



République Algérienne Démocratique et Populaire.  
Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par

**Mlle. Abdelli Ahlem**

**Mlle. Bourahla Ilhem**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Microbiologie fondamentale**

**THÈME**

**Etude d'activité antioxydante et insecticide de  
l'huile essentielle de *thymus fontanesii*.**

**DEVANT LE JURY**

**Président : Mr. Djibaoui Rachid**

**Professeur**

**U.de Mostaganem**

**Examineur : Mr. Mekhaldi Abdelkader**

**Professeur**

**U.de Mostaganem**

**Encadreur : Mr. Bahri Fouad**

**Professeur**

**U. de Mostaganem**

**Année universitaire  
2019/2020.**

## *Remerciements*

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant qui nous données la force, le courage, la volonté, la patience et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

Nous remercions nos parents pour leur patience, générosité ; qui nous ont toujours souhaité beaucoup de motivation et d'encouragements.

Nos sincères remerciements à l'égard de notre promoteur **Mr BAHRI Fouad** professeur à l'université de Mostaganem qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger notre étude, qui a fait preuve d'une grande patience.

Nos profonds remerciements vont aussi aux membres de jury: **Mr Djibaoui Rachid**, professeur à l'université de Mostaganem, d'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre mémoire et **Mr Mekhaldi Abdelkader**, professeur à l'université de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nous remercions également tous nos enseignants(es) du département de biologie de Mostaganem et spécialement ceux de notre spécialité Microbiologie Fondamentale qui ont contribuées à notre formation.

Que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à nous encouragé, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et reconnaissance.

*Dédicace :*

Je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents

Mes grands-parents

Ma chère et unique sœur **Omaïma.**

Toute la famille **ABDELLI et EZZIANI.**

Ceux qui m'ont encouragé et soutenu

Mon binôme **BOURAHLA Ilhem.**

Tous les membres de ma promotion.

***ABDELLI Ahlem***

*Dédicace :*

Je dédie ce modeste travail :

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

À ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes  
Moments les plus difficiles.

À mes parents pour leur amour et leur support continu.

À mes chères sœurs : **Chourouk, Zahra et Khadidja.**

À toute la famille **Bourahla**

À mes très chère amies : **kheira, Khadidja.**

À mon binôme **Abdelli Ahlem.**

À tous les membres de ma promotion.

***Bourahla Ilhem.***

## **Résumé**

Dans le cadre de la valorisation des ressources végétales algériennes, les huiles Essentielles de plante de la famille de lamiacée, à savoir *T.fontanesii* récoltée dans la région d'Ain Dafla ont fait l'objet de cette étude.

L'extraction des HES a été réalisée par hydrodistillation. L'analyse chimique des HES a été effectuée par CPG et CPG/SM.

L'activité antioxydante des HES a été réalisée par deux méthodes à savoir la méthode du DPPH et FRAP, et activité insecticide par contact et par inhalation.

Les huiles ont été obtenues par hydrodistillation à partir des parties aériennes de *T. fontanesii* avec un rendement de 3.125%.L'analyse chimique de l'HE de *T. fontanessii* a révélé la présence de 27 compose, les principaux composants étaient le thymol (67,8%), le p-cymène (13%) et le  $\gamma$ -terpinène (15,9%) à faible teneur en carvacrol (1,7%).

Les résultats d'activité antioxydante dépendent les constituants phénoliques présents dans le thym qui sont responsables du piégeage des radicaux de DPPH et la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ .

Cette activité est exprimée par une valeur de concentration d'inhibition ( $IC_{50}$ ) qui définit la concentration efficace des substrats qui cause la perte de 50% de l'activité, les valeurs de  $IC_{50}$  pleuvaient de  $57,3 \pm 1,4$  à  $236,7 \pm 1,4 \mu g / mL$ .

Les résultats d'activité insecticide des tests de contact sont très significatif ou on a enregistré la mort de 50%. 57.5%. 70% et 85% des adultes après 24h qui correspondent respectivement aux doses de 2 $\mu$ L. 4 $\mu$ L. 8 $\mu$ L. 16 $\mu$ L. Le test par inhalation vient confirmer les résultats obtenu ou pour une dose de 8 $\mu$ l on a eu un taux de mortalité supérieur à 50% au bout de 3jours.

## **Les mots clés :**

*T. fontanesii*, les huiles Essentielles, CPG, CPG/SM, activité antioxydante, d'activité insecticide.

**Abstract:**

In order to enhance the Algerian plant resources, the essential oils from plants of the Lamiaceae family, namely *T. fontanesii* harvested in the Ain Dafla region were the subject of this study.

EOs were extracted by hydrodistillation. The chemical analysis of EOs was performed by CPG and CPG / MS and the antioxidant activities of EOs were done by two methods, namely the DPPH and FRAP method, and insecticidal activity by contact and by inhalation.

The hydrodistillation of the aerial parts of *T. fontanesii* allowed us to obtain the oil with a yield of 3.125%. The chemical analysis of the EO of *T. fontanesii* showed the presence of 27 compounds, the most important components were thymol (67.8%), p-cymene (13%) and  $\gamma$ -terpinene (15.9%) along with carvacrol (1.7%).

The results of antioxidant activity depend on the phenolic constituents present in thyme which are responsible for the scavenging of DPPH radicals and the reduction of  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$ .

The previous activity appeared as inhibition of concentration value ( $\text{IC}_{50}$ ) which represents the effective concentration of the substrates which causes the loss of 50% of the activity.  $\text{IC}_{50}$  values ranged from  $57.3 \pm 1.4$  to  $236.7 \pm 1.4 \mu\text{g} / \text{mL}$ .

The insecticidal activity results of the contact tests are very essential, with 50%, 57.5%, 70% and 85% death recorded of adults after 24 hours which match respectively to doses of 2  $\mu\text{L}$ , 4  $\mu\text{L}$ , 8  $\mu\text{L}$ , 16  $\mu\text{L}$ . The inhalation test confirms the results obtained or for a dose of 8  $\mu\text{L}$  there was a mortality rate greater than 50% after 3 days.

**Keywords:**

*T. fontanesii*, Essential oil, CPG, CPG / MS, antioxidant activity, insecticidal activity.

## ملخص :

في إطار تقييم الموارد النباتية الجزائرية، الزيوت الأساسية من نباتات الفصيلة Lamiaceae ، وبالتحديد *T.fontanesii* المحصودة في منطقة عين الدفلة موضوع هذه الدراسة.

تم استخراج هذه الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي، و تم إجراء التحليل الكيميائي لها بواسطة CPG / MS و CPG تم تحقيق النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية من خلال طريقتين هما طريقة DPPH و FRAP ، ونشاط مبيد الحشرات عن طريق التلامس والاستنشاق .

تم الحصول على الزيوت بالتقطير المائي من الأجزاء الهوائية من *T.fontanesii* بحاصل 3.125%. أظهر التحليل الكيميائي لزيوت *T. fontanesii* وجود 27 مركبًا ، بحيث كانت المكونات الرئيسي (67.8%) thymol (1,7%) ,carvacrol (15,9%) ,  $\gamma$ -terpinène (13%) , p-cymène

تعتمد نتائج النشاط المضاد للأكسدة على المكونات الفينولية الموجودة في الزعتر المسؤولة عن إزالة جذور DPPH وتحويل Fe<sup>3+</sup> إلى Fe<sup>2+</sup>. يتم التعبير عن هذا النشاط من خلال قيمة تركيز التثبيط (IC50) التي تحدد التركيز الفعال للركائز التي تسبب فقدان 50% من النشاط حيث تراوحت قيم IC50 من 1.4 ± 57.3 إلى 1.4 ± 236.7 ميكروغرام / مل .

كانت نتائج اختبارات التلامس ذات نشاط مبيد للحشرات مهمة للغاية ، حيث تم تسجيل 50% ، 57.5% ، 70% و 85% من الوفيات من البالغين بعد 24 ساعة والتي تتوافق على التوالي مع جرعات 2 ميكرو لتر. 4 ميكرو لتر. 8 ميكرو لتر و 16 ميكرو لتر. و يؤكد اختبار الاستنشاق النتائج التي تم الحصول عليها حيث كان معدل الوفيات لجرعة 8 ميكرو لتر أكبر من 50% بعد 3 أيام.

## الكلمات المفتاحية :

*T. fontanesii* ، زيوت أساسية ، CPG ، CPG / MS ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مبيد للحشرات.

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de la Normalisation.

**B HT** : Butylhydroxytoluène.

**C°** : Degré célsus.

**CPG** : La chromatographie en phase gazeuse.

**CPG/SM** : Couplage Chromatographie phase gazeuse/Spectrométrie de masse.

**DPPH** : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl

**DL** : Doses létales.

**EMI**: Extraction assistée par chauffage par induction électromagnétique.

**EO** : Essential Oil

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**FID** : Flammes d'ionisation les détecteurs.

**GPP** : Le diphosphate de géranyle.

**HE** : L'huile essentielle.

**HEs** : Les huiles essentielles.

**HD** : Hydrodistillation.

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

**I%** : Pourcentage d'inhibition.

**I<sub>rp</sub>** : Indice de rétention polaire.

**I<sub>ra</sub>** : Indice de rétention apolaire.

**IC** : L'ionisation chimique. .

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition 50%.

**IE** : L'ionisation électronique.

**LPP** : Le diphosphate de linalyle.

**M**: Miliana.

**MS** : Matière sèche.

**P** : Pression.

**SM** : Spectrométrie de masse.

**T** : *Thymus*.

**T** : Températures.

**TIZ** : Tarik Ibn Ziad.

**TL** : Temps létaux.

**USDA** : United States Department of Agriculture

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Plante de <i>Thymus fontanesii</i> .....	5
<b>Figure 02:</b> Formule structurale de thymol.....	9
<b>Figure03 :</b> Mécanisme réactionnel d'ionisation-cyclisation du GPP via le LPP.....	9
<b>Figure 04:</b> Structure chimique d'isoprène (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) n.....	14
<b>Figure 05:</b> Exemples de composés aromatiques caractéristiques des HEs.....	14
<b>Figure 06 :</b> Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile.....	18
<b>Figure 07 :</b> Montage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	18
<b>Figure 08:</b> Montage d'extraction par hydrodiffusion.....	19
<b>Figure 09:</b> Technique d'extraction par solvant.....	19
<b>Figure 10:</b> Principe schématisé de l'appareillage d'Hydrodistillation sous micro-ondes.....	20
<b>Figure 11:</b> Montage d'extraction par les fluides supercritiques.....	21
<b>Figure 12 :</b> Carte géographique de la région d'Ain Dafla (Miliana et Tarik ibn ziad) montrant la station de récolte de <i>T. fontanesii</i> .....	27
<b>figure13:</b> Hydrodistillateur.....	28
<b>Figure14 :</b> Les étapes d'extraction d'HE.....	29
<b>Figure15 :</b> Graphique montrant le changement de couleur de DPPH quand il est exposé à une substance antioxydante.....	31
<b>Figure 16 :</b> Adulte femelle (a) et mâle (b) de <i>Callosobruchus maculatus</i> vue dorsale sou loupe binoculaire x10.....	33
<b>Figure 17:</b> Dispositif expérimental des essais par contact de l'huile de thym.....	34
<b>Figure 18:</b> Dispositif expérimentale adopté pour le test d'inhalation.....	35
<b>Figure 19 :</b> Teneur de MS et de l'humidité de <i>T. fontanesii</i> .....	37
<b>Figure 20:</b> Evolution du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations.....	41
<b>Figure 21:</b> Evolution de l'absorbance en fonction des concentrations en HE et en BHT.....	42

**Figure 22 :** Mortalité par effet de contact de l'HE de Thymus vis à vis de *Callosobruchus*

*maculatus*.....46

**Figure 23:** Détermination de la DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> de l'HE du thym après 24h traitement.....46

**Figure 24:** Détermination de TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> de l'HE de Thymus vis à vis de *Callosobruchus*

*maculatus* après 3 jours de traitement par inhalation.....48

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : classification de <i>Thymus fontanesii</i> .....	5
<b>Tableau 02</b> : Localisation des principales espèces du thym en Algérie.....	6
<b>Tableau 03</b> : Doses utilisées dans le test de contact pour l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> .....	32
<b>Tableau 04</b> : les caractéristiques organoleptiques et le rendement des HEs.....	37
<b>Tableau 5</b> : Composition chimique de l'HE de <i>T. fontanesii</i> .....	39
<b>Tableau 6</b> : Valeurs IC <sub>50</sub> de l'HE de <i>T. fontanesii</i> et du BHT.....	44
<b>Tableau 7</b> : Activité insecticide de l'HE de thym vis-à-vis de <i>Callosobruchus maculatus</i> après 24h de traitement.....	45
<b>Tableau 8</b> : Activité insecticide de l'HE du thym vis avis de <i>Callosobruchus maculatus</i> par effet d'inhalation.....	47

# Table des matières

Remerciement

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Espèce végétale étudiée

I.1.Les plantes médicinales et aromatiques.....	1
I.1.1.Les plantes aromatiques.....	1
I.1.2.Les plantes médicinales.....	1
I.1.3.Domaines d'utilisation.....	2
I.2.Présentation de la famille des Lamiacées.....	2
I.2.1.Genre <i>Thymus</i> .....	3
I.2.2.Nomenclature.....	4
I.3. <i>Thymus fontaneseii</i> .....	4
I.3.1.Les vertus médicinales.....	5
I.3.2.Description botanique de <i>Thymus fontaneseii</i> .....	5
I.3.3.Taxonomie .....	5
I.3.4.Habitat .....	6

I.3.5.Répartition géographique.....	6
I.3.5.1.Dans le monde.....	6
I.3.5.2.En Algérie.....	6
I.3.6.Les huiles essentielles de <i>Thym</i> .....	8
I.3.6.1.Thymol.....	8
I.3.6.2.Biosynthèse du thymol.....	9
I.3.6.3.Extraction de thymol.....	10
I.3.7.Utilisation de la plante.....	10
I.3.7.1.Utilisation de <i>Thymus fontanessii</i> .....	10
I.3.7.1.1.Utilisation thérapeutique.....	10
I.3.7.1.2.Utilisation culinaire.....	11

## **Chapitre II : Généralités sur Les huiles essentielles**

II.1.Définition.....	12
II.2.Répartition botanique.....	12
II.3.Localisation et lieu de synthèse.....	12
II.4.Propriétés physico-chimique.....	13
II.5.Le rôle des huiles essentielles.....	13
II.6.Composition chimique.....	13
II.6.1.Les terpènes.....	13
II.6.2.Les compositions aromatiques.....	14
II.6.3.Les composés d'origines divers.....	14
II.6.4.Notion de chémotype.....	14
II.7.Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles.....	15

II.7.1.Facteurs intrinsèques.....	15
II.7.2.Facteurs extrinsèques.....	15
II.8.Domaine d'application.....	15
II.8.1.Parfums et cosmétique.....	15
II.8.2.Santé : Pharmacie et aromathérapie.....	15
II.8.3- Agro-alimentaire.....	16
II.8.4- Agriculture.....	16
II.9.Toxicité des huiles essentielles.....	16
II.10.Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	17
II.10.1.Distillation.....	17
II.10.1.1.Hydro distillation.....	17
II.10.1.2.Extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....	18
II.10.1.3.L'hydrodiffusion.....	18
II.10.1.4.Extraction à froid.....	19
II.10.1.5.Extraction par solvant.....	19
II.10.1.6.Enfleurage.....	20
II.10.1.7.L'extraction par micro-ondes.....	20
II.10.1.8.Extraction par les fluides supercritiques.....	20
II.11.Méthode d'analyse des huiles essentielles.....	21
II.11.1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	21
II.11.2- Spectrométrie de masse (SM).....	22
II.11.3- Couplage CPG/SM.....	22

### **Chapitre III : Les activités biologiques**

III.1.Activité anti-oxydante.....	24
III.1.1.Le stress oxydatif.....	24
III.1.2.Les radicaux libres.....	24
III.1.3.Les antioxydants.....	25
III.2.Activité insecticide.....	25

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre IV : Matériel et méthodes**

IV.1.Matériel végétal.....	27
IV.1.1.Récolte.....	27
IV.1.2.Détermination de la matière sèche.....	27
IV.2.Les huiles essentielles.....	28
IV.2.1.Extraction d'huile essentielle.....	28
IV.2.1.1.Principe.....	28
IV.2.1.2.Mode opératoire.....	28
IV.2.2.Calcul de rendement.....	29
IV.2.3.Méthode d'analyse des huiles essentielles.....	29
IV.2.3.1.Chromatographie en phase gazeuse.....	30
IV.2.3.2.Chromatographie en phase gazeuse-Spectrométrie de masse (CPG/MS).....	30
IV.3.Activité antioxydante.....	30
IV.3.1.Test de piégeage du radical libre DPPH.....	30
IV.3.2.Test de FRAP.....	32
IV.4.Activité insecticide.....	32

IV.4.1.Evaluation de la mortalité des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> par effet contact.....	33
IV.4.2.Evaluation de la mortalité des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> par effet d'inhalation.....	34
IV.4.3.Exploitation des résultats.....	35
IV.4.3.1.Corrrection de mortalité.....	35
IV.4.3.1.1.Calcul des doses et des temps létaux.....	35

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

V.1.Matériel végétal.....	37
V.1.1.Détermination de taux de matière sèche.....	37
V.2.Huiles essentiels.....	37
V.2.1.Les caractères organoleptiques et les rendements des l'HE.....	37
V.2.2.Composition chimique de <i>Thymus fontanesii</i> .....	38
V.3.Activité anti oxydante de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> .....	40
V.3.1.Evaluation de l'activité anti oxydante de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> par la méthode de DPPH.....	40
V.3.2.Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> par la méthode du pouvoir réducteur.....	42
V.3.3.Discussion de deux résultats.....	44
V.4.Activité insecticide.....	44
V.4.1.Teste d'activité insecticide de l'huile essentielle du thym.....	44
V.4.1.1.Evaluation de la mortalité des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> par effet Contact.....	45
V.4.1.2. Evaluation de la mortalité des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> par effet d'inhalation.....	47
V.4.2. Discussion.....	48

**Conclusion**

**Références bibliographiques**

# *Introduction*

**Introduction :**

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de diverses maladies parce qu'elles contiennent des composants riches en principes thérapeutiques (**khaldi et al., 2012**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. La plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité (**Moutinho, 2013**).

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines sont très utilisées en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie et en cosmétique. Leur utilisation est liée à leurs différentes activités biologiques reconnues. Parmi ces activités, on trouve le pouvoir antioxydant, qui est actuellement le centre d'intérêt de plusieurs études pour la prévention des maladies (**Hennebelle et al., 2004 ; Kanko et al., 2004**).

Les huiles essentielles ont été largement utilisées comme antiparasitaires, bactéricides, fongicides, antivirus et insecticide. D'un autre côté, la principale méthode de lutte contre les insectes ravageurs consiste à utiliser des pesticides synthétiques, mais le développement de la résistance des insectes à ces produits, le coût opérationnel élevé et environnemental la pollution a créé le besoin de développer des approches alternatives pour lutter contre de nombreux insectes nuisibles, et en ce sens les huiles essentielles sont une alternative pour lutter contre de nombreux insectes (**Pérez et al., 2010**).

La famille Lamiaceae est l'une des plus utilisées comme source mondiale d'espices et une source consolidée d'ingrédients fonctionnels, au sein de cette famille, le genre *Thymus* a obtenu une attention particulière en raison de leurs propriétés biologiques liées aux aliments.

*Thymus* est l'un des genres les plus complexes sur le plan taxonomique et comprend 250 à 350 espèces et variétés d'espèces à feuilles persistantes sauvages de plantes vivaces et de sous-arbustes, originaires d'Europe du Sud, Afrique du Nord et Asie. Parmi les diverses propriétés biologiques signalées pour le thym, certaines sont très

---

bien établies, telles que les propriétés antioxydants, insecticides, activités antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti-inflammatoires.

Toutes ces activités sont liées à la teneur élevée en monoterpènes, en composés phénoliques, en particulier en thymol et carvacrol, et d'autres composés plus ou moins biologiquement actifs dont l'eugénol, le p-cymène,  $\gamma$ -terpinène, linalol, germinol et bronéol. *Thymus fontanesii* est l'un des onze espèces présentées dans la flore algérienne. Cette espèce est une aromatique spontanée plante endémique d'Algérie et de Tunisie, les parties aériennes des espèces de *Thymus fontanesii* ont fortement recommandées, elles étaient couramment utilisées comme tisanes, condiments et épices, donc quant à diverses fins médicinales (Sidali et al, 2017).

Notre travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres. Le premier chapitre sur l'espace végétale (*Thymus fontanesii*), le deuxième sur les huiles essentielles tandis que le troisième chapitre, s'intéresse aux activités biologiques des huiles essentielles et particulièrement, l'activité antioxydante et insecticide.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (quatrième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- Extraction des huiles essentielles du thym par hydrodistillation.
- Analyse et identification de la composition chimique des huiles essentielles par CPG et CPG-SM.
- Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles par le test de DPPH et le test de FRAP.
- Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles par contact et inhalation.

Le second (cinquième chapitre) est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

---

*Partie*  
*Bibliographique*

# *Chapitre I*

*Espèce végétale étudiée*

**I.1. Les plantes médicinales et aromatiques :****I.1.1. Les plantes aromatiques :**

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments. Les plantes aromatiques fraîches, séchées, ou conservées peuvent servir à l'assaisonnement des mets et également donner naissance à des formes galéniques particulières que soient les extraits végétaux, les huiles essentielles ou les oléorésines (**Mailhebiau, 1994**).

**I.1.2. Les plantes médicinales :**

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début du 19<sup>ème</sup> siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, la quinine...). La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel (**Benkiki, 2006**).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique ou encore sous forme de principes actifs comme matière pour l'obtention de médicaments (**Naghbi et al., 2005 ; Babulka, 2007**).

### I.1.3. Domaines d'utilisation :

Les herbes ont été utilisées dans plusieurs domaines y compris la médecine, la nutrition, la teinture, les cosmétiques, ainsi que dans d'autres domaines d'industrie (**Djeridane et al., 2006**). Un certain nombre de plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et d'infusions, mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres (**Bourrel, 1993**).

Certaines plantes sont utilisées comme traitement du rhume et de la fièvre (*Marrubium vulgare* et *Rosmarinus officinalis*), troubles d'estomac (*Mentha spicata*) (**Venderjagt et al., 2002**), dans les traitements des maladies rénales (*Coriandrum sativum*) (**Aissaoui et al., 2008**), et plusieurs d'entre elles sont utilisées pour leurs effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires (**Rasekh et al., 2001 ; Kanko et al., 2004**). Quelques espèces de *Helichrysum* ont été utilisées pendant 2000 ans passés comme forme de thé grâce à leurs effets régulateur de la bile et diurétique (**Suzgeç et al., 2005**).

En nutrition, plusieurs espèces sont utilisées comme épice, colorant, boisson, ou encore pour leur effet aromatique (**Suzgeç et al., 2005**). *Hippomarathrum microcarpum* est utilisée en nutrition par la population Turque (**Hakan et al., 2007**). D'autre part, il existe une augmentation en intérêt des antioxydants naturels, particulièrement ceux qui ont tendance à prévenir les effets de délétion du radical libre dans le corps humain, et de prévenir la détérioration de la matière grasse et d'autres constituants de la denrée alimentaire (**Bounatirou et al., 2007**). Plusieurs espèces appartenant à la famille des Lamiacées, font actuellement l'objet d'études phytochimiques visant à découvrir de nouveaux antioxydants (**Hennebelle, 2006**).

### I.2. Présentation de la famille des Lamiacées :

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays. Cette étude porte sur la famille des Lamiacées.

La famille des Lamiacée est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghbi et al., 2005**). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des famille les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Gherman et al., 2000; Bouhdid et al., 2006 ; Hilan et al., 2006**). Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel. De nombreuses propriétés leurs sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, analgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...

Les huiles essentielles par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (**Bakkali et al., 2008 ; Hilan et al., 2006**). Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (**Miller et al., 2006**). La région méditerranéenne a été le centre principal pour domestication et culture de Labiatae (**Naghbi et al., 2005**).

Les genres les plus cités dans la littérature sont : *Salvia officinalis* (**Fellah et al., 2006**), *Mentha spicata* (**Choudhury et al., 2006**), *Origanum vulgare* (**Dimitrijevic et al., 2007**), *Rosmarinus officinalis* (**Gachkar et al., 2007 ; Marzouk et al., 2006**), *Ocimum basilicum* (**Lee et al., 2005**) ainsi que de nombreuses espèces du genre *Thymus* qui ont été abondamment étudiées de ce point de vue (**Rota et al., 2008 ; Bagamboula et al., 2004 ; Elhabazik et al., 2006 ; Ebrahimi et al., 2008**). Un très grand nombre de genre de la famille des Lamiacée sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes, iridiodes glycosylés et composés phénoliques (**Naghbi et al., 2005**).

Le genre *Thymus* représentant l'objectif de notre recherche regroupe plus de 250 espèces (**Miller et al., 2006**) largement distribuées dans l'aire méditerranéenne et utilisées comme antibactériens, anti inflammatoires et antioxydants dans la pharmacopée traditionnelle de la région (**Bouhdid et al., 2006 ; Ebrahimi et al., 2008**).

### **I.2.1.Genre Thymus :**

L'Afrique dispose d'une diversité importante de plantes médicinales, qui constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales, où plus de 80% de cette population s'en sert pour leurs besoins de santé (**Dibong et al., 2011**).

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti inflammatoire

et antioxydant (**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 plante herbacées en générale odorantes, à tige quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules. Fleurs pentamères en générale hermaphrodites. Calice à cinq divisions. Corolle en générale bilabée et longuement tubuleuse parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre, lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. Étamines quatre, la cinquième nulle ou très réduite, parfois deux étamines et deux staminodes. Ovaire super à carpelles originellement biovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison (**Quezel et santa 1963**).

Dans la famille des Lamiaceae, avec environ 220 genres, le genre *Thymus* est l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses (**Ramon, 2002**), ainsi de son importance du point de vue de l'activité biologique et des propriétés médicinales (**Hazzit et al., 2006**).

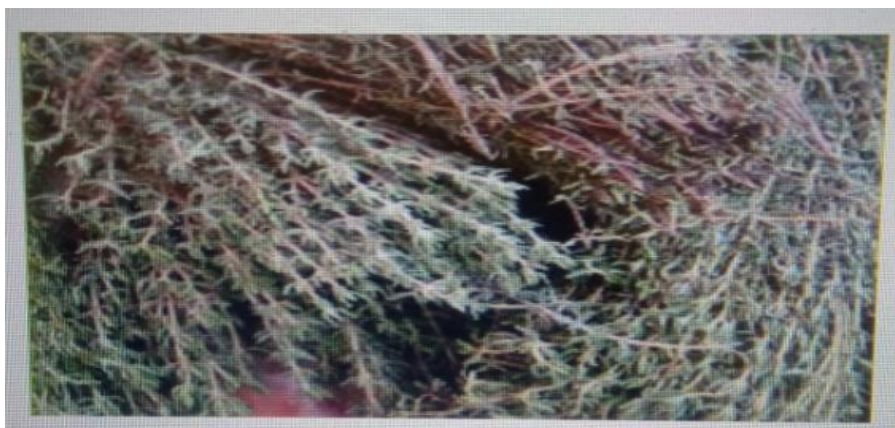
Le genre *Thymus* est l'un des genres les plus diversifiés de la famille des labiées (**Naghbi et al., 2005**). Ces plantes sont originaires des régions ensoleillées du bassin méditerranéen ou de climats tropicaux (**Hilan et al., 2011**).

### I.2.2. Nomenclature :

Les espèces du genre *Thymus* possèdent plusieurs nominations ; en Amazigh : Azukni, Tazuknite, en Arabe : Ziitra, zaatar (**Belmalha et al., 2015**), son nom dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**) ou thymos qui signifie force : plante aromatique et stimulante, il a d'autres noms vernaculaires arabe comme : djertil, hamria, hamzoucha, khieta et mazouqach (**Beloued A., 2001**).

### I.3. *Thymus fontaneseii* :

*Thymus fontaneseii* (*T. fontaneseii*) (**figure 01**) est une plante aromatique, répandue en Algérie et très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales. Le thym est l'un des plus importants genres en ce qui concerne le nombre d'espèces au sein de la famille des Lamiacées (**Alireza Ghannadia et al., 2004**). Le thymol représente le composant majoritaire de *T. fontaneseii*, suivie de terpinène, de p-cymène et de carvacrol (**Alireza Ghannadia et al., 2004**).



**Figure 01 :** Plante de *Thymus fontanesii*

### I.3.1. Les vertus médicinales :

Dans la médecine traditionnelle et populaire algérienne, *T. fontanesii* est utilisé comme antispasmodique, carminative, stomachique, expectorant, antitussif, antiseptique et remède, anthelminthique dans certains gastro-intestinal (Alireza Ghannadia et al., 2004).

### I.3.2. Description botanique de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut

Cette espèce est un sous arbrisseau à tiges dressés et robustes, à feuilles caulinaires ovales, lancéolées ou lancéolées-linéaires, planes, à marges non révolutes, obtuses, Feuilles caulinaires linéaires ou linéaires lancéolées. À marges révolutes, en général aigues au sommet Feuilles florales très différentes des autres, lancéolées linéaires longuement rétrécies en pointe aiguë, ciliées, au moins aussi longues que les fleurs; les caulinaires spatuliformes glabres, de 10 à 12 mm de long et à fleur blanche ou pale à peine plus longues que le calice (Hadouchi F., et al., 2009) la plante cueillie au mois de février est séchée à l'ombre et à température ambiante entre 10 et 15 jours. Seules les feuilles sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles (Hadouchi F., et al., 2009).

### I.3.3. Taxonomie :

**Tableau 01 :** Classification de *Thymus fontanesii* (USDA).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Maliophytes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asterdae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées/ Labiatae
Genre	Thymus
Espèce	<i>Thymus fontanesii</i>

**I.3.4.Habitat :**

Le thym pousse dans des endroits naturels, sols légers et calcaire, mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempés. Il nécessite des endroits bien ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur sols pauvres (maquis, rocaïlle de garrigue) que se développe le mieux son arôme. Dans les endroits de fortes gelées, une protection est recommandée durant l'hiver. Sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangée écartée d'environ 20 à 30 cm, sur sol léger et sablonneux (Goetz et Ghedira, 2012).

**I.3.5.Répartition géographique de la plante :****I.3.5.1.Dans le monde :**

Les thymus sont de petites plantes buissonnantes, érigées (thym commun) ou plus étalées (serpolet), typiques de la région méditerranéenne où ils poussent naturellement. Il est indigène de l'Europe du Sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (Ozcan et Chalchat, 2004, Amiot et al., 2005). On cultive le thym dans le monde entier, certaines variétés supportent le froid et l'humidité, d'autres la chaleur tropicale. Dans le sud de la France, le thym est aussi fréquemment appelé farigoule (de son nom occitan : farigola) (Herboristerie, 2017).

**I.3.5.2.En Algérie :**

Originaire du bassin méditerranéen, cet arbrisseau aux nombreux rameaux serrés est une espèce végétale rustique très répandue en Algérie (Lucchesi, 2005). Les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à Oranais (Yakhlef, 2010).

**Tableau 02 : Localisation des principales espèces du thym en Algérie :**

<b>Espèces</b>	<b>Découverte par</b>	<b>Localisation</b>	<b>Nom local</b>
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen	Auteure
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans Tell Est Algérie-Tunisie	Auteure
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	-

<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien. La grande et la petite Kabylie. De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois.	Tizaàtarte
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans les sous secteur des Hauts plateaux algérois, oranais et constantinois.	-
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois, oranais (Tiarat) et constantinois.	Zaàteur
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas Saharien et constantinois.	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois.	-
<i>Thymus algériensis</i>		Très commun dans le	

	Boiss et Reuter	secteur des Hauts Plateaux algérois et oranais.	Djertil Zaitra
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois.	Djertil

### I.3.6. Huile essentielle du thym :

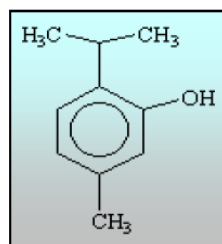
L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Rasooli et al., 2006 ; Naghdi et al., 2004). Les huiles essentielles de thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure.

La variabilité chimique des huiles essentielles de thym dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais, qui peuvent être aussi d'ordres génétique et saisonnier (stade végétale) (Loziene et al., 2007). Ainsi, une étude menée par Dob et al., (2006) sur les Thymus d'Afrique du Nord a montré que le composé majoritaire est le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

#### I.3.6.1. Thymol :

Le thymol est l'un des principaux phénols reconnus dans l'huile essentielle de quelques lamiacées comme le thym, l'origan et la sarriette dont le contenu peut atteindre jusqu'à 84% (Kaloustian et al., 2008). Le thymol a été découvert par Caspar Neumann en 1719 et épuré en 1853 par M. Lallemand qui lui a donné le nom « thymol » et lui a attribué la formule  $C_{20}H_{14}O_2$  formule qui aujourd'hui, correspond à  $C_{10}H_{14}O$  de la nouvelle notation.

Le thymol est un phénol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol) et est isomérique avec le carvacrol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol) (figure 02). Le thymol existe dans l'huile de thym et est lié à d'autres hydrocarbures d'une plus grande volatilité comme le p-cymène ( $C_{10}H_{14}$ ) et le thymène ( $C_{10}H_{16}$ ) (Pauli et Knobloch 1987).

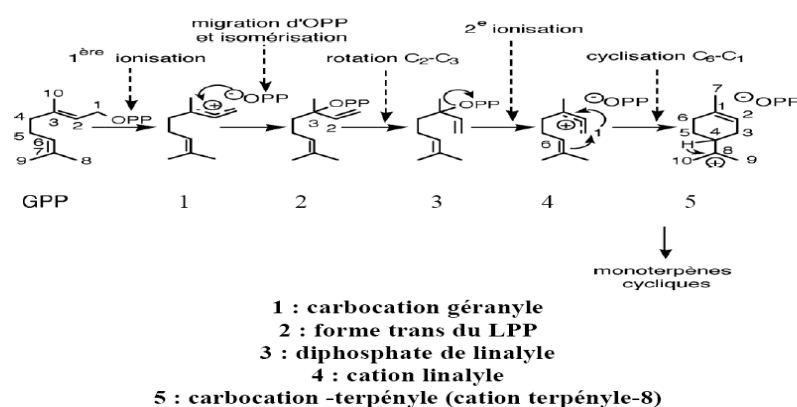


**Figure 02:** Formule structurale de thymol (Botelho et al., 2007).

Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antispasmodique, antimicrobienne, fongicide, insecticide, antioxydant, anti-cancérigène et anti-inflammatoire (Ipek et al., 2005 ; Szentandrassy et al., 2003).

### I.3.6.2. Biosynthèse du thymol :

Actuellement, le diphosphate de géranyle (GPP) est considéré comme le précurseur physiologique universel des monoterpènes et son isomérisation s'impose avant la cyclisation. Cette dernière passe par l'intermédiaire de son isomère allylique tertiaire, le diphosphate de linalyle (LPP). Il a été récemment établi que le LPP se lie effectivement à l'enzyme pendant les processus de cyclisation. Les monoterpènes cycliques dérivent d'un même mécanisme réactionnel électrophile (**figure 03**). Il s'agit d'un cation terpényle-8, véritable plaque tournante dans la biogénèse des mono-terpènes cycliques. En effet, on peut concevoir facilement qu'il soit à l'origine du limonène, du terpinolène et de l' $\alpha$ -terpinéol (**Figure 03**). Il peut également donner le cation terpényle-4, précurseur immédiat commun de l' $\alpha$ -et du  $\gamma$ terpinène ainsi que du terpinène-4-ol (Lamarti et al., 1994).



**Figure03:** Mécanisme réactionnel d'ionisation-cyclisation du diphosphate de géranyle via le diphosphate de linalyle (Lamarti et al., 1994).

Certains mono-terpènes monocycliques tels, le limonène, le terpinolène, l' $\alpha$ -terpinène, etc..., présentent une structure chimique apparentée et peuvent être métaboliquement interconvertis. Ainsi, **Koba et al., (2004)** ont montré que le terpinène-4-ol peut donner l' $\alpha$ - ou le  $\gamma$ -terpinène par simple déshydrogénation. Par la même réaction, le  $\gamma$ -terpinène peut donner le p-cymène, précurseur immédiat commun de thymol et de son isomère, le carvacol. En effet, **Lamarti et al., (1994)** ont rapporté que les mono-terpènes cyclases produisent à partir du GPP une variété de mono-terpènes cycliques. Les réactions catalysées par ces enzymes sont régi-spécifiques et exigent des ions bivalents afin de neutraliser la charge négative du groupement diphosphate et d'aider ainsi à l'ionisation du GPP.

### **I.3.6.3.Extraction de thymol :**

Le thymol, isolé par cristallisation sous l'action du froid ou par traitement de l'huile essentielle de thym avec une solution de soude caustique, provoque l'élimination des hydrocarbures formant la couche de verseur et, la solution inférieure contenant le thymolate de sodium ( $C_{10}H_{23}ONa$ ) est neutralisée avec l'acide chlorhydrique. Le thymol vient surnager à la surface de liqueur et est recueilli par décantation ou en utilisant un dissolvant approprié suivie d'une recristallisation alcoolique (**Pauli et Knobloch 1987**).

### **I.3.7. Usage de la plante**

Le thym est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires (**Haddouche, 2011**). Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (**Hans, 2007**).

Il entre aussi dans la composition de produits cosmétiques. Son huile essentielle riche en thymol est couramment utilisée pour la confection de savons et d'autres produits (**Saidj et al., 2008**).

#### **I.3.7.1.Utilisation de *Thymus fontanessii* Boiss et Reut**

##### **I.3.7.1.1.Utilisation thérapeutique :**

D'après **Mohammedi et al., 2006**, la phytothérapie est basée sur l'utilisation des produits végétaux pour le traitement des maladies humaines. Dans ces objectifs une étude a été menée pour évaluer l'effet antifongique des HEs de *Thymus fontanessii* sur une souche fongique *Aspergillus Niger*.

Le thym est une plante qui a une longue tradition. Il est utilisé principalement dans le domaine médical pour ses propriétés antiseptique, antispasmodique et antitussive (**Kabouche et al., 2005**). Il est par conséquent indiqué en cas d'infection respiratoires telles que la bronchite, la grippe, la toux et les maux de gorge ; dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation (**Ghannadi et al., 2004**). Et comme additif de bain préparé par décoction pour stimuler l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse (**Özcan et Chlchat, 2004**).

#### **I.3.7.1.2. Utilisation culinaire :**

L'épice de thym est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, des potages et des légumes (**Özcan et Chlchat, 2004**). Le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**).

*Chapitre II*

*Généralités sur Les*  
*huiles essentielles*

**II.1.Définition :**

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (**Lahlou, 2004**).

Une huile essentielle selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux.

Selon l'AFNOR, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation sèche. (**Florence, 2012**).

**II.2.Répartition botanique :**

Selon les botanistes, il existe au monde 800 000 à 1500 000 espèces végétales dont 10% seulement sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles appartiennent presque exclusivement à l'embranchement des Spermaphytes. Les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles telles que les : Lamiacées (Labiées), Pinacées (Conifères), Rutacées, Myrtacées, Poacées, Apiacées (Ombellifères), Lauracées, Astéracées(Composées), Pipéracées et Cupressacées.(**Benazzeddine, 2010**).

**II.3.Localisation et lieu de synthèse :**

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques. Fleurs : oranger, rose, lavande, bouton floral (girofle) ; Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge ; Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus ; Tiges : citronnelles, Rhizomes et racines : gingembre, vétiver, iris ; Graines : noix de muscade, coriandre ; Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose (**Teixeira et al., 2013**).

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans, des cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiacidae* ou *Asteraceae*) (**Bruneton, 1999**).

**II.4. Propriétés physico-chimique :**

Les huiles essentielles sont constituées de molécule aromatique de très faible masse moléculaire (**degryse et al., 2008**). Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles.

Entrainables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (on parle d'eau aromatique), (**Bruneton, 2008 ; Baser et Buchbauer, 2010**).

**II.5. Le rôle des huiles essentielles :**

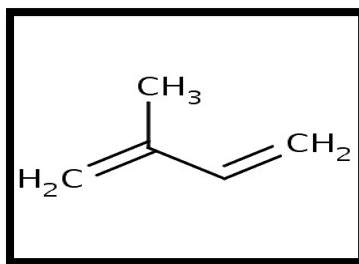
Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques qui est importante pour attirer les insectes pollinisateurs de graines. En plus, les huiles essentielles jouent un rôle défensif contre les prédateurs et les maladies (**De Sousa, 2015**). Ce rôle est lié à leur activité antibactérienne, antifongique et antiviral assurant alors une protection des plantes (**Bakkali et al., 2008**).

**II.6. Composition chimique :**

Les HEs sont des mélanges des structures extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composants différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les mono terpènes et les sesquiterpènes (**Benayache, 2013**).

**II.6.1. les terpènes :**

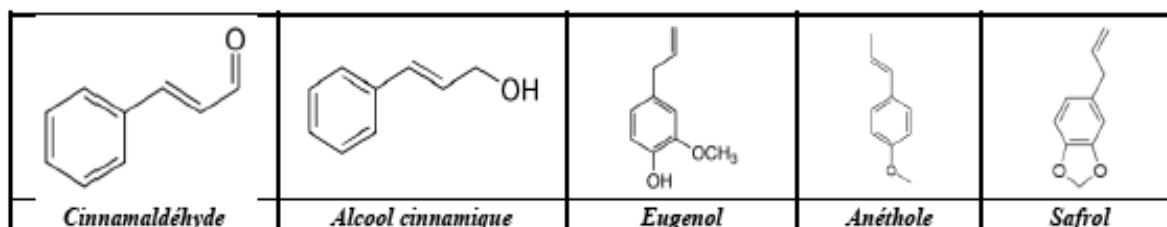
Sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence de dans leur squelette d'unité isopréniques à 5 atomes carbone ( $(C_5H_8)_n$ ) (**figure 04**). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes ( $(C_5H_8)_2$ ), les sesquiterpènes ( $(C_5H_8)_3$ ), les diterpènes ( $(C_5H_8)_4$ ), les tétras terpènes ( $(C_5H_8)_8$ ), les poly terpènes ( $(C_5H_8)_n$ ) où n peut être de 9 à 30 (**Bessedik et Bahri, 2018**).



**Figure 04:** Structure chimique d'isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) n (Bilal, 2016).

### II.6.2. Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénoïl, l'anéthol, l'estragol, et bien d'autre (Bruneton, 1999) (figure 05).



**Figure 05 :** Exemples de composés aromatiques C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

### II.6.3. Les composés d'origines divers :

Il existe nombre non négligeable de produits résultants de la transformation de molécules non volatiles issues de la dégradation des terpènes non volatiles qui proviennent de l'auto-oxydation (Piochon, 2008).

### II.6.4. Notion de chémotype :

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'huile essentielle. Cet élément permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

**II.7. Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles :**

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient d'une espèce à une autre. Cette variabilité peut être liée à des facteurs extrinsèques et intrinsèques.

**II.7.1. Facteurs intrinsèques :**

Une huile essentielle doit avant être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal, L'influence du stade végétatif, l'organe de la plante et le polymorphisme chimique « chimio types ou formes physiologiques » sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (Aissani, 2015).

**II.7.2. Facteurs extrinsèques :**

Il s'agit de l'indice des facteurs de l'environnement et des pratiques culturelles. La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (ex : poils sécréteurs des lamiaceae). Lorsque la localisation est plus profonde la qualité est beaucoup plus constante (Jean, 2009).

**II.8. Domaine d'application :**

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi, les différentes utilisations possibles et leur coût de production (Fillatre, 2011).

**II.8.1. Parfums et cosmétique :**

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (Aburjai et Natsheh, 2003).

**II.8.2. santé : pharmacie et aromathérapie :**

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base

de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapeutiques. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Bruneton, 1999**).

De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (**Edris, 2007**).

De nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique étant donné la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau (principalement due aux terpènes). Ces produits sont généralement destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (**Edris, 2007**).

### **II.8.3. Agro-alimentaire :**

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita et Koike, 1982**).

### **II.8.4. Agriculture :**

Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Dayan et al., 2009**).

### **II.9. Toxicité des huiles essentielles :**

Les substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances synthétiques. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (**Beidjord, 2015**).

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent irriter les muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthme pour les asthmatiques (comme par exemple les sprays désodorisants) (**Beidjord, 2015**).

La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles

se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière. En effet la combustion de bâtons d'encens et de bougies parfumées ou seulement l'évaporation à chaud d'huile essentielle peut libérer des substances de combustion, des poussières fines, du formaldéhyde et d'autres substances volatiles qui peuvent affecter les voies respiratoires (**Beidjord, 2015**).

### **II.10.Méthode d'extraction des huiles essentielles :**

En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Hellal, 2011**).

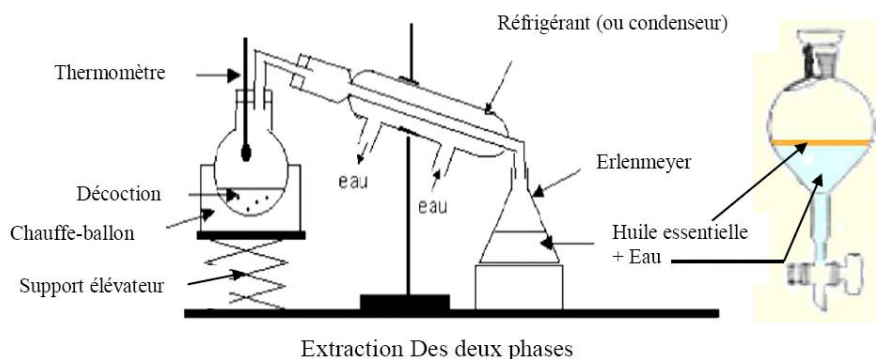
#### **II.10.1.Distillation**

La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est la plus ancienne et également la plus utilisée. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (**Franchomme et al., 1990**). Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion (**Piochon, 2008**).

##### **II.10.1.1.hydro distillation :**

L'hydro distillation (water distillation) est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée (**figure 06**).

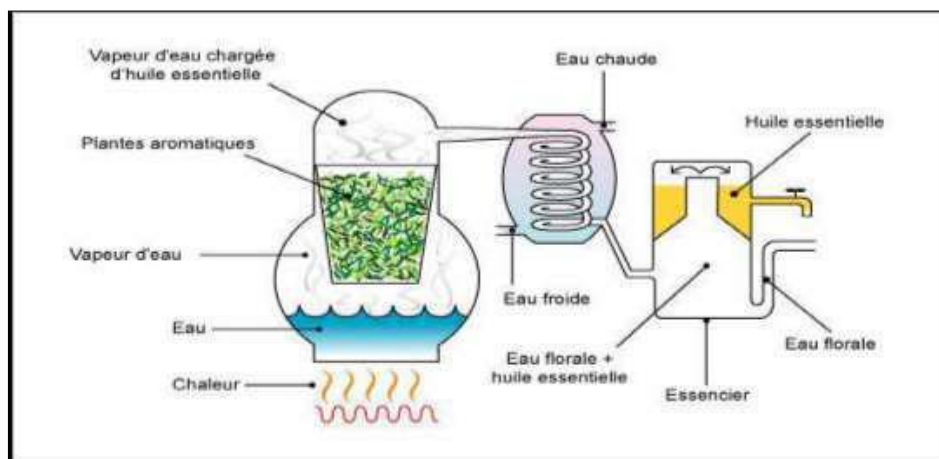
Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple Différence de densité. Cependant, l'hydro distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Bruneton, 1999 ; Lucchesi, 2005**).



**Figure 06 :** Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile (Lagunez, 2006).

### II.10.1.2.Extraction par entrainement à la vapeur d'eau :

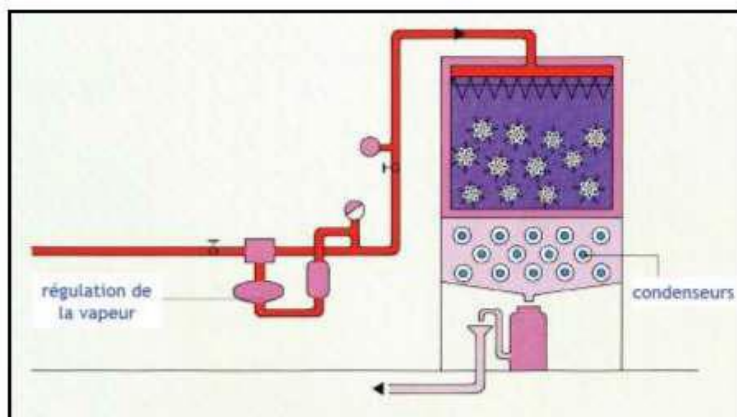
A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique'' l'huile essentielle''. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005) (figure 07).



**Figure 07 :** Montage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau (Bilal, 2016).

### II.10.1.3.L'hydrodiffusion :

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de la vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant (Bassereau, 2007) (figure 08).



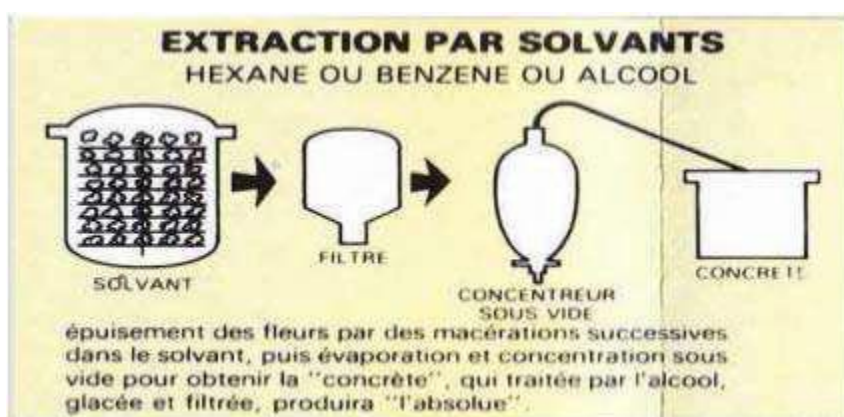
**Figure 08:** Montage d'extraction par hydrodiffusion (Bilal, 2016).

#### II.10.1.4.Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes. Le principe de ce traitement mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices en essences. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau puis est isolée par décantation (Roux, 2008).

#### II.10.1.5.Extraction par solvant :

Cette technique consiste à la mise en contact dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter (figure 09). Grâce à des lavages successifs, le solvant va dissoudre et extraire les constituants solubles contenus dans la plante avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue» (Lamamra, 2018).



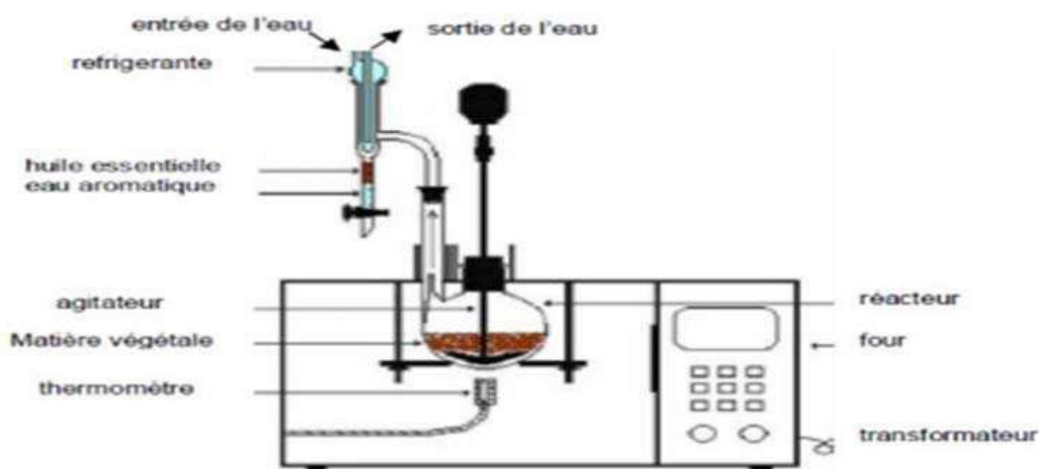
**Figure 09:** Technique d'extraction par solvant (Bilal, 2016).

### II.10.1.6. Enfleurage :

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les HEs sont séparés (Moro-Buronzo, 2008).

### II.10.1.7. L'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 (figure 10). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les microondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait (Lamamra, 2018).

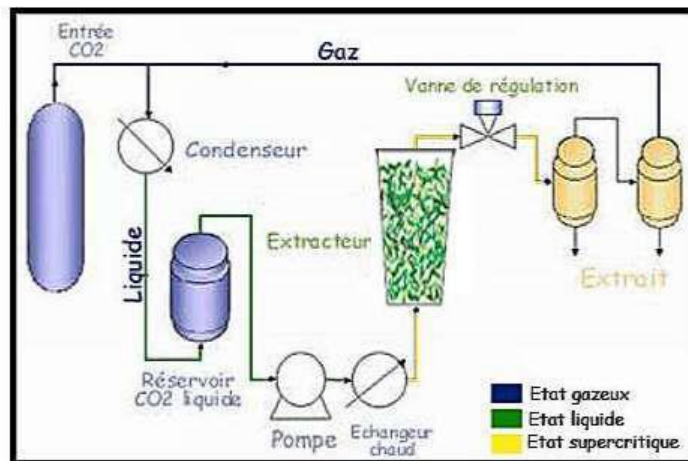


**Figure 10:** Principe schématisé de l'appareillage d'Hydrodistillation sous micro-ondes (Lamamra, 2018).

### II.10.1.8. Extraction par les fluides supercritiques :

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé, il s'agit de CO<sub>2</sub> supercritique. L'état supercritique (à T=310C et P=73 bars), le CO<sub>2</sub> possède un bon pouvoir d'extraction (figure 11). C'est pourquoi cette technique est recommandée pour l'extraction des essences naturelles, car elle permet de travailler à des températures basses afin de ne pas altérer l'huile essentielle (De Souza, 2008). Dans

ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente (**Lagunez Rivera, 2006**).



**Figure 11:** Montage d'extraction par les fluides supercritiques (**Bilal, 2016**).

### II.11.Méthode d'analyse des huiles essentielles :

Les huiles essentielles présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activités tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante (**Cavalli, 2002**).

#### II.11.1.Chromatographie en phase gazeuse(CPG) :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode analytique chromatographique efficace, qui fournit d'excellentes séparations de mélanges quelque peu complexes dans un laps de temps raisonnable. Son principal inconvénient est qu'elle ne convient pas à tous les mélanges, car l'analyse dépend toujours de la volatilité et de la stabilité thermique des molécules étudiées. Cependant, la CPG est l'outil de choix pour l'étude et le contrôle de la qualité des constituants volatils d'un mélange complexe. D'autre part, la CPG permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. C'est une technique d'analyse quantitative qui fournit d'une part, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé et qualitative sur la base des temps de rétention d'autre part (**Staniszewska et Kula, 2001**).

Pour une colonne donnée, chaque constituant est caractérisé par des temps de rétention ou des indices calculés à partir d'une gamme d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indices de Kováts) ou en programmation de température (indices de rétention). Ces derniers demeurent constants dans la mesure où la programmation de température reste identique ; ils sont calculés sur colonne polaire (Irp) et apolaire (Ira) et sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans une bibliothèque de référence propre au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales ou encore reportés dans la littérature (Breitmaier, 2006).

### II.11.2.Spectrométrie de masse(SM) :

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des composés.

Il existe de nombreux types de cet appareil, tous ont en commun trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur.

La source est la partie où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. Elle doit être maintenue à température élevée (généralement comprise entre 100 et 250°C) pour éviter la condensation des substances.

La technique d'ionisation principalement utilisée dans l'analyse des huiles essentielles est l'ionisation électronique (IE) qui permet d'obtenir des spectres de masses caractéristiques de la molécule avec un nombre important de fragments. L'ionisation chimique (IC), technique d'ionisation plus douce et complémentaire de l'IE, est également employée pour accéder à d'autres informations spectrales, notamment l'observation du pic moléculaire parfois absent des spectres obtenus en IE. Les ions produits sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil.

Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle », le « piège à ion » ou la « trappe ionique ». L'analyseur a pour rôle de séparer les ions produits par la source en fonction de leur rapport « masse/charge ».Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable (Abdelli,2017).

### II.11.3.couplage Chromatographie phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM) :

Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence.

Lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on déclenche un processus à plusieurs étages :

- **Ionisation** : les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet vide et de la haute température (200°C), il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de l'échantillon de départ.
- **Accélération** : les ions formés sont dirigés vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leurs énergies cinétiques.
- **Séparation** : les ions seront distribués suivant le rapport masse/charge.
- **Détection** : après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.
- **Traitement du signal** : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports : masse/charge.

L'appareillage CPG/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondants à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par CPG (Laib, 2011).

*Chapitre III*

*Activités biologiques*

**III-1-Activité antioxydante :**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à tout le contenu phénol (**Yanishlieva et al., 1999**).

**III-1-1-Le stress oxydatif :**

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. (**Beaudeau et Durand, 2011**).

La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. (**Belaïch et Boujraf, 2016**).

**III-1-2-Les radicaux libres :**

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (**Vansant, 2004**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**). L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

En raison de l'implication des radicaux libres dans diverses pathologies, les recherches de nouvelles molécules pouvant pallier un déficit du système de protection naturelle antiradicalaire sont largement intensifiées (**Novelli, 1997**).

Depuis quelques années, les chimistes développent des analogues d'antioxydants naturels en les modifiant chimiquement afin d'augmenter leurs propriétés de piégeage des radicaux libres. Ils s'intéressent à la mise au point de pièges plus spécifiques basés sur la réactivité particulière de certains groupements chimiques vis-à-vis des espèces radicalaires (**Novelli, 1997**).

**III-1-3-Les antioxydants :**

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation. **(Guillouty, 2016).**

**III-2-Activité insecticide :**

Les denrées stockées peuvent être attaquées par les insectes, les champignons et les Rongeurs. Les dégâts causés par les insectes sont les plus importants, ils peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés. D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale **(Bounechada et Arab, 2011)**. L'utilisation d'insecticides ou fumigènes de synthèse est l'une des méthodes de lutte efficace contre ces ravageurs **(Haubruge et al., 1988)**. Mais la présence dans les denrées de résidus et l'apparition de souches d'insectes résistants à ces insecticides deviennent de plus en plus préoccupants. Il importe donc de rechercher des méthodes alternatives de lutte et le règne végétal offre à cet effet beaucoup de possibilités. De nombreuses études se développent actuellement pour isoler ou identifier des substances secondaires extraites de plantes qui ont une activité insecticide répulsive ou antiappétante vis-à-vis des insectes **(Lichtenstein, 1966)**. De plus, des produits issus de plusieurs espèces Florales ont des effets répulsifs, contre un certain nombre d'insectes Coléoptères qui attaque les produits entreposés **(Hashem et al., 2012)**. De même, les extraits de plantes sollicitent simultanément plusieurs mécanismes physiologiques (par opposition à des pesticides n'ayant qu'une seule cible moléculaire), ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes d'insectes. Ainsi, des populations du puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* (Sulz.), traitées avec des extraits purifiés de neem ont développé 9 fois leur niveau initial de résistance en 40 générations, alors que des populations traitées avec des mélanges bruts n'avaient pas développé de

résistance (**Feng et Isman, 1995**). Cependant, les mécanismes d'action des propriétés pesticides des HEs sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (**Isman, 2000**). On considère que ces mécanismes sont uniques et que les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs aux pesticides (**Chiasson et Beloin, 2007**).

# *Partie expérimentale*

# *Chapitre IV*

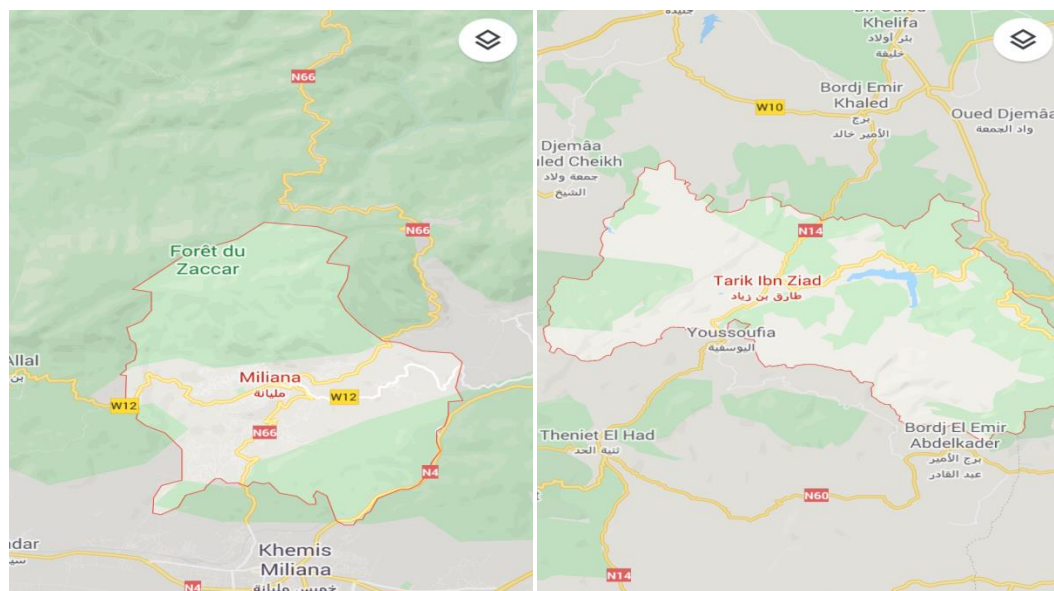
## *Matériel et méthodes*

**L'objectif de travail :**

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence un éventuel effet antioxydant et insecticide d'huile essentielle extraite à partir de l'espèce *Thymus fontanessii*.

**IV.1. Matériel végétal :****IV.1.1. Récolte :**

Les parties aériennes de *T. fontanessii* ont été collectées pendant la période de floraison de deux régions différentes Miliana (M, latitude: N36 ° 17 ' ; longitude: W2 ° 13'; altitude: 723 m) et Tarik Ibn Ziad (TIZ, latitude: N36 ° 00 ' ; longitude: W2 ° 09'; altitude: 630 m) situé dans Nord de l'Algérie (**figure 12**). Des spécimens de référence ont été déposés dans l'herbier du Département d'Agronomie de l'Université Khemis Miliana (TM et TTIZ, respectivement) (**Sidali et al., 2018**).



**Figure 12 :** Carte géographique de la région d'Ain Dafla (Miliana et Tarik ibn ziad) montrant la station de récolte de *Thymus fontanessii* prise par GPS.

**IV.1.2. Détermination de la matière sèche :**

La détermination de la matière sèche, dans nos échantillons, a été déterminée par le procédé de dessiccation à une température de 105°±2 C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique pendant 24h. Nous avons pris 02 g de thym (**Linden et Lorient, 1994**).

$$MS\% = (Pds\ Sec / Pds\ Frais) \times 100$$

Pds Frais : poids de matériel végétal sécher à l'air libre.

Pds Sec : poids du matériel végétal après déshydratation.

MS % : Matière sèche.

## IV.2. Les huiles essentielles :

### IV.2.1. Extraction d'huile essentielle :

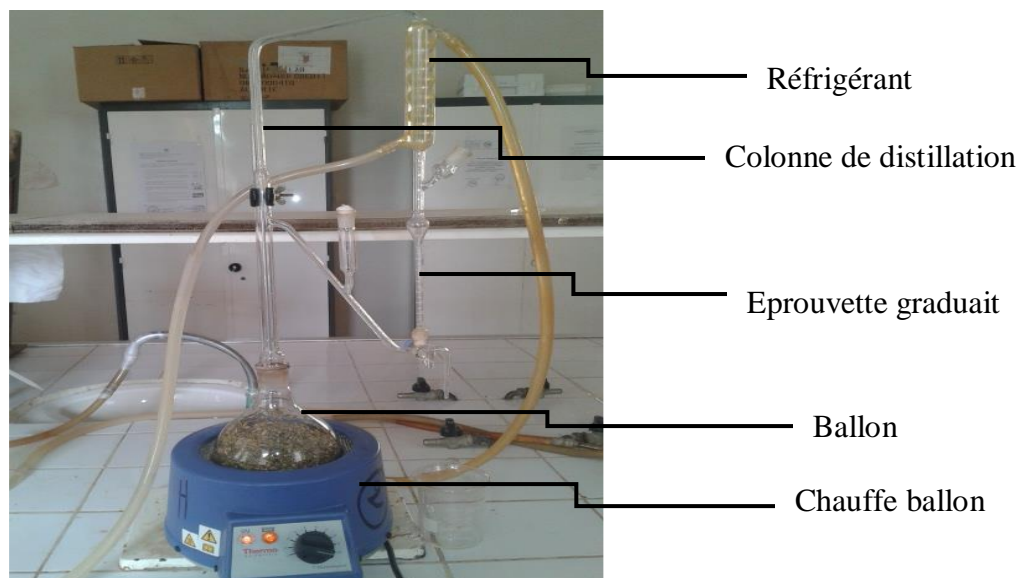
L'extraction est faite par hydrodistillation.

#### IV.2.1.1. Principe :

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer (**Rivera, 2006**).

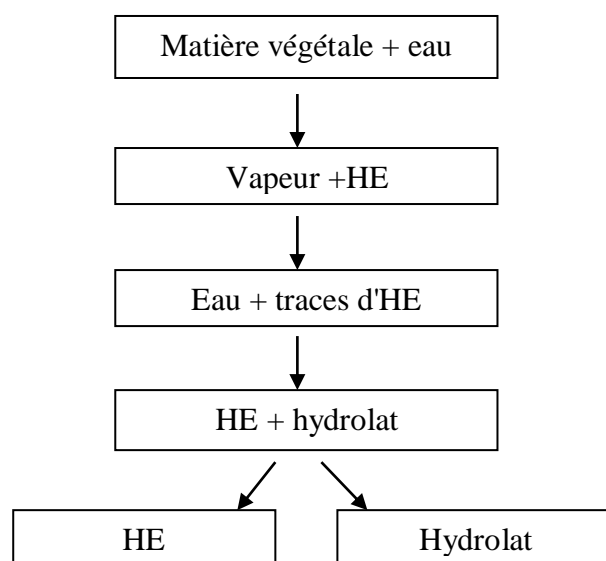
#### IV.2.1.2. Mode opératoire :

Dans chaque échantillon on prend de 50 g de thym été séchées, soumises avec 500 ml d'eau distillée dans le ballon de Hydrodistillateur (**figure 13**) à température d'ébullition 100°C. Lorsque l'ébullition de l'eau commence on baisse la température pour que les cellules du thym prennent le temps pour éclater et ainsi la sortie d'essence aromatique. L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtrée, et récupérée. Une fois que les HEs obtenues, elles sont conservées dans un flacon en verre à température comprise entre 4°C pour éviter toute dégradation des HEs due à l'action de l'air et de la lumière (**Boukerrouche, 2018**).



**figure13:**Hydrodistillateur (**Guernoug, 2017**).

Le plan d'extraction d'HE est illustré comme montre la **figure 14** :



**Figure14** : Les étapes d'extraction d'HE (**Boukerrouche, 2018**).

#### IV.2.2.Calcul de rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

Selon la norme **AFNOR** (1986), le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (MHE) et la masse de la matière végétale utilisée (MS). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \text{MHE}/\text{MS} \times 100.$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

MHE : Masse d'huile essentielle en gramme.

MS : Masse de la plante en gramme (**Guernoug, 2017**).

#### IV.2.3.Méthode d'analyse des huiles essentielles :

L'analyse et l'identification de la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce étudiée sont été effectuée par des techniques chromatographiques. La chromatographie en phase gazeuse (CPG), nous a permis de séparer et de quantifier les composés.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS) nous a permis quant à elle, à l'aide des banques de données spectrales, de déterminer les composés.

#### **IV.2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse :**

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ont été effectuées à l'aide d'un Appareil Perkin Elmer Clarus 600 CPG (Walton, MA, USA) équipé d'un seul injecteur et de deux flammes d'ionisation les détecteurs (FID). L'appareil a été utilisé pour des échantillonnages de 2 colonnes capillaires en silice fondue (60 m × 0,22 mm, épaisseur du film 0,25 µm) avec différentes phases stationnaires : Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-Wax (polyéthylène glycol). La température a été programmée de 60 à 230°C à 2°C min<sup>-1</sup> puis maintenue isotherme à 230°C (30 minutes). Le gaz vecteur était hydrogène (0,7 ml min<sup>-1</sup>). Températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 280°C. L'injection fractionnée a été effectuée avec un rapport de 1,80. Le volume injecté était de 0,1 µL (**Benyoucef et al., 2018**).

#### **IV.2.3.2. Chromatographie en phase gazeuse-Spectrométrie de masse (CPG/MS) :**

Les huiles et les fractions obtenues par CPG ont été étudiées en utilisant un analyseur quadripolaire Perkin Elmer Turbo Mass, directement couplé à un Perkin Elmer Auto system XL équipé avec 2 colonnes capillaires en silice fondue (60 m × 0,22 mm, film épaisseur 0,25 µm), Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-Cire (polyéthylène glycol). Les autres conditions de la GC étaient les suivantes comme décrit ci-dessus. La température de la source d'ions était de 150°C et l'ionisation de l'énergie 70 eV ; spectres de masse de l'ionisation des électrons ont été acquises avec une gamme de masse de 35-350 Da et une masse de balayage de 1 s. Le volume de l'huile injecté était de 0,1 µL et la fraction injectée. Le volume était de 0,2 µL (**Benyoucef et al., 2018**).

### **IV.3. Activité antioxydante :**

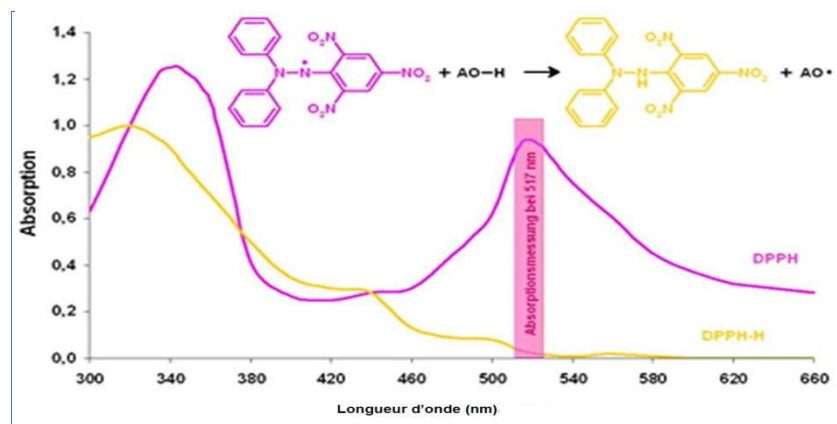
#### **IV.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :**

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, et qui vire au jaune (**figure 15**), en présence des capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine. La cinétique de décoloration est suivie à 517nm.

Pour les huiles essentielles le protocole suivi est celui décrite par **Meghri et al., 2010** **Goudjil et al., 2015** avec quelques modifications, l'huile essentielle a été diluée dans le méthanol, puis 1 ml de l'huile à différentes concentrations est mélangée avec 1ml de solution méthanoïque de DPPH à 0.004% dans le méthanol. Parallèlement le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de solution de DPPH. Le blanc est représenté par le méthanol. Le contrôle positif est représenté par la solution d'acide ascorbique préparé à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Le test est répété trois fois pour chaque échantillon. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$\% I = \left[ \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}})}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres a été déterminée graphiquement à partir de l'équation de la régression linéaire.



**Figure15 :** Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante.

Les concentrations des huiles essentielles entre 6.8 et 68 mg/ml, alors que celles de l'antioxydant standard sont entre 0.05 et 0.1mg/ml (5 et 100µg/ml).

**IV.3.2. Test de FRAP :**

La capacité des huiles essentielles et des extraits de réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_2$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a été déterminée selon le protocole décrit par **Oyaizu (1986)**. Cette réaction est révélée par le virage de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert de fer ferreux. Pour ce faire, un volume de 1 ml de chacune des solutions éthanoïques d'huile essentielle préparées à différentes concentrations, est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferrocyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min puis, refroidi à température ambiante avant d'ajouter 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min. Puis, 2.5 ml de surnageant est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution aqueuse de trichlorure de fer  $\text{FeCl}_3$  à 0.1%. La mesure de l'absorbance du milieu réactionnel se fait 10 min après incubation à 700 nm par spectrophotomètre JENWAY 7305 UV-Visible contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'échantillon d'huile essentielle par de l'eau distillée. Une solution d'acide ascorbique préparée à différentes concentrations et dans les mêmes conditions est utilisée comme contrôle positif.

**IV.4. Activité insecticide :**

Les tests de toxicité du *Thymus fontanesii* sur *Callosobruchus maculatus* (**figure 16**) sont effectués selon deux modes de pénétration, une pénétration par contact et l'autre par inhalation.

Les doses utilisées ont été fixées après la réalisation de plusieurs essais préliminaires pour se fixer sur la meilleure gamme de dose à utiliser (**tableau 03**).

**Tableau 03:** Doses utilisées dans le test de contact pour l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*.

Dose	D1	D2	D3	D4
$\mu\text{L} / \text{ml}$	2	4	8	16

Les solutions à différentes doses ont été préparées avec une solution d'acétone.

L'acétone assure une solubilité complète et rapide de l'huile essentielle qui nous procure des solutions homogènes et une bonne répartition de notre huile essentielle.

L'utilisation de l'acétone est préconisée car ce dernier s'évapore rapidement et sans laisser de résidus. (Belgaid et Rahmani, 2018).



(a)

(b)

**Figure 16** : Adulte femelle (a) et mâle (b) de *Callosobruchus maculatus* vue dorsale sou loupe binoculaire x10 (Belgaid et Rahmani, 2018).

#### IV.4.1. Evaluation de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* par effet contact :

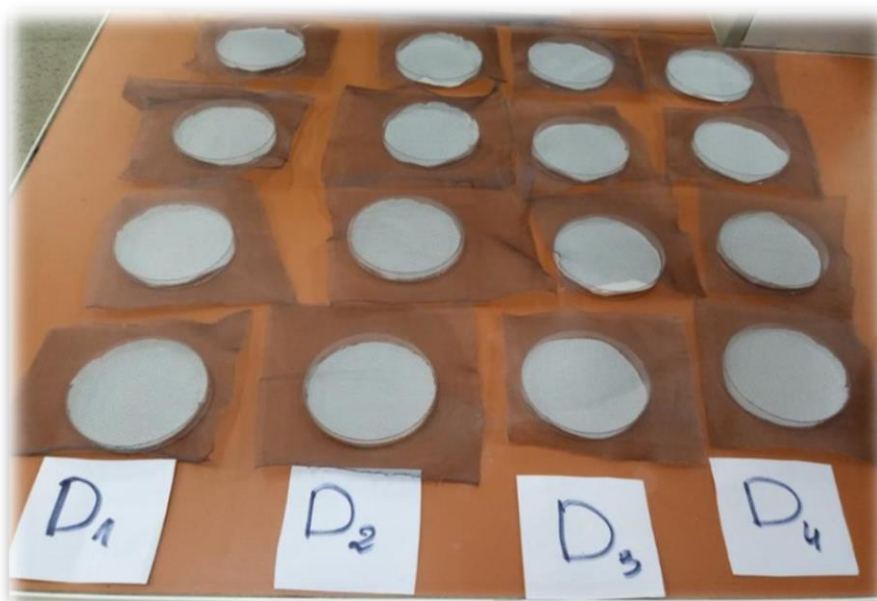
Après préparation des doses, chaque solution a été répandue uniformément sur un disque de papier filtre de type wattman préalablement placés dans les boites de pétri de même diamètre.

Après évaporation du solvant de dilution, un lot de 10 insectes adultes *Callosobruchus maculatus* d'une population homogène ont été introduit dans les boites de pétri avec une quantité de 5g de pois chiche. Ces boites ont été fermées par une moustiquaire à fines mailles soutenus par un élastique pour éviter la fuite des insectes.

Ces boites de pétri sont déposées par la suite dans une étuve réglée à une température de 27°C et une humidité relative de 70%.

Nous avons réalisé 4 répétitions pour les 4 doses de l'huile essentielle de thym testé, et de même pour le témoin non traité par l'huile essentielle (Figure 17).

Un comptage des insectes morts est réalisé après 24 heures de ce traitement (Belgaid et Rahmani, 2018).



**Figure 17:** Dispositif expérimental des essais par contact de l'huile de thym.

#### **IV.4.2. Evaluation de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* par effet d'inhalation :**

Pour estimer l'effet bio pesticide de l'huile essentielle, cette dernière a été administrée par saturation de leur environnement (par inhalation). Ainsi, nous avons choisi de faire un teste à dose fixe de  $8\mu\text{l/ml}$  d'acétone et de temps d'exposition variable (24h, 48h, 72h). L'huile a été pulvérisée sur du coton ensuite déposée sur la face interne des couvercles de 4 piluliers en plastique qui sont maintenus fermés pendant 10min avant le dépôt des insectes pour saturer le milieu. Après 10 individus (5 mâles et 5 femelles) nouvellement exuvies sont placés à l'intérieur des piluliers avec 5g de pois chiche. Pour le témoin, on a introduit également 10 individus du *Callosobruchus maculatus* et 5g de pois chiche dans des piluliers non traités à l'huile essentielle. L'ensemble des piluliers sont hermétiquement fermés (**Figure 18**). Un comptage des insectes morts est réalisé après 24 heures pendant 3 jours (**Belgaid et Rahmani, 2018**).



**Figure 18:** Dispositif expérimentale adopté pour le test d'inhalation.

#### IV.4.3. Exploitation des résultats :

##### IV.4.3.1. Correction de mortalité :

L'efficacité de cette huile essentielle est évaluée par la mortalité. Les résultats des tests effectués ne représentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile mais il y a aussi la mortalité naturelle. Cette mortalité est corrigée par le biais de la formule de SHNEIDER-ORELLI.

$$MC (\%) = \frac{MT - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

MC %: pourcentage de mortalité corrigée.

Mt : pourcentage de population de témoins obtenus.

MT : pourcentage obtenus dans la population traitée (**Belgaid et Rahmani, 2018**).

##### IV.4.3.1.1. Calcul des doses et des temps létaux :

Les valeurs des temps létaux et des doses létales sont déduites à partir des tracés des droites de régression dans les courbes de l'évolution proportionnelle des probits en fonction du log des doses (**Finney, 1971**).

**❖ Détermination des doses létales  $DL_{50}$  et  $DL_{90}$** 

Pour estimer l'efficacité de notre huile essentielle, on a procédé au calcul des  $DL_{50}$  et des  $DL_{90}$  qui représentent les concentrations entraînant la mortalité respectivement de 50% et 90% d'individus d'un même lot.

**❖ Détermination des temps létaux  $TL_{50}$  et  $TL_{90}$** 

Les temps létaux 50 et 90 représentent les temps au bout des quels on observe respectivement une mortalité de 50% et 90% de la population traitée sous l'effet entraîné par la toxine a une concentration bien déterminée. Les  $TL_{50}$  et  $TL_{90}$  sont fixés par les droites de régression des tests d'inhalation (**Belgaid et Rahmani, 2018**).

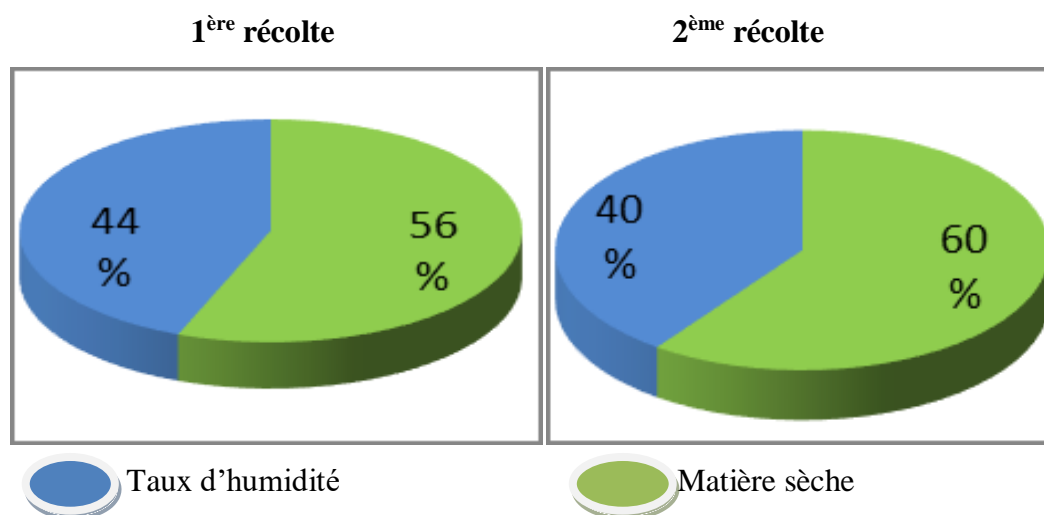
*Chapitre V*

*Résultats et discussion*

## V.1. Matériel végétal :

### V.1.1. Détermination de taux de matière sèche :

Les plantes sont riches en eau, les analyses de nos échantillons de *T. fontanesii* de 1<sup>ère</sup> récolte ont révélé un taux moyenne de MS 56% qu'est varié entre 49% et 60% et dans la 2<sup>ème</sup> récolte les échantillons de *T. fontanesii* ont révélé un taux moyenne de MS est 60% qu'est varié entre 47% et 75% (Guernoug, 2017) (figure 19).



**Figure 19:** Teneur de MS et de l'humidité de *T. fontanesii* (Guernoug, 2017).

La 1<sup>ère</sup> récolte présentait un taux faible de MS de thym « 56% » pour le *T. fontanesii* est dû à quelques facteurs climatiques tels que le taux d'humidité relative de l'air élevé (59%) avec une température de 22°C.

Par contre, dans la 2<sup>ème</sup> récolte, la MS est élevée « 60% » respectivement pour le *T. fontanesii* et à cause d'un taux d'humidité faible (42%) avec une température de 28.1°C.

## V.2. Huiles essentielles :

### V.2.1. Les caractères organoleptiques et les rendements des l'HE:

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *T. fontanesii* Boiss et Reut obtenus par hydrodistillation ; infusion et macération avec le rendement sont présentés dans le **tableau 04**.

**Tableau 04 :** les caractéristiques organoleptiques et le rendement des HEs :

Extrait	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement %
HE	Liquide huileux	Jaune	Aromatique acre	3.125

Le rendement en l'extrait huileux (3.125%). Ceci peut s'expliquer par le fait que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires ce qui facilite l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (**Boukerrouche, 2018**).

### V.2.2. Composition chimique de *Thymus fontanesii* :

Les résultats de la caractérisation du sont rassemblés dans le **tableau 5**. Vingt-six et vingt-quatre composés ont été identifiés dans l'HE de *T. fontanesii* à partir de TIZ extrait par l'EMI et la HD, représentant 99,8% et 95,6% de l'huile essentielle. Des quantités plus élevées de monoterpènes oxygénés ont été présentées dans l'HE de *T. fontanesii* isolé par chauffage EMI (67,6%) par rapport au HD (59,6%). Alors que les hydrocarbures mono terpéniques étaient présentés dans des proportions élevées en HD (35,71%) par rapport à l'huile essentielle chauffante EMI (31%), qui avaient moins de valeur que les composés oxygénés en termes de leur contribution au parfum de l'huile essentielle. A l'inverse, les composés oxygénés sont très odoriférants. Le Carvacrol est le composant principal du HE de *T. fontanesii*, mais les quantités relatives diffèrent pour les deux méthodes d'isolement:  $63,9 \pm 1,9\%$  pour le chauffage EMI et  $54,7 \pm 1,2\%$  pour la HD, respectivement. Le p-cymène et le  $\gamma$ -terpinène étaient les deux autres principaux composants de l'HE de *T. fontanesii*. La plus forte proportion de p-cymène a été trouvée dans l'huile essentielle HD ( $17,5 \pm 1,2\%$ ) par rapport à l'huile essentielle de chauffage EMI ( $10,5 \pm 0,2\%$ ) et le  $\gamma$ -terpinène est plus abondant dans le chauffage EMI ( $14,9 \pm 0,8\%$ ) contre  $8,8 \pm 0,9\%$  en HD. Par conséquent, le chauffage EMI, a fortement accéléré le processus d'extraction, sans différence majeure dans les proportions de composés.

Vingt-sept composés représentant respectivement 99,9, 99,8% des huiles M, TIZ. Les monoterpènes oxygénés constituaient le groupe chimique prédominant (62,1 - 67,6%), suivis des monoterpènes (31 - 35,1%), tandis que les proportions de sesquiterpènes (0,9 - 1,2%) et de sesquiterpènes oxygénés (0,1 - 0,2%) étaient très faibles. Les principaux composants étaient le carvacrol ( $55,1 \pm 0,8$  -  $63,9 \pm 1,9\%$ ), une molécule phénolique avec une activité antioxydante significative, le p-cymène ( $9,2 \pm 1,2$  -  $14,3 \pm 1,3\%$ ) et le  $\gamma$ -terpinène ( $11,6 \pm 1,5$  -  $14,9 \pm 0,8\%$ ).

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Bekhechi et al., 2007** et indiquent que *Thymus fontanesii* de la présente étude appartient à un «chénotype carvacrol». Dans d'autres huiles essentielles de *T. fontanesii* d'Algérie, les principaux composants

étaient le thymol (67,8%), le p-cymène (13%) et le  $\gamma$ -terpinène (15,9%) à faible teneur en carvacrol (1,7%).

Cette grande variabilité dans la composition chimique des différentes espèces d'échantillons d'HE de *T. fontanesii* algérien pourrait être due à plusieurs facteurs dont l'abiotique (climat local et environnement comme la température, le soleil, l'emplacement et les nutriments), les facteurs biotiques comme chémotypes intraspécifiques et la récolte (stade phénologique) saison. En fait, la comparaison de la composition d'huile obtenue à partir de deux échantillons de *T. fontanesii* a montré quelques différences quantitatives. Une autre étude antérieure de certaines espèces de *Thymus* a confirmé que les conditions environnementales jouent un rôle important dans les variations chimiques (Sidali et al., 2018).

**Tableau 5:** Composition chimique de l'huile essentielle de *T. fontanesii* d'Algérie (moyenne des triplicats) (Sidali et al., 2018).

Composés	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	Surface %		
			EMI		HD
			T <sub>M</sub>	T <sub>TIZ</sub>	T <sub>TIZ</sub>
$\alpha$ -Thujène	930	924	0.9 ± 0.07	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.08
$\alpha$ -Pinène	939	930	4.3 ± 0.8	1.2 ± 0.8	3.2 ± 1.01
Camphène	954	944	tr	tr	0.2 ± 0.01
$\beta$ -Pinène	979	973	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.01
Myrcène	991	989	1.7 ± 0.08	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.03
$\alpha$ -Phellandrene	1003	1002	0.2 ± 0.01	tr	0.2 ± 0.02
$\delta$ -3 Carene	1011	1008	tr	tr	tr
$\alpha$ -Terpinene	1017	1014	1.8 ± 0.03	1.8 ± 0.7	1.7 ± 0.08
<b>p-Cymene</b>	<b>1025</b>	<b>1023</b>	<b>14.3 ± 1.3</b>	<b>10.5 ± 0.2</b>	<b>17.5 ± 1.2</b>
Limonene	1029	1027	tr	tr	1.01 ± 0.02
<b><math>\gamma</math>-Terpinene</b>	<b>1060</b>	<b>1059</b>	<b>11.6 ± 1.5</b>	<b>14.9 ± 0.8</b>	<b>8.8 ± 0.9</b>
<i>Trans</i> -Sabinene hydrate	1070	1067	-	-	0.3 ± 0.01
Linalool	1097	1100	2.3 ± 0.9	1.9 ± 0.1	3.7 ± 0.01
Borneol	1166	1167	tr	tr	0.3 ± 0.05
Terpinen-4-ol	1177	1178	0.3 ± 0.01	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.01
Carvacrol methyl ether	1245	1244	0.5 ± 0.02	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.02
Thymol	1290	1295	0.6 ± 0.1	1.3 ± 0.3	0.3 ± 0.08
<b>Carvacrol</b>	<b>1299</b>	<b>1311</b>	<b>59.8 ± 1.3</b>	<b>63.9 ± 1.9</b>	<b>54.7 ± 1.2</b>
$\alpha$ -Gurjunene	1411	1412	0.3 ± 0.05	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.01
$\beta$ -Caryophyllene	1419	1422	0.4 ± 0.08	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.01
Aromadendrene	1447	1442	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.06	0.2 ± 0.02
allo-Aromadendrene	1460	1464	0.2 ± 0.03	tr	tr
Bicyclogermacene	1472	1499	-	0.2 ± 0.1	-

$\gamma$ -Cadinene	1514	1515	tr	0.1 $\pm$ 0.09	-
$\delta$ -Cadinene	1523	1526	0.1 $\pm$ 0.01	0.1 $\pm$ 0.02	-
Spathulenol	1587	1583	0.2 $\pm$ 0.01	tr	0.3 $\pm$ 0.06
Caryophylleneoxide	1583	1589	tr	tr	1.1 0.03
Monoterpènes (%)			35.1	31	35.71
Oxygenated monoterpènes(%)			63.5	67.6	59.6
Sesquiterpenes (%)			1.1	1.2	0.8
Oxygenatedsesquiterpenes (%)			0.2	tr	0.4
Composés identifiés (%)			99.9	99.8	95.6

tr : traces (< 0.1%)

RIa: indices de rétention (Adams)

RIb: indices de rétention par rapport à C7 – C30 sur la colonne capillaire HP-5MS

### V.3. Activité anti oxydante de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* :

#### Résultat n°1 :

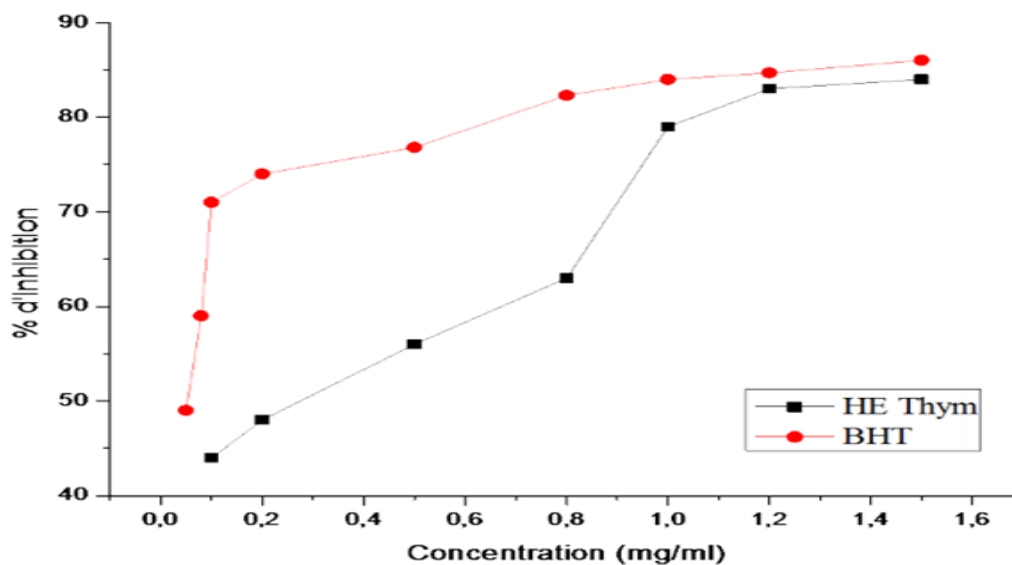
L'activité anti oxydante a été évaluée par deux tests, celui du piégeage des radicaux libres par le DPPH et le test de l'évaluation du pouvoir réducteur du fer ferrique du complexe ferricyanure Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux (Mouhi, 2017).

#### V.3.1. Evaluation de l'activité anti oxydante de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* par la méthode de DPPH :

L'effet des antioxydants sur le piégeage de radicaux DPPH est dû à leur aptitude à donner de l'hydrogène. Une activité de piégeage des radicaux DPPH élevée est associée à des valeurs de concentration d'inhibition (IC<sub>50</sub>) inférieures.

L'activité anti oxydante de l'HE est exprimée par la valeur de la concentration d'inhibition IC<sub>50</sub>, qui définit la concentration efficace des substrats qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ces IC<sub>50</sub> sont calculées à partir de l'algorithme de régression linéaire du graphique, qui a été représenté en tant que pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration de l'HE ou celle de la référence utilisée. Ces valeurs ont été exprimées en milligrammes d'extrait par millilitre de solution d'éthanol.

La **figure 20** représente l'évolution du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations en HE et BHT.



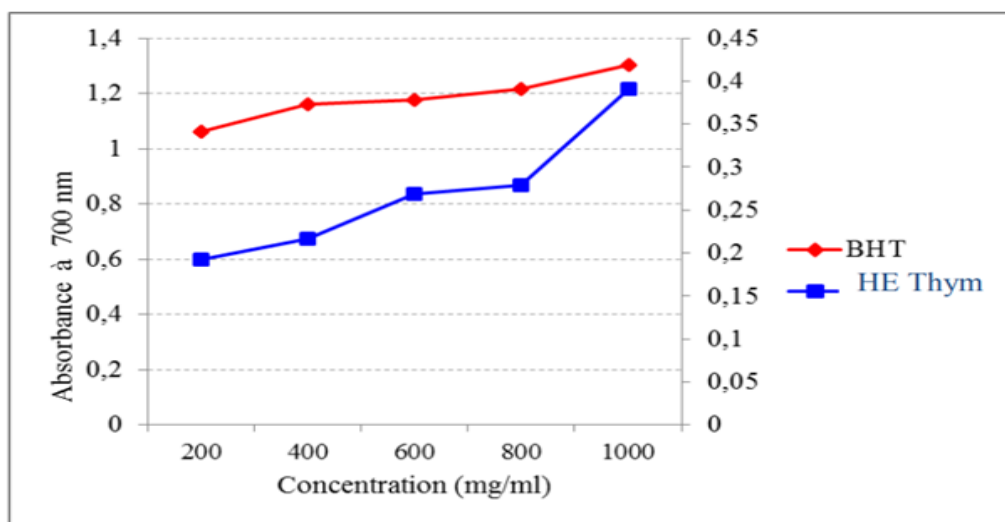
**Figure 20:** Evolution du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations.

D'après la **figure 20**, on remarque que l'HE du thym a un pourcentage d'inhibition inférieur à celui de l'antioxydant de synthèse BHT. Il apparaît que cette huile présente une capacité de réduction du radical DPPH relativement élevée pour les concentrations supérieures ou égale à 0,8 mg/ml. Pour l'antioxydant de référence, BHT, il présente une activité de piégeage du radical DPPH nettement supérieur à celle de l'HE et ceci pour des faibles concentrations. En outre, l'HE de *Thymus fontanesii* était moins efficace ( $IC_{50} = 0,27$  mg/ml) en comparaison avec le BHT ( $IC_{50} = 0,056$  mg/ml). La réduction du radical de DPPH dépend de la nature, de la structure et de la concentration des composés antioxydants. Ils peuvent également être affectés par la lumière, l'oxygène et le pH de la réaction. Il n'est pas facile d'établir l'effet spécifique de chacun des nombreux composés de l'HE et la synergie possible du mélange très complexe. Il semble possible qu'une petite concentration d'un composé spécifique puisse être essentielle pour déterminer cette activité antioxydante. Le rôle des composés phénoliques comme piègeurs des radicaux libres est souligné dans plusieurs rapports. Par conséquent, on peut supposer que les propriétés antioxydantes des extraits peuvent être attribuées à la présence de ces composants bioactifs. Cette conclusion corrobore celle établie par Jukić, & Milos (2005) qui constate que les activités antioxydantes des HEs sont aussi élevées que la teneur en composés phénoliques. La forte activité antioxydante de l'HE de thym peut être attribuée à sa forte teneur en carvacrol qui est un puissant agent réducteur de radical DPPH et inhibe la

peroxydation lipidique. En effet, tous les auteurs s'accordent à dire que les phénols (carvacrol, thymol, eugenol...) sont les principaux composés qui favorisent cette activité. Nos résultats obtenus pour l'HE de *Thymus fontanesii* sont faibles en termes d'IC<sub>50</sub> comparativement à ceux obtenus par El Bouzidi et al., (2013) qui se sont focalisé sur des espèces de thym endémique du Maroc dont le *T. broussonetii*, *T. maroccanus* et le *T. satureioides*, avec des IC<sub>50</sub> de 0,132; 0,082 et 0,167 mg/ml, respectivement(Mouhi, 2017).

### V.3.2.Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* par la méthode du pouvoir réducteur :

Cette méthode a pour principe la mesure de la capacité d'un échantillon à agir en tant que donneur d'électrons et, par conséquent, réagit avec les radicaux libres en les convertissant en produits plus stables mettant ainsi fin aux réactions en chaîne radicale. Dans le dosage du pouvoir réducteur, la présence d'antioxydants dans l'échantillon aboutirait à la réduction de Fe<sup>3+</sup>; en Fe<sup>2+</sup>, en faisant don d'un électron. Une quantité de complexe Fe<sup>2+</sup>, peut alors être surveillée en mesurant la formation du bleu prussien de Perl (Fe<sub>4</sub> [Fe (CN)<sub>6</sub>]<sub>3</sub>) à 700 nm. La **figure 21** Représente l'évolution de l'absorbance lue à 700 nm en fonction des concentrations en HE et en BHT.



**Figure21:**Evolution de l'absorbance en fonction des concentrations en huile essentielle et en BHT

Les résultats de l'activité antioxydante de l'HE ont révélé que le pouvoir réducteur dépend des concentrations. Le pouvoir réducteur de l'HE et du BHT (**figure**

21) augmentent avec l'augmentation des concentrations des échantillons. Cependant, ils sont significativement inférieurs à ceux de la référence BHT. L'activité antioxydante des HEs a souvent été attribuée à la présence des constituants phénoliques, en particulier le thymol et/ ou le carvacrol.

Les résultats présentés dans cette étude, peuvent contribuer à la connaissance du potentiel antioxydant des espèces de *Thymus* endémiques qui est une espèce rare car le potentiel anti- oxydant de l'HE de *T. fontanesii* est rapporté pour la première fois (Mouhi, 2017).

### Résultat n°2 :

L'activité antioxydante du HE de *T. fontanesii* a été évaluée par deux dosages antioxydants: le DPPH test, évaluant la capacité de donner d'H ou de piégeage de radicaux de l'huile en utilisant le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl stable comme réactif et un test estimant la capacité de réduction ferrique de l'huile. La concentration qui a conduit à des valeurs d'inhibition ou d'efficacité de 50% (IC<sub>50</sub>) reflétait de meilleures actions protectrices. Comme le montre le tableau 6, l'ordre de classification du pouvoir antioxydant était le même pour tous les dosages, avec par ordre décroissant, l'échantillon TIZ, suivi de M. L'échantillon HE de *T. fontanesii* de TIZ a montré la plus grande capacité de piégeage des radicaux libres (IC<sub>50</sub> = 57,3 ± 1,4 µg / mL), tandis que TM (IC<sub>50</sub> = 83,8 ± 0,5 µg / mL, respectivement), mais les deux échantillons étaient moins efficaces que l'antioxydant de référence hydroxyl toluène butylé (BHT) (18,3 ± 0,8 µg / mL). Certains rapports ont réalisé des évaluations de l'activité antioxydante basées sur le DPPH. Chez différentes espèces de *Thymus* telles que *T. pallese* d'Algérie, *T. capitatus* de Tunisie, *T. saturejoides* du Maroc riche en carvacrol et d'autres espèces de *Thymus* de Lybie riches en thymol.

Dans la plupart de ces études, les composés phénoliques, en raison de leurs structures chimiques qui permettent ensuite de donner de l'hydrogène aux radicaux libres, ont été introduits comme le principal facteur contribuant à l'activité antioxydante de l'HE. L'activité antioxydante de l'HE de *T. fontanesii* a également été évaluée par le dosage du pouvoir réducteur et les résultats sont rassemblés dans le **tableau 6**. Pour les mesures des capacités réductrices des HEs, la transformation de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> en présence d'huile a été étudiée. Où, la plus grande efficacité a été démontrée par l'échantillon TIZ (63,8 ± 0,17 µg / mL), légèrement inférieure pour

l'échantillon M ( $103,9 \pm 0,4 \mu\text{g} / \text{mL}$ ), par rapport à contrôle positif, BHT ( $9,7 \pm 1,23 \mu\text{g} / \text{mL}$ ).

Ces résultats ont montré que le pouvoir réducteur du HE de *T.fontanesii* était en ligne avec l'huile essentielle de *Thymus maroccanus* Ball du Maroc ( $61,4 \pm 1,58 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) riche en carvacrol. Des études antérieures avaient indiqué que le pouvoir réducteur élevé de l'HE de Thymus n'était pas directement lié à ses teneurs en carvacrol et en thymol, mais la substitution du groupe hydroxyle dans le cycle aromatique aurait pu contribuer à son activité antioxydante (Boukerrouche, 2018).

**Tableau 6 :** Valeurs  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) de l'huile essentielle de *T. fontanesii* et du BHT (Boukerrouche, 2018).

Analyses	$\text{T}_{\text{TIZ}}$	$\text{T}_{\text{M}}$	BHT
DPPH	$57.3 \pm 1.35$	$83.8 \pm 0.5$	$18.3 \pm 0.8$
FRAP	$63.8 \pm 0.17$	$103.9 \pm 0.4$	$9.7 \pm 1.23$

### V.3.3. Discussion de deux résultats :

D'après les deux résultats et les deux tests d'activité antioxydante: DPPH et FRAP, nous avons conclu que les constituants phénoliques carvacrol et/ou thymol présent dans le thym sont responsables de piégeage des radicaux.

L'activité antioxydante des HEs a exprimé par la valeur de concentration d'inhibition ( $\text{IC}_{50}$ ), cette valeur de  $\text{IC}_{50}$  des HEs de *Thymus fontanesii* est toujours inférieure de valeur  $\text{IC}_{50}$  de BHT.

### V.4. Activité insecticide :

#### V.4.1. Teste d'activité insecticide de l'huile essentielle du thym :

L'activité insecticide a été étudiée sur la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus*. Deux teste ont été réalisé un par contacte et l'autre par inhalation.

##### V.4.1.1. Evaluation de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* par effet contact :

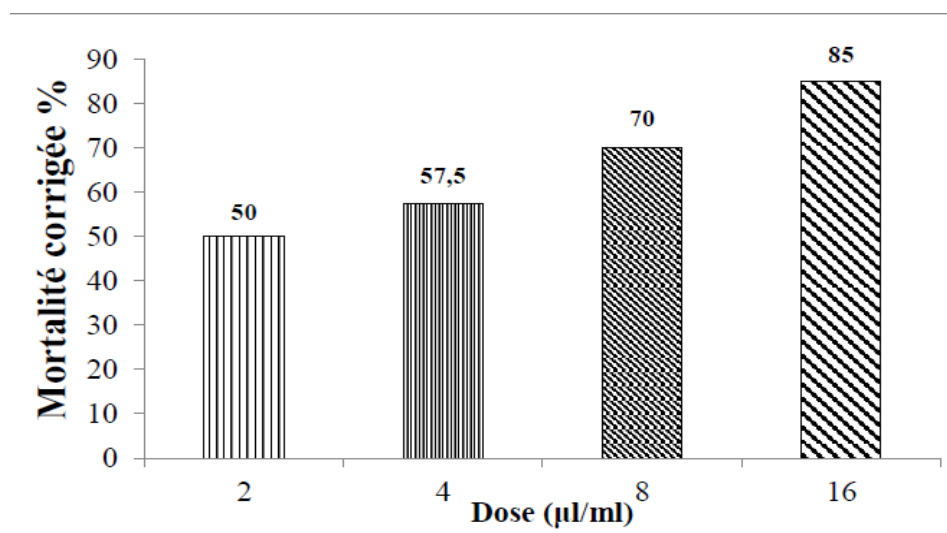
Après 24 h, un comptage des adultes morts est effectué. Les résultats obtenus par effet contact montrent une diminution considérable du nombre de la population dans toutes les doses testées. En effet, le pourcentage de mortalité est de 50% à la D1 qui représente la moitié de la population traitée. A la D2, ce pourcentage avoisine celui obtenu avec la D1 et est de 57,5%. Les pourcentages de mortalité enregistrés pour les doses D3 et D4 sont les plus élevés dans les lots traités et correspondent aux valeurs respectives 70% et 85% de mortalité (**Tableau 7**) et (**figure 22**).

**Tableau 7:** Activité insecticide de l'huile essentiel de thym vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* après 24h de traitement.

Dose (µl/ml)	Log dose	R1	R2	R3	R4	Témoin	Mortalité Témoin %	Mortalité Moyenne %	Mortalité Corrigée %	probit
2	0,3	4	5	6	5	0	0	50	50	5
4	0,6	5	6	7	5	0	0	57,5	57,5	5,2
8	0,9	7	8	6	7	0	0	70	70	5,52
16	1,2	8	9	9	8	0	0	85	85	6,04

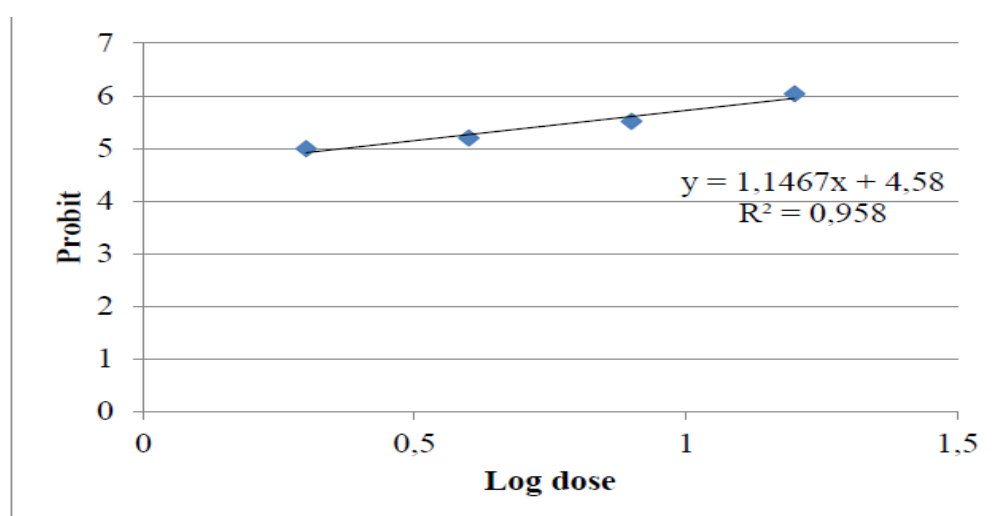
Il ressort de l'ensemble des résultats mentionnés dans le **tableau 7** que l'huile essentielle du thym a engendré un pourcentage de mortalité allant de 50 à 85% pendant 24h, et ce de la plus faible à la plus forte dose 2µL. 4µL. 8µL et 16µL.

A partir du **tableau 7** on remarque qu'à la plus faible dose, ce pourcentage de mortalité est hautement significatif car il correspond à la mort de la moitié de la population.



**Figure 22** Mortalité par effet de contact de l'huile essentielle de Thymus vis à vis de *Callosobruchus maculatus*.

La droite de régression tracée représente le logarithme des doses testées et les pourcentages de mortalité corrigée en probit pour la détermination de la DL<sub>50</sub> et la DL<sub>90</sub> (Figure 23).



**Figure 23:** Détermination de la DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> de l'huile essentielle du thym après 24h de traitement.

On a obtenu un graphe avec une linéaire presque parfaite, Tout les point se trouve sur la droite de régression ( $R^2 = 0,958$ ).

Pour une durée de traitement de 24h avec l'huile essentielle du thym, la DL<sub>50</sub> et la DL<sub>90</sub> est calculée à partir de la fonction du tracé de régression et elles sont égales respectivement à 2,29 µl/ml et 30,19 µl/ml (**Belgaid et Rahmani, 2018**).

#### V.4.1.2. Evaluation de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* par effet d'inhalation :

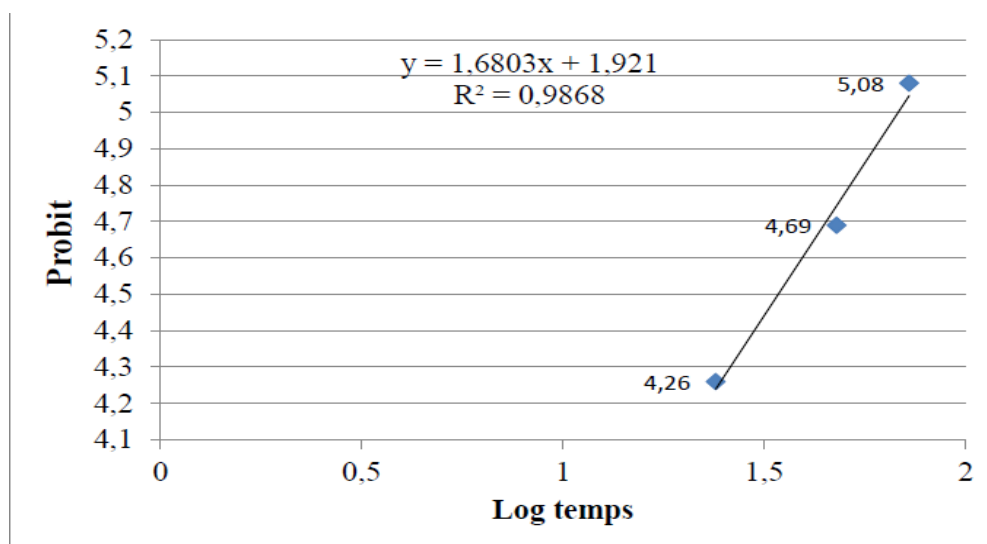
L'huile essentielle a été administrée par saturation de leur environnement (par les substances volatiles). Un comptage des adultes morts a été réalisé après 24, 48, et 72h. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 8**.

**Tableau 8:** Activité insecticide de l'huile essentielle du thym vis avis de *Callosobruchus maculatus* par effet d'inhalation à une dose de 8µl/ml.

Temps (heure)	Log temps	R1	R2	R3	R4	Témoin	Mortalité Moyenne %	Moyenne Corrigée %	probit
24	1,38	1	2	3	3	0	22,5	22,5	4,26
48	1,68	3	3	5	4	0	37,5	37,5	4,69
72	1,86	4	6	5	6	0	52,5	52,5	5,08

Les résultats montrent que l'huile essentielle de Thymus a provoqué un pourcentage de mortalité allant de 22,5% à 52,5% au bout de 3 jours d'exposition pour une dose de 8µL/ml. Ces valeurs de mortalité montrent qu'au bout de 24h, le pourcentage a atteint 22,5% et augmente par la suite pour atteindre 37,5% et 52,5% en temps respectifs de 48 et 72h.

Le tracé de la droite de régression représente le logarithme du temps d'exposition et les pourcentages de mortalité corrigée transformée en probit pour la détermination de la TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> (**Figure 24**).



**Figure 24:** Détermination de TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> de l'huile essentielle de *Thymus* vis à vis de *Callosobruchus maculatus* après 3 jours de traitement par inhalation à une dose de 8µl/ml.

A partir de la droite de régression, la TL<sub>50</sub> et la TL<sub>90</sub> sont respectivement de 68h et 388h pour l'effet d'inhalation de l'huile essentielle du thym vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* à la concentration de 8µl/ml (Belgaid et Rahmani, 2018).

#### V.4.2. Discussion :

Les résultats obtenus, montrent que l'huile essentielle extraite de *Thymus fontanesii* est considérée, comme un insecticide à double effet à savoir par contact et inhalation. Après une soumission des adultes à différentes doses de cette huile essentielle, un taux de mortalité significatif a été enregistré selon la dose et la durée d'exposition. Ainsi, l'effet toxique varie selon la dose utilisée en prolongeant la durée d'exposition qui est respectivement de 24, 48 et 72h.

L'huile essentielle du thym peut être considérée comme un bio pesticide et pourrait être utilisée en plein champs ou au niveau des entrepôts et des stocks de graines de légumineuses.

Ce travail, signale que les deux méthodes d'administration de l'huile essentielle chez les adultes par saturation du milieu et par contact, restent efficaces. Où la mortalité des adultes augmente proportionnellement avec la concentration ainsi nous avons atteint le seuil de 50% des adultes au bout de 24h soit la faible dose utilisée correspondant à 2µl/ml.

Les valeurs de DL<sub>50</sub> et de TL<sub>50</sub> montrent que l'huile essentielle *Thymus fontanesii* possède une activité insecticide vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*. De ce fait, nous constatons que l'huile essentielle du thym possède un effet toxique contre les adultes de *Callosobruchus maculatus*.

De par leur innocuité et leur faible toxicité pour l'homme (**Djossou, 2006**), ces plantes à utilités alimentaire et médicinale constituent une alternative pour la conservation des denrées stockées. Des études réalisées en Afrique et particulièrement au Nord du Cameroun dans plusieurs agro systèmes, révèlent que les producteurs utilisent des pratiques traditionnelles dont les extraits des plantes à effet insecticide et/ou insectifuge pour la conservation des produits agricoles en particulier le maïs et le niébé (**Ngamo et al., 1981**).

En plus, selon **Kechout (2001)**, l'huile essentielle du thym est très efficace contre *Sitophilus arvensis* L, avec un taux de mortalité évalué à 85%. Des essais sur l'efficacité des huiles essentielles du romarin et de thym sur *Rhyssopertho minica* par contact et par inhalation ont montré l'effet insecticide de ces deux huiles. En effet le romarin s'est montré efficace par contact à la dose de 1,348 mg/cm<sup>2</sup> en provoquant 89,72% de mortalité alors que le thym a la même dose donna un taux de 100% de mortalité (**El Guedoui, 2003**).

# *Conclusion*

**Conclusion :**

Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales, sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur donne des propriétés insecticides et antioxydants très intéressantes à mettre en profit pour préserver les produits alimentaires.

Les espèces végétales étudiées dans cette mémoire sont d'origines algériennes, appartenant à la famille des lamiacées : *Thymus fontanesii*.

L'extraction des HEs de la partie aérienne de *Thymus fontanesii* par hydrodistillation a fourni des rendements de 3.125 %, respectivement.

Les analyses chromatographiques des HEs de ces plantes par CPG et le couplage CPG/SM l'HE de *Thymus fontanesii* a permis d'isoler et d'identifier Vingt-six et vingt-quatre composés.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *T. fontanesii* a été évaluée et les valeurs de CI50 pleuvaient de  $57,3 \pm 1,4$  à  $236,7 \pm 1,4$   $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Ces résultats ont révélé l'importance de *T. fontanesii* en tant qu'antioxydant, ce qui peut aider à protéger les gens contre la peroxydation lipidique et les dommages des radicaux libres. De plus, l'huile essentielle de *T. fontanesii* peut être utilisée comme agent antioxydant pour la conservation des aliments transformés et comme composants alimentaires fonctionnels.

Les valeurs obtenues montrent que l'activité insecticide de l'huile essentielle du thym dépend de la dose utilisée, où on a enregistré des pourcentages allant de 50 à 85% pendant 24h dans le teste par effet de contact et ce de la plus faible à la plus forte dose. L'efficacité de cette huile essentielle sur *Callosobruchus maculatus* est évaluée par les doses létales. En effet, la DL50 obtenue confirme que cette huile à une activité insecticide ou à une dose de 2,29  $\mu\text{L/l}$  avec laquelle nous avons obtenu la mort de 50% de la population des insectes.

Les résultats obtenus dans les tests par inhalation ont permis de confirmer l'activité insecticide des traitements avec l'huile essentielle du thym qui se traduit par la mort de plus de 50% des insectes en 3 jours d'exposition à une dose de 8 $\mu\text{l/ml}$ .

---

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

- Abdelli W, 2017**, Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques Des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat, université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 214p.
- Aburjai T., Natsheh F.M., 2003**, Plants used in cosmetics. *Pytother. Res*, **17**, 987-1000p.
- Aissani F, 2015**, Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles Essentielles *Thymus ciliatus* (Zaitra) et *Ammoïdes verticillata* (Nunkha).
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008**. Biological effects of essential oils- a review. *Food and Chemical Toxicology*. 46:446-475p.
- Baser KHC., Buchbauer G., 2010**, Handbook of Essential oils: Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.
- Bassereau, M., et al., 2007**, GC-MS quantification of suspected volatile allergens in fragrances. 2. Data treatment strategies and method performances. *Journal of agricultural and Food chemistry*, **55**(1): 25-31p.
- Beidjord A, 2015**, Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles D'Amoïdes Verticillata de la région de Tlemcen.
- Bekhechi C., Bekkara F. A., Abdelouahid D. E., Tomi F., Casanova J 2007**, Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. From Algeria. *J. Essent. Oil Res*, **19** (6), 594-596p.
- Belaïch R., Boujraf S., 2016** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, **10**(1), 38-42p.
- Belgaid A., Rahmani A., 2018**, Activité insecticide du thym sur un insecte des stocks *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera Bruchidae). Mémoire de Master, Université Bouira, 77p.
- Benayache F, 2013**, Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret. Mémoire magister, université Constantine 1.
- Benazzeddine S, 2010**, Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à - vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Curculionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d'Alger, Mémoire Online.
- Benyoucef F., Dib M-A., Arrar Z., Costa G., Muselli A., 2018**, Synergistic Antioxidant Activity and Chemical Composition of Essential Oils From *Thymus*

## Références bibliographiques

---

*fontanesii*, *Artemisia herba-alba* and *Rosmarinus officinalis*. *Journal Appl Biotechnol Rep*, 5(4):151-156p.

**Bessedik Z., Bahri B., 2018**, Evaluation de L'effet insecticide de l'extrait méthanoïque et les huiles essentielles des feuilles de *Calamintha nepeta* vis-à-vis des pucerons des agrumes. Mémoire de Master, Université de Mostaganem.

**Bilal G.m., 2016**, Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat ,université d'Ouargla.

**Boukerrouche A, 2018**, Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *Thymus fontanessii* Boiss et Reut. Thèse de Master ,université d'Ain Defla, 82p.

**Bounechada M., Arab R., 2011**, Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae). *Agronomie* numéro 1: 1-6p.

**Breitmaier E, 2006**, Terpenes: Importance, General Structure, and Biosynthesis. *In John Wiley & Sons. Wiley, VCH Verlag Gmbh & Co. KGaA, Weinheim.*43p.

**Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales. 4eme Ed, Tec & Doc, Paris, 1288p.

**Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p.

**Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales. Tec et Doc, Paris, 1119p.

**Bruneton J, 2008**. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2ème Edition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 1188p.

**Cavalli J-F, 2002**, Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat en chimie organique et analytique, Université de Corse, France, 274p.

**Chiasson H., Beloin N., 2007**, Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre » Bulletin de la Société d'entomologie du Québec *Antennae*. (14): 1p.

**Dayan F., Cantrell C.L., et Duke S.O., 2009**, Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4022-4034p.

**Degryse A.C., Delpla I ., Voinier M.A., 2008**, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p.

**De Sousa D.P, 2015**, Bioactive essential oils and cancer. 1st Ed. New York, USA: Springer International Publishing. 292p.

## Références bibliographiques

---

**De Souza A.T, 2008**, Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (*Eremanthus erythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, **47**(2): 182-187p.

**Djossou J, 2006**, Etude des possibilités d'utilisations des formulations à base de fruits secs de *Xylopiiæaethiopica* Dunal (*Annonaceae*) pour la protection des stocks de niébé contre *Callosobruchus maculatus* Fabricius (*Coleoptera: Bruchidae*). Mémoire online, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux Belgique.

**Edris A.E, 2007**, Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res*, **21**,308-323p.

**El-Bouzidi L.,Jamali C.A.,Bekkouche K.,Hassani L., Wohlmuth H., Leach D,2013**,Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activités of essential oils obtained from Wild and cultivated Moroccan thymus species.*IndCrop Prod*,434:50-60p.

**EL-Guedoui R, 2003**, Extraction des huiles essentielles du romarin et du thym. Comportement insecticide de ces deux huiles sur *Rhyzopertha dominica* (Fabricus) (coleoptera, bostrychidae). Thèse ing, ENP, El-Harrach, Alger, 76p.

**Favier A, 2003**, Le stress oxydant. Interêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Clinique. 108-115p.

**Feng R., Isman M.B., 1995**, Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Experientia* 51: 831-833p.

**Fillatre Y, 2011**, Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers. France, 288p.

**Finney D.J, 1971**, Probit analysis. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 333 p.

**Florence M, 2012**, utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse doctorat, université de lorraine, 92p.

**Franchomme P., Pénoel D., 1990**, L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Edition Roger Jallois, Limoges, France, 445p.

**Guillouty A, 2016**, Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat, université Toulouse iii Paul Sabatier, France, 102p.

## Références bibliographiques

---

**Guernoug A., Guernoug N-H., 2017**, Elaboration d'une carte de répartition de deux espèces appartenant au genre thymus et analyse de la composition chimiques des huiles essentielles extraites. Cas de *Thymus Algeriensis* Boiss. & Reut et de *Thymus fontanesii* Boiss.& Reut dans la région de Djendel -wilaya de Ain Defla. Thèse de Master, Université Ain Defla, 65p.

**Hashem M.Y., Ahmed S.S., El-Mohandes M.A., Gharib M.A., 2012** ,Susceptibility of different life stages of saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.)(Coleoptera: Silvanidae) to modified atmospheres enriched with carbon dioxide. *Journal of stored products research*, 48: 46- 51p.

**Haubruge E., Shiffers B., Gabriel E., Verbrstraeten, 1988**, Etude de la relation dose-efficacité de six insecticides à l'égard de *Sitophilus granarius* L., *S. oryzae* L., et *S. zeamais* Mots. (Col., curculionidae). *Medicine Faculty Landbouww Ryksuniv (Gent)* .53/2b: 719-26p.

**Hellal Z, 2011**, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*).Mémoire de magister, Université de Tizi-Ouzou, Algérie, 120p.

**Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F., 2004**, Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6p.

**Isman M.B, 2000**, Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603- 608p.

**Jean B, 2009**, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.): Lavoisier.

**Jukić M., Milos M, 2005**, Catalytic oxidation properties of thyme essential oils (*thymus vulgarae* L.).*Croat chem. acta*, 78:105-110p.

**Kanko C., Sawaliho B., Kone S., Koukoua G., Guessan Y., 2004**, Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes rendus chimie*, 7(10), 1039-1042p.

**Kechout F, 2001**, Efficacité de trois extraits végétaux et de deux insectes vis-à-vis de *Sitophilusoryzae* L. (*Coleoptera*, *Curculionidae*). Thèse ing, sci. Arg., INA. El-Harrach, 30-35p.

**Khaldi A., Meddah B., Moussaoui A., Benmehdi H., 2012**, Screening phytochimique et effet antifongique decertains extraits de plantes sur le

## Références bibliographiques

---

développement *in vitro* des moisissures. *European Journal of Scientific Research* **80(3)**: 311-321p.

**Kurita, Koike, 1982**, Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Biol. Chem.*, 46-159-165p.

**Lagunez –Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe .Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de TOULOUSE ; 31-42p.

**Lagunez Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Laboratoire de Chimie Agro - Industrielle. Toulouse.

**Laib I, 2011**, Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de magister, université mentouri, Constantine,122p.

**Lahlou M, 2004**, Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6), 435-448p.

**Lamamra M, 2018**, Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *tinguarra sicula (L.) Parl* et de *Filipendula hexapetala Gibb*. Mémoire magister, Université de sètif.

**Lichtenstein E.P, 1966**, Insecticides occurring naturally in crops *Advances. Chemistry Ser.* 53: 34- 38p.

**Linden G., Lorient D., 1994**, Biochimie agro-industrielle. Masson, Paris.

**Lucchesi M.E, 2005**, Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France, 146p.

**Moro - Buronzo A, 2008**, Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien-Etre, Hachette pratique. 14p.

**Mouhi L, 2017**, Etude des activités biologiques de l'association de l'huile essentielle des plantes de la flore algérienne. Elaboration d'une forme pharmaceutique. Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 168p.

**Moutinho C, 2013**, Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha piperita* native from Trás-os-Montes region (Portugal). *International Journal of Indigenous Medicinal Plants* **29(1)**: 1167-1174p.

## Références bibliographiques

---

**Ngano Y.L., Hawar Eaware M.P., Reddy M.V., 1981**, Chickpea diseases: resistance screening technics. Information bulletin 10, ICRISAT, Parancheni, India, 11 pp.

**Novelli G. P, 1997**. Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 48:517-527p.

**Pérez S.G., Ramos-López M.A., Zavala-Sánchez M.A., Cárdenas-Ortega N.C., 2010**, Activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25): 2827-2835p.

**Pibiri M.C, 2005**, Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de doctorat, Polytechniques Fédérale de Lausanne, France.

**Piochon M, 2008**, Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire de maîtrise, option ressources renouvelables, Université du Québec à Chicoutimi 13-51p.

**Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse .spécialité : Sciences des Agroressources.

**Roux D, 2008**, Conseil en aromathérapie, 2ème édition, *Pro-Officina*, 187p.

**Sidalia L., Bradaa M., Fauconnier M-L., Lognaye G., 2017**, Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria. *PhytoChem & BioSub Journal Vol,11(1)* 2170-1768p.

**Sidalia L., Bradaa M., Fauconnier M-L., Lognaye G., 2018**, Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria. *PhytoChem & BioSub Journal Vol, 11(1)* 2170-1768p.

**Staniszewska M., Kula J., 2001**. Composition of the essential oil from wild carrot umbels (*Daucus carota* L. ssp. *carota*) growing in Poland. *Journal of Essential Oil Research*, **13**(6): 439-441p.

**Teixeira B., Marques A., Ramos C., 2013**, Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*. 43: 587-595p.

**Vansant G, 2004**, Radicaux libres et antioxydants : Principes de base. Symposium « Antioxydante et alimentation » Institut Danone.

## *Références bibliographiques*

---

**Yanishlieva N.V., Marinova E.M., Gordon M.H., Raneva V.G., 1999**, Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* **64**: 59–66p.