

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tebessi
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département de biologie des être vivants
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème

**Effet du stockage sur la teneur en métabolites secondaires de
quelques plantes médicinales**

Présenté par :

Smaali Chaima

Senouci Inesse

Devant le jury

Souhail Maalem	MCA Université de Tébessa	Président
Souad Mehalaine	MCB Université de Tébessa	Encadreur
Ahmed Dekak	MAA Université de Tébessa	Examineur

Année universitaire : 2017/2018



Remerciement

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous tenons à remercier notre encadreur de son grand aide durant la réalisation de notre travail : Mme Souad mahalaine MCB à l'université de Tébessa.

Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun à son nom, Mr : Maalem Souheil MCA Université de Tébessa et Mr : Dakak Ahmed MAA Université de Tébessa d'accepter de juger notre travail.

Sans oublier le laboratoire de biologie végétale, nous remercions tous les membres de l'équipe de laboratoire pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.

Et tous mes collègues de promotion biotechnologie végétal.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Remerciement

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous tenons à remercier notre encadreur de son grand aide durant la réalisation de notre travail, elle est orienté nous vers le succès avec ses connaissances et partageants des idées et aussi l'encouragement tout on long de notre épreuve, comme il a été présent à tout moment qu'on a besoin de lui : Mme Souad mahalaine MCB Université de Tébessa.

Sans oublier Tous les enseignants du département des Sciences Biologiques.

Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun a son nom, Mr : Maalem Souheil MCA Université de Tébessa et Mr : Dakak Ahmed MAA Université de Tébessa d'accepter de juger notre travail.

Sans oublier laboratoire de biologie végétale, nous remercions tous les membres de l'équipe de laboratoire pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.

Et tous mes collègues de promotion biotechnologie végétal.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mon père Ali et ma mère Akila qui m'ont soutenu moralement et tout au long de mes études.

Aussi je dédie ce travail

A mes sœurs : Nabila, Douaa et Ghofan.

A mes frères : Aous et Firas

A mes oncles et mes tantes

A tout la famille Smaali et Senouci.

A tous mes amis et camarades

A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue moi.

Smaali chaima





Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mon père et ma mère qui m'ont soutenue
moralement et tout au long de mes études

Aussi je dédie ce travail

A mon frère : Toufik

A mes sœurs : Fahima, Israa, Souhayla et ses enfants Mourtadha et Maram

A mon fiancé : Rais Hamza

A tous mes amis et camarades

A toute la famille Senouci et Smaali

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers eux.

Senouci Iness



ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير تخزين المادة النباتية الجافة لنباتين طبيين: *Thymus algeriensis* و *Rosmarinus officinalis* على محتوى الزيوت الأساسية و مركبات الفينول.

تم جمع كلتا النبتتين من منطقة عين البيضاء في شرق الجزائر خلال السنوات 2010، 2011، 2012 و 2013، 2014 و 2015 وتخزينها في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة. تم استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة جهاز من نوع Clevenger. تم استخلاص مادة البوليفينول بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu.

أظهر التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين سنوات الدراسة و النوعين المدروسين ($P > 0.001$). أظهر *T.algeriensis* أفضل مردود للزيوت الأساسية خلال سنة 2015 (0.90 %). أظهر *R. officinalis* محتويات عالية خلال سنتي 2010 و 2011 (0.93 % ، 0.89 %) على التوالي ، كما أظهر *T. algeriensis* مردود أعلى من *R. officinalis* خلال سنوات الدراسة.

سجل *T.algeriensis* أعلى مردود من مركبات الفينول في سنة 2015 (0.25 ملغ مكافئ حمض القاليك / ملغ) و سجل *R.officinalis* أفضل تركيز في سنة 2011 (0.15 ملغ مكافئ حمض القاليك / ملغ). بالإضافة إلى ذلك، أظهر *T.algeriensis* تراكيز أعلى من *R. officinalis* خلال سنوات الدراسة.

الكلمات المفتاحية: *Thymus algeriensis* ، *Rosmarinus officinalis* ، الزيوت الأساسية ، مركبات الفينول ، التخزين.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet de stockage de la matière végétale sèche de deux plantes médicinales : *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. et *Rosmarinus officinalis* L. sur la teneur en huiles essentielles et polyphénols totaux.

Les deux plantes ont été collectées de la région de Ain Beida de l'Est algérien durant les années 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 et 2015 et stockées à l'obscurité et à la température ambiante. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. L'extraction des polyphénols a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

L'analyse statistique a montré des différences significatives entre les années d'étude et les deux espèces étudiées ($P < 0.001$).

T. algeriensis a présenté le meilleur rendement des huiles essentielles durant l'année 2015 (0.90%). *R. officinalis* a présenté des rendements élevés pendant les années 2010 et 2011 (0.93%, 0.89%) respectivement, ainsi, il a présenté des quantités plus élevées que chez *Thymus algeriensis* pendant les années d'étude.

T. algeriensis a enregistré la meilleure quantité en polyphénols durant l'année 2015 (0.25 mg EAG/mg) et *R. officinalis* a présenté la meilleure concentration pendant l'année 2011 (0.15 mg EAG/mg). De plus, *T. algeriensis* a montré des quantités plus élevées que *R. officinalis* pendant les années d'étude.

Mots clés : *Thymus algeriensis*, *Rosmarinus officinalis*, huiles essentielles, composés phénoliques, stockage.

Abstract

The objective of this work is the study of the storage effect of the dry plant matter of two medicinal plants: *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. and *Rosmarinus officinalis* L. on the content of essential oils and total polyphenols.

Both plants were collected from the region of Ain Beida in eastern Algeria during the years 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 and 2015 and stored in the dark and at room temperature. Extraction of the essential oils was carried out by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus. The extraction of the polyphenols was carried out by the Folin-Ciocalteu method.

Statistical analysis showed significant differences between the years of study and the studied species ($P < 0.001$).

T. algeriensis showed the best performance of essential oils during the year 2015 (0.90%). *R. officinalis* showed high yields during the years 2010 and 2011 (0.93%, 0.89%) respectively, in addition, it showed higher amounts than *Thymus algeriensis* during the years of study.

T. algeriensis recorded the highest amount of polyphenols in 2015 (0.25 mg EAG / mg) and *R. officinalis* had the best concentration in 2011 (0.15 mg EAG / mg). In addition, *T. algeriensis* showed higher levels than *R. officinalis* during the years of study.

Key words: *Thymus algeriensis*, *Rosmarinus officinalis*, essential oils, phenolic compounds, storage.

Liste des photos

Photos	Titre de photo	page
01	<i>Thymus algeriensis</i>	03
02	<i>Rosmarinus officinalis</i>	05

Liste des figures

Figure	Titre de figure	Page
01	La voie de shikimate.	18
02	La voie de phénylpropanoïde.	19
03	La voie de biosynthèse des flavonoïdes.	19
04	Rendements des huiles essentielles en % dans la matière végétale stockée de <i>Thymus algeriensis</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
05	Teneurs en polyphénolstotaux en mg EAG/mg de la matière végétale stockée de <i>Thymus algeriensis</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i>	25

Liste des tableaux

Tableau	Titre du tableau	Page
01	Principaux acides hydroxybenzoïques	16
02	Principaux acides hydroxycinamiques	17
03	Principaux types de coumarines	18



Sommaire

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	01
Revue bibliographique	
1. La famille des lamiacées.....	02
2. Les plantes étudiée.....	02
2.1. Thymus algeriensis.....	02
2.1.1. Classification botanique.....	02
2.1.2. Description botanique.....	03
2.1.3. Composition chimique.....	03
2.1.4. Intérêt thérapeutique.....	04
2.2. Rosmarinus officinalis.....	04
2.2.1. Classification botanique.....	04
2.2.2. Description botanique.....	05
2.2.3. Composition chimique.....	05
2.2.4. Intérêt thérapeutique.....	06
3. Généralité sur les huiles essentielles.....	06
3.1. Définition	06
3.2. Répartition et localisation.....	07
3.2.1. Répartition.....	07
3.2.2. Localisation.....	07
3.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	08
3.3.1. Extraction par hydrodistillation.....	08
3.3.2. Extraction à la vapeur d'eau.....	08
3.3.3. Extraction à froid.....	09
3.3.4. Extraction au co2.....	09
3.3.5. Extraction aux solvants organiques.....	09
3.3.6. Hydrodistillation par micro-onde sous vide.....	10

Sommaire

3.4. Caractéristiques des huiles essentielles.....	10
3.4.1. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	11
3.5. Composition chimique des huiles essentielles.....	11
3.6. Activités des huiles essentielles.....	12
3.6.1. Propriétés antibactériennes.....	12
3.6.2. Propriétés antioxydantes.....	13
3.6.3. Propriétés antifongiques.....	13
3.6.4. Propriétés pharmacologiques.....	14
4. Composé phénoliques.....	14
4.1. Généralité.....	14
4.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	14
4.2.1. La voie de shikimate.....	14
4.2.1. La voie de phénylpropanoïde.....	15
4.2.1. Biosynthèse des flavonoïdes.....	17
4.3. Principale classe des composées phénoliques.....	18
4.3.1. Acide phénolique simple.....	18
a. Acide hydroxybenzoïques.....	18
b. Acide hydroxycinamiques.....	18
C. Coumarines.....	19
4.4. Rôle et intérêt des composées phénoliques.....	20
4.4.1. Chez les végétaux.....	20
4.4.2. Chez l'homme.....	20

Matériel et méthodes

1. Matériel végétale.....	21
1.1. Extraction des huiles essentielles.....	21
1.1.1 Estimation du rendement des huiles essentielles.....	21

Sommaire

1.1.2 Conservation des huiles essentielles.....	21
1.2. Extraction et dosage des polyphénols totaux.....	22
1.2.1. Extraction.....	22
1.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	22
2. Analyse statistique.....	22

Résultat et discussion

1. Teneur en polyphénols totaux.....	23
2. Teneur en huiles essentielles.....	24
Conclusion.....	26
Références bibliographiques.....	27
Annexe.....	36

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Zeghad, 2009).

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (Zeghad, 2009).

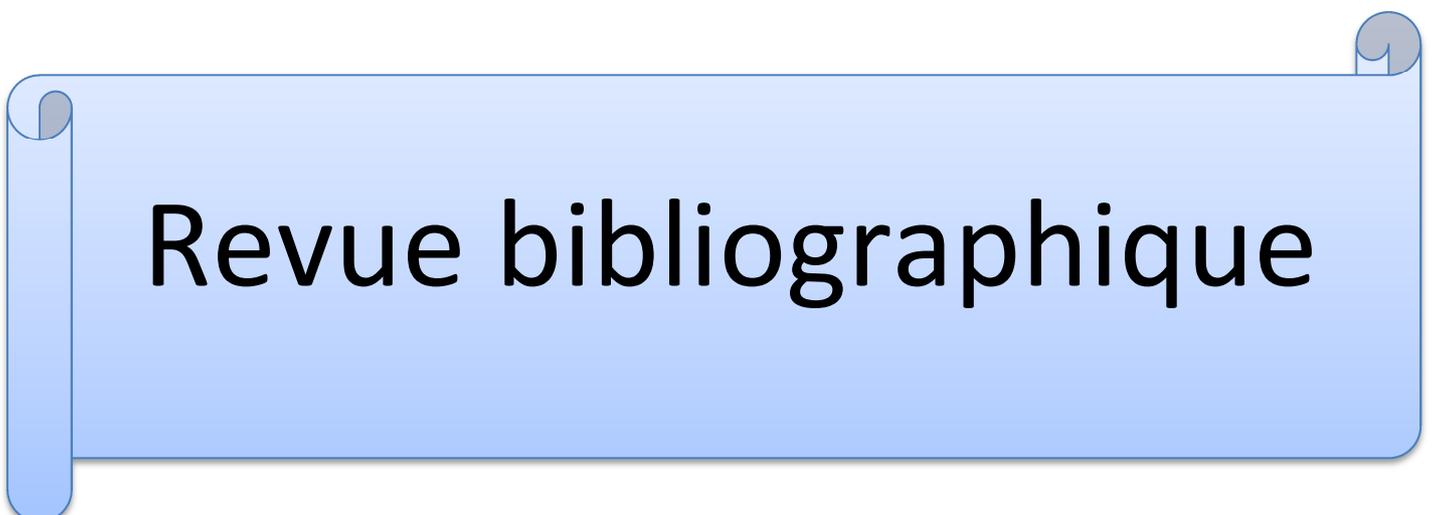
Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes (Zeghad, 2009). C'est pourquoi nous sommes intéressés à étudier *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis*, deux labiées très fréquemment employées dans le pourtour méditerranéen.

L'objectif de notre travail vise à déterminer l'effet de stockage de ces deux plantes sur la teneur en huiles essentielles et la teneur en polyphénols totaux.

Notre étude est structurée en trois parties importantes, initiée par une synthèse bibliographique qui traite les deux plantes médicinales étudiées, les huiles essentielles et les composés phénoliques.

La deuxième partie élucide le matériel et les méthodes utilisés dans l'étude expérimentale.

La troisième partie est consacrée aux résultats et leurs discussions.



Revue bibliographique

1. Famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées aussi nommée Labiacées (Guignard, 1998), est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (Guignard, 1996). Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 258 genres et 6970 espèces (Botineau, 2010).

La famille des lamiacées est une famille très importante dans la flore d'Algérie, ses espèces sont souvent des plantes herbacées, ou sous arbrisseaux à poils glanduleux, en général aromatiques. Leur tige est carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs bisexuées, irrégulières groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est synsépale, bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle à tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure (Guignard 2001 ; Carr, 2004). Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (Guignard, 1998).

La place des Lamiacées dans la classification botanique est la suivante :

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Quezel et santa, 1963 ; Guignard, 2001 ; Bray, 2005)

2. Les plantes étudiées

2.1. *Thymus algeriensis*

2.1.1. Classification botanique

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus algeriensis* Boiss et Reut (Bonnemain et Dumas, 1998).



Photo 01 : *Thymus algeriensis* (Anonyme 1)

2.1.2. Description botanique

Le thym est une plante sous-ligneuse, odorante, formant des touffes compactes très ramifiées qui s'élevant à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secset rocailleux et dans les garrigues.

Les feuilles du thym sont plus ou moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice, quant à lui, est tubuleux et la corolle est plus au moins exserte (Quezel et Santa, 1963).

2.1.3. Compositions chimiques

Les principaux composants du thym sont les huiles essentielles (Beloued, 2009). Elles doivent être ou égale à 1,5%, et contiennent le thymol et le carvacrol (Roux, 2005). Cette plante contient aussi des tanins (Iburg, 2006), des principes amers, des saponines, des antiseptiques végétaux (Beloued, 2009), et des flavonoïdes (Roux, 2005). D'après Ucciani (1995), le thym contient des acides gras: palmitique entre 1,6-4,8%, heptadécatriénoïque entre 0-2,1%, stéarique à 1,8%, oléique ente 7-7,7%, linoléique entre 12,4-14%, Inoénique entre 54-57,4%, α -hydroxy-octadécatriénoïque entre 0-13,3%, et des autre acides entre 0-21%.

2.1.4. Intérêt thérapeutique

Le genre thym est stimulant (Couplant, 2009), antiseptique, et bactéricide (Roux, 2005), stomachique, expectorant, antispasmodique et vermifuge (Bourbier, 2007). En usage externe, il se montre cicatrisant et parasiticide (Couplan, 2009). Les huiles essentielles du thym sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (Papageorgio, 1980).

Le thym d'Algérie est utilisé sous forme de tisane pour réveiller les fonctions digestives de l'estomac et de l'intestin. Son infusion est aussi utile contre toutes les maladies infectieuses, comme la grippe, la pneumonie et les affections de l'appareil respiratoire. La distillation des tiges fraîche donne une essence riche en thymol, cet extrait entre dans la composition de gouttes contre la coqueluche. La friction du thym d'Algérie est utilisé comme odontalgique sur les maux de dents cariées (Beloued, 2009) et en gargarisme pour les maux de bouche, en décoction pour la chute des cheveux (Dellile, 2007).

2.2. *Rosmarinus officinalis*

2.2.1. Classification botanique

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L (Franchomme, 1999 ; Bounnemain et Dumas, 1998).



Photo 02 : *Rosmarinus officinalis* (Anonyme 2)

2.2.2. Description botanique

Le romarin est un arbrisseau poussant à l'état sauvage, toujours vert (Roullier, 1990). Il peut atteindre 2 mètre de haute et possède de nombreuses branches ramifiées (Bourbier, 2006). Cette plante peut être rampant ou présenter un port dressé, en forme de boule (Agrimer, 1996). Les tiges ont une section arrondie, ligneuses feuillées (Girre, 2006). Elles sont couvertes d'une écorce écailleuse et fissurée (Roullier, 1990). Les feuilles, persistantes, opposée, linéaire, coriaces, présentent une face supérieure verte sombre, tandis que la face inférieure est blanche et velue (Girre, 2006). Les fleurs sont hermaphrodites, d'une bleue pale, le plus souvent maculées inférieurement de violet, sont disposées en courtes grappe denses. A deux lèvres distinctes et deux étamines. Elles sont très odorantes, apparaissent dès le mois de Janvier a pour tenir jusqu'à Septembre, suivant la région. La récolte se situe en été (Antionette, 2005). L'inflorescence est un épiterminal de faux verticilles. La corolle est bilabiées 2/3. Deux étamines semi fertiles (Crété, 1965). Comme pour la plupart des lamiacées, les fruits sont des tétrakènes bruns, ils sont entourés par un calice persistant (Roullier, 1990).

2.2.3. Composition chimique

Le romarin est une plante très parfumée a l'arôme intense (Bourbier, 2006). Ses feuilles riches en essence dont la composition varie avec les origines géographiques de la plante (Boullard, 1997).

Les feuilles de romarin contiennent des dérivés polyphénoliques, des huiles essentielles, des flavones comme l'apigénine et la lutéoline, un alcaloïde, la rosmaricina, et 2 à 4 d'acides uroliques et d'autre dérivés triterpéniques (Gilly, 2005). Elles contiennent aussi des lactones diterpéniques et des acides phénols (El Rhaffari, 2008).

2.2.4. Intérêt thérapeutique

Le romarin officinal possède des propriétés aromatiques, antiseptiques, toniques (Antoinette, 2005), digestives (Argueta in Ayadi et al., 2011), stimulantes, astringentes, diurétiques (Kothe, 2007), anti-inflammatoire (Gianmario et al., 2007), carminatives (Kothe, 2007), anti-ulcerogénique (Patricia et al., 2000), et aussi antispasmodique (Al-Seret, 1999).

Les propriétés cholérétiques et cholagogues du romarin sont dues à des acides phénols et les propriétés antispasmodiques à des hétérosides flavoniques, mais les propriétés diurétiques sont dues à des flavonosides (Girre, 2006), l'activité anti-oxydante est liée aux certains composés présents dans le romarin (le carnosol, l'acide carnosique, l'acide ursolique, l'acide bétulinique, le romaridipénol et le rosmol) (Jines, 1998 ; Thoresen et Hldibraand, 2003).

Le romarin officinal est un excellent traitement des affections intestinales, il peut soulager les spasmes gastriques et les troubles de la vésicule biliaire et les troubles intestinaux (Iburg, 2006), il est aussi utilisé en cas de crise de foie, de la pesanteur d'estomac (Antoinette, 2005). Autrefois il est utilisé en compresse contre les rhumatismes (Roulier, 1990). Cette plante possède des effets cardio-stimulants et neurotoniques (Girre, 2006), et un rôle important en cas de dépression légère (Bourbier, 2007).

Les feuilles de romarin donnent, après distillation à la vapeur, une huile essentielle de couleur jaune pâle, qui est largement utilisée dans la fabrication des champings, des essences de bains (Chimoins, 2006), et des parfums, en particulier de l'eau de Cologne (Boukeroui et Ait Hamoudi, 1984) aussi des produits insecticides (Festy, 2012). Cette plante élimine les mauvaises herbes où les vapeurs de huile essentielle tombent sur le sol (Gilly, 2005).

3. Généralité sur les huiles essentielles

3.1. Définition

Une huile essentielle est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celle-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (par exemple pour les agrumes) (Rubiolo et al., 2010).

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques, volatils, caractérisés par une forte odeur, souvent colorés, et généralement avec une densité inférieure à celle de l'eau. Elles

peuvent être synthétisées par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008). Les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lesquelles les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

3.2. Répartition et localisation

Les huiles essentielles dans divers familles botaniques elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées (Degryse et al., 2008).

3.2.1. Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques.

Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Exemple : Myrtaceae (Girofie), Lauraceae (laurier), Rutaceae (citron), Lamiaceae (thymus), Apiaceae (Coriandre), Zingiberaceae(Gingembre)... etc (Bellakhdar, J1997).

3.2.2. Localisation

Les huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Gonzalez-Trujano et al., 2007).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisés, souvent localisées à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteurs des Lamiaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae, des Rutaceae, et les Lamiaceae, et les canaux sécréteurs qui existent dans de nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (Degryse et al, 2008).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples dans les sommités fleuries (Romarin, Lavande) les feuilles (Eucalyptus, Laurier) les rhizomes (Gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (Vétiver), les graines (Muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (Cannelier) (Bellakiidar, J1997).

3.3. Méthodes d'extractions des huiles essentielles

3.3.1. Extraction par hydrodistillation

Elle est le procédé le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes c'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les huiles essentielles sont insolubles dans l'eau mais soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles (Fasty, 2007).

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. La vapeur d'eau ainsi chargée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. La vapeur redevint donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation (Franchomme, 1990).

3.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). On recueille alors un mélange de composition définie ces deux produits (Dastmalchi et al, 2008).

3.3.3. L'expression à froid

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (Chaintreau et al., 2003).

3.3.4. Extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé: le CO₂ supercritique. Au-delà du point critique ($P = 73,8$ bars et $T = 31,1$ °C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, qui est plus, facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus. Outre ces avantages, le principal point fort est la qualité irréprochable de l'extrait puisqu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique point faible est le coût très élevé de son installation (Pellerin, 2001).

Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante (Wenqtang et al., 2007).

3.3.5. Extraction aux solvants organiques

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite.

L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants et leur manque de sélectivité peuvent entraîner de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure (Shellie et al, 2004).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé doit posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition est de préférence basse afin de

faciliter son élimination, et il ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait (Wan et al., 1995).

3.3.6. Hydrodistillation par micro- ondes sous vide

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction ou SFME) a été conçue pour des applications en laboratoire pour l'extraction d'huiles essentielles de plantes aromatiques (Chemat et al., 2004). Cette technologie est unecombinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif, le procédé SFME semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur (Lucchesi et al., 2004a, Lucchesi et al., 2004b). La composition de l'huile essentielle obtenue par ce procédé est bien souvent semblable à celle obtenue avec un procédé d'entraînement à la vapeur traditionnel. Toutefois, une plus grande proportion de composés oxygénés est généralement observée dans les huiles essentielles extraites par microondes. Ceci est dû à la faible quantité d'eau présente dans le système et à la rapidité du processus de chauffage. Ainsi, les dégradations thermiques et hydrolytiques des composés oxygénés sont limitées (Bendahou et al., 2007 ; Lucchesi et al., 2007).

3.4. Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que l'organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales. Parmi les propriétés les plus connues : la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants les huiles essentielles offrent une véritable alternative (Jean Botton, 1999).

3.4.1. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bruneton, 1993), les principales caractéristiques sont:

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (Zabeirou et Hachimou, 2005).

3.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes: le groupe de terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après Guenter (1975), la structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue, sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents.

La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Selon Bruneton (1999), cette structure varie en fonction du nombre d'atomes de carbone qui les constitue:

- Les monoterpènes.
- Les sesquiterpènes.
- Rarement les diterpènes.
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...)
- De la nature des groupes fonctionnels.
- Terpènes: RI-HC=CH-R2.
- Alcools terpéniques : R-OH.
- Cétones: RI-CO-R2.

- Phénols: C₆H₆-OH.
- Aldéhydes: R-CHO.
- Esters: RI-COO-R₂.
- Ethers : RI-O-R₂.

3.6. Activités biologiques des huiles essentielles

3.6.1. Propriétés antibactériennes

Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae: origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à huiles essentielles riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autre préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E-coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

3.6.2. Propriétés antioxydantes

Le pouvoir antioxydant des huiles volatiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard, 1992). Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1996).

Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Caillet et Lacroix, 2007).

3.6.3. Propriétés antifongiques

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons: *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (Kalemba et Kunicka, 2003). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge.

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukouet al., 1988). Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : phénols> alcools> aldéhydes> cétones> éthers> hydrocarbures (Yen et Chang, 2008).

3.6.4. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées pour :

- Leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums.
- Des propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche.
- Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires.
- Des activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques, et aussi des propriétés antioxydantes.
- Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales.
- Action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication.
- Action sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatif, relaxant et déstressant.
- Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales (Daniel, 2006; Hüsni et Buchbauer, 2010).

4. Composés phénoliques

4.1. Généralités

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al., 2005). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien leur permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al., 2005).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (Macheix et al., 2005).

4.2. Biosynthèse des composés phénoliques

4.2.1. La voie de shikimate : c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïdes (Kening et al., 1995)

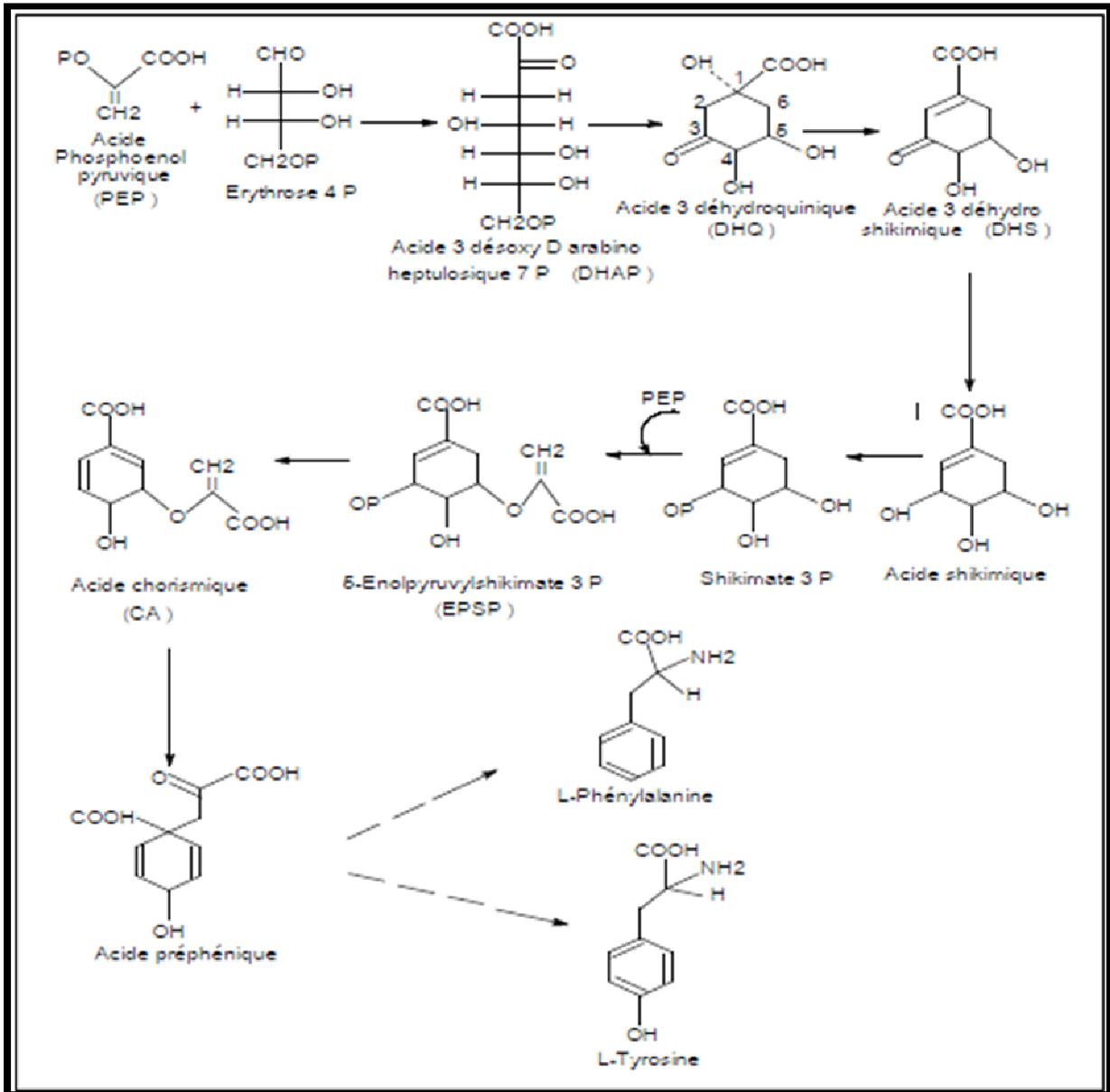


Figure : La voie de shikimate (Floss, 1997)

4.2.2. La voie de phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïdes commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose.

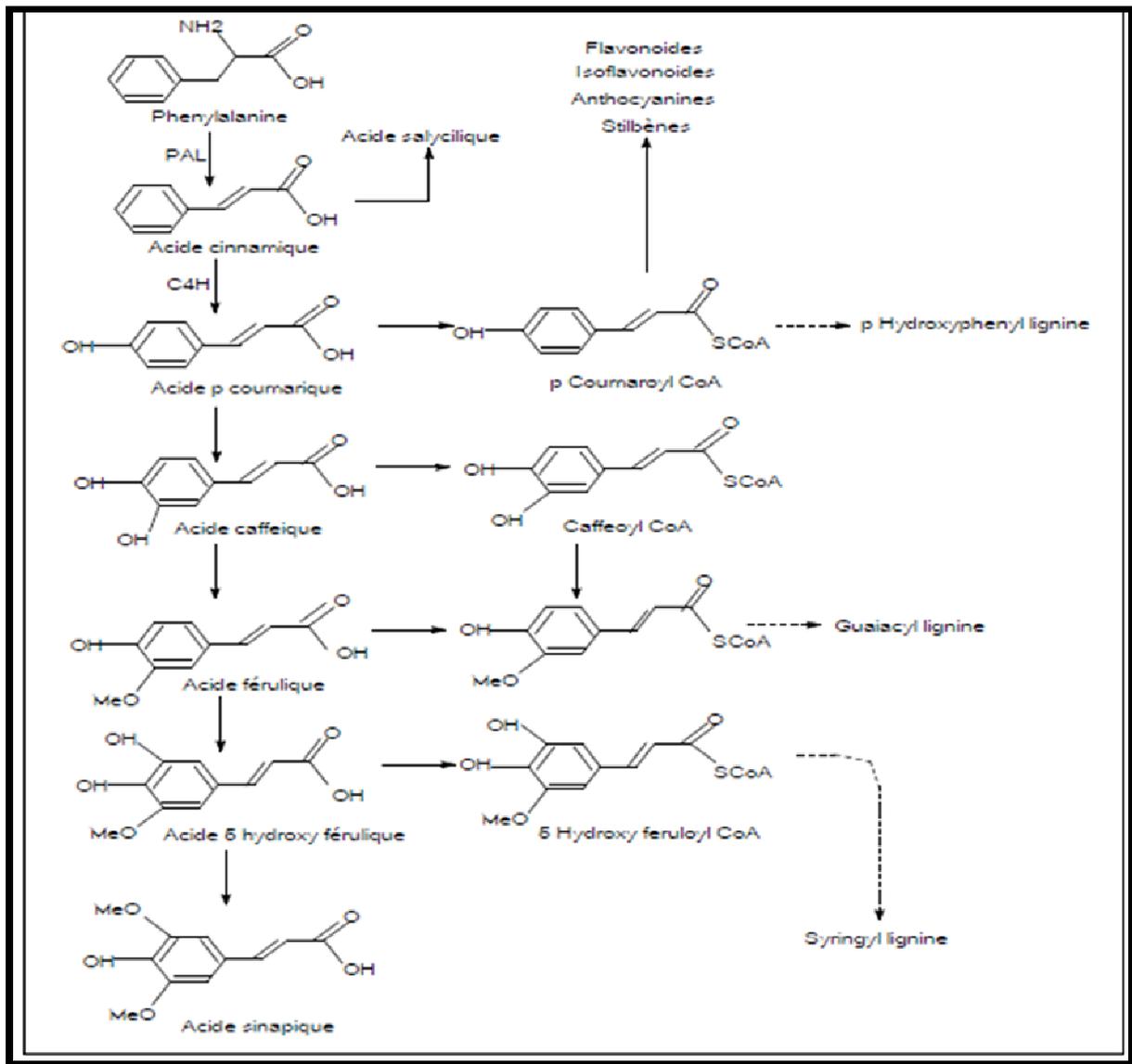


Figure : La voie de phénylpropanoïdes (Hoffmann et al., 2004)

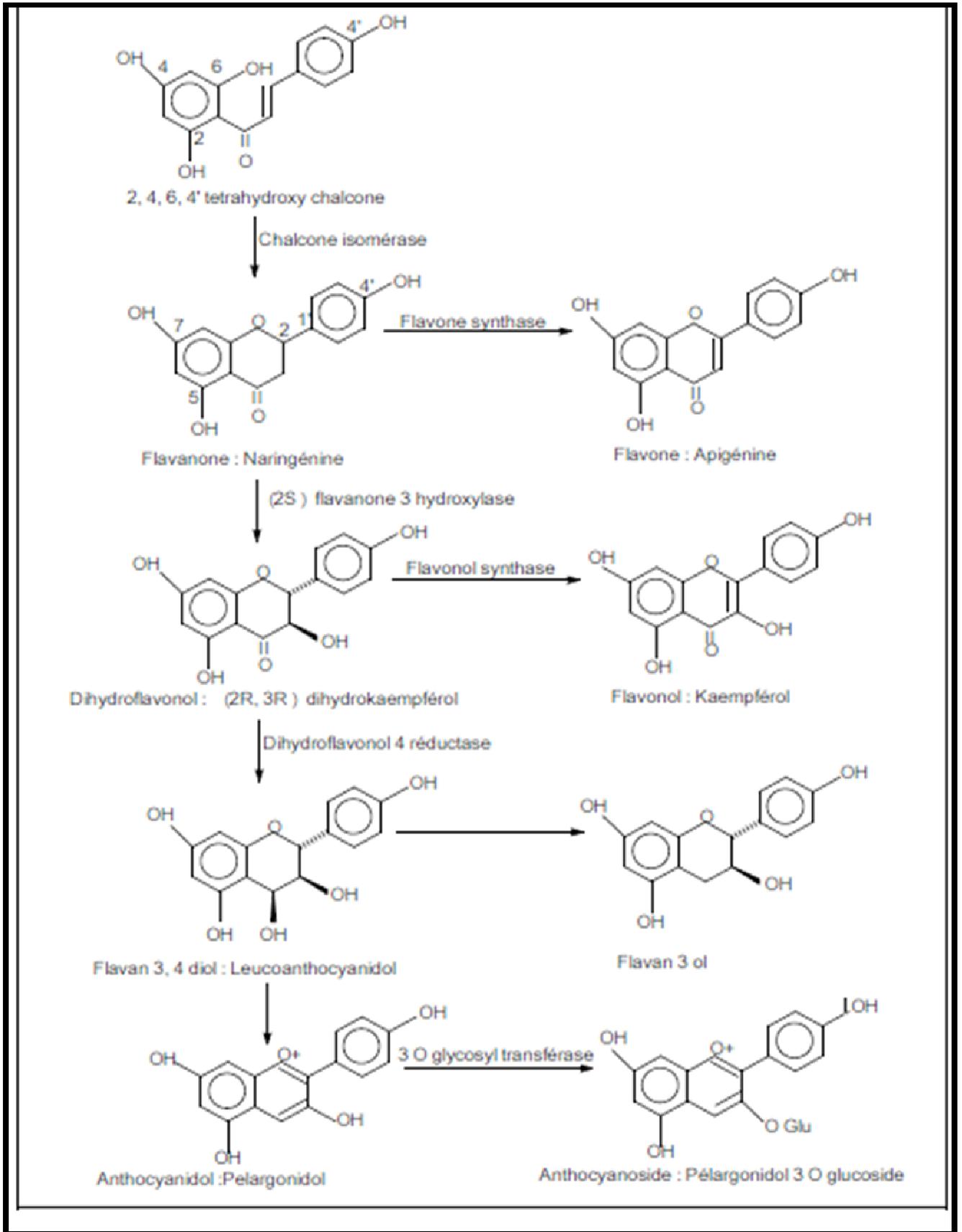


Figure : Biosynthèse des flavonoïdes (Winkel–Shirley, 2001; Subsamanian et al., 2007).

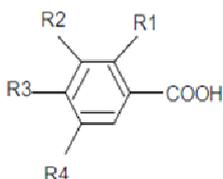
4.3. Principales classes des composés phénoliques

4.3.1. Acides phénoliques simples

a- Acides hydroxybenzoïques

- ✚ Sont des dérivés de l'acide benzoïque
- ✚ Ont une structure générale de base de type (C₆-C₁)
- ✚ Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides
- ✚ Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau 1:

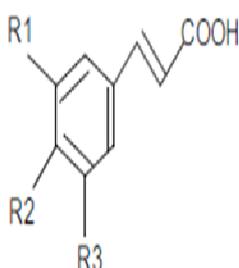
Tableau 1: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheyner, 2006).

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

b- Acides hydroxycinnamiques

- ✚ Dérivent de l'acide cinnamique
- ✚ Ont une structure générale de base de type (C₆-C₃)
- ✚ Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques
- ✚ Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau 2 représente les principaux acides hydroxycinnamiques.

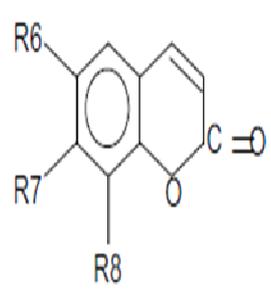
Tableau 2 : Principaux acides hydroxycinamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

c- Coumarines

- ✚ Les coumarines dérivent des acides hydroxycinamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale.
- ✚ Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique.

Tableau 3 : Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

4.4. Rôle et intérêt des composés phénoliques

4.4.1. Chez les végétaux

Les polyphénols ont un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance.

- Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets (Makoi et Ndakidemi, 2007).
- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs.
- Représentent un système de défense contre les microorganismes pathogènes.
- Interviennent dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (Stalikas, 2007).
- Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexine permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries chez les plantes (Makoi et Ndakidemi, 2007).

4.4.2. Chez l'homme

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet et al., 2005).

- Contrairement aux antioxydants synthétiques, les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine.
- Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (Bruneton, 1999).



Materiel et Methodes

1. Matériel végétal

Les deux espèces médicinales étudiées *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis* ont été collectées au stade floraison de la région de Ain Beida dans l'Est algérien (35.805° N, 7.376° E, altitude: 920) durant les années 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 et 2015. Les plantes ont été stockées dans des sacs en papier à l'obscurité et à la température ambiante.

1.1. Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est constitué des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) des deux espèces. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation de 50 g de matière sèche végétale dans un appareil de type Clenvenger pendant 2 heures. Trois distillations ont été réalisées pour chaque échantillon (Satrani et al., 2007).

Pour les années 2012, 2013, nous n'avons pas des quantités suffisantes de matières sèches pour *Thymus algeriensis* ainsi que pour l'année 2015 pour *Rosmarinus officinalis*, donc l'extraction n'a pas été effectuée.

1.1.1. Estimation du rendement des huiles essentielles

Le rendement des huiles essentielles est le rapport entre la masse de l'huile extraite et le poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction (Carree, 1953). Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{MHE} / \text{MSV} \times 100$$

RHE : rendement de l'huile essentielle en %

MHE: masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

MSV: masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (Boutekedjiret et al., 2003).

1.1.2. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, ont été conservées dans des flacons fumés en verre à 4 °C (Grojeau, 2007), pour leur analyse chimique et l'identification des molécules.

1.2. Extraction et dosage des polyphénols totaux

1.2.1. Extraction

L'extraction des composés polyphénoliques est basée sur la macération. Pour extraire les polyphénols de la matière sèche végétale des deux espèces étudiées *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis*, nous avons adopté le protocole décrit par Diallo et al (2004), 10 g de la poudre de la matière sèche végétale ont été macérés dans 100 ml d'éthanol 70 % à la température ambiante pendant 24 h puis sont filtrés par papier filtre, le filtrat est évaporés presque à sec sur une plaque chauffante à 80 °C, les extraits secs sont stockés et conservés jusqu'à leur utilisation pour le dosage.

Pour l'année 2013, nous n'avons pas des quantités suffisantes de matières sèches pour *Thymus algeriensis* ainsi que pour l'année 2015 pour *Rosmarinus officinalis*, donc l'extraction n'a pas été effectuée.

1.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux de *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis* ont été déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu (Catalano et al., 1999).

Les polyphénols ont été estimés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique ; lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

0.5 ml de l'extrait a été ajouté à 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 2 ml de Na₂CO₃, le mélange finale a été incubé pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante. L'absorbance de l'extrait a été mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm.

Une gamme d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions sans l'acide gallique. La concentration des polyphénols a été calculée de l'équation de la courbe d'étalonnage (Annexe 1).

2. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traités par une analyse de la variance à deux facteurs. Ainsi, une comparaison des moyennes a été faite par le test de Tukey pour distinguer les groupes homogènes et hétérogènes parmi les deux variables (huiles essentielles et polyphénols).



Résultat et discussion

1. Teneur en huiles essentielles

L'analyse de la variance a montré des différences significatives entre les années d'étude ($P < 0.001$), les deux espèces ($P < 0.001$) et l'interaction année \times espèce ($P < 0.001$) (Annexe 2).

Thymus algeriensis a présenté les meilleurs rendements des huiles essentielles durant l'année 2015 (0.90%) suivie de l'année 2010 (0.55%), les années 2014, 2011 ont enregistré des faibles quantités (0.35%, 0.12%) respectivement. *Rosmarinus officinalis* a présenté les meilleurs rendements pendant les années 2010, 2011 (0.93%, 0.89%) respectivement suivie des années 2014, 2013 et 2012 avec des teneurs de 0.72%, 0.66% et 0.56% respectivement (Figure 4). De plus *Rosmarinus officinalis* a présenté des rendements en huiles essentielles plus élevés que ceux chez *Thymus algeriensis* au cours des années 2010, 2011 et 2014.

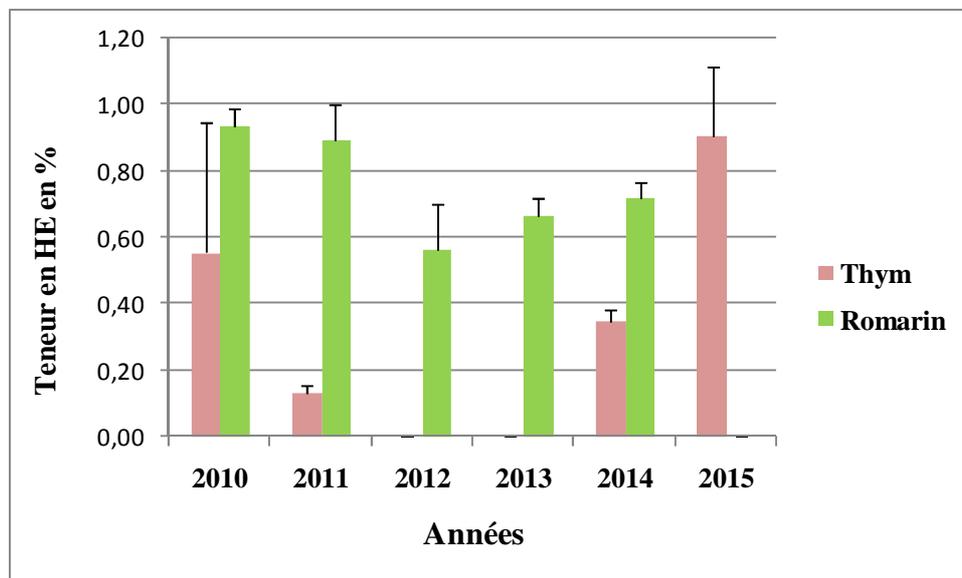


Figure 4. Rendements des huiles essentielles en % dans la matière végétale stockée de *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis*

La comparaison de nos résultats des rendements des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* stocké durant les années 2010, 2011, 2014 et 2015 et collecté de la station de Ain Baida (Algérie) avec ceux obtenus par Attafi (2013) de la matière fraîche de *Thymus algeriensis* collecté de la même station (1.01%), on peut constater l'existence d'une différence nette concernant la teneur en huiles essentielles entre la plante fraîche et la plante stockée.

Alors que la comparaison des rendements obtenus de l'année 2014 et 2010 sont voisines des résultats obtenus par Amarti et al (2005) et Moujahed et al (2011) sur la teneur des huiles

essentielles de la matière fraîche de la même espèce collectée de Maroc et Tunisie 0.3% et 0.5% respectivement.

Nos résultats de rendements des huiles essentielles obtenus de l'année 2010, 2011 sont proches de ceux obtenus par Attafi (2013) sur la matière fraîche de *Rosmarinus officinalis* collecté de Ain Baida (Algérie) (0.9%) et ceux obtenus par Bekkara et al (2007) sur la matière fraîche de la même plante médicinale collectée de la région de Tlemcen dans l'Ouest algérien (0.8%). Cette comparaison ne montre pas une différence des teneurs en huiles essentielles entre la matière végétale stockée et fraîche.

La famille des Lamiacées est l'une des plus importantes familles pour les huiles essentielles (Bordeaux, 2009). Le rendement en huile essentielle varie beaucoup selon la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante et la période de leur récolte.

2. Teneur en polyphénols totaux

L'analyse de la variance a montré des différences significatives entre les années d'étude ($P < 0.001$), les deux espèces ($P < 0.001$) et l'interaction année \times espèce ($P < 0.001$) (Annexe 3).

Pour *Thymus algeriensis*, l'année 2015 a enregistré la meilleure concentration en polyphénols (0.25 mg EAG/mg) suivie de l'année 2014 (0.22 mg EAG/mg), les années 2010 et 2011 ont enregistré des concentrations de 0.14 et 0.16 mg EAG/mg respectivement. L'année 2012 a enregistré la plus faible concentration (0.07 mg EAG/mg). Pour *Rosmarinus officinalis*, l'année 2011 a présenté la meilleure concentration (0.15 mg EAG/mg), les autres années ont présenté des teneurs faibles entre 0.02 et 0.05 mg EAG/mg (Figure 5).

Ainsi, *Thymus algeriensis* a accumulé des quantités plus élevées que *Rosmarinus officinalis* pendant les années 2010, 2011, 2012 et 2014.

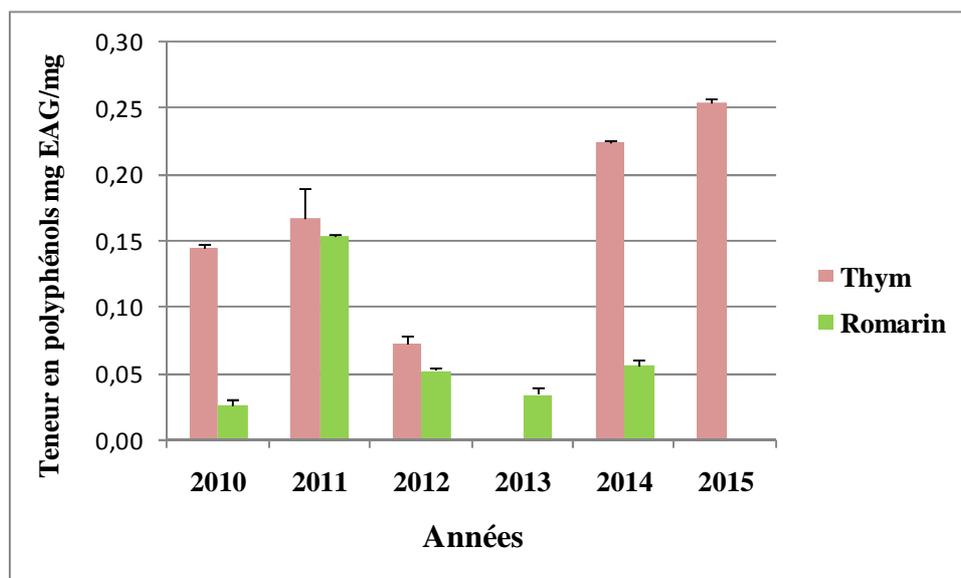
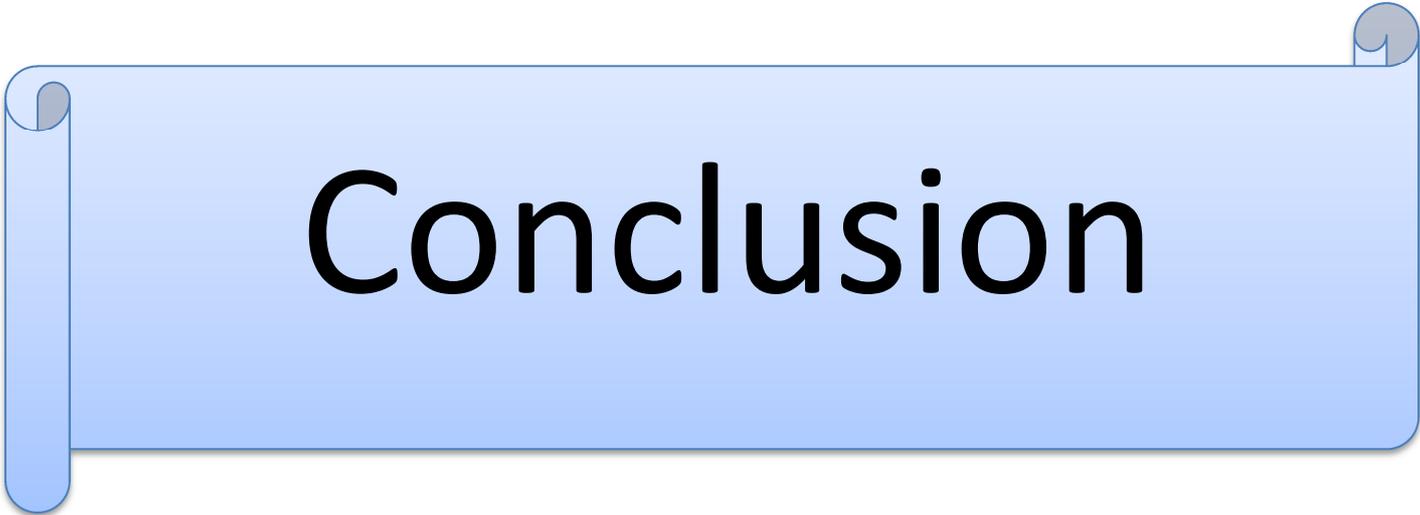


Figure 5. Teneurs en polyphénols totaux en mg EAG/mg de la matière végétale stockée de *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis*

Les quantités de polyphénols totaux obtenus de la matière végétale stockée de *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis* durant toute les années d'étude sont plus élevées que celle obtenue par Zeghade (2009) sur la matière végétale fraîche du thym collecté de la région de Constantine (9.07 mg EAG/g). Genina et al (2008) ont obtenu des teneurs en polyphénols plus faibles que nos résultats sur la matière végétale fraîche de Romarin (8.42 mg EAG/g).

La variabilité des résultats peut être liée aux conditions climatiques, la variété étudiée, le stade de développement, la saison de récolte, et la durée de conservation de la plante (Park et Cha, 2003).



Conclusion

Conclusion

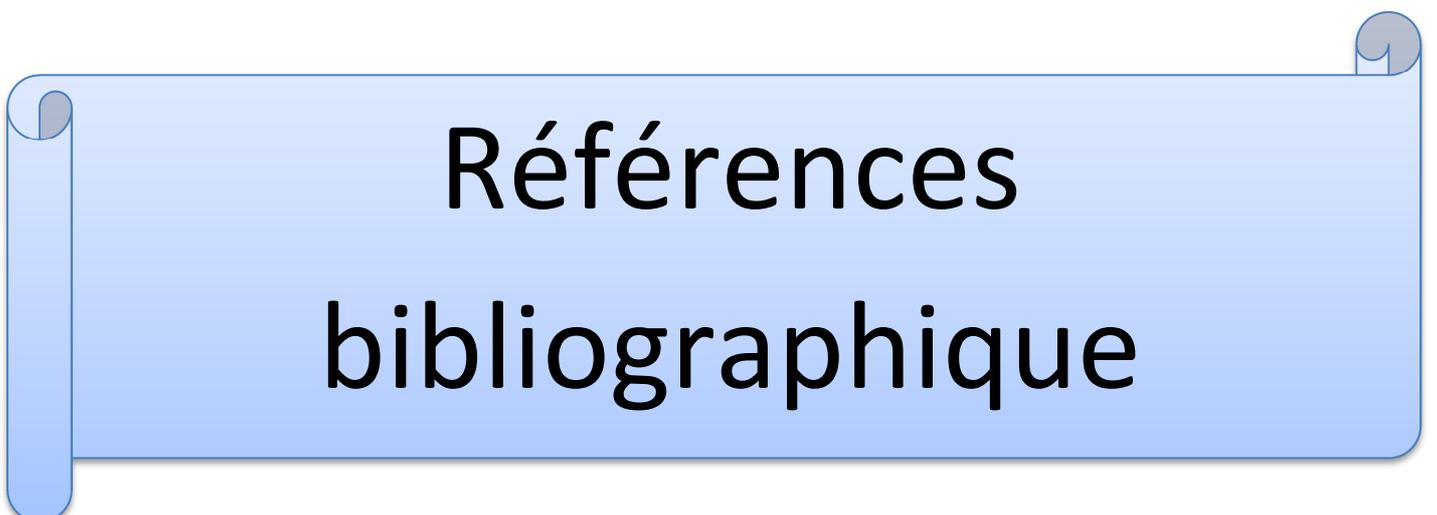
Les plantes médicinales restent toujours la source naturelle de principes actifs connus par leurs vertus thérapeutiques. Ce travail vise à étudier l'effet de stockage de la matière végétale sèche pendant plusieurs années sur la teneur en huiles essentielles et polyphénols totaux chez deux plantes médicinales : *Thymus algeriensis* et *Rosmarinus officinalis*.

- ✓ L'extraction des huiles essentielles a montré que *T. algeriensis* a présenté le meilleur rendement des huiles essentielles durant l'année 2015 (0.90%). *R. officinalis* a présenté des rendements élevés pendant les années 2010 et 2011 (0.93%, 0.89%) respectivement, ainsi, il a présenté des quantités plus élevées que chez *Thymus algeriensis* pendant les années d'étude.
- ✓ *T. algeriensis* a enregistré la meilleure concentration en polyphénols durant l'année 2015 (0.25 mg EAG/mg) et *R. officinalis* a présenté la meilleure concentration pendant l'année 2011 (0.15 mg EAG/mg). De plus, *T. algeriensis* a montré des quantités plus élevées que *R. officinalis* pendant les années d'étude.

La comparaison de nos résultats avec les autres travaux sur la matière fraîche des deux espèces étudiées indique que le stockage n'a pas beaucoup altéré les teneurs en huiles essentielles et polyphénols, cela peut être en relation avec les bonnes conditions de conservation de la matière végétale.

Le stockage des plantes médicinales se fait toujours dans des lieux secs, frais et sombres. Pour les grandes quantités, des sacs en papier de plusieurs épaisseurs, des sacs toiles, des cartons, des conteneurs en métal, sont utilisés. Les petites quantités doivent être conservées dans des bocaux ou des pots en verre bien fermés.

- Les conteneurs en plastique ne doivent pas être utilisés.
- Il faut étiqueter le récipient où la plante est stockée, outre le nom de la drogue, l'étiquette doit aussi indiquer l'année de récolte (Stary, 1992).
- Fleurs, feuilles ou semences doivent être desséchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés et conservées dans des boîtes en métal (Henni, 2013).



Références bibliographique

(A)

Agrimer, F. (1996). Les plantes aromatiques. Garante Quarté supérieur label rouge. P: 5.

Al-Seret, M.R. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) and its therapeutic potentials. *Indian. J. Exp. Biol.* 37(2), 124-130.

Amarti, F., Satrani., B., Ghanni, M., Farah., A., Arab, L., El Ajjouri, M., Chaouch, A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobiennes des huiles essentielles de thymus algeriensis et thymus ciliatus. *Biotechnol. Agro. Soc. Environ* 14 (1), 141-193.

Anonyme 01 : Mahmoudi, Y. (2010). La Thérapeutique Par Les Plantes En Algérie.

Anonyme 02: www.julia.ad/img/nwl/may122/rosmarinus_fr.pdf

Antoinette, M. (2005). Secrets d'une herboriste. Ed : Davphiu. P: 460-462.

Attafi, A. (2013). Etude de la composition chimique et l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales de l'Algérie (*Thymus algeriensis et Rosmarinus officinalis*) mémoire de biotechnologie des plantes médicinale. Université de la science exacte et science de la nature et de la vie- Tébessa- Algérie.

Ayadi, S., Jerribi, C., Aberrabba, M. (2011). Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de Tunisie, *J.Soc.Alger. Chim.* 21 (1), 25-30.

(B)

Bakkali, F., Averbeck , S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Rev: Food. Chem.Toxicol.* 46, 446–475.

Bekkara, F.A., Bousamaha, L., Taleb bendiab, S.A., Beti, J.B., Casanova, J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* poussant a l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et Santé* 7, 6-11.

Belakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed : Idis PRESS, Paris. P: 764.

Boizot, N et Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'intra P : 79-82.

Bordeaux, D. (2009). La phytothérapie. Ed : John Bibbey Eurotext. P : 24.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC.

Boukeroui, T., Ait hamoudi, B. (1984). Fleurs d'Algérie. Ed: Entreprise nationale du livre. P : 14.

Boullard, B. (1997). Dictionnaire plante et champignons. Ed. Estem. P : 717.

Bounnemaï, J. L., Dumas, C. (1998). La biologie végétale. Ed : presses Universitaire de France. P : 18.

Bourbier, A. (2007). Les plantes et les médicaments. Ed : Dlachaux et Niestlé. P : 143-144.

Bruneton, J. (1999): Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition .*Tec & Doc Ed : Paris*, P: 575.

(C)

Caillet, S., Lacroix, M. (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (*RESALA*). P : 1- 8.

Carr, G. (2004). Vascular plant family. Consulter le 25/05/2011 sur : <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/pfamilies.htm>.

Carrée, P. (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed : Ballière JB. Et fils.

Chaintreau, A., Joulain, D., Marin, C., Schmidt, C.O., Vey, M. (2003). Quantification of fragrance compounds suspected to cause skin reactions. *J. Agric. Food. Chem.* 51, 398-403.

Chemat, F., Lucchesi, M.E., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances. *Brevet Américain*, US 2004/0187340 A1.

Couplan, F. (2009). *Le régal végétal*. Ed : sang de la terre. P: 376.

(D)

Daniel, M. (2006). *Medicinal Plants: chemistry and properties*; Ed: SCIENCE PUBLISHERS. P: 59, 77.

Dastmalchi, K., Damien Dorman, H.J., Oinonen, P.P., Darwis, Y., Laakso, I., Hiltunen, R. (2008). Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food. Sci. tech LWT*. 41 (3), 391-400.

Dellile, L. (2007). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Ed: Berti. P: 239.

(E)

El Raffari, L. (2008). *Catalogue des plantes potentielles pour la conception des tisanes*, Financé par : *biodiversity et IFAD*. P: 108-110.

(F)

Fasty, D. (2007). *Ma bible des huiles essentielles*. Leduc Editions. P: 20.

Festy, D. (2011). *Les huiles essentielles ça marche*. Ed: LEDUC.S.P: 320.

Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., Macheix, J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*. 121-216.

Floss, H. G. (1997). Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports*. 14, 433-434.

Franchomme, P. (1999). L'aromathérapie, thérapeutique de pointe en médecine naturelle au médicament. *Observatoire du mode des plantes Sat-Tilman.*, 24 (9), 11-14.

Franchomme, P., Pénoël, D. (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois Editor. Limoges. P:445.

(G)

Genina, A.K., Hens, H., Junior, Souza, S.M. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide, *Ciênc. Tecnol. Aliment* 28, 1-4.

Gianmario, A., Silvio, S., Rita, P.A., Roberto, D., Aurelia, T. (2007). *J.Agr.food. chem.*, 55(5), 1718.

Gilly, G. (2005). Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed : le harmattan. P : 289-296.

Girre, L. (2006). Les plantes et les médicaments. Ed : Delachaux et Niestlé. P : 143-144.

Gonzalez-Trujano, M. E. (2007). Evaluation of antinociceptive effect of *Romarinoffcinalis*L.using three différent experimental models in modents.*J. theopharmacol.* 111, 476-482.

Grosjeau, N. (2007). L'aromathérapie. Ed: Eyrolles; P: 52.

Guenter, E. (1975). The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van No strand Ed: New York USA.

Guignard, J.L. (1996). Biochimie Végétale. Ed Masson, Paris.

Guignard, J.L. (1998). Abrégé botanique. 11^{ème} Edition Masson, Paris.

Guignard, J.L. (2001). Botanique systématique moléculaire. Ed Masson, Paris.

(H)

Henni Khadidja, (2013). Étude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région de Guemar, Master.

Hoffmann, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C., Pollet, B. et Legrand, M. (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. 16 (6), 1446-1465.

Husnu can baser, K., Buchbauer, G. (2010). Handbook of Essential Oils: Science.

(I)

Iburg, A. (2006). Le petites encyclos des plantes médicinales. Ed: Grund. P: 18.

(J)

Jean botton, A. (1999). Pharmacognosie «Photochimie plante «médicinales 3eme éd TEC.DOC Paris. P: 484,540.

Jones, C. (1998). Rosemary's whole-plant properties counter cancer. Nutrition Sciences News: 1-4.

(K)

Kening, Y., Vincenzo, D.L. et Normand, B. (1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell*. 7, 1787-1799.

Kothe, H. W. (2007). 100 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terres. P: 10-12, 309.

(L)

Lavoisier, Paris. P: 1021-1043.

Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004^a). Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A*. 1043, 323-327.

Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004^b). An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices», *Flavour.Fragr. J.* 19, 134-138.

Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletariacardamomum*L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food Engineer.* 79, 1079- 1086.

(M)

Macheix, J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. P : 4-5.

Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K. (1996). Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.

Makoi, J., Ndakidemi, P.A. (2007). Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *Afric.J.Biotech.* 6(12), 1358-1368.

Moujahed, N., Bouaziz, Y., Benjannet, A., Ghazi, Z. (2011). Nutritive value and essential oil characterization of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus algeriensis* from the central region of Tunisia, Institute National Agronomique de Tunisie, A.N. 99, 245-249.

Multon, J.L., Richard-Molard, D., and Roquebert, M.F. (1998). Moisissures des aliments peu hydrates. Lavoisier Tec&Doc, France.

(P)

Papageorgio, V. (1980). GLC-MS computer analysis of the essential oil of *thymus capitatus*, *planta.Medica. Suppl.* p: 29-33.

Park, H.j., Cha, H. C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Kkorean journal of biological society*.7, 327-330.

Patricia, C., Mary, A., Possenti, A., Joao Ernesto, C. (2000). *J.Ethnopharma*. 69:57.

Pauli, A. (2001). Antimicrobien properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather*. 11, 126-133.

Pellerin, P. (2001). Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim. V*. 94:51-62.

Pourmortazavi, S.M.,Hajimirsadeghi, S.S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr. A*. 1163, 2-24.

(Q)

Quezel, P., Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, P : 788-789.

(R)

Richard, F. (1992). Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc. P : 1228-1242.

Richard, H. (1992). Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. P : 339.

Roulier, G. (1990). Les huiles essentielles pour votre santé. Ed : Dangles. 174.

Rubiolo, P., Sgorbini, B., Liberto, E., Cordero, C., Bicchi. (2010). Essential oil and volatiles: sample preparation and analysis. *FlavourFragr. J*. 25, 282-290.

(S)

Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. P: 2- 10.

Satrani, B., Ghammi, M., Farah, A., Aafi, A., Fougrache, H., Bourkhiss, B., Bousta, D., Talbi, M. (2007). Composition chimique et antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus*. Bull. Soc. Pharm. Bordezux.146, 85-96.

Sary, F. (1992), plantes médicinales. Grün, Paris.

Shellie, R., Marriott, P., Chaintreau, A. (2004).Quantification of suspected allergens in fragrances: evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control. *Flavor.Fragr. J.* 19, 91-98.

Stalikas, C.D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30, 3268 – 3295.

Subsamanian, S., Stacey, G. et Yu, O. (2007). Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in plant science.* 12 (7), 282-283.

(T)

Thorsen, M.A., Hildebrand, K.S. (2003). Quantitative determination of phenolic diterpènes in rosmmary extracts, Aspects of accurate quantification, *J. Chromatogr. A.* 24, 119-125.

(U)

Ucciani, E. (1995). Dictionnaire des huiles végétales. Ed : Lavoisier Tec et Doc. P: 472-473.

Urquiaga, I., Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress.*Biological Research.* 33 (2) , 55-64.

(V)

Voukou D., Kokkini, S., Bressiere J.M. (1988). *Origanum* monites (Lamiaceae) in Greece.

(W)

Wan, P.J., Pakarinen, D.R., Hron, R.J. (1995). Alternative hydrocarbon solvent for cottonseed extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72, 653-659.

Wang, L., Yen, J.H., Liang, H.L., Wu, M.J. (2003). Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.) *Journal of Food and Drug Analysis*. 11(1), 60-66.

Wenqiang, G., Shufen, L.; Ruixiang, Y., Shaokun, T., Can, Q. (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chem.* 100(1), 1558-1564.

Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*. 126, 485-493.

(Y)

Yen, T.B., Chang, S.T. (2008). Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresour. Technol.* 99, 232-236.

(Z)

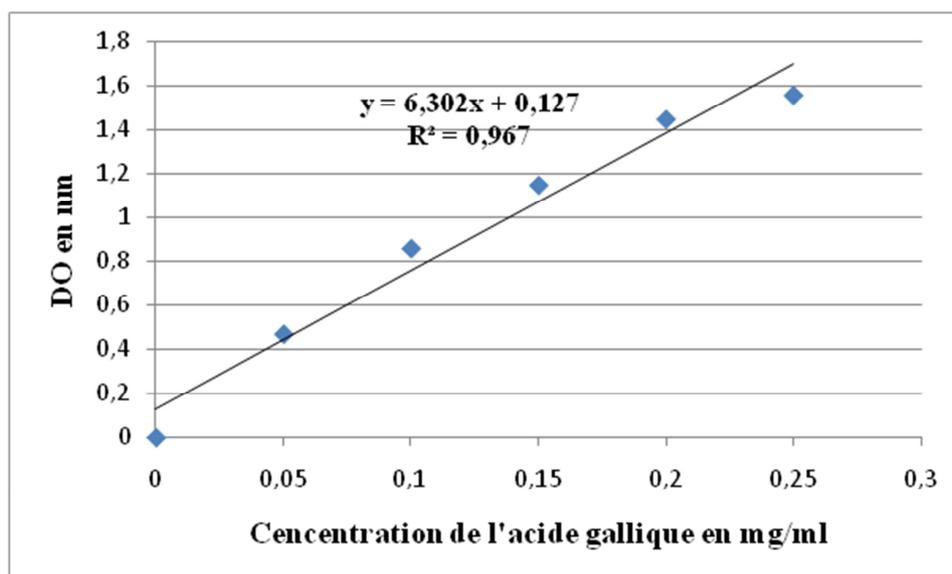
Zabeirou; Hachimou. (2005). Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha spicata* L) et de la Poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région d'Ouargla. Mémoire de Biochimie — Université de Kasdi Merbah _Ouargla. P : 16.

Zeghad, N. (2009). Etude des contenus polyphénoliques de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus algeriensis*, *Rosmarinus officinalis*) et évolution de leur activité antibactérienne, Université des sciences de la nature et de la vie Mentouri, Constantine (Algérie).



Annexe

Annexe 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 2. Analyse de la variance à deux facteurs pour le rendement des huiles essentielles

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	0,81770392	5	0,16354078	8,17827727	0,000	2,62065415
Colonnes	0,84303003	1	0,84303003	42,1578836	0,000	4,25967721
Interaction A l'intérieur du groupe	2,82873747	5	0,56574749	28,2916578	0,000	2,62065415
	0,47992733	24	0,01999697			
Total	4,96939875	35				

Annexe 3. Analyse de la variance à deux facteurs pour la teneur en polyphénols totaux

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	0,08624081	5	0,01724816	336,367172	0,000	2,62065415
Colonnes	0,07299003	1	0,07299003	1423,42416	0,000	4,25967721
Interaction A l'intérieur du groupe	0,08989347	5	0,01797869	350,613759	0,000	2,62065415
	0,00123067	24	5,1278E-05			
Total	0,25035497	35				