



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

## MEMOIRE DE MASTER

**Domaine:** Sciences de la nature et de la vie

**Filière:** Sciences biologiques

**Option:** Biochimie Appliquée

### Thème :

Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles  
essentielles du *Thymus algeriensis*

Présenté par :

**TABECHE Habiba**

**BOURAS Fatma Zahra**

Devant le jury :

**Mr. GOUDJIL Taher**

MCB Université de Tébessa

**Président**

**Mr. DJABRI Belgacem**

Professeur Université de Tébessa

**Rapporteur**

**Mme. BENHADJ Mabrouka**

MAA Université de Tébessa

**Examinatrice**

**Date de soutenance:**

26/05/2018



## ملخص

*Thymus algeriensis* (مزوكس) هي نبتة طبية تنتمي إلى عائلة *Lamiacées* المعروفة بخصائصها العلاجية المتنوعة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية لهذه النبتة مقارنة مع حمض الاسكوربيك (فيتامين C).

استخلاص الزيت الأساسي تم بطريقة التقطير البخار. الخاصية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية لنبتة *Thymus algeriensis* و فيتامين C تم اختبارها باستخدام طريقة ارجاع الجذر الحر DPPH وتم تحديد التراكيز المثبطة 50% (CI 50). الخاصية المضادة للبكتيريا تم اختبارها على 06 أنواع من البكتيريا : 04 أنواع Gram<sup>-</sup> (*P.aeruginosa*, 03 *E. coli*) ونوعين Gram<sup>+</sup> (*S.aureus*).

مردود الزيت الأساسي لنبتة *Thymus algeriensis* يقدر بـ (0,78%). دراسة الخاصية المضادة للأكسدة تظهر أن الزيت الأساسي لنبتة *Thymus algeriensis* فعال نسبيا (CI 50 = 434,96µg/ml) بالمقارنة مع الفيتامين C (CI 50 = 114,31µg/ml). الخاصية المضادة للبكتيريا تظهر أن الزيت الأساسي لنبتة *Thymus algeriensis* جد فعال على كل من *S.aureus* و *P.aeruginosa*. على العكس جميع أنواع *E. coli* أظهرت مقاومة للزيت الأساسي لنبتة *Thymus algeriensis*.

**الكلمات المفتاحية :** الزيت الأساسي, *Thymus algeriensis*, الخاصية المضادة للأكسدة, الخاصية المضادة للبكتيريا.

## Abstract

*Thymus algeriensis* is a medicinal plant belonging to the family of *Lamiaceae* known by various therapeutic properties. The objective of our study is to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the essential oils (EO) of *Thymus algeriensis* in comparison with vitamin C.

Extraction of the essential oils was carried out by hydrodistillation. The antioxidant activity of *Thymus algeriensis*'s EO and vitamin C was evaluated by the use of the DPPH free radical reduction method and IC<sub>50</sub> was determined. Antibacterial activity was tested on 06 bacterial strains : 04 Gram-negative strains (2 ATCCs (*P. aeruginosa*, *E. coli*) and 02 clinical isolates (*E. coli*) and 2 Gram-positive strains (02 *S. aureus* ATCC).

The EO yield of *T. algeriensis* was 0.78%. The study of the antioxidant activity shows that the EO of *T. algeriensis* has a relatively effective antioxidant activity (IC<sub>50</sub> = 434.96µg / ml) compared to that of Vitamin C (IC<sub>50</sub> = 114, 31 µg / ml). The antibacterial activity shows that *T. algeriensis*'s EO is very active on both strains of *S. aureus* and *P. aeruginosa*. On the other hand, all *E. coli* strains were resistant to EO of *T. algeriensis*.

**Key words :** Essential oil, *Thymus algeriensis*, antioxidant activity, antibacterial activity.

## Résumé

*Thymus algeriensis* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiacées* connue par des propriétés thérapeutiques variées. L'objectif de notre étude est d'évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles (HE) du *Thymus algeriensis* en comparaison à la vitamine C.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. L'activité antioxydante des HE du *T. algeriensis* et de la vitamine C a été évaluée par l'utilisation de la méthode de réduction du radical libre DPPH et les CI50 ont été déterminées. L'activité antibactérienne a été testée sur 06 souches bactériennes : 4 souches Gram négative (2 ATCC (*P. aeruginosa*, *E. coli*) et 02 isolats cliniques (*E. coli*) et 2 souches Gram positive (2 *S. aureus* ATCC).

Le rendement en HE du *T. algeriensis* était de 0,78%. L'étude de l'activité antioxydante montre que l'HE du *T. algeriensis* possède une activité antioxydante relativement efficace (CI 50 = 434,96 µg/ml) comparée à celle de la Vitamine C (IC50 = 114,31 µg/ml). L'activité antibactérienne montre que l'HE du *T. algeriensis* est très active sur les deux souches de *S. aureus* et sur *P. aeruginosa*. En revanche, toutes les souches d'*E. coli* se sont montrées résistantes vis-à-vis de l'HE du *T. algeriensis*.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Thymus algeriensis*, activité antioxydante, activité antibactérienne.

*Dédicace*

*A mes chers parents*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis*

*Habiba*

## *Dédicace*

*À mes chers parents qui m'ont soutenu nuits et jours durant tout mon  
parcours, qu'Allah les protège et les garde à nous*

*À toute ma famille*

*À la mémoire de nos amies Choumaïssa et Assia qu'Allah repose leurs âmes  
en paix*

*À tous mes amis*

*À mes enseignants*

*À tous les miens*

*Fatma Zahra*

## ***Remerciements***

Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur le Professeur **DJABRI Belgaceme** à Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de vie de l'Université Larbi Tebessi de Tebessa pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger ce travail. Son dynamisme, sa disponibilité, son aide, ses précieux conseils et ses connaissances scientifiques nous ont énormément aidé.

Nous tenons à remercier **Dr. GOUDJIL Taher**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de jury de soutenance.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mme. BENHADJ Mabrouka**, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier **Dr. ZEGHIB Assia** pour son aide et ses précieux conseils.

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe des laboratoires du département de Biologie appliquée, en particulier : **Karima et Souad** pour leurs aides.

Merci à **Hassane** technicien du laboratoire des Sciences de la Terre, pour son aide et sa disponibilité.

Nos remerciements vont également à nos camarades d'étude dans le laboratoire.

## Liste des tableaux

| Tableau N° | Titre   | Page |
|------------|---|------|
| 01         | Localisation de quelques espèces de thymus en Algérie.  | 06   |
| 02         | Protocoles utilisés pour la mesure de l'activité antioxydante.  | 21   |
| 03         | Caractéristiques générales des zones de récolte.  | 25   |
| 04         | Matériels de l'activité antioxydante.   | 27   |
| 05         | Matériels de l'activité antibactérienne.  | 29   |
| 06         | Sensibilité et degré l'activité selon le diamètre d'inhibition.   | 30   |
| 07         | Valeurs moyennes des pourcentages d'inhibition de <i>T. algeriensis</i> et de vit C en fonctions des concentrations étudiées. | 35   |
| 08         | Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> .                      | 38   |

## Liste des figures

| Figure N° | Titre  | Page |
|-----------|--|------|
| 01        | Le genre <i>Thymus</i> .   | 05   |
| 02        | Morphologie du <i>Thymus algeriensis</i> .   | 07   |
| 03        | Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique.        | 12   |
| 04        | Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du méthylérythritol phosphate. | 13   |
| 05        | Formule chimique de l'isoprène.  | 13   |
| 06        | Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.   | 18   |
| 07        | Réaction du test de DPPH.  | 20   |
| 08        | Réaction du test FRAP (Ferric reducing antioxidant power).                           | 20   |
| 09        | La plante de <i>T. algeriensis</i> .   | 25   |
| 10        | Montage de l'hydrodistillation.  | 26   |
| 11        | Réduction de DPPH par la vitamine C (a) et par l'HE (b).                             | 33   |
| 12        | Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des                             | 34   |

concentrations (HE et acide ascorbique).

- |           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>13</b> | Détermination de la valeur IC50 de la vitamine C (a).                                    | <b>36</b> |
| <b>14</b> | Photos des tests antibactériens de <i>T.algeriensis</i> vis-à-vis des bactéries testées. | <b>40</b> |

## Liste des abréviations et symboles

**(-)** : Résistante.

**(+)** : Sensibilité limitée.

**(++)** : Sensibilité moyenne.

**(+++)** : Très sensible.

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet.

**ABAP** : 2,2' - azo-bis 2 -amidino- propane.

**Abs** : Absorbance.

**Acétyl CoA** : Acétylcoenzyme A.

**ADN** : Acide désoxyribonucléiques.

**ARNm** : Acide ribonucléiques messenger.

**ATCC** : American type culture collection.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**CI50** : Concentration inhibitrice 50%.

**DPPH** : 2.2 diphényl-1 picryl hydrazyl.

**EOA** : Espèces oxygénées activées.

**FRAP** : Ferric reducing antioxidant power.

**GN** : Gélose nutritive

**Gpxs** : Glutathion peroxydases.

**H.E** : Huile essentielle.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.

**MH** : Mueller-Hinton.

**MMEP** : Méthylérythritol phosphate.

**MVA** : Acide mévalonique.

**NADPH** : Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate.

**NO°** : Monoxyde d'azote.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Radical superoxyde.

**O<sub>2</sub>°** : Anion superoxyde.

**OH°** : Radical hydroxyle.

**ONOO** : Peroxynitrite.

**PPG** : Pyrophosphate de géranyle.

**PPI2** : pyrophosphate de diméthylallyle.

**PPI3** : pyrophosphate d'isopentén-3yle.

**R** : Rendement.

**RO** : Alkoxyles.

**ROOH** : Peroxydes.

**SODs** : Super oxydes dismutases.

***T. algeriensis*** : *Thymus algeriensis*.

**TEAC** : Trolox équivalent antioxidant capacity.

**Vit C** : Vitamine C.

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations et symboles

---

## Table des matières

|   |    |
|---|----|
| <b>Introduction</b>   | 02 |
| <b>I. Synthèse bibliographique</b>  |    |
| <b>I.1. Présentation de <i>thymus algeriensis</i></b> .....                   | 04 |
| <b>I.1.1. Famille des Lamiacées</b> .....                                     | 04 |
| <b>I.1.2. Genre <i>Thymus</i></b> .....                                       | 04 |
| <b>I.1.3. Répartition de <i>Thymus</i></b> .....                              | 05 |
| <b>I.1.3.1. Dans le monde</b> .....   | 05 |
| <b>I.1.3.2. En Algérie</b> .....  | 05 |
| <b>I.1.4. Espèce <i>Thymus algeriensis</i></b> .....                          | 06 |
| <b>I.1.4.1. Description morphologique</b> .....                               | 06 |
| <b>I.1.4.2. Nomenclature</b> .....  | 07 |
| <b>I.1.4.3. Systématique de la plante</b> .....                               | 07 |
| <b>I.1.5. Utilisations de thym</b> .....                                      | 08 |
| <b>I.2. Huiles essentielles</b> .....   | 10 |
| <b>I.2.1. Définition</b> .....  | 10 |
| <b>I.2.2. Localisation et répartition des huiles essentielles</b> .....       | 10 |
| <b>I.2.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante</b> .....               | 10 |
| <b>I.2.4. Biosynthèse des huiles essentielles</b> .....                       | 11 |
| <b>I.2.5. Composition chimique des huiles essentielles</b> .....              | 13 |
| <b>I.2.5.1. Composés terpéniques</b> .....                                    | 13 |
| <b>I.2.5.2. Composés aromatiques dérivés du phenylpropane</b> .....           | 14 |
| <b>I.2.5.3. Composés d'origines diverses</b> .....                            | 14 |
| <b>I.2.6. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles</b> ..... | 14 |
| <b>I.2.7. Extraction des huiles essentielles</b> .....                        | 15 |
| <b>I.2.7.1. Distillation</b> .....  | 15 |

|   |    |
|---|----|
| I.2.7.2. Extraction par enfleurage.....                   | 15 |
| I.2.7.3. Extraction par les solvants volatils.....        | 16 |
| I.2.7.4. Extraction par expression à froid.....           | 16 |
| I.2.7.5. Extraction par micro-ondes.....                  | 16 |
| I.2.7.6. Extraction par ultrasons.....                    | 16 |
| I.2.7.7. Extraction au fluide supercritique.....          | 16 |
| I.3. Activités biologiques.....                           | 17 |
| I.3.1. Activité antioxydante.....                         | 17 |
| I.3.1.1. Définition.....                                  | 17 |
| I.3.1.2. Radicaux libres.....                             | 17 |
| I.3.1.3. Défenses antioxydantes.....                      | 18 |
| I.3.1.3.1. Prévention alimentaire.....                    | 19 |
| I.3.1.3.2. Défenses endogènes.....                        | 19 |
| I.3.1.4. Méthodes d'étude de l'activité antioxydante..... | 19 |
| I.3.2. Activité antibactérienne.....                      | 21 |
| I.3.2.1. Définition.....                                  | 21 |
| I.3.2.2. Agents antimicrobiens.....                       | 22 |
| I.3.2.2.1. Agents chimiques.....                          | 22 |
| I.3.2.2.2. Agents physiques.....                          | 22 |
| I.3.2.2.3. Agents chimiothérapeutiques.....               | 22 |
| I.3.2.3. Antibiotiques.....                               | 23 |
| I.3.2.3.1. Définition.....                                | 23 |
| I.3.2.3.2. Antibiotiques naturels et synthétiques.....    | 23 |
| I.3.2.3.3. Mode d'action des antibiotiques.....           | 23 |

## **II. Matériel et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| II.1. Matériel végétal.....  | 25 |
| II.2. Extraction des huiles essentielles.....                                  | 26 |
| II.2.1. Description du dispositif d'extraction.....                            | 26 |
| II.2.2. Procédé d'extraction.....  | 26 |
| II.2.3. Calcul du rendement de l'huile essentielle.....                        | 27 |
| II.3. Tests des activités biologiques.....                                     | 27 |
| II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante (Test d'activité anti DPPH)..... | 27 |
| II.3.1.1. Matériel.....  | 27 |
| II.3.1.2. Méthodes.....  | 27 |

|  |    |
|--|----|
| II.3.1.3. Mode opératoire.....                           | 28 |
| II.3.1.4. Détermination de pourcentage d'inhibition..... | 28 |
| II.3.1.5. Détermination de la CI50.....                  | 28 |
| II.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....    | 29 |
| II.3.2.1. Matériel.....                                  | 29 |
| II.3.2.2. Bactéries d'étude.....                         | 29 |
| II.3.2.3. Préparation de la suspension bactérienne.....  | 29 |
| II.3.2.4. Principe de test.....                          | 30 |
| II.4. Analyse statistique des données.....               | 30 |

### III. Résultats et discussion

|   |    |
|---|----|
| III.1. Rendement de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> .....                | 32 |
| III.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> .....  | 32 |
| III.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> .....    | 32 |
| III.3.1. Cinétique de la réaction.....  | 32 |
| III.3.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH.....                                    | 34 |
| III.3.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%).....                     | 36 |
| III.4. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> ..... | 38 |

|                   |    |
|-------------------|----|
| <b>Conclusion</b> | 42 |
|-------------------|----|

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| <b>Références bibliographiques</b> | 44 |
|------------------------------------|----|

# ***INTRODUCTION***

## Introduction

Les plantes médicinales largement utilisées par nos ancêtres et jusqu'à aujourd'hui, elles synthétisent des molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle, les huiles essentielles (HE) ou essences qui sont des liquides odoriférants d'aspect fluide à épais et de couleurs variables selon les plantes dont elles sont extraites. Elles sont, sécrétées par des cellules spécialisées se trouvant aussi bien dans les feuilles, les fleurs, le bois, les racines, les graines. Elles représentent une source promotrice des molécules ayant des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes (**Buchbauer, 2011**).

La fonction antibactérienne des (HE) est utilisée depuis des siècles mais n'a été reconnue que récemment, découverte scientifiquement au XX<sup>ème</sup> siècle par le Dr. Gtéfossé, son utilisation s'est développée pour devenir depuis une trentaine d'années des véritables alternatives aux antibiotiques chimiquement synthétisés. **[http://tpe-huile essentielle](http://tpe-huile.essentielle)**. De même L'activité antioxydante des HE de diverses plantes a fait l'objet de plusieurs études récentes (**Lado et al., 2004**). Leur rôle dans la prévention de plusieurs maladies chroniques impliquant le stress oxydant a été prouvé *in vitro* et *in vivo* (**Stanojevic et al., 2013 ; Zouari et al., 2015**).

Notre plante d'étude *T.algeriensis* est une plante appartenant à la famille des *Lamiacées*, d'une large adaptation dans tout type de milieu et abondamment utilisée dans la médecine traditionnelle. Elle a des multiples propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires et vermifuges (**Hazzit et al., 2007**). Les HE essentielles de cette plante présentent une composition chimique riche et variée, élucidée dans plusieurs études (**Amrati et al., 2010**).

A l'égard aux intérêts portés à cette plante, la présente étude a visé comme objectif d'étudier les activités antioxydantes et antibactériennes des HE du *T.algeriensis* en comparaison à la vitamine C connue pour sa remarquable activité anti-oxydante. Pour traiter cet objectif, ce travail sera présenté comme suit:

- Une synthèse bibliographique qui mettra la lumière sur *T. algeriensis*, les HE essentielles et les activités biologiques.
- Une partie expérimentale où seront exposés le matériel et les méthodes utilisés, les résultats et leur discussion et une conclusion.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

## I.1. Présentation de *Thymus algeriensis*

### I.1.1. Famille des Lamiacées

La famille des lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir anti microbien, anti-inflammatoire et antioxydant. (**Gherman *et al.*, 2000 ; Hilan *et al.*, 2006**). Cette famille comprend près de 6700 espèces, regroupées dans environ 250 genres. (**Miller *et al.*, 2006**). Les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plantes herbacées, en général, odorantes reproducteurs d'huiles essentielles largement répandu autour du monde et dans tout type de milieu (**Zghib, 2013**). Les plantes de cette famille sont à tiges quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules. Fleurs pentamères en général hermaphrodites. Calice (les sépales) à cinq divisions. Corolle (les pétales) en général bilabée longuement tubuleuse constituée de 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre, lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. Les étamines sont quatre, la cinquième nulle ou très réduite, parfois deux étamines et deux staminodes. Ovaire supérieur à carpelles originellement biovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison (**Soto *et al.*, 2006**).

Les espèces les plus citées sont: *Sativa officinalis* (**Fellah *et al.*, 2006**) *Mentha spicata* (**Cheoudhury *et al.*, 2006**), *Origanum vulgare* (**Dimitrijevic *et al.*, 2007**) *Rosmarinus officinalis* (**Gachkar *et al.*, 2007**). *Ocimum basilicum* ainsi que de nombreuses espèces du genre *Thymus* qui ont été abondamment étudiées : *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* (**Elhabazi *et al.*, 2006 ; Rota *et al.*, 2008**).

### I.1.2. Genre *Thymus*

*Thymus* est un genre de plantes (couramment appelées **thym** ou **serpolet**) de la famille des Lamiacées. Ce genre comporte plus de 300 espèces. Ce sont des plantes rampantes ou en coussin et portant de petites fleurs rose pâle ou blanches (**Figure 01**). Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques (<http://fr.wikipedia.org/w/index.php>).



**Figure 01:** Le genre *Thymus*(<http://www.tela-botanica.org>)

### **I.1.3. Répartition de *Thymus***

#### **I.1.3.1. Dans le monde**

Le genre de *Thymus* est l'un des 220 genres les plus diversifiés dans le monde, appartient à la famille des lamiacées. La partie occidentale du bassin méditerranéen est le centre de diversité de ce genre. Le genre *Thymus* est inclus dans les continents Euro-Asiatique il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (**Morale, 2002**). C'est une plante très répandue dans l'Ouest du nord-africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya (**Dob et al., 2006**).

#### **I.1.3.2. En Algérie**

En regard de sa superflue et sa biodiversité bioclimatique L'Algérie est reconnue par sa richesse en plantes médicinales (**Badjah, 1978**). Cette richesse est associée à une originalité sur le plan systémique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécifié des substances bio synthétisées) et sur le plan pharmacologique. Le thym en Algérie comprend plusieurs espèces, il est répartie dans tous le littorale et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides, il est fréquent dans le nord algérien et est rencontré de façon anarchique de part et d'autre, dans les broussailles, pelouses rocailles et les

montagnes. Ce genre développe spontanément, caractérisé par une morphologie extrêmement ciliée (Mohemmdi, 2006). Ce tableau présente une répartition de quelques espèces de thym en Algérie (Saidj, 2007).

**Tableau 01: Localisation de quelques espèces de thymus en Algérie(Saidj, 2007).**

| Espèce                    | Découverte par | Localisation  |
|---------------------------|----------------|---|
| <i>Thymus fontenessi</i>  | Boiss et Reut  | Commun dans l'Atlas tellien.  |
| <i>Thymus munbyanus</i>   | Boiss et Reut  | Endémique dans le secteur nord d'Algérie.   |
| <i>Thymus hirtus</i>      | Willd          | Commun sauf sur le littoral.  |
| <i>Thymus commutatus</i>  | Battandier     | Endémique en Oran.  |
| <i>Thymus numidicus</i>   | Poiret         | Assez rare dans :<br>-Le sous secteur de l'Atlas Tellien.<br>-La grande et la petite Kabylie.<br>-De Skikda aux frontières Tunisiennes.<br>-Tell Constantinois. |
| <i>Thymus algeriensis</i> | Boiss et Reut  | Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux Algérois et Oranais.  |

#### I.1.4. Espèce *Thymus algeriensis*

##### I.1.4.1. Description morphologique

*Thymus algeriensis* est un sous arbrisseau pouvant atteindre plus de 25 cm de long (Figure 02), d'une odeur forte, aromatisante très agréable. Sa période de floraison s'étale du mois d'Avril jusqu'au mois de Juillet. Cette plante est composée de :



**Figure 02:**Morphologie du *Thymus algeriensis* (Bessidik et Khenfer, 2015)

**-Tige:** Les tiges de *thymus algeriensis* sont ligneuses et grêles plus ou moins dressés et velus, recouverts par des feuilles opposées (Belhadi et Ayat, 2011).

**-Feuilles:** Elles sont florales sessiles ou courtement pétiolées, décussées, Les thymus possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelées \*trichomes\*. Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes (Soto *et al.*,2006).

**-Fleurs:** Elles sont rosées, florifères courtes et étroites ne dépassant 15×12 mm, elles groupées en épis, de couleur violette, pâle, avec quatre étamines didynames (Guy, 2005).

#### I.1.4.2. Nomenclature

**-Nom botanique :** *Thymus algeriensis* Boiss et Reut.

**-Noms locaux :** se diffère d'une région à une autre en Algérie : mezouqech, hamzoucha, z'hitra, rebba, djouchchen, azoukni (<http://www.vitamedz.org/thym/>)

#### I.1.4.3. Systématique de la plante

D'après Quezel et Santa (1963) *Thymus algériensis* est une espèce qui appartient à-

-Règne: **Plantae**

-Embranchement : **Spermaphytes**

-Sous embranchement : **Angiospermes**

-Classe : **Eudicotes**

-Sous classe : **Astérides**

-Ordre : **Lamiales**

-Famille : **Lamiacées**

-Genre : **Thymus**

-Espèce : ***Thymus algeriensis***

### **I.1.5. Utilisations de thym**

Le thym est une plante médicinale largement utilisée pour ses propriétés illimitées même dans les domaines agro- alimentaires et industrielles (cosmétique).

#### **En phytothérapie:**

- Le thym est un stimulant digestif utile dans le manque d'appétit et la digestion pénible (**Guy, 2005**).
- La listerine qui est une solution constituée d'HE de thym et d'eucalyptus possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (**Kato et al., 1990**).
- C'est un antiseptique de l'intestin et des bronches, cholagogue, balsamique et expectorant. En infusion, il combat la coqueluche et la toux (**Colette Keller, 2004**).
- Les propriétés anti-âge et antioxydantes du thym ont été mises en évidence par les scientifiques. (<http://www.doctissimo.fr>).
- Il possède des propriétés vermifuges, antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antibactériennes. (**Jimenez-Arellanes et al., 2006**).
- L'huile essentielle de thym inhibe la croissance de cellules cancéreuses humaines (**Sertel et al., 2011**).

#### **Dans l'agro-alimentation**

- Le carvacrol, un composé principal de thym exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire afin de les conserver (**Fenaroli, 1995**).
- Les huiles essentielles (H.E) de thym sont très efficaces contre les moisissures responsables de la détérioration des denrées alimentaires lors de leur stockage (**Sahr et Nielson, 2003**).

- Il est utilisé comme épice et condiment dans les produits alimentaires (**Zghib, 2013**).

**En cosmétique**

- Le thym est largement utilisé dans les produits cosmétiques (bains de bouche les déodorants, les huiles de massage lotions et shampoos) (**Kluczyńska, 2001**).
- Ses extraits sont aussi utilisés dans les soins anti-âges (**[http : //www. soin- du- corps.ooreka.fr](http://www.soin-du-corps.ooreka.fr)**).

## I.2. Les huiles essentielles

Les HE (essences parfumées) connues dès l'origine des civilisations, furent d'abord utilisées pour des usages sacrés : rites funéraires et embaumement des morts (**Sangwan et al., 2001**). Environ trois milles huiles essentielles sont connues, dont environ 300 sont destinées à un usage commercial (**Van de Braak et Leijten, 1999**).

### I.2.1. Définition

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes, présentes dans les plantes aromatiques et localisées, dans les fleurs, les feuilles, les fruits, les graines, l'écorce et les racines (**Meyer, 1989**). Les HE sont également définis comme des substances huileuses de composition généralement assez complexe, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression à froid, par solvant ou par d'autres méthodes (**Belaiche, 1979**).

### I.2.2. Localisation et répartition des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles *les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées* (**Bruneton, 1999**). Les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules où, soit elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophiles de nombreux pétales (**Gehard, 1993**). Selon **Garneau (2004)**, la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. **Ghestem et al. (2001)** indiquent, que la teneur des plantes en huiles essentielles est faible, souvent inférieure à 1%.

### I.2.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante

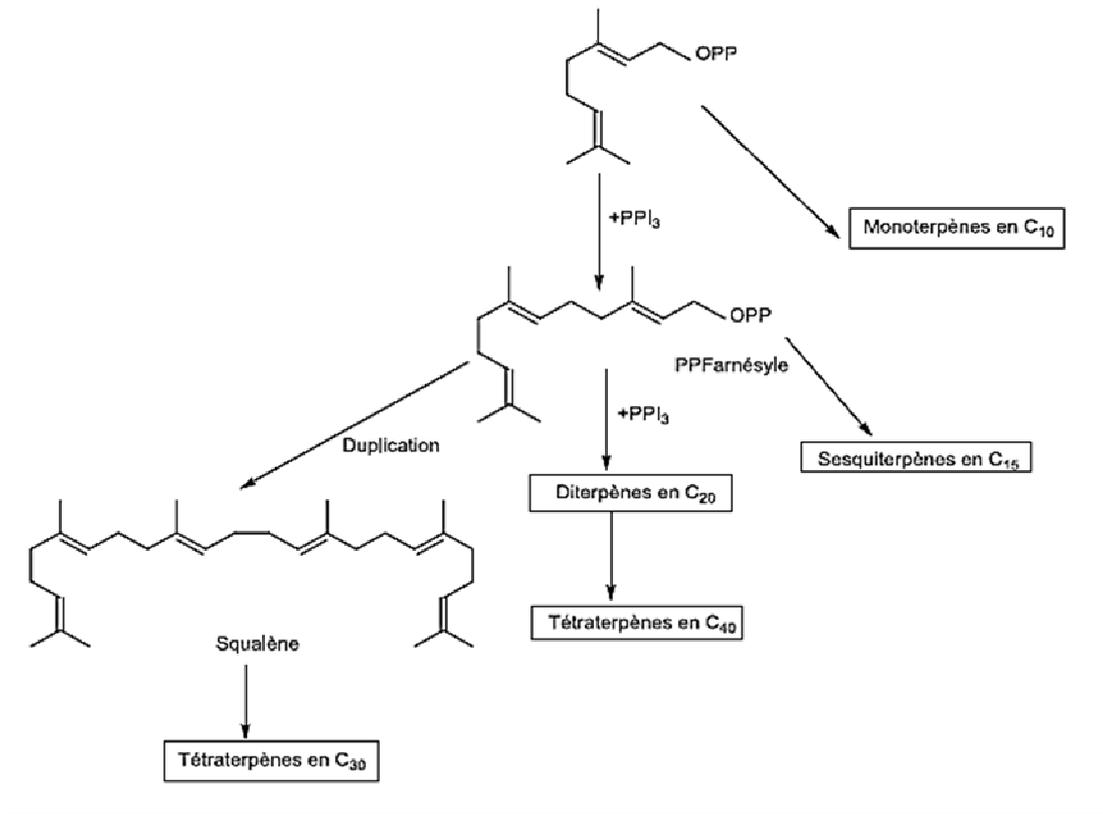
Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans la physiologie de la plante est varié et pas totalement cerné (**Rai et al., 2003**). Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactériennes, antivirales, antifongiques, insecticides et aussi contre les herbivores en réduisant leur tendance pour une telle plante (**Bakkaliet al., 2008**). D'autres auteurs considèrent l'HE comme source d'énergie facilitant

certaines réactions chimiques et permettant la conservation de l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaïche, 1979).

#### I.2.4. Biosynthèse des huiles essentielles

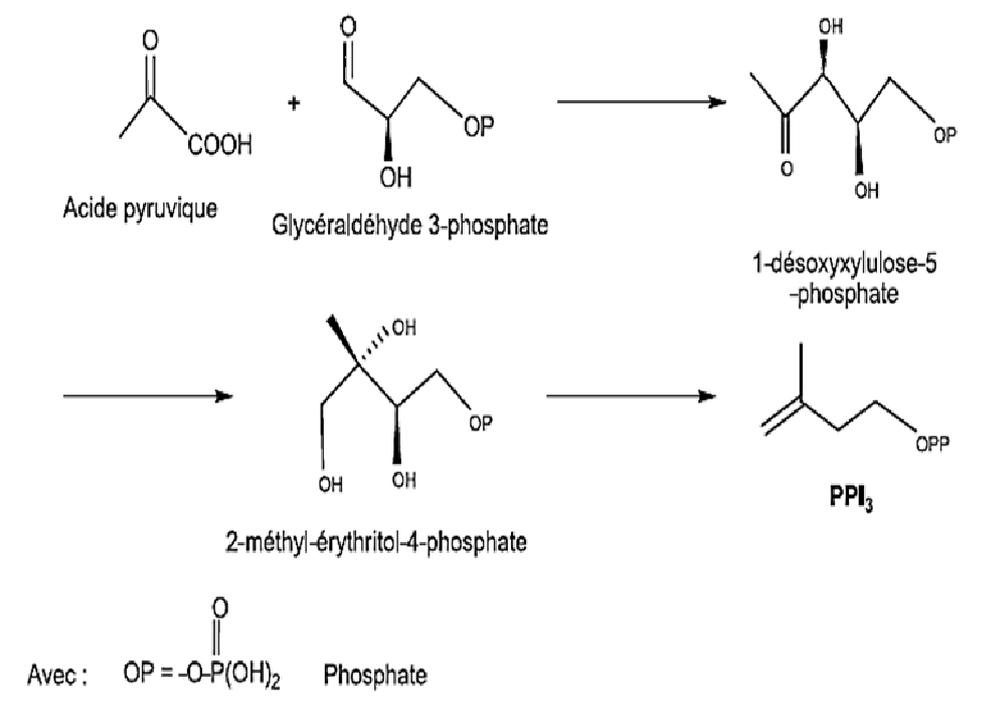
L'unité de base de la biosynthèse des terpènes est en réalité l'isopentényl-diphosphate (pyrophosphate d'isopentén-3yle) : PPI3 et son isomère le diméthylallyl-diphosphate (pyrophosphate de diméthylallyle) : PPI2. Deux voies de biosynthèse conduisent à ces unités de bases à 5 atomes de carbone.

La première est la voie du mévalonate. Elle prend son origine au niveau de l'acétylcoenzyme A ( $\text{CH}_3\text{COSCoA}$ ), produit de la glycolyse (catabolisme des sucres). Elle débute par la condensation de trois unités d'acétylCoA, passe par un composé en C6 (le mévalonate) et conduit au PPI3. Pour cette voie principale, la première étape est une condensation de type Claisen entre deux molécules d'acétylCoA pour conduire à l'acétoacétylCoA. La deuxième étape est une réaction d'aldolisation entre une troisième molécule d'acétylCoA et l'acétoacétylCoA. Après hydrolyse et réduction par le NADPH (Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate), l'acide mévalonique (MVA) se forme. La déshydratation et la décarboxylation de l'acide mévalonique par une élimination concertée après sa pyrophosphorylation par l'ATP (Adénosine triphosphate), permettent d'aboutir aux deux intermédiaires en C5, bio-précurseurs des terpènes : le pyrophosphate d'isopentén-3-yle (PPI3) en équilibre, par simple transfert de proton, avec le pyrophosphate de diméthylallyle (PPI2). Les deux intermédiaires PPI3 et PPI2 réagissent entre eux pour générer le pyrophosphate de géranyle (PPG) point de départ de tous les monoterpénoïdes. La condensation d'une autre unité de PPI3 sur le pyrophosphate de géranyle donne le pyrophosphate de farnésyle, précurseur de tous les sesquiterpènes. Selon ce processus, le squalène (triterpène) est obtenu, ainsi que les autres terpénoïdes. La **Figure 03** représente la biosynthèse des terpénoïdes (Duval, 2007).



**Figure03** : Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie de l'acide mévalonique (Duval, 2007)

La deuxième est la voie du méthylérythritol phosphate (MMEP) ou encore nommée voie non mévalonique, est spécifique aux végétaux et se fait au niveau des plastes. Elle commence par la condensation d'une unité pyruvate (C<sub>3</sub>) avec une unité de glycéraldéhyde 3-phosphate (C<sub>3</sub>) et conduit au méthylérythritol phosphate, un composé intermédiaire en C<sub>5</sub>. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de PPI<sub>3</sub> (Duval, 2007). (Figure 04).



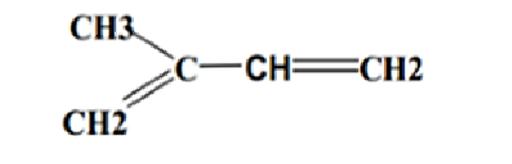
**Figure 04** : Schéma global de la biosynthèse des terpènes par voie du méthylérythritol phosphate (Duval, 2007).

### I.2.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants appartenant à différentes familles chimiques (Nyegue, 2005) :

#### I.2.5.1. Composés terpéniques

Ils sont largement répandus dans le règne végétal. sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène (Bakkali *et al.*, 2008).(Figure05).



**Figure 05** : Formule chimique de l'isoprène (Benayad, 2008).

#### ➤ Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est  $C_{10}H_{16}$  (Rahal, 2004). Elles forment 90% des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

#### ➤ Les sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est  $C_{15}H_{24}$  (Belaiche, 1979). Ils renferment des fonctions comme alcools, cétones, aldéhydes, esters (Laouer, 2004).

### I.2.5.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes (Paris et Hurabielle, 1981). Bruneton (1999), considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes.

### I.2.5.3. Composés d'origines diverses

Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, des terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares (Bruneton, 1999).

### I.2.6. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Les HE possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques et chimiques:

- Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau (Ghuestem *et al.*, 2001).
- La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau (Paris et Hurabielle, 1981).
- Selon Garnero (1996), une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques.
- Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (Paris et Hurabielle, 1981).
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation donc de conservation limitée (Bruneton, 1993).
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels (Bruneton, 1993).

- Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al., 1990**).

### **I.2.7. Extraction des huiles essentielles**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, chacune ayant plusieurs variantes, que l'on utilise en fonction du matériel végétal à traiter. Parmi ces méthodes :

#### **I.2.7.1. Distillation**

**Bruneton (1999)**, signale que le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

Il existe deux méthodes de base de distillation qui reposent sur le même principe. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Benjlali, 2004**):

- **Hydrodistillation**

Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

- **Distillation à la vapeur (vapo-hydrodistillation)**

Distillation à la vapeur saturée : «vapo-hydrodistillation» : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (**Bego, 2001**). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de ballon rempli d'eau (**Benjlali, 2004**).

#### **I.2.7.2. Extraction par enfleurage**

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Les pétales sont éliminées et remplacées par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (**Belaiche, 1979**).

**I.2.7.3. Extraction par les solvants volatils**

Cette méthode est utilisée pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles (**Belaiche, 1979**).

**I.2.7.4. Extraction par expression à froid**

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation (**Chaintreau et al., 2003**).

**I.2.7.5. Extraction par micro-ondes**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (**Paré, 1997**).

**I.2.7.6. Extraction par ultrasons**

L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition (**Lagunez-Rivera, 2006**).

**I.2.7.7. Extraction au fluide supercritique**

Procédé relativement intéressant pour augmenter le rendement dans le cas de plantes peu riches en huiles essentielles (**Wichtl et Anton, 1999**). L'extraction des huiles essentielles par le CO<sub>2</sub> supercritique fournit selon **Scheffer (1996)**, des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court.

### I.3. Activités biologiques

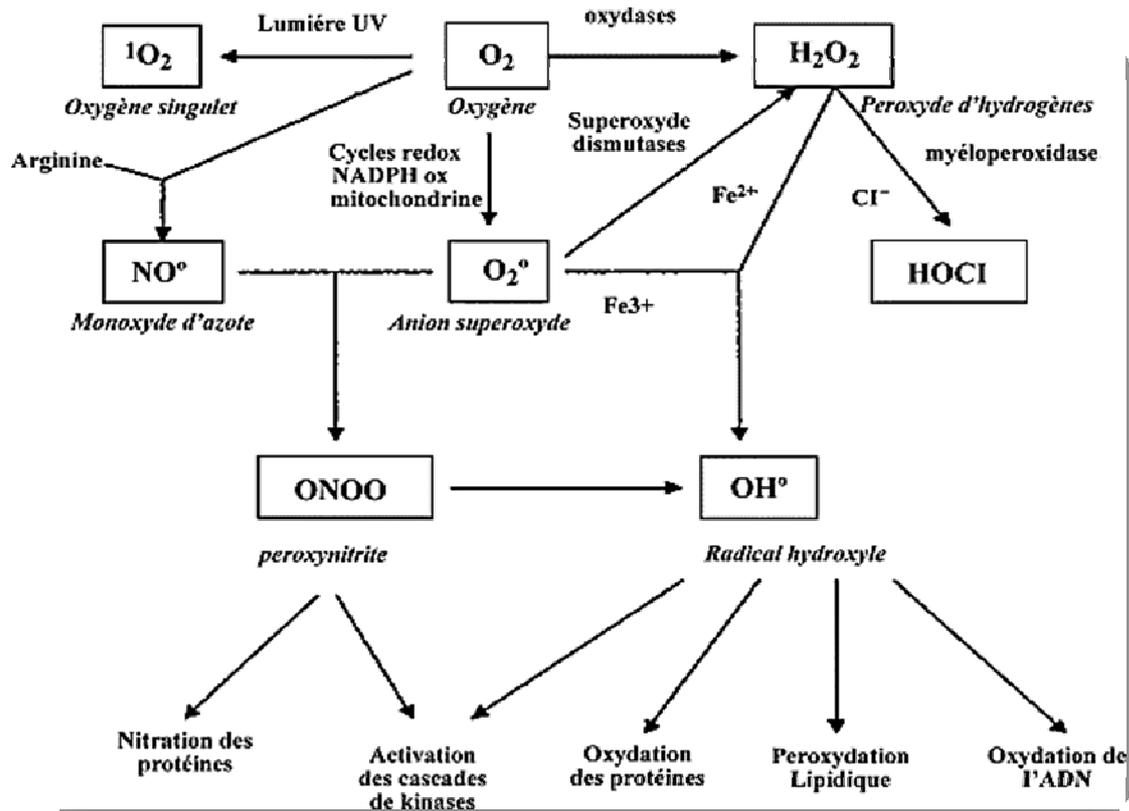
#### I.3.1. Activité antioxydante

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires (**Haleng et al 2007**).

#### I.3.1.2. Radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atome ou molécule qui possède un électron ou plus non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité, ce qui rend les autres constituants organiques et les structures cellulaires très réactives (**Bruneton, 1999**).

Le métabolisme cellulaire produit à l'état physiologique une variété des radicaux libres dérivent de l'oxygène tel que l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ , le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$ , le radical superoxyde  $\text{O}_2^-$ , les peroxydes  $\text{ROOH}$  et les radicaux hydroxyles  $\text{OH}$  et les alkoxydes  $\text{RO}$  (**Cavin, 1999**), ces dérivés sont utiles pour l'organisme à une dose raisonnable. La production peut devenir excessive à cause des phénomènes toxiques endogènes ou exogènes dont l'organisme doit se protéger par des différents systèmes antioxydants (**Favier, 2003**).



**Figure06** : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène (Hazzout *et al.*, 2008).

### I.3.1.3. Défenses antioxydantes

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation (exogène) sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention. Ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, ils réagissent rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec

un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulier pour la transformer en chaleur (Hellal, 2011).

#### I.3.1.3.1. Prévention alimentaire

L'alimentation contient un grand nombre d'antioxydants, non seulement les vitamines (E, C, Q,  $\beta$  carotène) et les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), mais aussi 600 sortes de caroténoïdes, 4 000 polyphénols et flavonoïdes (trouvés dans les choux, le thé, le vin, les céréales, les fruits), des alcaloïdes, des acides organiques, des phytates, des dérivés soufrés de l'ail et de l'oignon, des dérivés indoliques du chou (Favier, 2003).

#### I.3.1.3.2. Défenses endogènes:

##### -Systèmes de défense enzymatiques

- Les super oxydes dismutases (SODs).
- Glutathion peroxydases (Gpxs).
- Le système thioredoxine.
- La catalase.(Haleng *et al.*, 2007).

##### -Systèmes de défense non enzymatiques

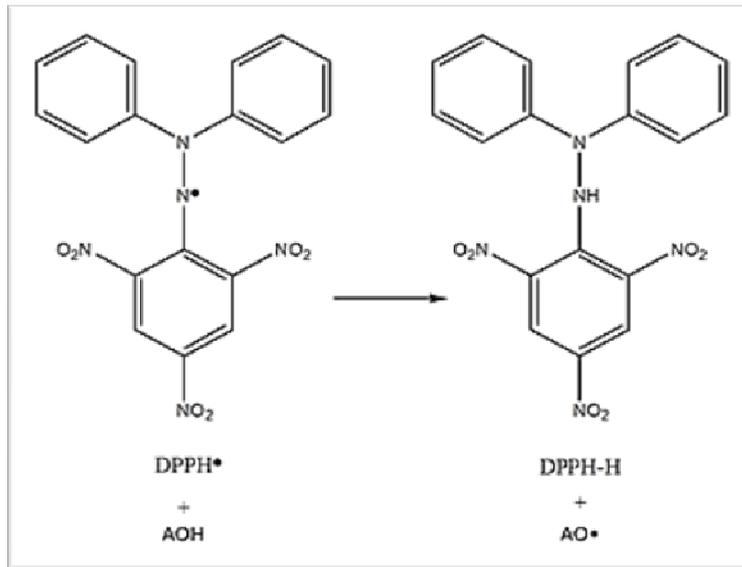
- NADPH, les dipeptides (Boldyrev, 1993)
- Le glutathion et les protéines-thiols (Piquet *et al.*, 2007) .
- L'acide urique (Ames *et al.*, 1993)
- L'acide lipoïque (Pham-Huy *et al.*, 2008).

#### I.1.4. Méthodes d'étude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. Et en pratique, plusieurs essais in vitro procédures sont menés pour évaluer les activités antioxydantes avec les échantillons d'intérêt. Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : **FRAP** (Ferric reducing antioxidant power), **ORAC** (oxygen radical absorbance capacity), **TEAC** (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou test de blanchissement de  **$\beta$  carotène** et **DPPH** (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgieva *et al.*, 2010), parmi ces méthodes on cite les suivantes :

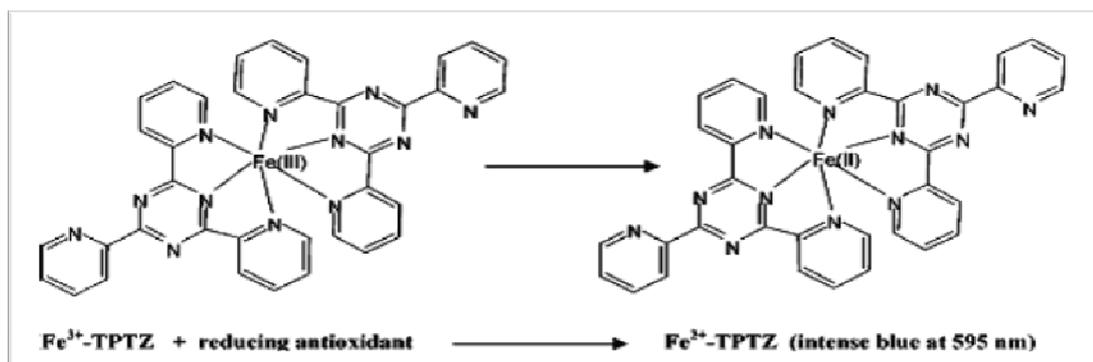
- **Test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)** : Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la

relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (**Figure07**), la mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due a une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie a 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**).



**Figure 07:**Réaction du test de DPPH (**Caroline et al., 2017**)

- **Test de FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)** : Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par **Ladoet al. (2004)**. La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleue (**Figure 08**).



**Figure 08:** Réaction du test FRAP (Ferricreducingantioxidant power) (**Ladoet al., 2004**)

- **Méthode deTRAP(Total radical-trapping antioxidant parameter)** : Cette méthode est basée sur la protection fournie par les antioxydants sur la décroissancede la

fluorescence de la R-phycoérythrine (R-PE) au cours d'une réaction de peroxydation contrôlée. La fluorescence de R-phycoérythrine est désactivée par ABAP (2,2' - azo-bis (2 -amidino- propane) de chlorhydrate en tant que générateur de radicaux. Cet arrêt de la réaction est mesuré en présence d'antioxydants. Le potentiel antioxydant est évalué en mesurant la décroissance de la décoloration (**Ghiselli et al., 1995**).

- **Test de blanchissement de  $\beta$  carotène** : L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$  carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. La présence d'un antioxydant entraîne la neutralisation de ces radicaux prévenant, ainsi, l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$  carotène (**Kartal et al., 2007**).

**Tableau02: Protocoles utilisés pour la mesure de l'activité antioxydante (Memou, 2015)**

| Test        | Solvant                         | Conditions                   | Mesure  | Antioxydants testés                 |
|-------------|---------------------------------|------------------------------|---|-------------------------------------|
| <b>DPPH</b> | Méthanol                        | Obscurité                    | *Décroissance de DPPH à 517 nm<br>*Concentration inhibitrice CI50 | Phénols, vins et diverses molécules |
| <b>FRAP</b> | Milieu aqueux                   | 4-8min                       | Variation de l'absorbance à 593nm, pour le $Fe^{3+}$ réduit       | Jus de fruit                        |
| <b>TRAP</b> | Milieu tampon phosphate pH= 7,4 | 37°C, indicateur luminescent | Consommation en oxygène<br>Référence : Trolox                     | VitamineE, ascorbate, -SH           |

### I.3.2. Activité antibactérienne

#### I.3.2.1. Définition

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou d'un composé présent au sein d'un végétal qui, à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien (**Dorman et Deans, 2000**).

#### I.3.2.2. Agents antimicrobiens

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens, antiviraux, antifongiques et antiparasitaires (**commission européenne (CE), 2001**).

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et selon leur spécificité d'action. Cette dernière peut globalement être répartie en deux types : action bactéricide (ou germicide) pour les agents ayant une action létale sur les bactéries, action bactériostatique pour les agents qui inhibent les bactéries sans les tuer (**Euzéby, 2005**).

#### **I.3.2.2.1. Agents chimiques**

Les agents chimiques antimicrobiens sont très nombreux. Leur choix dépend de l'usage auquel ils sont destinés, de leur activité, de leur toxicité, de leur stabilité, de leur pouvoir corrosif ou colorant, de leur odeur, etc. Parmi ces agents chimiques les agents oxydants oxygénés, le chlore et dérivés, les alcools, les phénols, autres composés phénoliques et aromatiques (**Guiraud, 1998**).

#### **I.3.2.2.2. Agents physiques**

En raison de leur faible spécificité, la plupart des agents physiques antimicrobiens sont efficaces sur l'ensemble des microorganismes, en affectant leurs acides nucléiques ou les protéines. Les quatre agents les plus fréquemment employés sont la chaleur, les basses températures, la filtration et les radiations (**Prescott et al., 2003**).

#### **I.3.2.2.3. Agents chimiothérapeutiques**

Un agent chimiothérapeutique est un composé chimique ou de synthèse qui inhibe le développement des microorganismes. Ce composé agit à faible dose. Il exerce une action très spécifique sur le fonctionnement cellulaire tout en ayant une toxicité sélective. Il inhibe le développement de sa cible ou la tuer tout en étant inoffensif pour l'hôte. Il existe actuellement deux grandes catégories d'agents chimiothérapeutiques antibactériens : Les sulfamides, sont des produits de synthèse. Les antibiotiques beaucoup sont d'origine naturelle (les plus anciens) d'autres de synthèse ou d'hémisynthèse. Ils comprennent cinq groupes selon qu'ils affectent : la synthèse de la paroi, les échanges cellulaires, la réplication et la transcription de l'ADN, la synthèse des protéines, certaines réactions du métabolisme intermédiaire (**Guillaume, 2000**).

### I.3.2.3. Antibiotiques

#### I.3.2.3.1. Définition

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétique d'origine microbienne ou synthétisée chimiquement, capable d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres microorganismes par un mécanisme particulier jouant sur les mécanismes vitaux du germe (Gogny *et al.*, 2001). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Ogawara, 1981).

#### I.3.2.3.2. Antibiotiques naturels et synthétiques

Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi-synthétique (Newman *et al.*, 2003).

#### I.2.2.3.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne, cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (Mevius *et al.*, 1999).

Les antibiotiques peuvent agir sur :

- **La paroi bactérienne:** Pénicilline et Céphalosporine agissent sur les germes en croissance inhibent la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane au cours de la multiplication cellulaire (Zeba, 2005).
- **La membrane cellulaire :** en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit des graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur. L'ADN: Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase (Flandrois *et al.*, 1997).
- **Le ribosome bactérien:** les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine), empêchent la traduction de l'ARNm se fixant sur la petite sous-unité des ribosomes (Hermann, 2005).

***MATERIEL ET  
METHODES***

Les différentes recherches effectuées dans cette étude ont été réalisées au niveau du :

- Laboratoire de recherche sur les molécules bioactives et applications.
- Laboratoire de recherche sur la chimie organique et hétérochimie.
- Laboratoires pédagogiques du département Biologie appliquée
- Laboratoires pédagogiques du département des sciences de la terre et de l'univers.

### II.1. Matériel végétal

La plante (*Thymus algeriensis*) a été récolté de deux régions à Tebessa: El-Kouif et Djebel Zeruiga (Bir El Ater) au cours des mois de Novembre et Décembre 2017(**Figure 09**). Les deux échantillons récoltés ont été mélangées pour supprimer l'effet de l'origine géographique.

Les parties aériennes (tiges et feuilles) ont été séchées à l'air libre pendant 03 jours, le tableau ci-dessous présente les caractéristiques générales des zones de récolte



**Figure 09** : La plante de *Thymus algeriensis*(Bessidik et Khenfer, 2015)

**Tableau03:Caractéristiques générales des zones derécolte**

| Zone de récolte         | Climat     | Pluviosité(mm) | Latitude        | Longitude       | Altitude (m) |
|-------------------------|------------|----------------|-----------------|-----------------|--------------|
| <b>01-El-Kouif</b>      | Semi-aride | 200-400 mm     | 00.04'35"30Nord | 20.64'48"19 Est | 1090m        |
| <b>02-Djbel Zeruiga</b> | Semi-aride | 150-370 mm     | 12.71'34"46Nord | 14.55'8"04Est   | 837m         |

## II.2. Extraction des huiles essentielles

### II.2.1. Description du dispositif d'extraction

Les parties aériennes du *Thymus algeriensis* (tiges et feuilles) ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles. Cette extraction a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation grâce à un hydro-distillateur de type Clevenger (**Figure 10**). Il est constitué d'un chauffe-ballon, un ballon en verre pyrex, une colonne, un réfrigérant et un collecteur. Chacun de ces éléments a un rôle précis : le ballon en verre pyrex sert à placer le matériel végétal séché et l'eau distillée. Le chauffe-ballon permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. La colonne contenant le réfrigérant condense la vapeur qui vient de l'échauffement du ballon. Le collecteur en verre pyrex reçoit les extraits de la distillation (Mohammedi, 2006).



**Figure10** :Montaged'hydrodistillation

### II.2.2.Procédé d'extraction

Cent grammes (100g) de la partie aérienne séchée de la plante a été mise dans un ballon à fond rond de 2000 ml, 150 ml d'eau distillée a été additionnée. L'ensemble est porté à ébullition pendant environ 03 heures. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface. L'huile essentielle obtenue est mise dans un flacon à l'abri de la lumière et stockée à 4C jusqu'aux tests d'activités biologiques.

### II.2.3. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Nous pouvons déterminer le rendement en huile essentielle par le rapport entre la masse de l'huile essentielle, avec la masse du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme. Les rendements des extractions sont calculés suivant la formule ci-dessous :

$$R\% = \frac{\text{Masse de l'huile essentielle} \times 100}{\text{Masse de la matière végétale}}$$

Avec :

R% : Rendement

## II.3. Tests des activités biologiques

### II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante (Test d'activité anti DPPH)

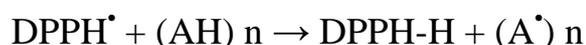
#### II.3.1.1. Matériel

Tableau 04 : Matériel de l'activité antioxydante

| Appareil  | Verrerie et autres       | Réactifs et autres                   |
|---|--------------------------|--------------------------------------|
| Spectrophotomètre UV-VISIBLE <i>pharmaspec SHIMADZU</i> | Bécher                   | 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) |
| Micropipette 100-1000µl <i>ISO LAB</i>                  | Tubes à hémolyse de 5 ml | Méthanol                             |
| Micropipette 1-100µl <i>UNIQUE</i>                      | Portoirs                 | Acétone                              |
| Micropipette 10-100µl <i>ISO-LAB</i>                    | Fiole jaugé              | Eau distillée                        |
|   | Embouts jaunes et bleues |                                      |
|   | Spatule                  |                                      |
|   | Eprouvette               |                                      |

#### II.3.1.2. Méthodes

Le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) est souvent utilisé pour estimer l'activité antioxydante de nombreux composés, dont les composés phénoliques présentes dans les huiles essentielles (Zeghib, 2013). La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Molyneux, 2004). Le DPPH est initialement violet se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie:



Avec :

DPPH: 2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl  
 AH : un composé capable de céder un H au radical DPPH  
 A': le composé oxydé après la réduction de DPPH

L'huile essentielle à tester doit être capable de céder un H<sup>+</sup> au radical DPPH qui de couleur initialement violette pour le transformer en diphényle picrylhydrazinede couleur jaune(Brand-Williamset *al.*, 1995). Cette décoloration est représentative de la capacité des composés de l'huile essentielle à piéger les radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique.

### II.3.1.3. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**, la solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 0,004 g de DPPH dans 100 ml de méthanol (0,04%). A partir d'une solution mère (95,17 mg / ml ), différentes concentrations (200, 400, 600, 800, 1000 µg/ml) de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* ont été préparées. Ensuite 25µl de chaque concentration a été mélangé avec 2,5 ml de DPPH. Le mélange est agité vigoureusement puis l'absorbance a été mesurée à 517nm pour différents temps (0, 5, 10, 15 20 25 et 30 mn) afin de suivre la cinétique de la réaction.

L'inhibition du radical libre DPPH a été également évaluée pour la vitamine C (acide ascorbique) aux mêmes concentrations pour comparer son activité à celle de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*. Tous les essais en ont été effectué en double.

### II.3.1.4. Détermination de pourcentage d'inhibition

Selon **Sharififar et al. (2007)**, l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) a été calculée de la manière suivante:

$$I\% = \frac{(Abs_{blanc} - Abs_{HE}) \times 100}{Abs_{blanc}}$$

Avec :

$Abs_{blanc}$ : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai).

$Abs_{HE}$ : absorbance le l'huile essentielle.

### II.3.1.5. Détermination de l'IC50

Les concentrations en huiles essentielle et en vitamine C en fonction des pourcentages du DPPH inhibé ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la

concentration du DPPH<sup>•</sup> initial de 50%. L'IC50 a été déterminée graphiquement en utilisant la régression linéaire.

### II.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### II.3.2.1. Matériel

Tableau 05: Matériel de l'activité antibactérienne

| Appareil   | Verrerie et autres    | Réactifs et autres               | Solvants et autres        |
|--|-----------------------|----------------------------------|---------------------------|
| Balance de précision (ALS 286 4N)                  | Tubes à vis 16*160 mm | Milieu solide Muller-Hinton (MH) | Ethanol                   |
| Plaque chauffante (IKA RH basic 2)                 | Embouts bleu et jaune | Gélose nutritive                 | Eau physiologique stérile |
| Etuve (DLAB TECH DAI HAN co LTD)                   | Eprouvettes graduées  |                                  | Eau distillée             |
| Etuve (Heraeus Typ 5042)                           | Fiole jaugée          |                                  |                           |
| Micropipette 2-20µl (ISO LAB)                      | Bécher                |                                  |                           |
| Agitateur magnétique (IKA <sup>®</sup> RH basic 2) | Spatule               |                                  |                           |
| Bec benzène  | Ecouvillons           |                                  |                           |
|  | Disques stériles      |                                  |                           |
|  | Pince                 |                                  |                           |
|  | Boîtes de Pétri       |                                  |                           |
|  | Papier aluminium      |                                  |                           |
|  | Papier absorbant      |                                  |                           |

#### II.3.2.2. Bactéries d'étude

Dans la présente étude, 06 souches bactériennes ont été utilisées de type ATCC (American Type Culture Collection) et d'origine clinique, parmi lesquelles :

- Quatre (04) souches Gram négative : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *E. Coli* (1) et (2) d'origine clinique.
- Deux (02) souches Gram positive : *Staphylococcus aureus* (1) ATCC 25293, *Staphylococcus aureus* (2) ATCC 43300

Les souches ATCC ont été fournies par l'institut de pasteur d'Alger et les souches d'origine clinique ont été fournies par le service de prévention 600 -Tebessa-.

#### II.3.2.3. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes, une quantité suffisante des souches bactériennes pures ont été récupérées à l'aide d'une anse de platine, dans un tube à vis qui contient 5 ml de l'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne a été homogénéisée par une faible agitation manuelle.

#### II.3.2.4. Principe de test

L'activité antibactérienne de l'huile étudiée a été évalué par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques)(**Hammer et al.,1999**)., A l'aide d'un écouvillon stérile, Un prélèvement à partir de cette suspension bactérienne sert à ensemencer par écouvillonnage les boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton. L'écouvillon doit être utilisé une seule fois pour chaque souche bactérienne.

Un seul disque stérile de papier filtre de 6 mm de diamètre a été posé dans chaque boîte de pétri, à l'aide d'une pince. Par la suite, 5µl d'huile essentielle pure de *T. algeriensis* ont été déposés sur chaque disque. L'incubation a été faite pendant 24 à 48 h dans une étuve réglée préalablement à une température de 37°C. Les essais ont été effectués en triplet trois répétitions pour chaque bactérietest. Les résultats sont exprimés en diamètres (mm) des zones d'inhibition autour des disques. Le tableau ci-dessous présente les valeurs références.

**Tableau06: Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition (Duraffourd et Lapraz, 2002).**

| Diamètre du halo d'inhibition (X) | Degré de sensibilité des germes | Résultat |
|-----------------------------------|---------------------------------|----------|
| $X \leq 8$ mm                     | Résistante                      | -        |
| $8 \text{ mm} < X < 14$ mm        | Sensibilité limitée             | +        |
| $14 \text{ mm} < X < 20$ mm       | Sensibilité moyenne             | ++       |
| $X \geq 20$ mm                    | Très sensible                   | +++      |

#### II.4. Analyse statistique des données

Les résultats sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues  $\pm$  l'écart type (SD).La différence entre le contrôle et les différents tests, est déterminée par l'analyse de la variance (ANOVA) univariée suivie du test de Dunnett pour les comparaisons multiples des moyennes et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0,05$  sont

considérées statistiquement significatives. Les graphiques ont été tracés en utilisant le logiciel Excel10 et les calculs statistiques ont été réalisés grâce au logiciel Minitab16<sup>®</sup>.

***RESULTATS ET  
DISCUSSION***

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Rendement de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

Le rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation dans la présente étude était de 0,78%. Cette valeur largement plus importante que celle trouvée par **Hazzit et al. (2009)** et **Amarti et al. (2009)** qui ont rapporté des valeurs de 0,4% et 0,3% respectivement. En revanche, notre valeur paraît plus faible comparée à celles rapportées par **Dob et al. (2006)** et **Zayyad et al. (2014)** qui ont trouvé des rendements de 1,13% et 2,96% respectivement.

**Chemat et al. (2012)** ont mis en évidence l'influence de la période de conservation qui a affecté beaucoup la proportion de rendement de *Thymus algeriensis*. Selon leurs résultats, le taux de rendement est inversement proportionnel à la durée de conservation. **Mebarki (2010)**, a trouvé que le meilleur rendement de *Thymus fontanesii* est obtenu durant la période de floraison (mai-juillet). L'origine géographique, le stade végétatif de la plante, la période de récolte, les conditions climatiques et édaphiques (facteur écologique lié au sol) le lieu, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction, tous ces facteurs peuvent aussi jouer un rôle déterminant pas seulement sur le rendement mais également sur la composition chimique de l'HE (**Svoboda et Hampson, 1999**).

#### III.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *T.algeriensis*

Les propriétés organoleptiques caractérisant l'HE du *T. algeriensis* sont les suivantes:

**Aspect** : liquide moyennement visqueux

**Couleur** : jaune pâle

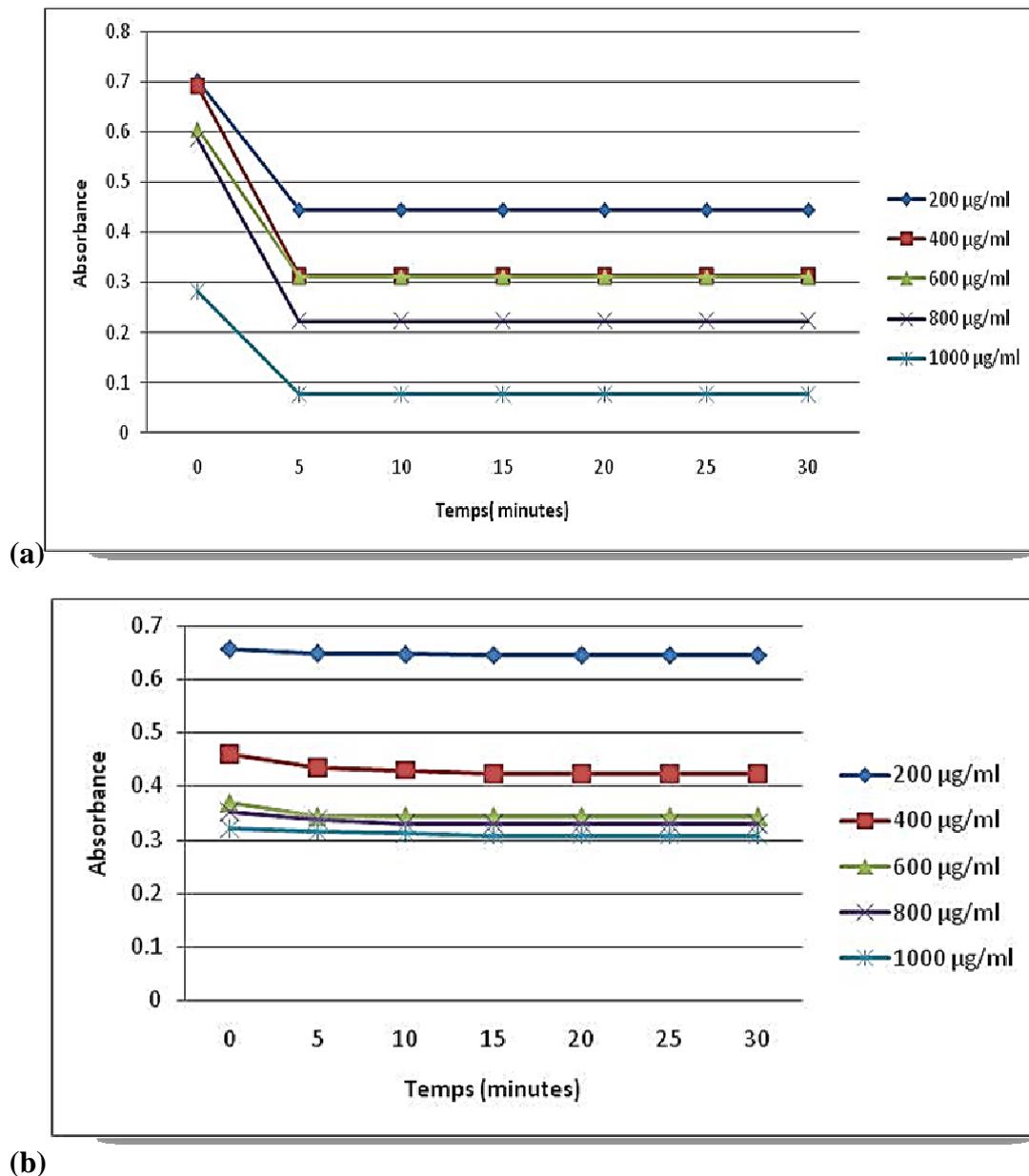
**Odeur** : agréable parfumé de thymol

#### III.3. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

##### III.3.1. Cinétique de la réaction

La cinétique de la réaction (réduction de DPPH) est obtenue pour chaque concentration pour la vitamine C et l'HE (**Figure 11**). Les résultats montrent que pour les deux composés (HE et vit. C), la cinétique est biphasée. Pour toutes les concentrations étudiées, il existe un affaiblissement rapide de l'absorbance dans les premières minutes suivi d'une baisse plus lente jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. Les résultats montrent également que le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique paraît plus fort que celui de l'HE. En effet, le

temps d'affaiblissement de l'absorbance est plus rapide pour la vit. C que pour l'HE (5mn vs 15 mn respectivement). L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH•, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH-H, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène (Villano *et al.*, 2007)



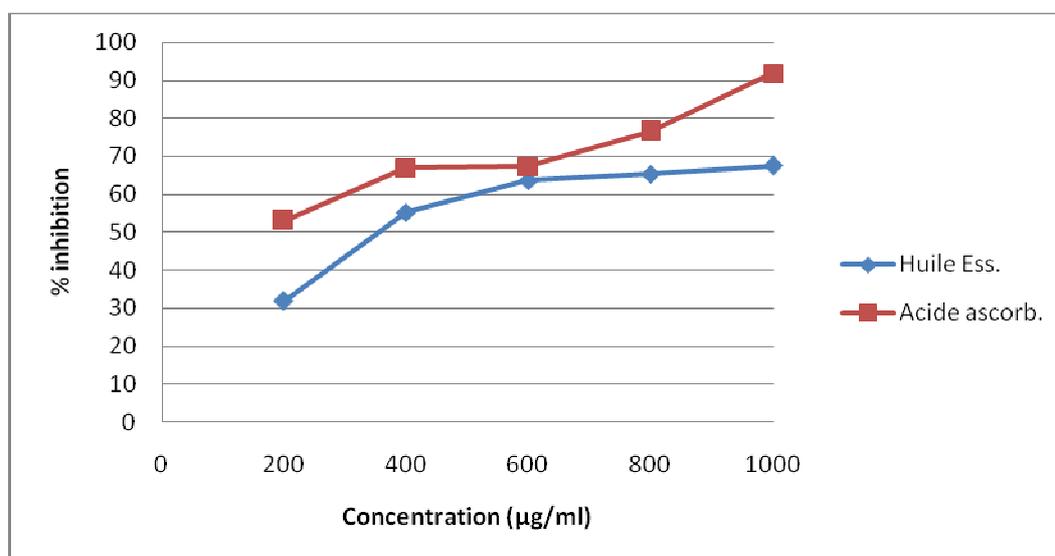
**Figure 11:** Réduction de DPPH par la vitamine C (a) et par l'HE de *T. algeriensis* (b).

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par **Ismaili et al. (2017)** qui sont aussi distingués deux zones de la réaction: zone à forte cinétique de piégeage du radical et zone à faible cinétique de piégeage du radical que soit pour la vit C ou les HE examinées (*Menthaspicata*, *Thymus vulgaris*, et *Citrus limonum*)

Pour les deux composés examinés, la concentration de 1000 $\mu$ g/ml, marque quel que soit le temps d'incubation, la valeur la plus faible de l'absorbance ce qui signifie un effet dose dépendant du piégeage de radical libre DPPH. L'effet dose dépendant a été confirmé aussi par **Popivici et al. (2009)** qui illustre que plus le composé antioxydant est concentré, plus la baisse de l'absorbance est importante et **Kodali et al. (2005)** qui mentionne que l'augmentation de l'activité antioxydante est relativement proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'HE.

### III.3.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été examiné pour chaque concentration d'HE et de vitamine C. Les résultats sont consignés dans la **Figure12**.



**Figure12:** Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations d'HE et d'acide ascorbique.

Les résultats obtenus indiquent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation des concentrations que soit pour l'HE ou pour la vitamine C. On observe que pour les doses de 200  $\mu$ g/mg et 1000  $\mu$ g/ml, le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'HE est significativement inférieur à celui de la vitamine C ( $p < 0.05$ ) (**Tableau 07**). En effet, la capacité de l'HE du *T.algeriensis* d'agir comme un

donneur d'hydrogène ou d'électron pour transformer le radical libre DPPH<sup>•</sup> à sa forme stable DPPH-H est de 67.53% à une concentration de 1000µg/ml tandis que la vitamine C a un pourcentage d'inhibition de 91.87% à la même concentration. Nous remarquons également que le pourcentage d'inhibition est en augmentation continue pour la vitamine C (allure linéaire) tandis que pour l'HE de *T. algeriensis*, le profil d'évolution des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration semble se stabiliser autour de 70% (allure hyperbolique).

**Tableau 07 : Valeurs moyennes des pourcentages d'inhibition (± écartype) du *T. algeriensis* et du vit C en fonction des concentrations étudiées.**

| Concentration<br>(µg/ml) | Huile Essentielle du <i>T. algeriensis</i> | Acide ascorbique           |
|--------------------------|--|----------------------------|
|                          | Moyenne du PI±Ecartype                     | Moyenne du PI ± Ecartype   |
| 200                      | 31,84 ± 0,04 <sup>a</sup>                  | 53,06 ± 0,03 <sup>b</sup>  |
| 400                      | 55,28 ± 0,28 <sup>a</sup>                  | 67,00 ± 0,16 <sup>a</sup>  |
| 600                      | 63,68 ± 0,004 <sup>a</sup>                 | 67,32 ± 0,01 <sup>a</sup>  |
| 800                      | 65,36 ± 0,001 <sup>a</sup>                 | 76,50 ± 0,07 <sup>a</sup>  |
| 1000                     | 67,53 ± 0,03 <sup>a</sup>                  | 91,87 ± 0,004 <sup>b</sup> |

\* les valeurs avec des lettres différentes dans la même ligne sont significativement différentes (p<0.05)

Ces résultats sont semblables aux autres élucidés par **Bensaleh et al.(2011)** qui ont trouvé que le pourcentage de DPPH resté est atteint la valeur de 0% avec les doses les plus concentrées (94.51µg/ml et 118.13µg/ml respectivement). L'étude d'**Ismaili et al.(2017)** a révélé que, pour une concentration de 2000 mg/ml, l'acide ascorbique a un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 95%, tandis que pour les concentrations d'HE du *Mentha spicata*.(4000 mg/ml), du *Thymus vulgaris*(100mg /ml) et du *Citruslimonum* (1000 mg/ml) les pourcentages d'inhibition obtenus sont respectivement 81,21 %, 90 % et 48,50 %. **Khoudali et al. (2014)**, ont été mentionnés que le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique est supérieur à celui de l'extrait méthanolique de *chamaerops humilis L.* pour toutes les concentrations.

Par contre l'étude précédente d'**Ismaili et al. (2017)**,a prouvé que l'HE du *T. vulgarisa* une forte activité qui dépasse celle de l'acide ascorbique. Dans le même contexte mais, pour un autre standard qui est la vitamine E (l'α-tocophérol) **Khoudali et al. (2014)** ont trouvé que le pourcentage d'inhibition de ce dernier est inférieur de celui de l'extrait

méthanolique de *chamaerops humilis L.* pour les concentrations inférieures à 30µg/ml. Cet effet antiradicalaire de certains dérivés phénoliques contenants dans les composés testés révèlent clairement leur propriété antioxydante (Sidaoui *et al.*,2016).

### III.3.3.Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC50des deux composés (HE et Vitamine C). Cet indicateur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• à la moitié (50%). L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Cela veut dire que la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est petite. Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire comme c'est illustré dans laFigure13.

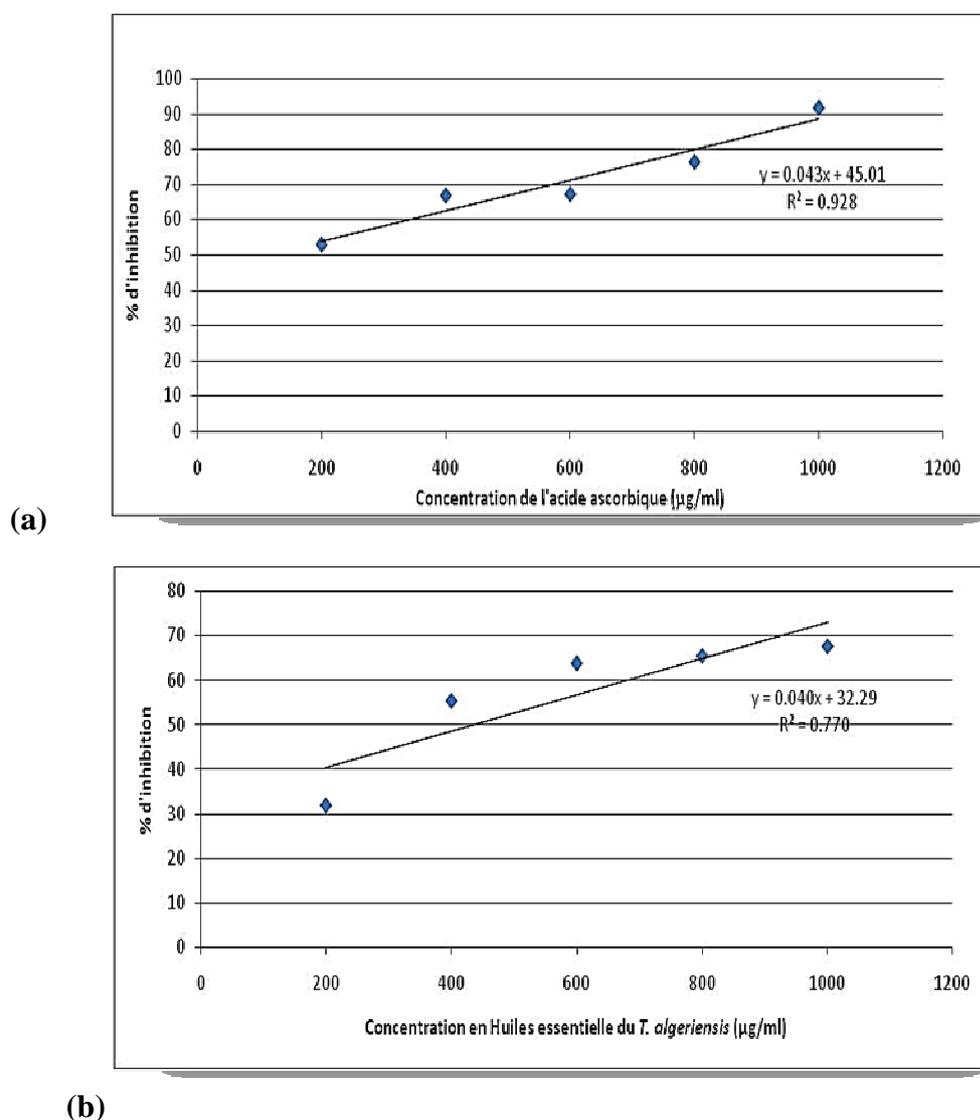


Figure13: Détermination de la valeur IC50de la vitamine C (a) et de l'huile essentielle(b)

Concernant la vitamine C, l'IC<sub>50</sub> est 114,31 µg /ml qui montre un pouvoir antioxydant significativement plus fort ( $p < 0.05$ ) que l'HE de *T. algeriensis* qui marque une valeur de 434,96 µg/ml.

L'étude de **Khoudali et al. (2014)** a indiqué un IC<sub>50</sub> de vit C de 24.5 µg/ml montrant une activité très importante qui est pratiquement semblable à celle de l'alpha-tocophérol qui ramène la stabilité au DPPH avec un IC<sub>50</sub> de 26 µg/ml, ces différences de la valeur d'IC<sub>50</sub> de la vit C sont liées à la différence des concentrations des solutions préparées.

Pour l'HE de *T. algeriensis* et par la comparaison de nos résultats avec ceux d'autres travaux antérieurs, nous constatons que l'IC<sub>50</sub> enregistrée dans la présente étude est supérieure à certaines valeurs rapportées dans d'autres études. En effet, **Abdulmid et al. (2013)** ont trouvé pour une espèce de *T. algeriensis* poussé en Lybie une IC<sub>50</sub> de 0,299 mg/ml (299 µg/ml). De même, le travail mené par **Alouache et Benmeziane (2017)**, indique que l'HE de *T. algeriensis* de la région de la Kabylie présente une efficacité remarquable avec IC<sub>50</sub> de 102,8 µg/ml. En revanche, notre IC<sub>50</sub> paraît inférieure à celle rapportée dans **Amrati et al. (2010)** qui ont signalé une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 745,6 µg /ml, ce qui témoigne pour eux une faible activité antioxydante comparée aux autres espèces de thymus étudiées. Cette légère activité a été confirmée par **Hazzit et Baliouamer (2007)**, pour deux chémotypes de *T. algeriensis* de l'Algérie. À partir de ces résultats on peut dire que notre huile essentielle a une activité antioxydante relativement efficace qui est due principalement à la composition chimique de l'espèce *T. algeriensis* qui est couramment riche en monoterpènes oxygénés: le camphre, l'α pinène l'α thujène et le linalool sont majoritairement répandus (**Amrati et al., 2010.; Guesmiet et al., 2016; Zouari et al., 2015**) Ces composés sont à l'origine du pouvoir antioxydant avéré de l'HE (**Bruneton, 1993**).

D'autres études qui ont élucidé d'autres espèces de thym dont la composition chimique se diffère d'une espèce à une autre, mentionnent des activités antioxydantes plus ou moins fortes selon leurs compositions, ainsi les espèces riches en thymol et carvacrol illustrent une activité antioxydante efficace tel que l'HE de *T. capitatus* dont la teneur en carvacrol est élevée, présente une meilleure activité antiradicalaire (113.2 µg/ml), dans une étude sur l'activité antioxydante de deux variétés de *T. sipyleus*, indique que l'huile essentielle provenant de la variété *rosulans* semble d'être plus active à cause de sa richesse en thymol et carvacrol alors que la variété *sipyleus*, moins active, est riche en composés oxygénés. (**Belhadjet et al., 2013 ; Stanojević et al., 2013**) ont prouvé l'activité antioxydante modérée d'une espèce de thym à cause de sa richesse en flavonoïdes et phénols. Ces

composés, grâce à leurs propriétés d'oxydo-réduction, agissent en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et d'oxygène singulier (Rice-Evans *et al.*, 1995). Selon Jarić *et al.* (2015), l'effet synergique des composés de *T. serpyllum* lui donne l'efficacité antioxydante. Ainsi Kordali *et al.* (2005), ont signalé que la détermination précise des composés responsables de l'activité antioxydante paraît très difficile

Le potentiel antioxydant des composés volatiles extraits du thym a été prouvé dans plusieurs études *in vivo*. Ces études ont rapporté que ces composés possèdent un effet correcteur des dommages oxydatifs sur le plan biochimique, enzymatique et histologique. Ainsi, plusieurs maladies dont les mécanismes physiopathologiques font intervenir un stress oxydant ont été atténuées par les huiles du thym (Stanojevic *et al.*, 2013 ; Zouari *et al.*, 2015).

#### III.4. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

Les résultats des tests d'activité antibactérienne des HE de *Thymus algeriensis* sont illustrés dans le tableau 08.

**Tableau 08 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle de *T. algeriensis*.**

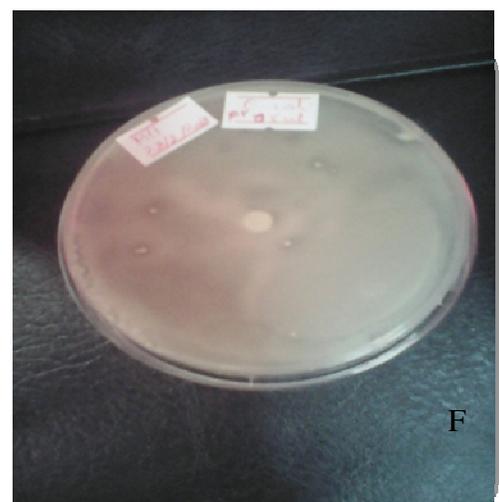
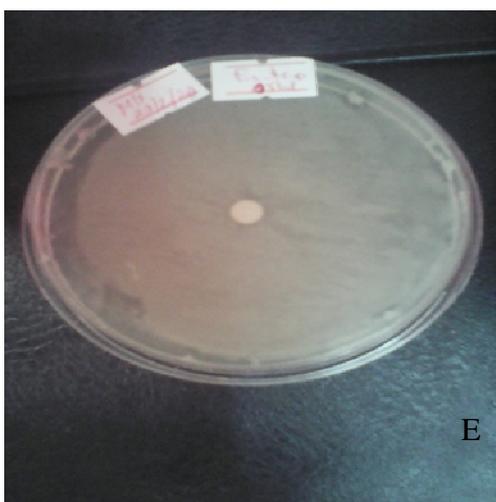
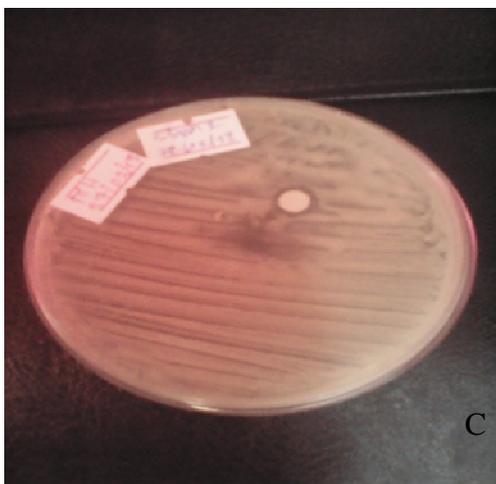
| Bactérie            | Répétition | Diamètre (mm) | Moyenne de répétition | Ecartype |
|---------------------|------------|---------------|-----------------------|----------|
| <i>S.aureus</i> 01  | 1          | 55            | 54,78                 | 3,66     |
|                     | 2          | 60            |                       |          |
|                     | 3          | 55            |                       |          |
| <i>S.aureus</i> 02  | 1          | 23            | 24,67                 | 3,00     |
|                     | 2          | 20            |                       |          |
|                     | 3          | 24,7          |                       |          |
| <i>P.aeruginosa</i> | 1          | 30            | 37,56                 | 17,45    |
|                     | 2          | 35            |                       |          |
|                     | 3          | 60            |                       |          |
| <i>E.coli</i> ATCC  | 1          | 6,3           | 6,30                  | 0,10     |
|                     | 2          | 6,4           |                       |          |
|                     | 3          | 6,2           |                       |          |
| <i>E.coli</i> 01    | 1          | 6,2           | 6,20                  | 0,10     |
|                     | 2          | 6,3           |                       |          |
|                     | 3          | 6,1           |                       |          |
| <i>E.coli</i> 02    | 1          | 6,4           | 6,40                  | 0,10     |
|                     | 2          | 6,5           |                       |          |
|                     | 3          | 6,3           |                       |          |

Nos résultats montrent que les HE du *T. algeriensis* exercent un effet antibactérien très accentué sur *Staphylococcus aureus* (1) ATCC 25293 avec un diamètre d'inhibition

moyen de 54,77 mm (planche 14 A). De même, un effet antibactérien très prononcé de l'HE du *T. algeriensis* a été, observé sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition moyen de 37,55 mm (planche 14 B) et sur *Staphylococcus aureus* (2) ATCC 43300 où le diamètre d'inhibition moyen était de 24,77 mm (planche 14 C).

En revanche, nos résultats montrent que l'HE du *T. algeriensis* n'a aucun effet ni sur la souche *E. coli* ATCC 25922 (planche 14 D) ni sur les isolats clinique *E. coli* (01) et (02) (planche 14E et F).

Nous pouvons conclure, à l'issue de ces résultats, que l'HE du *T. algeriensis* contient des molécules à large spectre vis-à-vis des Gram+ et des Gram-.



**Planche14:** Photos des tests antibactériens de *T.algeriensis* vis-à-vis des bactéries testées.

**A : *S. aureus*1. B : *P. aeruginosa*. C : *S. aureus*2. D : *E. coli* ATCC. E : *E. coli*1. F : *E. coli*2.**

L'action bactéricide des huiles essentielles de *T.algeriensis* peut être due à la nature de ces composants chimiques. Plusieurs études ayant pour objectif de déterminer la composition des HE *T.algeriensis* montrent qu'elles sont riches en composants hydrocarbonés monoterpéniques tels que le camphre, l' $\alpha$  pinène et l' $\alpha$  thujène. Ces molécules sont à l'origine de cette activité antibactérienne (**Amrati et al., 2010**). En effet, étant de nature lipophile, ces molécules peuvent se répartir dans les lipides de la membrane cellulaire et des mitochondries des bactéries affectant leurs structures et les rendant plus perméables et conduisant à l'éclatement des cellules bactériennes (**Knobloch et al., 1986 et Burt et al., 2004**).

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Chemmat et al.(2012)**, ces auteurs ont trouvés que l'huile essentielle de *T.algeriensis* a une action bactéricide plus forte que la nôtre vis-à-vis *P.aeruginosa* et *S.aureus*. Ils ont rapporté des zones d'inhibition de 75 et 60mm respectivement. Dans une étude réalisée par **Pirbalouti et al. (2011)**, *S.aureus* et *P.aeruginosa* paraissent moins sensibles que nos souches mais vis-à-vis des HE de *Thymus daenensis*(20,3 et 16.6 mm respectivement). De même, **Rota et al. (2008)** ont rapporté que les HE de *T. zygis* ont une activité remarquable sur *S. aureus*.

Contrairement à nos résultats, **Chemmat et al.(2012)** ont trouvés qu'*E. coli* est sensible aux HE de *T.algeriensis* avec diamètre d'inhibition d'environ de 46 mm. Dans d'autres travaux réalisés sur d'autres espèces de thymus, *E. coli* s'est montré également sensible avec un diamètre d'inhibition de 17.6 mm (**Pirbalouti et al., 2011**). Ces résultats sont liés à la différence des composés chimiques des huiles essentielles des espèces de thymus.

# ***CONCLUSION***

## Conclusion

En vue de l'importance thérapeutique et économique des plantes médicinales, cette étude a été réalisée afin d'explorer les activités biologiques des huiles essentielles du *Thymus algeriensis* qui est une plante médicinale appartenant à la famille des Lamiacées. L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de constater les points suivants:

- Dans un premier lieu, le rendement en HE du *T. algeriensis* est assez remarquable (0,78%).
- *Thymus algeriensis* a montré une activité antioxydante relativement efficace avec un pourcentage d'inhibition de 67,53% et IC50 de 434.96.31µg/ml.
- L'activité antibactérienne montre que l'HE a une forte activité inhibitrice contre trois souches (*S. aureus* 1, *S. aureus* 2 et *P. aeruginosa*) avec des diamètres d'inhibition (54,77-24.77-37.55mm respectivement). Les trois souches restantes d'*E.coli* ont montré une résistance contre l'HE du *Thymus algeriensis*.

Cette étude n'est qu'une contribution simple pour la valorisation de cette plante. Nous estimons que d'autres travaux doivent être réalisés pour approfondir et développer les recherches concernant les vertus de *Thymus algeriensis* afin de:

- Explorer mieux les activités intéressantes de cette plante (antimicrobienne, antitumorales, anticancéreuses).
- Accréditation de l'utilisation des HE de cette plante dans la thérapie, des maladies chroniques.
- Valoriser l'utilisation du patrimoine botanique de notre pays dans la phytothérapie.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Liste des références bibliographiques

### A

- 1. Alouache F. et Benmeziane S. (2017)** Etude comparative des activités biologiques des huiles essentielles et extraits volatiles (CO<sub>2</sub> supercritique) de plantes aromatiques du genre *Thymus* Université Abd- Errahman. MIRA Bejaia. Mémoire de master
- 2. Amarti F. Satrani B. Ghanmi M. Farah A. Aafi A. Aarab L. El Ajjouri M. Chaouch A. (2010)** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Morocco, Biotec Agron and Soc Enviro. 14: 141-148 pp.
- 3. Ames .B. Shigenaga K. Hagen .T. Proc M. (1993)** in thèse de doctorat Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

### B

- 4. Badjah (1978)** In mémoire de master Etude de l'activité antifongiques des HE d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmiers du palmier dattier (2015) Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 5. Bakkali F. Averbeck S. Averbeck D. Idaomar M. (2008)**. Biological effects of essential oils Food and Chemical Toxicology. 46: 446-475 pp. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.
- 6. Barkat M. Laib.I (2011)**. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Revue de Génie Industriel. 6: 46-54pp.
- 7. Bauer S. Kirb W. Sherris J. and Thurck M. (1966)**. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. American Journal of Pathology 45:493-496 pp. In Abidat Khawla, Mebarki Khaoula. (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes

et des sciences de la nature et de la vie, Université Larbi Tebessi,TEBESSA.

**8. Bazylo A. et Strzelecka H. (2007).** *Fitoterapia* .78:391-395 pp.

**9. Bego Ph. (2001)** Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris.2-3 pp.

**10. Belaiche P. (1979)** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme Ed. Maloine. Paris. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.

**11. Belhadi et Ayat (2011).** In mémoire de master.

**12. Belhadj K . Fatnassi S. Amira Bannour S. Harzallah Skhiri F. Mahjoub M. Chaumont J Mahjoub A. (2010)** Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link.

**13. Benjilali B. (2004)** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.

**14. Benov L. et Georgeiv N. (1994).** The antioxidant activity of Flavonoids Isolated from *Corylus colurna*. *Phytotherapy Research*. 8: 92-94pp.

**15. Bensalah S. Behija E Elarem. A. Hammami M. Nouredine A. Helal Achour. L. (2011)** Influence de la saison de récolte et du stockage sur les activités antioxydantes des dattes de l'espèce *Phoenix dactylifera* L. de Tunisie *J. Med. Plants Nat. Prod* .11: 133-141pp.

**16. Berleth T (1993).** Studies on the role of the Arabidopsis gene *monopteros* in vascular development and plant cell axialization. *Journal of physiological plant*. 11: 165-170 pp

**17. Bessidik M. et Khenfer B. (2015).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles *Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L).Mémoire de master Université Kasdi Merbah Ouargla.

**18. Boldyrev.(1993)** in thèse de doctorat Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Aboubakr Belkaïd- Tlemcen.

19. **Brand W. Cuvelier M. Berset C. (1995)** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*.28: 25-30 pp.
20. **Bruneton J. (1993)**. *Pharmacognosie Phytochimie des Plantes médicinales*. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier. Paris. 41-54pp
21. **Bruneton J. (1999)** - *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3<sup>ème</sup> édition, Ed. TEC et DOC, Paris. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.
22. **Buchbauer G (2011)** A review on recent research results on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr* 27: 13–39 pp.
23. **Burits M. Bucar F. (2000)** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: 323-328 pp.
24. **Burt.S.** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods.

## C

25. **Cavin A. (1999)**. Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et anti radicalaire. *Tinospora crispa* (Ménispermacées). *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (Annonacées). In Thèse de Doctorat Université de Lausanne. Suisse. 241 pp.
26. **Chaintreau A. Joulain D. Marin C. Schmidt C. VEY M. (2003)**. Quantitation of fragrance compounds suspected to cause skin reaction. *Agricultar and Food Chemistry* .51: 398-403 pp.
27. **Champagnat P. Aheitz A. Carnat A. Fraisse D.Carnat A. (2008)**. Flavonoïds from *Vetiveria zizanoïdes*. 36: p68.
28. **Chemat S. Cherfouh R. Meklati B. Belanteur K. (2012)** Composition and antimicrobial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil. *Essent Oil Res* 24: 5–11pp.
29. **Choudhhury R. Kumar A. (2006)**. *Pharm Biomed*. p825.
30. **Colette K (2004)** .*Les plantes médicinales*.
31. **Commission européenne. (2001)**. proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne. BRUXELLE.

## D

32. **Dimitrijevic`S. Milonavic-Stevanovic. K. Antonvic-Stevanovic M. Yadegari D. Rezaei . Taghizadeh M. Astaneh S. Rasooli I . (2007).** Food Chemistry. 102: 259-260 pp.
33. **Djeddi S. Karioti A.Yannakopoulou E. Papadopoulos K. Chatter R. Helen S. (2015)** Analgesic and Antioxidant Activities of Algerian Retama raetam (Forssk.) Webb & Berthel Rec. Nat. Prod. 7: 169-176 pp.
34. **Dob T. Dahmane D.Benabdelkader T. Chelgoum C. (2006).**Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Thymus fontanesii Journal of pharmaceutical biology the New York (Pharm. Bio).44:607-612 pp.
35. **Dorman H. Deans S. (2000)** Antimicrobial agents plants antibacterial of plant volatil oils journal of Applied Microbiology 88:308-316 pp.
36. **Duraffourd C et Lapraz J.C. (2002).** Phytothérapie clinique. Endobiogénie et Médecine.
37. **Duval D. (2007).** «Cours de chimie organique »,université de Nice-Sophia Antipolis à consulter sur . <http://www.unice.fr>Edition Masson, Paris. *In* Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. (2015).Mémoire de master.

## E

38. **Elhabzi K. Dicko A. Desor F. Dalal A . Younos C.Soulimani R. (2006).** Journal of Ethnopharmacol.103:413-419 pp .
39. **Erol N. Sari F. Velioglu Y. (2010).** Polyphenols, alkaloids and antioxydant activity of differnt grades turkish black tea .GIDA.35: 161-168 pp.
40. **Euzéby J.(2005)** Bactériologie générale et médicale.104 pp.

## F

41. **Favier A. (2003),** Le stress oxydant. L'actualité chimique p112
42. **Fellah S. Romdhane M. Abderraba A. (2006).** J.Soc.Alger.Chim.16 :193-202 pp.
43. **Fenaroli G.** Fenaroli's Handbook of flavor ingredient, 3rd ed.CRC Press.

**44. Flandrois J. Courco. L. Lemeland J. Ramuc M. Sirot J. Souny. C. (1997).** Bactériologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2 7297 0567 8.

## G

**45. Garneau F. (2004)** Le matériel végétal et les huiles essentielles. Manuel pratique. Huiles essentielles de la plante à la commercialisation. 1-16pp.

**46. Garnero J. (1996)** Huiles essentielles. Constantes physico-chimiques de genre *Thymus*. In mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie.

**47. Gaucher C. Leroy P. Boudier A.** Relationship between Antioxidant Capacity and Food Chemistry 5: p 8.

**48. Georgieva S. Boyadzhiev L. Angelov G. (2010).** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel. 5: 124-132 pp.

**49. Gerhard K. H. Prezemek, Jim Mattsson, Christian S. Hardtke, Z. Renee Sung**

**Ghchkar L. Yadegari D. Rezaei M. Taghizadeh M. Astaneh S. Rasooli I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *cuminum cyminum* and *Ros*.

**50. Gherman C. Culea M. and Cozar O. (2000)** Comparative analysis of some active principles of herbs plants by GC/MS. 53: p253.

**51. Ghestem A. Seguin E. Paris M. Orecchioni A. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris. In mémoire de master académique Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued 2015.

**52. Ghiselli A. Serafini M. Maiani G. Azzini E. Ferro-Luzzi A. (1995)** National Institute of Nutrition, Rome, Italy 29-36 pp

**53. Gogny M. Puyt J. Pellerin. J. (2001)** Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire, édition le point vétérinaire. 165-168 pp.

**54. Guesmi F. Ben Farhat M. Barkawi T. Mejri M. Landoulsi A.** In vitro assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis*. *Lipids in Health and Disease* 13: p138

**55. Guillaume. (2000),** Www. Second euro-bioweb.com/microbiologie/ microbiologie cours.

**56. Guiraud J. (1998)** Microbiologie alimentaire, édition Dunod. 71-75 pp.

**57. Guy G. (2006)** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse l'Harmattan 5-7, rue de l'école polytechnique . 75005 Paris France.

## H

**58. Haleng J.Pincemail J. Defraigne C.Charlier J..Chapelle P (2007)** Le stress oxydant Revue Med Liège,62: 10 pp:628-638

**59. Hammer. K. Carson C. Riley T. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86: 985–990 pp.

**60. Hazout A. Menezo Y.Madelenat P. Cohen-Bacrie P. (2008)** Causes et implications cliniques des altérations de l'ADN des spermatozoïdes. 36: 1065-1168 pp

**61. Hazzit M. Balliouamer A. Verissimo A. Falerio M. Miguel M. (2007).** Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils. Food Chemistry 116:714-721pp.

**62. Hellal. Z(2012).** Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

**63. Hermann.T.(2005).** Drugs targeting . Corrent opinion in Microbiology. 15: 355-366 pp.

**64. Hilan C . Sfeir R. Jawich D. Aitour S. (2006)** Journal scientifique Libanais.7 :13-22. pp

## I

**65. Ismaili R. Houbairi S. Lanouari S. (2017)** Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales Marocaines. European Scientific Journal edition 13:.12 pp

## J

**66. Jiménez- Arellanes A. Martinez R. Garcia R. León- Diaz R. Aluna-Herrera J. Molina Soto A. Fernandez.S. (2006)** Pharmacologyonline.3:569-574 pp.

## K

- 67. Kartal N. Sokmen M. Tepe B.. Polission M Sokmen A.(2007)** Investigation of the antioxydant properties of *Ferula orientalis* L. using suitable extraction procedure .*Food Chemistry* 100: 584-589 pp.
- 68. Kato T. Lijima H. Ishihara K. Kanek T. Hirai K. Naito Y. Okuda K. -Kechkar M. (2008).** Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire du Magister de l'Université Mentouri, Constantine.
- 69. Khoudali S. Benmessaoud D. Essaqui A. Zertoubi. M. Azzi M. (2014).** Etude de l'activité antioxydante et de l'action anticorrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *European Scientific Journal* .13:887-898. pp
- 70. Kluczyńska D. (2001)** Medicinal properties of thyme. *Wiad Ziel*; 7/8:13-16.
- 71. Knobloch K. Weigand H. Weis N. Schwarm H.M. Vigneschow H.** Action of Terpenoids on Energy Metabolism. In *Progress in Essential Oil Research*; Brunke, E.J., Ed.; Walter de Gruyter:Berlin, Germany. 429–445 pp.
- 72. Kordali .S Kotan R. Mavi A. Cakir A. Arzu A. Yildirim A. (2005)** Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculoides* and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculoides*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* Essential Oils . *J. Agric. Food Chem.*, 53:9452-9458.

## L

- 73. Lado C. Thenb M. Vargac I. Szo E. Szentmihalyid K. (2004)** 'Antioxidant Property of Volatile Oils Determined by the Ferric Reducing Ability.
- 74. Lagunez-Rivera L. (2006)** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. In Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- 75. Laouer H. (2004)** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état. Département de Biologie. Faculté des sciences. UFA de Sétif.

**M**

- 76. Mann C. Cox S. Markham J. (2000)** Letters in Applied Microbiology. in mémoire de master Université des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Larbi Tébessi Tébessa. 294-297 pp
- 77. Mebarki N (2010)** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontenesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse –antimicrobienne. Université M'hamed Bougara Boumerdès.
- 78. Memou F. (2015).** Synthèse, études cinétiques et évaluation de l'activité de dérivés de l'eugenol.composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle.Thèse de doctorat en chimie organique appliquée Université de Aboubekr Belkaid de Tlemcen.
- 79. Mevius. D.Rutter. J.Hart C. Imberechts H. Kempf G. Lafont. J. Luthman, J. Moreno.M. Pantosti A.Pohl, P. Willadsen C. (1999)** Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products. 1-57pp.
- 80. Meyer B. (1989).** Les matières premières mondiales en compétition avec la production française et européenne. Rivista Italiana Eppos, numéro spécial.273-281 pp.
- 81. Miller N. Diplock A. Rice Evans C. Davies J.Goppinathan V. and Milner A. (2006)** A. novel method for measuring antioxidant capacity and its application monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science.84:407-412 pp.
- 82. Mohammedi (2006)** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. 2013 p85 . in memoire de master université des Sciences de la Nature et de la Vie. Ouargla.
- 83. Molyneux.P. (2004)** The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 26: 211-219 pp.
- 84. Morale R. (2002).** The history , botany and taxonomy of the genus *Thymus* .In *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor &Francis. London.1-43 pp.

**N**

- 85. Neger (1999).** Le guide du jardinier, plantes aromatiques Koneman verlaggsells. Allmagne.
- 86. Newman D. Cragg G. Snader K. (2003)** Natural products as sources of new drugs over
- 87. Nyegue. A. (2005).** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de quelque plantes aromatiques et/ou médicinales du Cameroun. Evaluation de leurs activités antiradicalaires, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. In Thèse de doctorat en chimie organique, minérale, analytique et industrielle (p. 184): Université des sciences et techniques de Languedoc. Montpellier.officinalis. Revue de génie industriel.6 : 46-54 pp.

**O**

- 88. Ogawara H. (1981).** Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. Microbial. Rev. 45: 591-619 pp.

**P**

- 89. Paré J. (1997)** Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences. Bulletin sur les huiles essentielles. 4:p.4.
- 90. Parekh J.Chanda S. (2007) .** In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. Turkish journal of biology 31 : 53-58pp .
- 91. Paris M.et Hurabielle M. (1981)** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.
- 92. Pham-Huy.C (2008)** International Journal of Biomédical Médecine.
- 93. Piquet. M. Hébuterne (2007)** Nutrition en pathologie digestive. Wolters Kluwer Ed. France
- 94. Pirbalouti A. Firoznehada M.Craker L.Akbarzadeh M. (2013)** Essential oil compositions antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages.Brazilian journal of pharmacognosie .23: 861-869 pp

**95. Popovici, C. Saykova I. Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4: 25-39 pp.

**96. Prescott M. Harley P. Klein A. (2003)** Microbiologie 2<sup>ème</sup> édition française, traduction de la 5<sup>ème</sup> édition américaine par Claire Michelle Bacq Calberg et Jean Dusart (Univ de Liège) products. *Biochem. Pharmacol.* 71: 106-115pp.

## Q

**97. Quezel P. Santa S. (1963)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I .C.N.R.S. Paris.

## R

**98. Rahal S. (2004)** Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162

**99. Rai . D. Acharya. P (2003).** Plant derived-antimycotics . Potential of Asteraceous plants:. derived-antimycotics .Current Trends and Future prospects *Int. J. Food Microbiol.* Haworth press. 94:223–253pp.

**100. Rice-Evans C. Miller N. Bolwell P. Bramley P. Pridham J. (1995).** The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavoids. *Free Radical Research*,4: 375-383pp.

**101. Ronald L. Prior W. Karen S (2005)** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of agricultural and food chemistry* 4302–4290 pp

**102. Rota M. Herrera A. Martinez R.. Sotomayor J.Jordán M. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris* *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control.* 19 : 681-687pp. In Zeghad Nadia ,Mémoire de Magister. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. (Ecole doctorale) en Biotechnologie Végétale . Université Mentouri Constantine.

S

- 103. Sahr et Nielson (2003)** In Bensliman, Mémoire de Master. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Thymus ciliatus eu ciliatus* (Zaitra) de la région de Tlemcen. Université abou bekr belkaid Tlemcen
- 104. Saidj F( 2007).** Extraction de L'huile essentielle de thym.*Thymus numidics kabilica*. thèse de magister.Uiversité de Boumerdes p 02 .
- 105. Sangwan N. Farooqi A. Shabih F. Sangwan R. (2001).** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation* 34: 3-21pp. In mémoire de magister Université Mentouri Constantine.
- 106. Scheffer J. (1996).** Various methods for the isolation of essential oils. *Phyther. Res.* 10: In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.
- 107. Sertel. S. Eichhorn, T. Plinkert, P.K., Efferth, T., 2011.** Cytotoxicity of *Thymus vulgaris* Essential Oil Towards Human Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma, *Anticancer Research* 31:81-7pp.
- 108. Sharififar F. Moshafi M. Mansouri S. Khodashenas M. Khoshnoodi M. (2007).**In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.*18:800–805 pp.
- 109. Sidaoui F. Belghith S. Yemmen M. Mraihi F. Barth D. Trabelsi M. Ayadi J. Cherif K.(2016)** Chemical and Functional Characterization of Tunisian *Artemisia absinthium* Volatiles and Non-volatile Extracts Obtained by Supercritical Fluid Procedure. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 8:1178-1185pp
- 110. Smain Chemat , Ratiba Cherfouh , Brahim Y. Meklati & K. Belanteur** Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil, *Journal of Essential Oil Research.* 24:5-11pp.
- 111. Stanojevic- Mihailovic N. Cvitanović A. Grujić J (2013)** Antioxidant and antihypertensive activity of extract from *Thymus serpyllum* L. in experimental hypertension *Plant Foods for Human Nutrition.*68: 235–240 pp.
- 112. Steven P. Rachel C. Martha E. Paul H. Jane S. and Peter W.J. (2004).** *Microbiology of Waterborne Diseases.* Ed Elsevier Academic Press. 71-132 pp.

**113. Svoboda et Hampson (1999)** Review of Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Study of *Thymus serpyllum* L. Hindawi Publishing Corporation. 1-10pp7

## V

**114. Van de Braak S. Leijten G. (1999).** Essential Oils and Oleoresins A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. (p. 116): CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam.

**115. Villaño D. Fernández Pachón. M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M. & García-Parrilla, M. C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* **71**, 230–235.

## W

**116. Wichtel M. Anton R. (1999)** Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales. science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc. In Thèse de Doctorat Faculté de médecine dentaire de Rabat.

## Z

**117. Zayyad N. Farah A. Bahhou J.(2014).**Analyse chimique et activité antibactérienne des HE des trois espèces de Thym. 83: 118-130 pp.

**118. Zeba, B. (2005).** Overview of  $\beta$ -lactamase incidence on bacterial drug resistance. African journal of biotechnology. 13 :155-156 pp.

**119. Zghib A (2013)** Etude phytochimique et activités antioxydantes, antiprolatives , antibactérienne et anti -virales d'extraits et des huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. Thèse de doctorat, Université de Constantine I. p07 .

**120. Zouari N.Ayadi I.Fakhfakh N Rebai A.Zouari S. (2012)** Variation of chemical composition of essential oils in wild population of *Thymus algeriensis* Boiss et Reut North African endemic Species.11:1-12pp.

## **Webographie**

**[http : // www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org)**

**[http: //www. soin- du- corps.ooreka.fr.](http://www.soin-du-corps.ooreka.fr)**

**<http://fr.wikipedia.org/w/index.php>**

**<http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com>**

**<http://www.doctissimo.fr>**

**<http://www.vitamedz.org/thym/>**