour la lecture à l'aide d'un spectrophotomètre (**Annexe 04**).

Un spectrophotomètre a été utilisé pour contrôler l'exactitude de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm, l'absorbance doit être comprise entre 0.08 à 0.13 pour une charge microbienne entre 10^7 et 10^8 germes / ml.

Une dilution par l'eau physiologique doit être effectuée pour standardiser les suspensions bactériennes à 10^6 germes / ml.

4.5.4.5. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

Selon **BENZEGGOUTA**, (2005) et **PIBIRI**,(2006) l'aromatogramme ou méthode de diffusion sur milieu gélose est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton).

L'ensemencement des souches 1 ml est réalisé en surface du milieu gélosé (Mueller Hinton) préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 30 minutes. Des disques stériles de diamètre de 6 mm de papier wattman imprégnés différentes quantités d'huiles essentielle (10 µl , 20 µl ,25 µl, 30 µl) d'HE sont déposés dans les boîtes de Pétri en plusieurs répétitions. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 2 heures puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur de la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré en mm.

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition qui varie selon la méthode utilisée (**Annexe 05**).

Ensemencement de la
gélose en

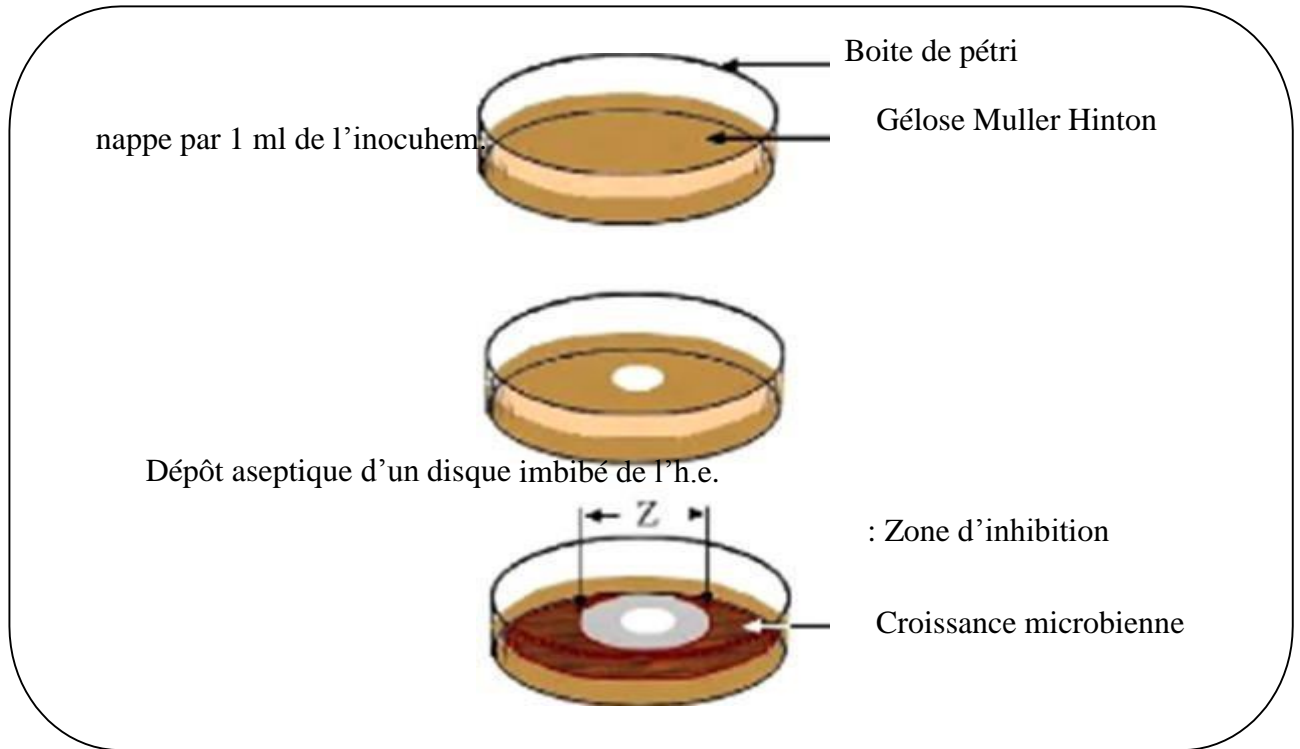


Figure 14: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîtes de Pétri (ZAIKA, 1988)

Chapitre 05

Résultats

et discussions

4.1. Résultats et interprétations

4.1.1. Calcul du rendement des huiles essentielles obtenues

Les calculs sont faits à partir des mesures de la masse des plantes séchées et la masse d'H.E obtenues. Les résultats sont figurés dans le **tableau 03**.

TABLEAU 3: le rendement des huiles essentielles obtenu par hydro distillation.

	Thym		
	m _o	m ₁	R 1
Essai N° 1	50 g	0,5342	1,0684%
Essai N° 2	50 g	0,7723	1,5446%
Essai N° 3	50 g	0,7256	1,4512%
Essai N° 4	50 g	0,8636	1,7272%
Essai n° 5	50 g	0,8372	1,6744%
Somme	250 g	3,7329	7,4658%
		moyenne	1,49%

Les résultats montrent un rendement moyen du Thym de l'ordre de 1,49%.

Ce paramètre est influencé par plusieurs facteurs notamment l'interaction avec l'environnement (les types de climats et sols), La période de récolte, traitement après récolte ainsi que la durée de stockage du matériel végétal. Ils peuvent entraîner de profondes modifications sur l'essence **BOUZIDI, (2016)** et la méthode d'extraction, le solvant d'extraction, le temps d'extraction.

4.1.2. Résultats des paramètres physico-chimiques

Les résultats des paramètres physicochimiques des huiles essentielles extraites à partir du Thym sont regroupés dans le tableau suivant :

TABLEAU 4 : Paramètres physicochimiques d'huile essentielle de Thym

Paramètres physicochimiques	Résultats
Densité spécifique	0.91
pH	6.30
Pouvoir rotatoire	-1.60
Miscibilité	1VHE/6VEthanol à70°
Indice de réfraction	1,513
Indice de l'acidité	3.004
Indice de peroxyde	7600
Indice d'iode	160

4.1.2.1. Densité spécifique

La densité spécifique trouvée dans notre étude est de **0.91** d'après tableau n°06 qui est conforme aux normes (AFNOR, 2000). Elle est identique à celle obtenue par **Garnero (1991) et Naves (1974)** qui ont trouvé des valeurs de l'ordre de **0.9219 et 0.917** respectivement pour la même espèce de Thym.

La densité spécifique est parmi les caractères physicochimiques généralement utilisés dans la classification des huiles essentielles mais elle ne peut pas être utilisée à elle seule pour l'identification des huiles essentielles (**Gildo, 2006**).

4.1.2.2 pH

L'HE de Thym est légèrement acide (pH=6.3) (**Tab. 04**). Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle (effets antibactériens) par conséquent. Ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes, ce qui permettra à cette huile essentielle de jouer le rôle de conservateur dans les produits alimentaires (**Hadouchi et al., 2009**).

Moufida et Marzouk (2003), ont attribué les variations des valeurs du pH aux variétés utilisées, des conditions climatiques, à la région et l'état de maturité de la plante.

4.1.2.3. Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire de notre huile est de **-1,6 (Tab.04)**. Il est situé dans l'intervalle donné par **Garnero (1991)** qui est de **-5 à 0** et y est très inférieur à celui trouvé par **Hadouchi et al (2009)** qui est de **+3,4**.

Cette valeur du pouvoir rotatoire montre que notre huile essentielle est lévogyre. Cette déviation est due à la présence d'un carbone asymétrique dans la molécule (**Garnero ,1991**)

L'analyse du pouvoir rotatoire indique si l'huile est dextrogyre ou lévogyre ce qui est un caractère important pour connaître la pureté d'une huile essentielle (**AFNOR, 2000**).

4.1.2.4. Miscibilité

La miscibilité à l'éthanol à 70°C trouvée de 1VHE/6Vethanol selon tableau n°04 est supérieure à celle donnée par **Garnero (1991)** qui est de 0,6VHE/1VEthanol.

D'après **Ouïs (2015)**, notre huile est plus soluble.

4.1.2.5. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre la célérité de la lumière dans le vide et la célérité de la lumière dans le milieu considéré. Ce rapport indique la capacité des H.Es à réfléchir la lumière (**Kanko et al., 2004**). L'indice de réfraction est également un critère important de pureté de l'huile (**Ollé, 2002**).

L'indice de réfraction obtenu dans notre étude est de 1,513. Il est comparable à celui trouvé par **Garnero (1991)** et **Naves (1974)** qui est de 1,499 et 1,491 respectivement.

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acide gras, de leurs degrés d'insaturation et de température. Il varie essentiellement avec la teneur en mono terpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes donnera un indice élevé des valeurs de réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (**AFNOR, 2000**).

4.1.3. Résultats des paramètres chimiques

4.1.3.1. Indice de l'acidité

L'indice d'acidité trouvé est de 3,004 (**Tab. 04**), il est supérieur à celui donné par **Garnero (1991)** qui est de 1,458 et très inférieur à celui donné par **Naves (1974)** qui est de 8,4. **Garnero(1991)** a trouvé dans son étude sur l'huile essentielle de *T. vulgaris L.* de la région de Tlemcen, que l'indice d'acide est de 2,85. Ses résultats sont proches aux valeurs trouvées dans notre étude. L'indice d'acide est un critère chimique de fraîcheur et de pureté de l'huile, il nous renseigne sur son degré d'altération (**Ollé, 2002**).

L'augmentation de l'indice d'acide est principalement dûe à l'activité enzymatique causée par les dommages tissulaires de la plante (**Boskou, 1996**).

Un indice d'acide élevé pour les HE peut être bénéfique si ces essences sont ajoutées à un produit alimentaire possédant des matières grasses et des acides gras libres oxydables. Cet effet stabilisateur se manifeste dans la mesure où l'oxydation affecte plutôt les acides libres de l'essence utilisée comme conservateur et protège ou limite donc l'oxydation des acides gras libres insaturés des produits alimentaires ce qui améliore à la fois la qualité nutritionnelle et organoleptiques de ces produits (**Ouis,2015**).

Gutiérrez et al (1999) affirment qu'à la fin du stade fleuraison, les plantes vont subir une augmentation de l'activité enzymatique (enzyme lipolytique), et ils deviennent plus sensibles aux infections pathogènes et aux dommages mécaniques.

La différence d'acidité peut être due aux conditions climatiques et au processus de floraison des plantes (**Messaid, 2008**).

4.1.3.2. Indice de peroxyde

L'Indice de peroxyde obtenu dans notre étude est de 7600 qui est inférieur à celui trouvé par **Garnero (1991)** qui est de 8000. Notre résultat trouvé indique la présence d'une quantité de peroxyde dans huile essentielle de thym (*Thymus vulgris L.*)(**Ouis, 2015**).

L'augmentation correspondrait à la phase d'initiation de l'oxydation, et la diminution de l'indice de peroxyde serait la conséquence de la décomposition des peroxydes pour la formation des produits secondaires de l'oxydation (aldéhydes, cétones et composés carbonylés); responsables du goût et des odeurs rances (**Hadouchi et al., 2009**).

4.1.3.3. Indice d'iode

L'indice d'iode trouvé dans notre étude est de 160. Il est largement inférieur à la valeur donné par **Garnero (1991)** qui est de 502.

Haddouchi et al (2010) ont montré que l'indice d'iode de l'huile essentielle fraîchement extraite de thym a une valeur de 176.24, qui est élevé par rapport à notre résultat obtenu. Cette différence peut être expliquée par l'origine botanique, la variété utilisée. Les valeurs élevées de l'indice d'iode montrent que cette huile contient surtout des acides gras insaturés à longueur de chaîne moyenne. Ces valeurs prouvent que les H.Es de *Thymus* présentent les bonnes qualités d'une huile comestible (**Boskou, 1996**).

La variation des indices chimiques :, indice d'acide, et indice d'iode et indice de peroxyde a analysé est due à l'HE, la qualité de l'HE, la période de récolte, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé et la méthode d'extraction employée (**Solène, 2012**).

4.1.4. L'activité antibactérienne des huiles essentielles

4.1.4.1. Thym

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du Thym en utilisant la méthode d'aromatogramme (diffusion sur disque), nous a permis de démontrer l'effet bactéricide de cette huile essentielle envers les bactéries Gram(-) *E.COLI* (tableau 05 et fig.15).

TABLEAU 5: L'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie E.COLI.

µl	10	20	25	30
mm	23,4	23	28,25	29

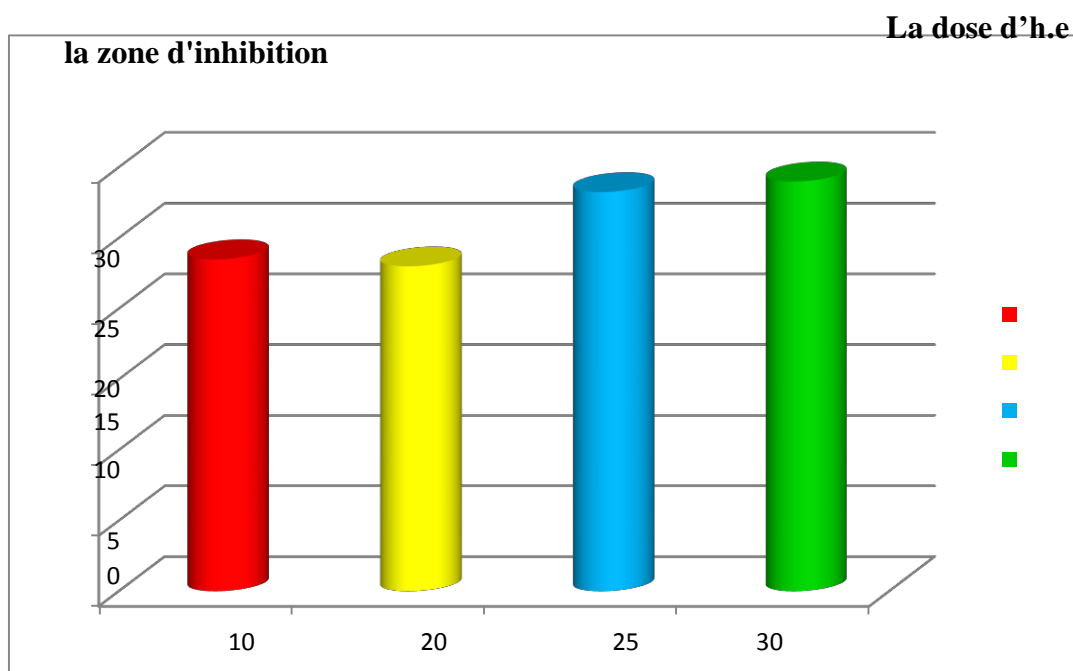


Figure 15: *Effet inhibiteur de H.E du Thym sur la ouche E.coli .*

Il en ressort que la zone d'inhibition est très importante avec des valeurs moyennes

oscillant entre 23,4 mm pour la dose 10 µl , et 29 mm pour la dose 30µl.

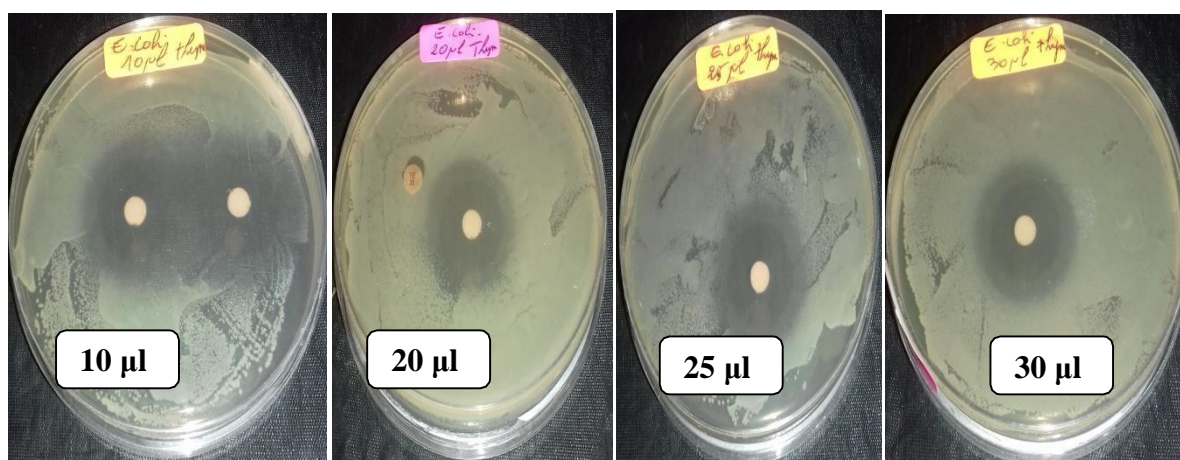


Figure 16: *La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'E. Coli suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.*

Pour mieux démontrer l'efficacité de l'huile extraite, la comparaison avec un disque antibiogramme témoin semble être utile. Il s'agit de la tétracycline. Ce dernier a présenté un halo d'inhibition d'un diamètre moyen de l'ordre de 2mm alors que notre huile extraite a présenté un halo de 23mm pour la dose 20 µl .

La zone d'inhibition

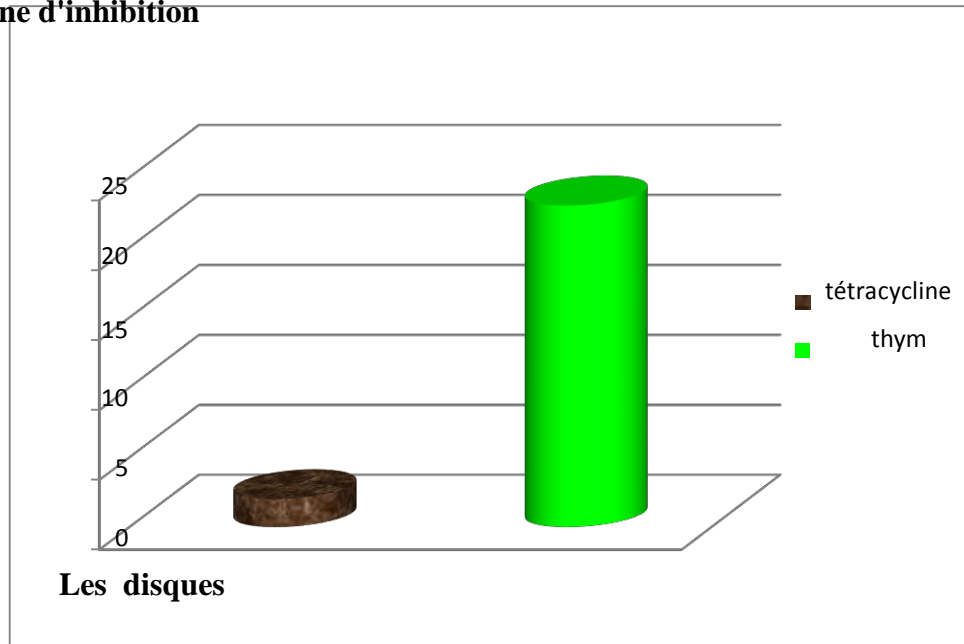


Figure 17: Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique tétracycline avec l'E. Coli.

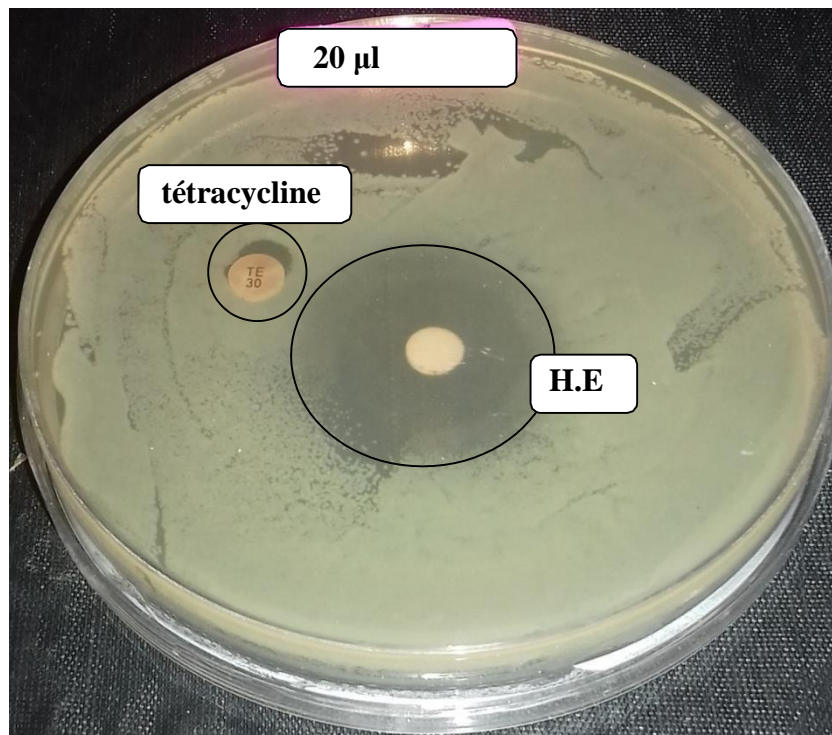


Figure 18: Comparaison entre l'effet inhibiteur d'H.E du thym et le disque antibiotique tétracycline sur 'E.Coli. Pour la deuxième bactérie « Staphylococcus Aureus », les tests réalisés ont montré une efficacité très importante de l'HE du Thym envers ces bactéries gram (+), les valeurs des diamètres moyennes de la zone d'inhibition varient entre 33,5 mm et 41,75mm.

TABLEAU 6: l'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie Staphylococcus Aureus suivant différentes doses.

μl	10	20	25	30
mm	33,5	36,25	34,75	41,75

Les **fig.19** et **20** explicitent mieux l'importance de l'efficacité de l'huile pour les différentes doses utilisées.

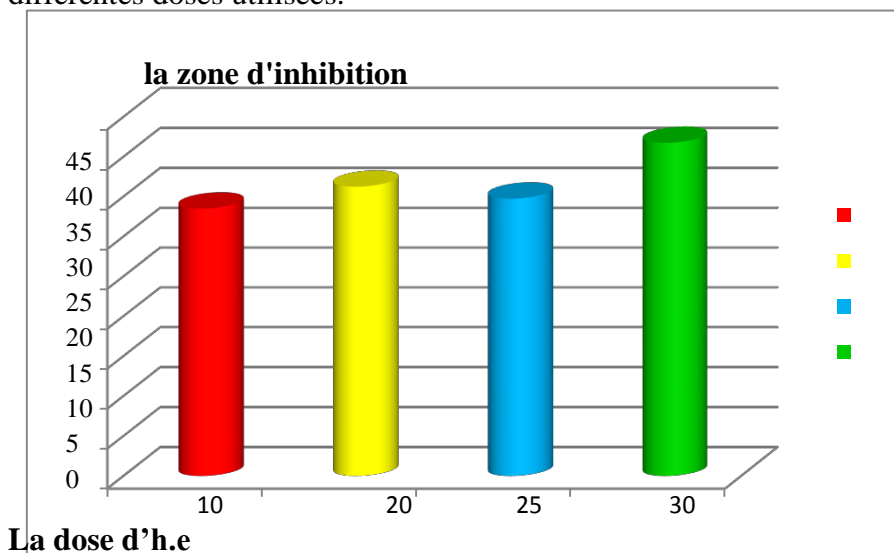


Figure 19: Effet inhibiteur d'H.E du Thym sur la souche S.A.

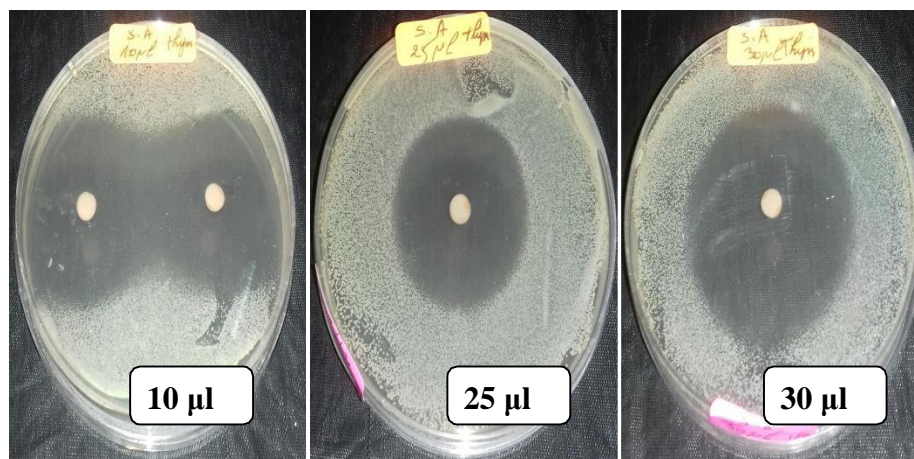


Figure 20 : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de S.A suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.

Une comparaison entre l'effet antibactérien de l'HE de *Thymus vulgaris* et le témoin tétracycline, montre que les staphylocoques sont plus sensibles à l'HE que le témoin (fig. 21 et 22)

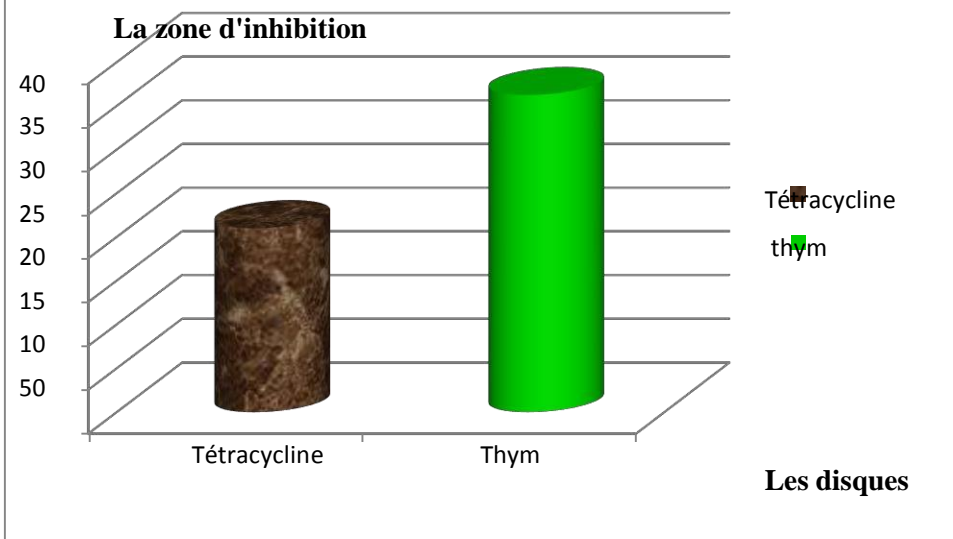


Figure 21: Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du Thym et celui du disque antibiotique avec la souche S.A.

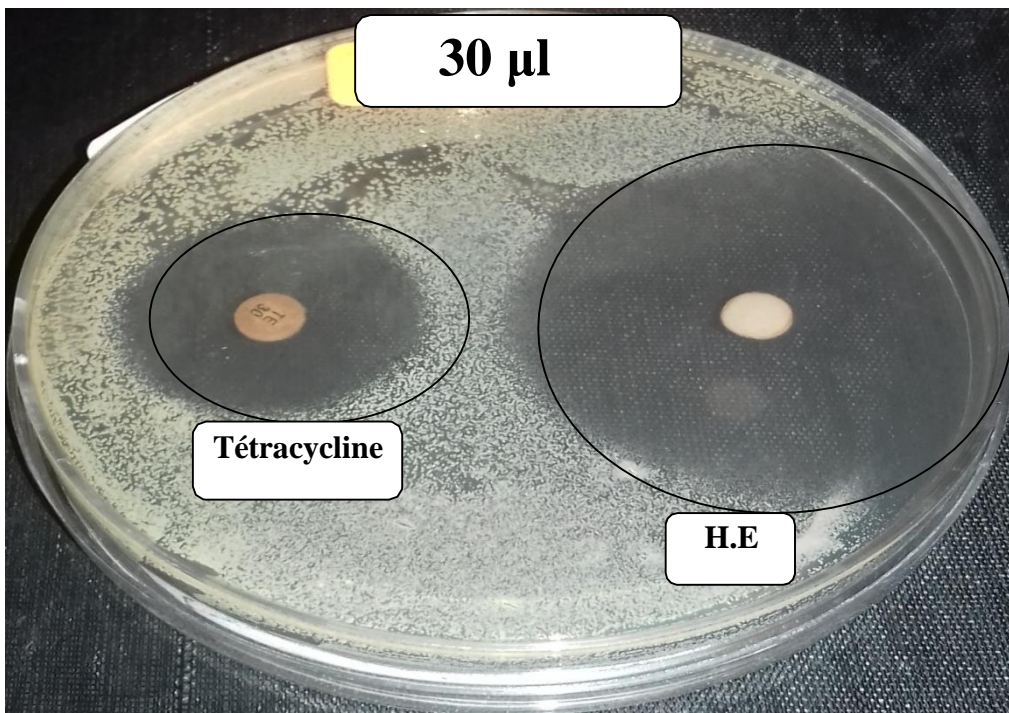


Figure 22: Comparaison entre la zone d'inhibition d'H.E de thym et le disque antibiotique tétracycline sur le S.A.

Les résultats obtenus, nous ont incité de tester l'efficacité de cette huile sur une bactérie plus résistante, il s'agit de *Pseudomonas Aeruginosa*.

La lecture du **tableau 07** et les **fig. 23** et **24**, démontre que la bactérie *P.A* est moins sensible à l'huile essentielle du Thym, il en ressort que la dose 30 μl est la dose la plus efficace contre cette bactérie, avec un effet bactériostatique.

La valeur moyenne minimale des zones d'inhibition est de l'ordre de 7,5 mm, elle est enregistrée pour la dose 10 μl .

TABLEAU 7 : l'effet antibactérien d'H.E du Thym sur la bactérie P.A.

μl	10	20	25	30
mm	7,5	11,75	9	13,75

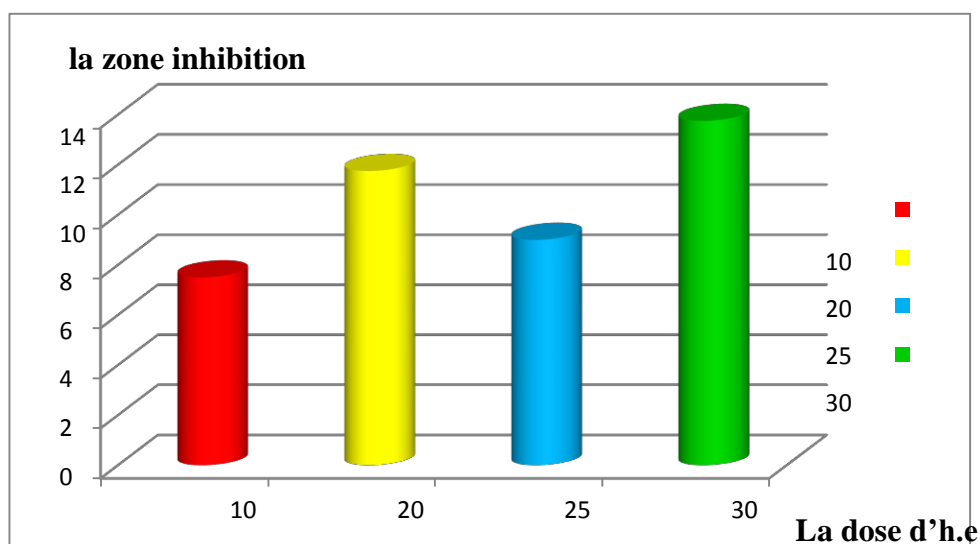


Figure 23 : Diamètres des zones d'inhibition de la souche *Pseudomonas Aeruginosa* par l'effet d'H.E du thym.

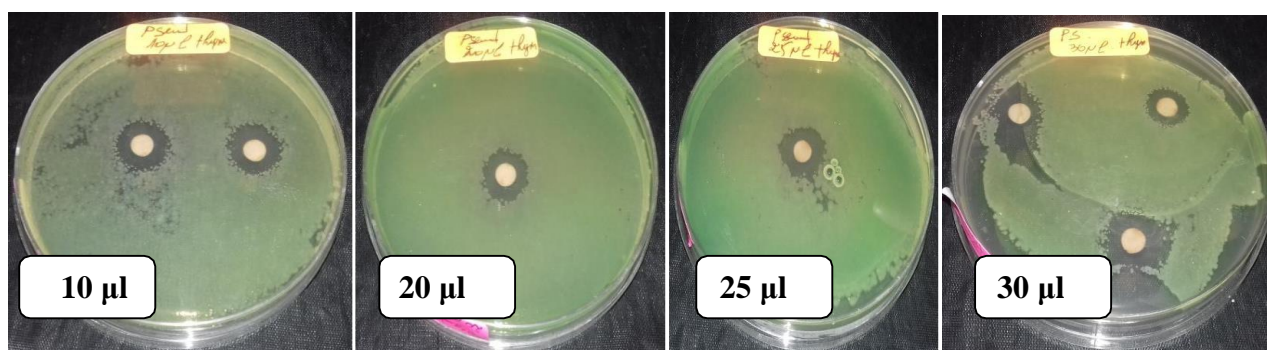


Figure 24: La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche P.A suivant les doses utilisées de l'H.E du Thym.

A travers les résultats obtenus, il en ressort que, les bactéries Gram(+) sont plus sensibles à l'huile essentielle du thym que les bactéries Gram (-) pour les différentes doses utilisées. (fig.25).

La zone d'inhibition

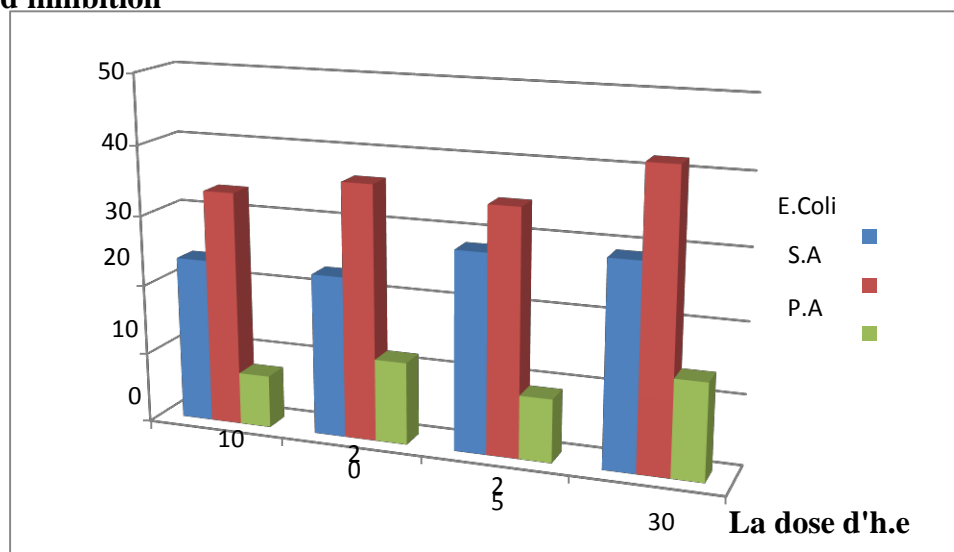


Figure 25 : La comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E du Thym.

4.2. DISCUSSION

Le rendement en huile essentielle obtenue pour l'espèce étudiée par la méthode d'hydro distillation est proche de la littérature. Pour le Thym le rendement (1,49%) est proche de celui trouvé par NEZHADALI et al (2014) qui est de 1,39 %. Ainsi, le contrôle de cette huile par les différents paramètres physico-chimiques (pH, densité spécifique, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, miscibilité, et quelques indices chimiques (indice d'acidité, indice d'iode, indice de peroxyde) a permis de mettre en évidence sa qualité qui était comparable à celle donnée par la littérature.

La méthode de diffusion de disques sur milieu gélosé a été utilisée dans plusieurs études pour déterminer l'activité antibactérienne des HE (CHAO et al., 2000 ; ANDREWS,2001 ; PIBIRI, 2006) (Annexe 06).

Concernant l'effet antibactérien des huiles utilisées et on comparant les résultats de l'effet de l'HE avec l'antibiogramme réalisé, on constate que l'effet antibactérien est très efficace.

L'effet inhibiteur de l'HE du Thym vis-à-vis des souches Gram (+) est plus élevé à celui des Gram (-), mais il est toujours efficace vis-à-vis E. COLI. Cette différence d'effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi

cellulaire et le type de Gram. Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis à vis des HE.

Le mode d'action des H.E dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (Cox et *al*, 2000 in Carson et *al*, 2002).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les H.E peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipo poly saccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable. (DORMAN et DEANS, 2000). D'autre part, DEFOE et *al* (2003) dans une étude de la composition chimique de l'huile essentielle *Thymus spinulosus* avec réalisation de tests biologiques sur son activité antibactérienne contre des souches de bactérie, ont constatés que ce sont les monoterpènes (thymol) qui sont principalement inhibiteur de la croissance bactérienne.

Selon BAKKALI et *al* (2008), l'activité antibactérienne est due à la cytotoxicité des HE qui peuvent endommager la membrane cellulaire des bactéries lorsqu'elles passent à travers leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique (déstructuration de la membrane et ses polysaccharides).

Conclusion

Conclusion

Ce travail a contribué à la valorisation des Huiles Essentielles d'une plante médicinale et aromatique populaire. Il s'agit du *Thymus vulgaris*. La plante a été récoltée dans la région de Méghila au niveau de la Wilaya de Tiaret.

L'extraction des huiles essentielles au laboratoire a été réalisée par la méthode d'hydro distillation qui nous a permis de récolter une H.E pure.

Le rendement terris de cette espèce est très appréciable. On a remarqué que le thym est riche en huile essentielle, le rendement est de 1.49%.

Les différents paramètres physico-chimiques ont permis de mettre en évidence sa qualité qui était dans l'ensemble comparable à celle des données par la littérature.

L'activité antibactérienne est confirmée vu les résultats préliminaires obtenus. Concernant l'huile essentielle du Thym on a noté les observations suivantes :

- Un effet bactéricide pour les souches bactériennes :

Bactérie Gram (-) *E.Coli* : absence de souche à travers un halo de 23 à 29 mm de diamètre à différentes doses.

Bactéries Gram (+) *S.A* : inhibition de la croissance jusqu'à un diamètre de 33.5 à 41.75 mm selon les différentes doses utilisées.

- Effet bactériostatique sur la souche Gram (-) *P.A* qui est très pathogène pour l'homme avec un diamètre de 7.5 à 13.75 mm.

Ces huiles testées témoignent d'une activité antibactérienne importante sur les souches bactériennes pathogènes contrairement aux antibiotiques, ce qu'était le cas pour le *Tétracycline* 30mg utilisé au laboratoire. Ces derniers ne sont plus efficaces qu'avant puisque les bactéries deviennent moins sensibles de temps à autre.

D'une manière générale, cette étude a permis encore une fois la mise en valeur de l'utilisation des huiles essentielle dans la production pharmaceutique, l'industrie agroalimentaire et d'autres domaines d'application.

Ce travail devrait être complété par d'autres études pour mieux cerner la composition chimique ainsi que sa toxicité ou la manière avec laquelle elle peut influencer les autres êtres vivants.

Références

bibliographiques

Références Bibliographiques

- 01. ANSEL, J-K. 2003.** Les arbres parfumeurs .ed. EYROLLES Paris.143PP
- 02. AFNOR (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2.Monographies relatives aux huiles essentielles ».Ed. , Lavoisier Paris. 661-663P
- 03. BAKKALI, F; AVEBECK, S ; IDOMAR, M. 2008.** Biological effects of essential oils. Food Chem Toxicol. PP : 446-475.
- 04. BELOUED, AEK. 2009.** Plantes médicinales d'Algérie, 5^{ème} édition. Ed O.P.U. 284 pp.
- 05. BEN ZEGGOUTA , N.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, Algérie, (2005) : 110 pp.
- 06. BENCHAA, S et BOUZADA, F.Z.** Activité biologique et physicochimique de l'huile essentielle de schinuter e benthifolus Mm.DING 2010.p42
- 07. BENETEAUD, E .2011.** Les techniques d'extraction. Edition comité français du parfum France pp : 02-07
- 08. Boskou, D. (1996).** Olive oil quality In "Boskou D. (Ed.)" Olive Oil: Chemistry and technology .AOCS Press, Champaign, IL, USA, 101-120P.
- 09. BÉZANGER, L; PINKAS, B-M; TORCK, M; TORTINE, F. 1980.** Plantes médicinales des régions tempérées, Ed Maloine SA. Paris.439 pp.
- 10. IANCHINI, F.; CORBETTA, F. 1975.** Atlas des plantes médicinales, Fernand NATHAN éditeur. Paris. 243 pp. 639-649.
- 11. CHEVALLIER, A. 2007.** Plantes médicinales, Ed Gründ. Paris.288 pp.
- 12. Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2017.**
- 13. CRETE, P. 1965.** Précis de botanique Tome 2. Ed Masson et C^e edituers.425 PP.
- 14. COX, S.D., MANN, C-M., MARKHAM, J-L., BELL, H-C., GUSTAFSON, J-E., WARMINGTON, J-R. and WYLLIE, S-G.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. 2000.n° 88, PP: 170-175.
- 15. CARSON, C-F., MEE, B-J. and RILEY, T-V.** Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by

time-Kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002. N°46, 1914-1920.

16. DE FEO V., BRUNO M., TAHIRI B., NAPOLITANO F. and SENATORE F. *Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Thymus spinulosis Ten (Lamiaceae). J. Agric. Chem.* 2003. N° 51, pp. 3849-3853

17. Direction des Services Agricoles. Tiaret. 2017.

18. DORMAN H-J-D. and Deans S-G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, 2000. n° 88, 308–317.

19. DURAFFOURD, C., D'HERVICOURT, L et LAPRAZ, J-C. 1990 .Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

20. FESTY, D. 2008. Ma BIBLE DE HUILES ESSENTIELLES, Ed quotidien Malin, 25 ièm impression. 541 pp.

21. FLUK, H. 1977. Petit guide panoramique des herbes médicinales. Edition Delachaux et Niestle Neuchâtel. Paris. PP :132-134.

22. FRANTŠEK, S. 1992. Plantes médicinales, Edition GRÜND .Paris . PP : 148-195.

23. GACHKAR, L., YADEGARI, D., REZAEI, M-B., TAGHIZDEH, M., ASTANEH, S-A., RASOOLI, I. 2006. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.* n° 102: 898-904.

- 24. Garcia C., Parigot P (1968).** Bues de forage. Ed. Technip, Paris. 160P.
- 25. Gildo J. (2006).** Précis de phytothérapie. Larousse encyclopédie MEMO, Ed. Alpen, Paris 34 P.
- 25. GLLY, G. 2005.** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse Botanique-Culture-Chimie-Production et marché. Ed Le Harmattan. 414 PP+ Annexes. **26.**
- Gutiérrez, F., Jiménez, B., Ruíz, A., Albi, M.A., (1999).** Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties *Picual* and *Hojiblanca* and on the different components involved. *J. Agric. Food Chem*, 47: 121-127
- 27. Haddouchi, F., Abderrahmane, H., Lazouni, K, Meziane, A., Benmansour, A. (2010).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen. 246P.
- 28. IBRAHIM, N-D., AKEDI, A.** Etude de l'effet des huiles essentielles des plants spontanés (*Artemisia herba alba* et *Thymus vulgaris*) de la région de Tiaret dans la lutte contre *Tribolium castaneum*. MÉMOIRE de master 2 en Sciences agronomiques, Option: Agrobiotechnologie. Univ. IBN KHALDOUN. Tiaret. (2016). PP : 55+ Annexes. **29.**
- Kanko, C., Sawaliho, BE., Kone, S., Koukoua, G., N'guessan, YT. (2004).** Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 32(6):156-211.
- 30. KRESANEK, J . 1985.** Les plantes médicinales .Ed Baudouin. Paris. 222 pp.
- 31. LEFIEL, A. 2012.** Le grand livre des huiles essentielles. Edition ESI. Paris. 191 pp.
- 32. LISAN, B. 2014.** Atelier présentation huiles essentielles. Version v1. France. 90 pp.
- 33. MAHBOUBI, M. 2014.** Plantes médicinales de méditerranée et d'orient. Edition Sabil. France. 137 pp.
- 34. MAHMOUDI, Y. (S.A).** La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie. Palais du livre. Blida. 128 pp.
- 35. MEBARKI, N.** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne. Mémoire de magistère en Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Option industrie pharmaceutique. Univ. M'hamed Bougara. Boumerdes. (2010). 137 pp+ Annexes. .

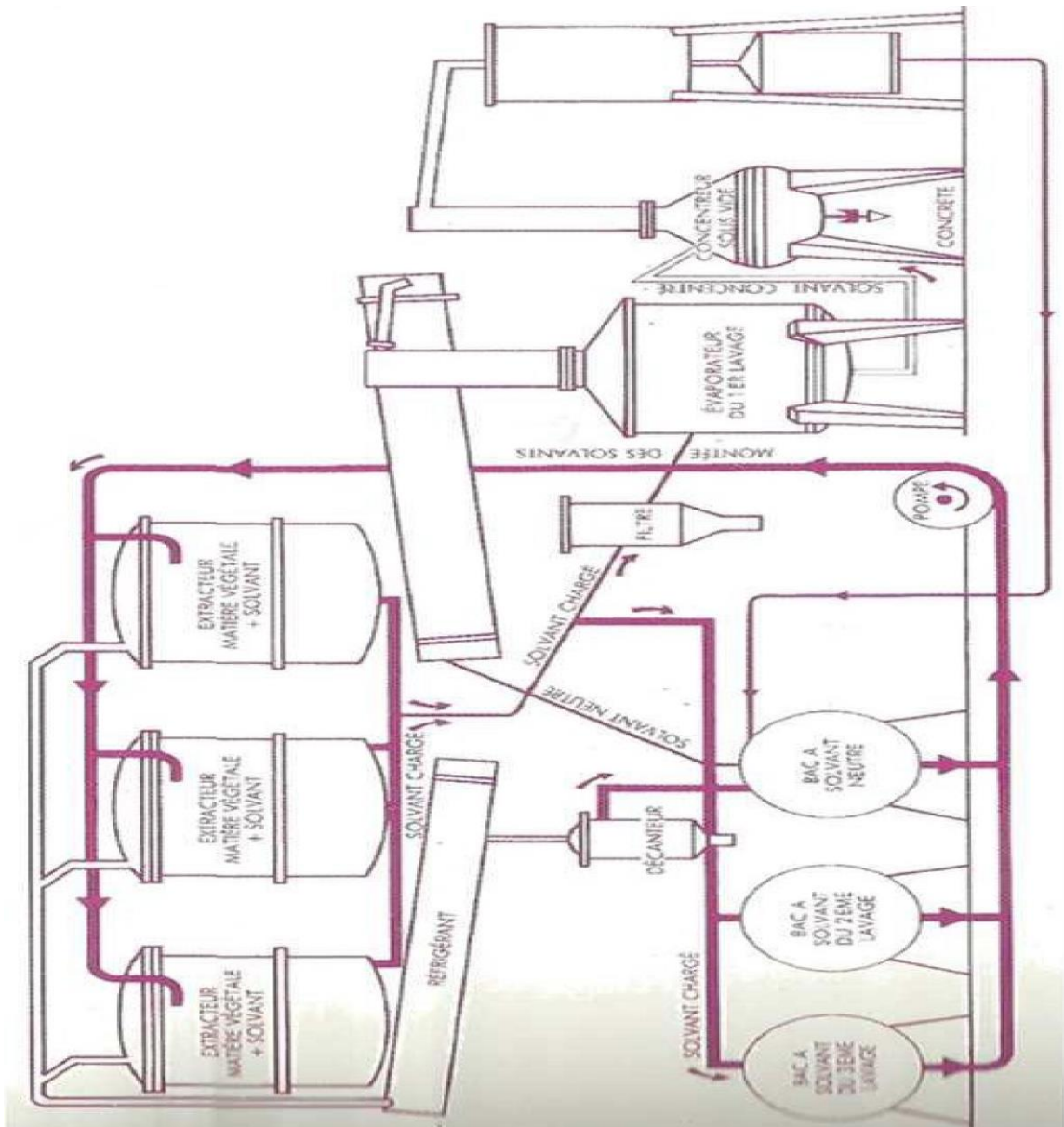
- 36. Messaid, H. (2008).** Optimisation du processus d'immersion –réhydratation du système dattes sèche- jus d'orange. Thèse de Magistère en Génie Alimentaire .Université Mohamed Bougara. Boumerdés.74 P.
- 37. Miara, M-D.** Contribution à l'étude de la végétation du massif de Guezoul (Tiaret). Mémoire de magister en Biologie, option d'écologie végétale, Univ. Senia, Oran, (2011) :
126 pp + Annexes.
- 38. Moufida, S., Marsouk, B. (2003).** Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*, 62(8): 1283-1289.
- 39. MORO BURONZO. A.** 2009. Grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être. Ed. Hachette livre Italie. 254 pp.
- 40. MORO BURONZO. A et CHARLES SCHNEBELEN. J.2012.** huiles essentielles. Edition first, un département d'Edi8. Italie. 157 pp..
- 41 Norme NFT 75-111(1998)** .Huiles essentielles -- Détermination de la densité relative à 20 degrés C -- Méthode de référence.
- 42. Norme ISO 10519:(1997).** Graines de colza — Détermination de la teneur en chlorophylle — Méthode spectrométrique.
- 43. Norme NT ISO 3961 (1996).** Détermination de l'indice d'iode des matières grasses d'origine animales et végétales.
- 44. Norme NFT 75-112(1998).** Huiles essentielles -- Détermination de l'indice de réfraction.
- 45. Norme NFT 75-113(1998).** Huiles essentielles -- Détermination du pouvoir rotatoire.
- 46. Norme NFT 75-101(1999).** Huiles essentielles -- Évaluation de la miscibilité à l'éthanol.
- 47. ormeNT.118.22(1996).** Détermination de l'indice de peroxyde des matières grasses d'origine animales et végétales.
- 48. Ollë, M. (2002).** Direction de la concurrence, de la consommation et de répression des fraudes interrégionales de Montpellier. *Apic. Res.* 36 :11-15.

- 49. Organisation mondiale de la Santé. 2013.** Stratégie de l'O.M.S pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. PP 72.
- 50. Organisation Mondiale de la Santé.** Rapport sur Perspectives Politiques de l'OMS sur les médicaments la médecine traditionnelle : Besoins Croissants et Potentiel 2002. Genève .n° 0206+PP..
- 51. Ouïs, N. (2015).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de doctorat en chimie organique. Université d'Oran I. 239P.
- 52. PIBIRI, M. C. (2006)** - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, pp161.
- 53. RODET, J-C.2013.** Vertus médicinales des plantes aromatiques « Fleurs comestibles et épices, une pharmacie dans notre cuisine. Editions Médicis. Paris. 189 PP+ Annexes.
- 54. SCHNEIDER, C. 2013.** Plantes sauvages aromatiques, les reconnaître, les utiliser. Edition Ulmer. Paris. PP : 74-77.
- 55. Solène, J. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de lorraine, France:146P.
- 56. SPICHIGER , R. ; SAVOLAINEN ,V. ; FIGEAT, M. ;JEANMONOD ,D.2004.** Boutanique systématique des plantes à fleurs, Troisième édition. Presses polytechniques et universitaires Romandes .328 pp.
- 57. TEUSCHER, E; ANTON, R; LOBSTIEN, A. 2005.** Plantes aromatiques. Ed Lavoisier.Paris . 522 pp.
- 58. THURZOVA, L. 1978.** Les plantes –santé qui poussent au tour de nous, Ed Elsevier Séquoia. Bruxelles. 268 pp.
- 59. TOURE, D.** études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de doctorat en Biologie Humaine Tropicale, Univ. Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, côte d'ivoire, (2016) : 154 pp.
- 60. VOLÁK, J ; STODOLA, J. 1983.** Plantes médicinales. Ed Gründ.Paris. PP : 212-289.

- 61. WENDAKOON, C. N. and SAKAGUCHI, M.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components of spices. *Journal of Food Protection*, 1995. n°58, 280-283.
- 62. WILSON, M.2010.**Huiles essentielles pour la cuisine et le bien-être. Edition Fides.Canada.192pp
- 63. WOLFGANG, H. 2008.** 350 plantes médicinales,Ed Delachaux et Niestlé SA.Paris.256 pp.
- 64. ZAIKA, L.L.** Spices and Herbs, Their antimicrobial Activity and Its Détermination. *Journal of food Safety*, 1988.Vol. 9, N° 2. PP: 97-118. WWW.GoogleMaps.com

Annexes

Annexe 01 : extraction par solvant.



Annexe 02 : les milieux de cultures utilisés (1 : chapman, 2 : Mac conky, 3 : Mueller Hinton).



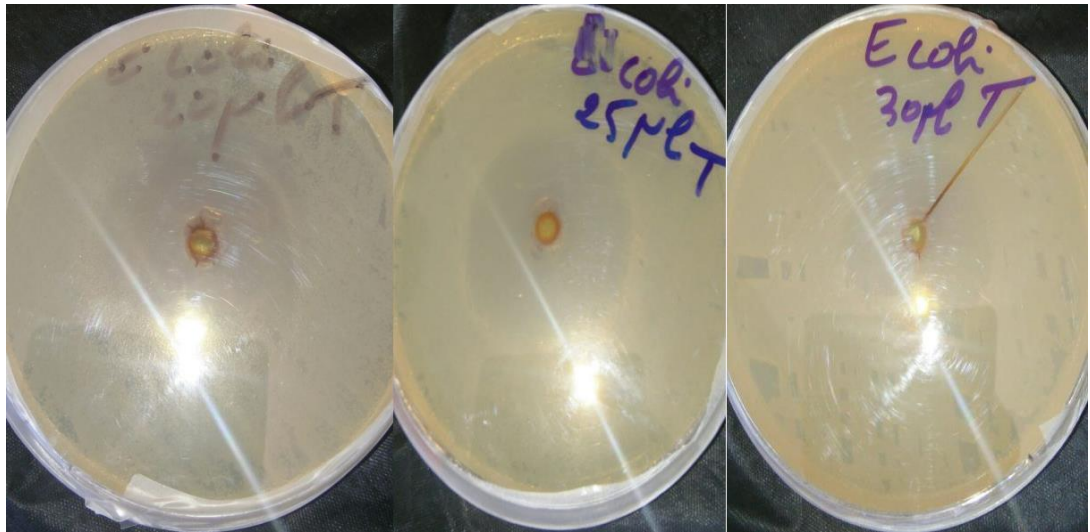
Annexe 03 : Préparation d'eau physiologique

Une solution de l'eau physiologique a été préparée par l'ajout 0.9 g de chlorure de sodium NaCl dans un 100 ml de l'eau distillé.

Annexe 04 : 01 : Préparation des aliquotes et Méthode de diffusion sur disque
(Aromatogramme).



Annexe 05 : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'*E. Coli* issu d'effet de l'H.E du Thym.



Annexe 06 : Huile essentielle du Thym.



Annexe 07 : Spectrophotomètre



Annexe 08 : pH- mètre



Résumé

Résumé

Le présent travail consiste à évaluer au laboratoire l'extraction des huiles essentielles, les analyses physico-chimiques et l'effet antibactérien des huiles essentielles de la plante spontanée *Thymus vulgaris* sur les souches bactériennes très fréquentée par L'homme. L'extraction des huiles s'est faite par la technique d'hydro distillation. L'espèce a donné un rendement assez considérable en huile. Il est estimé à (1.49%) et a montré ainsi son efficacité sur les bactéries. Les différentes doses utilisées ont un effet bactéricide sur *E.Coli* et *S.A* et un effet bactériostatique sur *P. A*.

Mots clé : H.E, *Thymus vulgaris*, hydrodistillation, rendement, effet antibactérien, bactérie Gram (+), bactérie Gram (-).

Abstract

This work is concerned with the study of the yield and the antibacterial effect of essential oils extracted from the spontaneous plant *Thymus vulgaris* from the region of tiaret MGHILA.

The hydrodistillation extraction gave a considerable H.E. yield of 1.49%.

Analysis of the results from the study of the antibacterial activity of essential oils emonstrated a very pronounced bactericidal effect against the three bacteria studied, *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus* and *pseudomonas aeruginosa*.

Key words: *Thymus vulgaris*, H.E, hydrodistillation, yield, antibacterial effect.

ملخص

دراستنا تتمثل في استخلاص الزيت الأساسي و دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية والكيميائية و تحديد التأثير المضاد البكتيري للزيوت الطيارة لنبات الصعتر (الزعر) البري على ثلاثة أنواع من البكتيريا الموجودة في محيط الإنسان. النبات قدم مردودا معتبرا من الزيوت الطيارة.

تم التحصل على هذا الزيت الطيار بواسطة التقطير المائي حيث كان المردود الذي تحصلنا عليه من الصعتر هو 1.49 بالمائة و كذا تأثيره . الملاحظ أن الزيت باختلاف الكميات التي تم استعمالها ذو تأثير فعال جدا على بكتيريا القولون و المكورات العنقودية الذهبية فهو مبيد لهما في حين انه يقلل من انتشار بكتيريا الزائفة الزنجارية فقط.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الطيارة -الصعتر البري- التقطير بالماء- المردود- تأثير مضاد البكتيريا- بكتيريا غرام موجب- بكتيريا غرام سالب .