

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et conservation des écosystèmes forestiers



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de  
MASTER ACADEMIQUE

Présenté par :

M<sup>elle</sup> AGGAD Meriem

**Extraction et effet antibactérien des huiles essentielles du  
thym et l'origan**

Soutenue le : 21 /06 /2017

Devant le jury composé de :

**Présidente :** M<sup>elle</sup> BOUAZZA K.

Université de Tiaret.

**Promotrice :** M<sup>me</sup> MOKHFI F-Z.

Université de Tiaret.

**Examineur :** M<sup>r</sup> BEN BEGUARA M.

Université de Tiaret.

**Année universitaire : 2016–2017**

# Remerciements

*Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma gratitude et vif remerciement ainsi que mon profond respect à ma promotrice M<sup>ME</sup>. MOKHFI FATMA ZOHRA qui n'a pas hésité à me prendre en charge et de me guider durant toute cette formation et le long de ce travail. Le partage de ses connaissances son expérience et orientations ont été déterminants pour la réalisation de ce mémoire.*

*J'exprime ma profonde gratitude et sincère remerciement à M<sup>elle</sup> BOUAZZA KHALDIA, qui a avec beaucoup d'amabilité, accepté de présider le jury. Je lui exprime ma respectueuse reconnaissance.*

*Que Mr BEN BEGUARA MOURAD soit chaleureusement remercié d'avoir voulu examiner de près mon travail.*

*Je tiens à remercier Mr DJELLAB LARBI qui, malgré ses lourdes tâches, n'a cessé de m'encourager et de me guider par ses conseils et son aide durant cette formation. Sans lui, je ne saurais parvenir à améliorer ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude aux enseignants de master académique « Biodiversité et conservation des écosystèmes forestier » durant ces deux ans.*

*J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes de la Faculté et celles de la Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, en particulier Mr BOUACHA ISLAM.*

*Mes sincères remerciements à Mr BESBES NOUREDINNE pour toute aide ma fournie au cours de la réalisation de ce travail.*

*je me trouve incapable de formuler mes remerciements à mes frères Mokhtar, Djemal, Habiba et Mounira et mes amis: Kadi, Kheira, Sarah, Chafia, Khadidja, Atika, Khaldia, Fatima, Khadidja et Sanae.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*La mémoire de mon Père.*

*Ma très chère Maman.*

*Ma très chère sœur HABIBA.*

*Ainsi qu'à tous mes chers frères*

*MOUNI ; MOKHTAR et DJAMEL*

*A tous les membres et les enfants de l'association*

*« KAFIL ELYATIM ELWILAEYA-TIARET ».*



*A toute personne ma aidée de prés ou de loin.*

# Table des matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale ..... 1

## ***Partie Bibliographique***

### ***Chapitre 01 Généralité sur les plantes spontanées utilisées***

1.1.Introduction..... 3

1.2.Thym..... 3

1.2.1. Classification botanique ..... 4

1.2.2. Description botanique..... 5

1.2.3. Ecophysiologie ..... 6

1.2.4. Récolte..... 6

1.2.5. Origine et distribution de l'espèce..... 6

1.2.5.1.Dans le monde ..... 6

1.2.5.2.En Algérie..... 7

1.2.6. composition chimique du principe actif ..... 7

1.2.7. Propriétés du thym ..... 8

1.3. Origan ..... 9

1.3.1. Classification botanique ..... 10

1.3.2. Description botanique ..... 10

1.3.3. Ecophysiologie ..... 11

1.3.4. Récolte ..... 11

1.3.5. Origine et distribution de l'espèce ..... 12

1.3.5.1. Dans le monde .....	12
1.3.5.2. En Algérie .....	12
1.3.6. composition chimique .....	12
1.3.7. Propriétés d'origan .....	13

## ***Chapitre 02 Généralité sur les huiles essentielles***

2.1. Introduction .....	14
2.2. Définition d'une huile essentielle .....	14
2.3. Répartition systématique .....	14
2.4. Synthèse et localisation .....	14
2.5. Rôle des H.Es au niveau des plantes .....	15
2.6. Caractères physico-chimiques .....	15
2.7. Propriétés générales des huiles essentielles .....	16
2.8. Domaine d'application des H.Es .....	17
2.9. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	17
2.9.1. La distillation (hydro distillation).....	17
2.9.2. L'expression.....	18
2.9.3. L'enfleurage.....	19
2.9.4. L'extraction par solvant .....	20
2.9.5. L'extraction par CO <sub>2</sub> supercritique .....	21
2.9.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche .....	22

## ***Partie Expérimentale***

### ***Chapitre 03 Zone d'étude***

3. Présentation de la zone d'étude.....	23
3.1. Situation géographique de la wilaya de Tiaret.....	23

3.2. Climat régional.....	24
3.3. Présentation de la commune de Sidi bakhti.....	24
3.4. Présentation du site de prélèvement .....	26
3.5. Climat du site de prélèvement .....	27
3.5.1. Précipitations.....	27
3.5.2. Températures.....	28
 <b>Chapitre 04    Matériels et méthodes</b>	
4.1. Objectif de travail.....	31
4.2. Lieu et période d'étude.....	32
4.3. Matériels.....	32
4.3.1. Matière Végétale.....	32
4.3.2. Souches bactériennes testés .....	32
4.3.3. Milieux de Cultures utilisées.....	33
4.3.4. Matériels du laboratoire.....	34
4.3.4.1. Verreries et appareillages.....	34
4.4. Méthodes.....	34
4.4.1. Extraction des huiles essentielles.....	34
4.4.1.1. Montage d'extraction.....	34
4.4.1.2. Procédé d'extraction.....	35
4.4.1.3. Conservation de l'huile.....	36
4.4.1.4. Détermination du rendement d'extraction.....	36
4.4.2. Test microbiologique.....	36
4.4.2.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	36
4.4.2.1.1. Revivification des souches .....	36

4.4.2.1.2. Préparation des aliquotes et standardisation.....	36
4.4.2.2. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme).....	37
<b>Chapitre 05 Résultats et discussion</b>	
5.1. Résultats et interprétation.....	38
5.1.1. Calcul du rendement d' H.Es obtenu .....	38
5.1.2. L'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	39
5.1.2.1.Thym .....	39
5.1.2.2. Origan .....	45
5.2. Discussion.....	51
Conclusion .....	53
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

# Liste des abréviations

*ATCC : American Type Culture Collection*

*bar : unité de mesure de la pression*

*C° : Degré Celsius*

*C.F.T : Conservation des forets de la wilaya de Tiaret*

*cm : centimètre.*

*D.S.A : Direction services agricoles*

*E.Coli : Escherichia Coli*

*g : Gramme*

*h : hectare*

*H.E : Huile essentielle.*

*km : Kilomètre*

*km<sup>2</sup> : Kilomètre carré*

*m : Mètre.*

*MH : Mueller Hinton*

*min : minute*

*ml : millilitre*

*mm : millimètre.*

*nm : nanomètre*

*P : Précipitation.*

*P.A : Pseudomonas Aeruginosa*

*Q2 : Quotient d'EMBERGER*

*S.A : Staphylococcus Aureus*

*T : Température.*

*TM : température moyenne des **Maximas** du mois le plus chaud;*

*Tm : température moyenne des **minimas** du mois le plus froid;*

*μl : microlitre*

*% : Pourcentage.*

*• : Degré de mesure Coordonnées géographiques*

# Liste des figures

<b>Fig 01:</b> <i>Thymus vulgaris</i> .....	04
<b>Fig 02 :</b> Fleur du <i>thymus vulgaris</i> .....	06
<b>Fig 03 :</b> Répartition géographique du thym vulgare dans le monde .....	07
<b>Fig 04:</b> <i>Origanum vulgare</i> .....	09
<b>Fig 05:</b> Fleur de l'origan.....	11
<b>Fig 06 :</b> Répartition de l'origan dans le monde .....	12
<b>Fig 07 :</b> Extraction des huiles essentielles par hydro distillation.....	18
<b>Fig 08 :</b> Extraction des huiles essentielles par expression.....	19
<b>Fig 09 :</b> extraction des huiles essentielles par enfleurage .....	17
<b>Fig 10 :</b> L'extraction par CO <sub>2</sub> supercritique .....	21
<b>Fig 11:</b> L'extraction par entraînement à la vapeur sèche. ....	22
<b>Fig 12 :</b> La situation géographique de la wilaya de Tiaret .....	23
<b>Fig 13 :</b> la situation de la commune de Sidi bakhti.....	24
<b>Fig 14 :</b> carte de lithologie de Sidi bakhti.....	25
<b>Fig 15 :</b> carte de végétation de la commune de Sidi bakhti.....	26
<b>Fig 16 :</b> la situation de djebel Aouf- Sidi bakhti.....	27
<b>Fig 17 :</b> Diagramme ombrothermique de la zone d'étude .....	29
<b>Fig 18 :</b> Localisation de la zone d'étude dans le climagramme d'EMBERGER .....	30
<b>Fig 19 :</b> Protocole expérimental .....	31
<b>Fig 20 :</b> séchage et pesé des touffes des deux espèces (thym et origan).....	32
<b>Fig 21 :</b> Dispositif d'hydro distillation .....	35

<b>Fig 22:</b> Illustration de la méthode des aromagrammes sur boitez de Pétri .....	37
<b>Fig 23 :</b> comparaison entre le rendement d'huile essentielle du thym et l'origan.....	39
<b>Fig 24 :</b> Effet inhibiteur d'H.E du thym sur la souche à Gram (-) <i>E.coli</i> .....	40
<b>Fig 25:</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d' <i>E. Coli</i> suivant les doses utilisées de l'H.E du thym.....	40
<b>Fig 26 :</b> histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique avec l ' <i>E.Coli</i> .....	41
<b>Fig 27 :</b> comparaison entre l'effet inhibiteur d'H.E du thym (dose 20 µl) et le disque antibiotique tétracycline sur l' <i>E.Coli</i> .....	41
<b>Fig 28 :</b> Effet inhibiteur d'H.E du thym sur la souche à Gram (+) <i>S.A</i> .....	42
<b>Fig 29 :</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de <i>S.A</i> suivant les doses utilisées de l'H.E du thym .....	42
<b>Fig 30 :</b> histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique avec la souche <i>S.A</i> .....	43
<b>Fig 31 :</b> Comparaison entre la zone d'hinibition d'H.E de thym (dose 20 µl) et le disque antibiotique tétracycline sur le <i>S.A</i> .....	43
<b>Fig 32 :</b> Diamètres des zones d'inhibition des souches à Gram (-) <i>P.A</i> par l'effet d'H.E du thym.....	44
<b>Fig 33 :</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche <i>P.A</i> suivant les doses utilisées de l'H.E du thym .....	44
<b>Fig 34 :</b> la comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E du thym.....	45
<b>Fig 35 :</b> Diamètres des zones d'inhibition des souches Gram (-) <i>E.Coli</i> par l'effet d'H.E d'origan.....	46
<b>Fig 36 :</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche ' <i>E.Coli</i> suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan .....	46

<b>Fig 37 :</b> Diamètres des zones d'inhibition de souche <i>S.A</i> sous l'effet d'H.E d'origan.....	47
<b>Fig 38 :</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche <i>S.A</i> suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan .....	47
<b>Fig 39 :</b> Diamètres des zones d'inhibition des souches à Gram (-) <i>P.A</i> par l'effet d'H.E d'origan.....	48
<b>Fig 40 :</b> La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de <i>P.A</i> suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan .....	48
<b>Fig 41 :</b> histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E d'origan et celui du disque antibiotique avec la souche <i>P.A</i> .....	49
<b>Fig 42 :</b> comparaison entre l'effet hinibiteur d'H.E d'origan (dose 20 µl) et le disque antibiotique tétracycline sur la souche <i>P.A</i> .....	49
<b>Fig 43 :</b> la comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E d'origan.....	50

# Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Principales composantes d'HE du thym qui présentent des propriétés antibactériennes ( <b>BURT, 2004</b> ) .....	06
<b>Tableau 02</b> : Précipitations mensuelles moyennes enregistrées dans le site Tut tiempo durant la période 2000-2016 (station AIN BOUCHAKIF).....	28
<b>Tableau 03</b> : Températures mensuelles moyennes enregistrées dans le site Tut tiempo durant la période 2000-2016 (station AIN BOUCHAKIF).....	28
<b>Tableau 04</b> : Verreries et appareillages utilisés.....	34
<b>Tableau 05</b> : le rendement des huiles essentielles obtenu par hydro distillation.....	38
<b>Tableau 06</b> :L'effet antibactérien d'H.E du thym sur les bactéries Gram (-) <i>E.COLI</i> .....	39
<b>Tableau 07</b> : l'effet antibactérien d'H.E du thym sur les bactéries gram (+) <i>Staphylococcus Aureus</i> suivant différent doses.....	42
<b>Tableau 08</b> : l'effet antibactérien d'H.E du thym sur les bactéries Gram (-) <i>P.A</i> .....	44
<b>Tableau 09</b> : L'effet antibactérien d'H.E d'origan sur les bactéries Gram (-) <i>E. Coli</i> .....	45
<b>Tableau 10</b> : L'effet antibactérien d'H.E de l'origan sur les bactéries Gram (+) <i>S.A</i> .....	47
<b>Tableau 11</b> : l'effet antibactérien d'HE d'origan sur les bactéries Gram (-) <i>P. A</i> ....	48

Introduction

générale

# Introduction générale

A toute époque, L'homme est considéré comme l'être vivant le plus puissant de la nature, mais reste menacer par d'autres vivants qui peuvent lui causes des épidémies voir la mort. À fin de se défendre, il a utilisé depuis longtemps des plantes possédant des pouvoirs curatives, ce sont les plantes médicinales.

D'après l'O.M.S (2002), en Afrique, en Asie et en Amérique latine, différents pays font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de la santé primaire. En Afrique jusqu'à 80% de la population à recoure à cette médecine ; médecine complémentaire dans les pays industriels.

Selon l'O.M.S (2013), la médecine traditionnelle s'accélère fortement dans les pays, car c'est la somme des connaissances utilisées dans la préservation de la santé ainsi que la prévention et le traitement des maladies.

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

Parmi ces plantes, le *Thymus vulgaris* et l'*Origanum vulgare*, ces deux espèces font partie de la famille des lamiacées plantes indigènes du bassin méditerranéen. Ces plantes vivaces répandues en Algérie, possèdent un principe actif avec des propriétés curatives, c'est l'huile essentielle. Qui est une substance odorante concentrée, volatile possédant des vertus thérapeutiques soit antibactérien, antifongique ou bien antioxydant.....

A fin de valoriser les H.Es de ses deux plantes estimant leurs efficacités contre des bactéries très en fréquenté par l'Homme, on a accompli ce modeste travail.

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

Les informations relatives à la zone d'étude feront l'objet du chapitre 3, matériels et méthodes sont détaillés dans le chapitre 4 et les résultats et discussion sont couronnés dans le chapitre 05.

En finalisant ce présent travail par une conclusion estimant qu'elle répond à l'attente de connaître les utilités de ses plantes.

Partie

bibliographique

chapitre 01

Généralité sur

les plantes spontanées utilisées

# 1. Généralité sur les plantes spontanées utilisées

## 1.1 Introduction

Les plantes aromatiques constituent un groupe numériquement vaste, de plantes économiquement importantes. Elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de divers maladies. Outre leurs utilisations comme remèdes directs.

De nos jours quelques 300 espèces de plantes médicinales et aromatiques sont utilisées dans le monde entier pour des préparations pharmaceutiques. Outre leur valeur médicinale.

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

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

## 1.2. Thym

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

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

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



**Fig.01:** *Thymus vulgaris*.

### 1.2.1. Classification botanique

Cette espèce appartient, selon CRETE ,1965 au :

<b>Règne</b>	Plantea
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Thymus vulgaris</i>

### 1.2.2. Description botanique

Le thym est un sous-arbuste nain fortement aromatique, formant des massifs plus ou moins denses (**SCHNEIDER, 2013**).

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



**Fig.02** : Fleur du *thymus vulgaris*.

### 1.2.3. Ecophysiologie

Il pousse sur des sols secs tels que les versants, les prairies et pentes rocailleuses arides moyennement montagne (**BIANCHINI et CORBETTA,1975 ; THURZOVA, 1978 ; GILLY, 2005 ; SCHNEIDER , 2013**) des sols légers et surtout calcaires et acides comme on le trouve aussi sur sols fertiles argileux mais non affaiblis, il nécessite des endroits ensoleillés exposition chaude et supporte la sécheresse comme il peut résisté à des températures (– 10C°). Son arôme est mieux quand il se développe sur les sols pauvres (**KRESANEK, 1985 ; GILLY,2005 ;TEUSCHER et al ., 2005** ).

### 1.2.4. Récolte

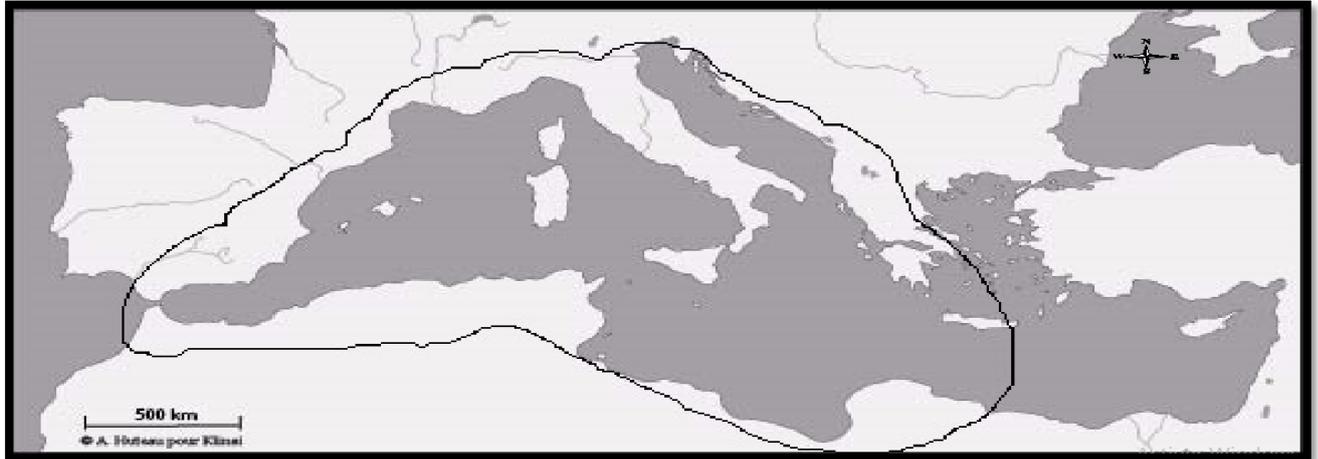
La récolte se fait toute l'année, la première en début de floraison et la seconde en automne mais l'arôme est meilleur entre juin et septembre, la teneur en HE est maximale en après midi (**TEUSCHER et al ., 2005 ; SCHNEIDER, 2013**) cette dernière concerne les rameaux, les feuilles et les fleurs, on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

### 1.2.5. Origine et distribution de l'espèce

#### 1.2.5.1. Dans le monde

D'après **GILLY (2005)**, le genre *thymus* est très diversifié, pour cela son aire de distribution géographique est très vaste surtout pour le *thymus vulgaris*, il est originaire de la région méditerranéenne occidentale, cultivé comme plante médicinale et aromatique en

Europe centrale et très répandu en Europe jusqu'à 1500 m d'altitude (**FLUCK , 1977 ; WOLFGANG , 2008 ; MAHBOUBI , 2014**) dans la péninsule ibérique du Sud de la France, de la côté Ouest et Sud de l'Italie ainsi que de la Grèce, le Nord d'Afrique, Espagne, Portugal. (**FRANTŠEK , 1992 ; TEUSCHER et al. , 2005 ; RODET, 2013**).



**Fig.03** : Répartition géographique du thym vulgare dans le monde ( <http://www.cartograf.fr>,2017).

#### 1.2.5.2. En Algérie

Commun dans les régions montagneuses de l'Algérie (**MAHMOUDI**) dans les montagnes de telle (**BELOUED, 2009**).Le thym vulgare réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien et du Constantinois à l'Oranais, répartie sur tout le littoral jusqu'à les zones arides (**MEBARKI, 2010**).

#### 1.2.6. Composition chimique du principe actif

Contient des composantes principales et d'autres tel que les tanins et les saponines et des principes amers des antiseptiques végétaux et d'autres substances gluosidiques, dans l'HE d'un thym d'origine Français, la teneur en thymol et Carvacrol atteindra 85%, le *p*-cymène jusqu'à 45%, le linalol, l' $\alpha$ -terpinol, le camphre, le mélange thymol jusqu'à 65% + carvacrol 5 à 10 % (**TEUSCHER et al. , 2005**).

#### Les composantes principales

- **Thymol** : (2-isopropyl-5-méthylphénol) c'est le phénol monoterpénoïde, le composant principal dans le *thymus vulgaris*, de couleur blanche possédant odeur aromatique et propriété divers (**BUCKINGHAM in IBRAHIM et AKEDI ,2016**)

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

**Tableau 01** : Principales composantes d'HE du thym qui présentent des propriétés antibactériennes (**BURT, 2004**).

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

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

### 1.2.7. Propriétés du thym

Des l'antiquité, il est employé à des fins thérapeutiques (**BIANCHINI et CORBETTA ,1975**) car il est pourvue de nombreuses propriétés et traite différents troubles organiques et dermatologiques (**MAHBOUBI, 2014**). Le thym possède des propriétés pharmacologiques utiles. Cette drogue est efficace dans le traitement des troubles digestifs (**FRANTŠK,1992 ; CHEVALLIER, 2007**) comme tisanes, salades, aromate des plats (**SCHNEIDER,2013**) pour la peau comme l'eczéma, le psoriasis, les brulures légères sans

oublier qu'il est important en cas de fatigue nerveuse (**LEFIEF,2012**) ainsi utilisée comme déodorant, son HE fait partie de dentisterie et cosmétologie (**VOLÀK et al ., 1983**) contre la coqueluche, ces tisanes sont utiles contre le gargarisme (**THURZOVA,1978 ; KRESANEK,1985**).

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

### 1.3. Origan

Plante vivace, thermophile l'une des plus rustique de la famille des lamiacées, ce genre regroupe plus de 30 espèces variés répartie dans le monde. Connu depuis l'antiquité, les égyptiens utilisaient mélangé avec le thym et d'autres éléments pour embaumer leur mort, comme son utilisation à d'autre endroit pour éliminer la mauvaise odeur car il est fortement aromatique quand on le froisse aux doigts (**BELOUED, 2009**). N'est que récemment trouvé sa place comme étant plante médicinale malgré son ancienne utilisation à fines thérapeutiques. Le nom de genre *Origanum* vient du grec origanon, qui serait la réunion des termes oros (montagne) et ganos (brillant), faisant allusion au fait que la plante scintille sur la montagne. Floribundum signifie très florifère.



**Fig.04:** *Origanum vulgare*.

### 1.3.1. Classification botanique :

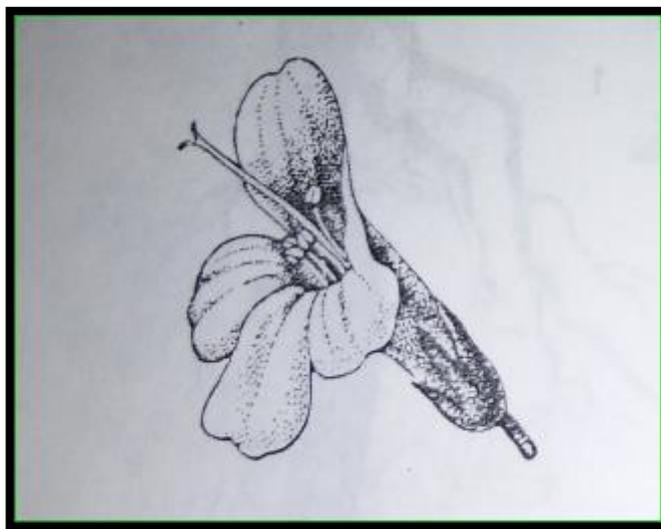
Cette espèce appartient, selon **CRETE ,1965** au :

<b>Règne</b>	Plantea
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Origanum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Origanum vulgare</i>

### 1.3.2. Description botanique

- Rhizome mince lignifié et peut ramifié et enfoncé dans la terre. (**FRANTŠEK, 1992**) ;
- Tige érigées et dressées velue, grêles à section carrée et arêtes saillantes et ramifiées dans le haut, chaque ramification se termine par une panicule de fleurs, de plus de 30-80 cm de haut souvent rougeâtre (**MAHMOUDI, S.N ; VOLÀK et al., 1983**) ;
- Feuilles opposées, ponctuées glanduleuses, ovale, à pétiole court, le plus basses sont les plus grandes. Leurs tailles diminuent vers le haut, longueur de 09 mm sur 03 mm de largeur, toutes les parties de la plante ont un arôme agréable. (**FRANTSEK, 1992 ; WOLFGANG, 2008 ; BELOUED, 2009**) ;
- Les fleurs en inflorescences très rameuses situées aux sommets des tiges, groupées en glomérules terminaux très denses, souvent purpurines et entourées de bractées ovales imbriquées, nombreuses d'une couleur rouge violet, de 4-7 mm (**FLCK,1977 ; BEZANGER et al ., 1980 ; BELOUED,2009**) calice en forme de cloche, à cinq dents, et corolle bilabiée carmin à rouge, à quatre pétales, lèvre supérieure droite, légèrement entaillée, lèvre inférieure à trois lobes , courbée vers le bas. Etamines saillantes, anneau

glanduleux producteur de nectar à la base de l'ovaire. (FRANTSEK,1992 ; MAHMOUDI ; SCHNEIDER et al .,2012) .



**Fig.05:** Fleur de l'origan (VOLÁK et al., 1983).

- Le fruit consiste en nucules brunes, ovoïdes et allongées, tétrakène lisse de 1 mm de longueur. Floraison de juillet à septembre (BEZANGER et al ., 1980 ; FRANTSEK, 1992).

### 1.3.3 . Ecophysiologie

C'est une plante qui règne les coteaux secs poreux et riches en humus et ensoleillés (les endroits baignés de lumière : les lisières, haies, prairies sèches et les bois claires) (VOLÁK et al., 1983 ;SCHNEIDER ,2012) ainsi les talus ensoleillés et clairières sèches, de la plaine à la montagne (FRANTSEK, 1992). Des sols calcaires et siliceux et acides. Elle se contente même des sols moins fertiles herbeux et non cultivés (FLUCK ,1977 ; THURZOVA, 1978 ; KRESANEK 1985 ; GILLY, 2005 ; TEUSCHER et al ., 2005) on la trouve dans toute l'Europe jusqu'à 1500 mètres d'altitude (MAHBOUBI , 2014).

### 1.3.4. Récolte

La récolte se fait d'avril à septembre par temps sec en été, l'herbe fleurie s'il s'agit de plantes jeunes (SCHNEIDER ,2012) on utilise en médecine seulement les sommités fleuries quand il s'agit de plantes plus âgées (THURZOVA ,1978 ;FRANTSEK, 1992).

### 1.3.5. Origine et distribution de l'espèce

#### 1.3.5.1. Dans le monde

Le genre *origanum* est présenté dans la zone s'étendant de la région méditerranéenne à l'Inde, par environ 30 espèces, cette espèce rustique est répartie dans toutes les régions tempérées d'Eurasie et s'étend jusqu'à l'Himalaya et la Sibérie centrale, l'Amérique du Nord (Canada) ailleurs il a été introduit (THURZOVA, 1978 ; FRANTSEK, 1992).

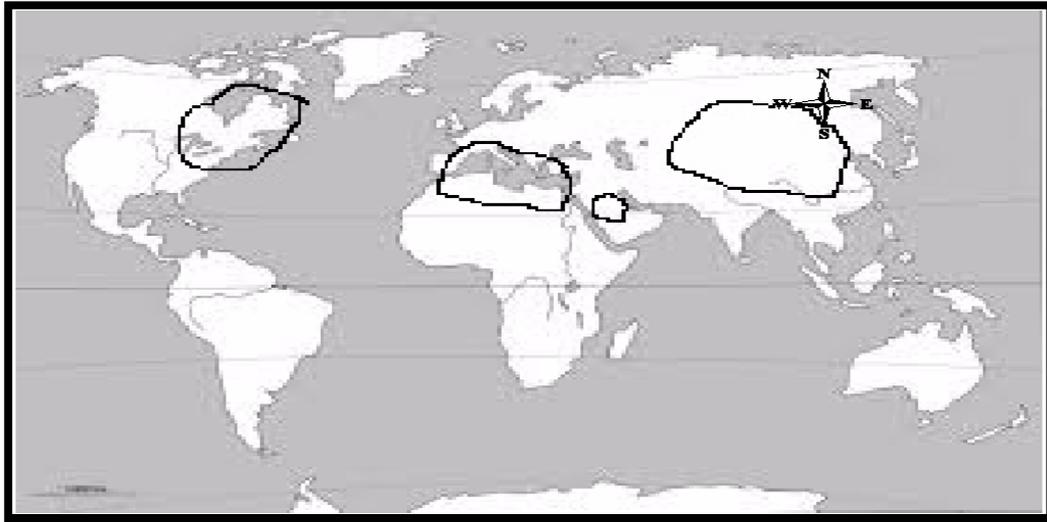


Fig.06 : Répartition de l'origan vulgare dans le monde ( <http://www.cartograf.fr>, 2017).

#### 1.3.5.2. En Algérie

Commun dans le tell algérien et sur tous en terrain sec ensoleillé plante endémique d'Algérie, elle pousse dans les pâturages et surtout en montagne jusqu'à 1 500 m d'altitude (MAHMOUDI).

### 1.3.6. Composition chimique

Très varié selon l'origine géographique de la plante ; basant sur la silice avec teneur principale : de thymol, carvacrol, puis des tanins qui sont des précipitants imperméabilisés des albumines. Les linallol, terpinène, organène et cimène, sont les principes amers qui ont pour rôle l'augmentation de la sécrétion des sucres digestifs et renforce l'appétit du malade du à cette propriété « amère », et des substances axillaires (FLUK, 1977 ; KERSANEK, 1985 ; FRANTSEK, 1992 ; MAHMOUDI).

- PHE : 0.3 à 1.5% jusqu'à 4% , de ses principes actifs sont généralement le carvacrol qui est majoritaire (teneur entre 40 à 70%) et accompagné de  $\gamma$ -terpinène (8 à 10%), de

*p*-cymène (5 à 10%), d' $\alpha$ -pinène ainsi le thymol et le myrcène.( **TEUSCHER et al ., 2005**).

- **Flavonoïdes** : notamment des hétérosides de lutéoline, d'apigénine et de naringénine.
- **Dérivés de l'acide hydroxycinnamique** (constituants amères typique des lamiacées) ( **TEUSCHER et al ., 2005**).

### **1.3.7. Propriétés de l'origan**

Cette plante à des propriétés très variés telles que : tonique, antispasmodique, carminatif, béchique et antinévralgique (**MAHMOUDI**) pour cela elle entre dans la composition de nombreuses médicaments et tisanes (**THURZOVA,1978**).

La saveur aromatique et amère de l'origan explique ses propriétés apéritives et digestives. La drogue et son HE possèdent des propriétés antibactériennes marquées, d'où notamment leurs utilisations pour désinfecter les plaies, les ulcérations, les brûlures et diverses lésions cutanées. Ainsi que ses vertus en cholagogue, sudorifique, emménagogue (**TEUSCHER et al ., 2005 ; CHEVALLIER, 2007 ; RODET, 2013**). Sans oublier son utilisation autant qu'épice appréciée sur tous dans les cuisines italiennes, grec, espagnole, française. Après il est introduit dans d'autres pays. Leurs propriétés sont assez voisines de

chapitre 02

Généralité sur

les huiles essentielles

## 2.1. Introduction

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

## 2.2. Définition d'une huile essentielle

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

## 2.3. Répartition systématique

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

- Les conifères : sapin, pin, cèdre
- Les apiacées : aneth, angélique, le fenouil, le cumin...
- Les astéracées : les achillées, l'armoise, la camomille...
- Les lamiacées : la lavande, le romarin, la menthe...

## 2.4. Synthèse et localisation

La partie dont là quelle la plante extraite les H.E est très diversifier, elle peut être la plante entière comme elle peut être une partie d'elle comme l'écorce, la feuille, les tiges, les racines, les fruits, les rhizomes... (**FESTY, 2008**)

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

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

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

## **2.5. Rôle des H.Es au niveau des plantes**

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

## **2.6. Caractères physico-chimiques**

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

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

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

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

## **2.7. Propriétés générales des huiles essentielles**

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

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

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

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles elle est de l'ordre de 0,1% à 1%, ceci explique le coût élevé de l'HE, à l'exception de quelques-uns comme par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence. L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarisée, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont contenues des molécules asymétriques. Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Dans l'air c'est des propriétés désodorisantes et purifiantes. Se sont les seules alternatives aux antibiotiques (**FESTY, 2008 ; MORO BURONZO, 2009**).

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

## **2.8. Domaine d'application des H.Es**

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

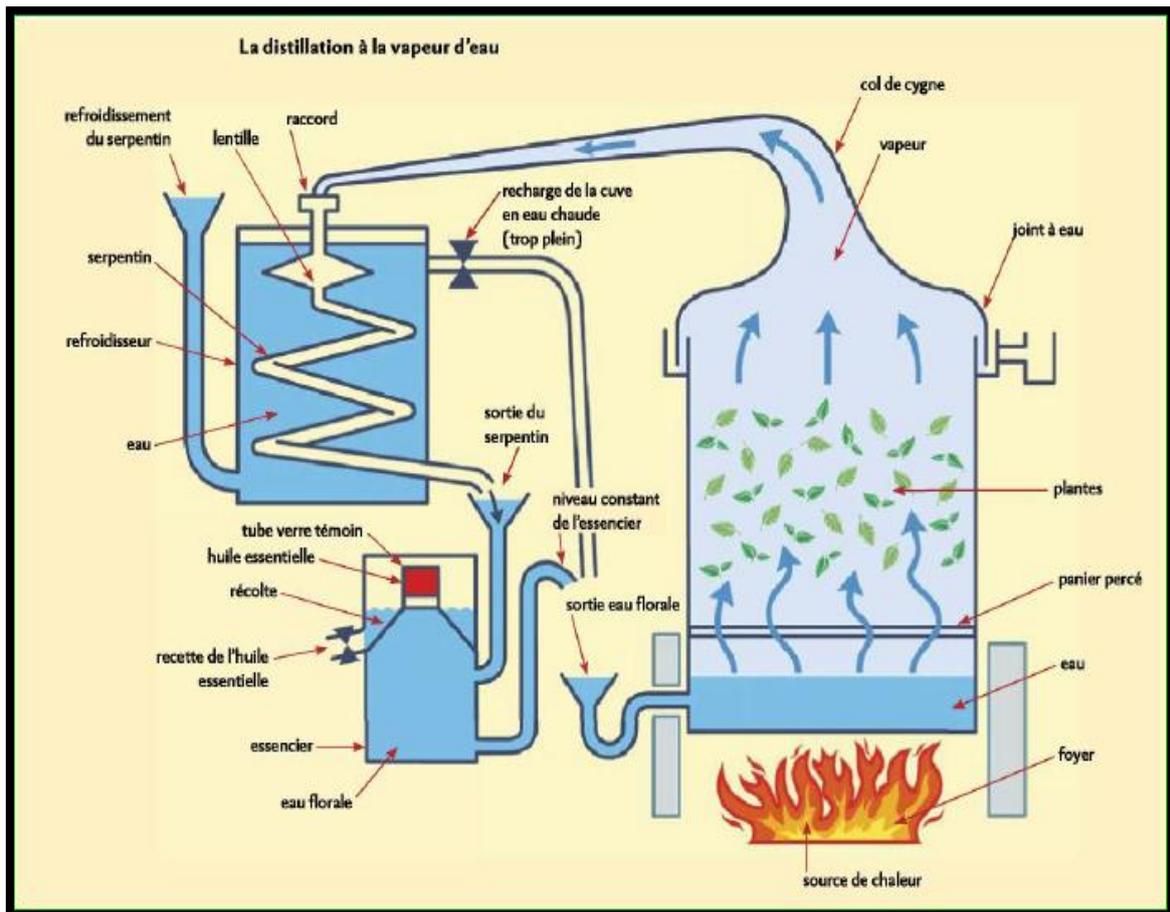
Les H.Es ont un gain dans l'industrie alimentaire puisqu'elles sont des substances bio rien que bio, elles sont utilisées dans la conservation des aliments ça est dus à leur vertus antimicrobienne importante contre plusieurs agents pathogènes tel que les moisissures... utilisé aussi comme arômes alimentaires pour enrichir le gout ainsi la couleur des aliments.

## **2.9. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles**

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

### **2.9.1. La distillation (hydro distillation)**

C'est le procédé le plus ancien et le plus utilisé, nécessite l'emploi de trois cuves reliées par de minces tubes. Les parties choisies de la plante sont placées dans une première cuve, traversée par la vapeur d'eau qui se charge au passage des huiles, elle se passe à la deuxième cuve. En suite, la vapeur se refroidit et se condense en passant dans un compartiment pour arriver dans la troisième cuve ou elle redevient liquéfiée (eau et essence) , et les huiles se désolidarisent séparée de l'eau puisqu'elles sont légères reste flottantes en surface gardant ses propriétés on les récupèrent après par la décantation .le temps de la distillation varie selon l'essence concernée, cette méthode nécessite des températures élevées qui ne conviennent pas toujours aux fleurs plus fragiles.( **ANSEL,2003 ; FESTY,2008 ; MORO BURONZO,2009 ; WILSON,2010**).



**Fig.07** : Extraction des huiles essentielles par hydro distillation ( **BENETEAUD,2011**).

### 2.9.2. L'expression

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



**Fig.08** : Extraction des huiles essentielles par expression ( **BENETEAUD,2011**).

### **2.9.3. L'enfleurage**

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



**Fig.09** : Extraction des huiles essentielles par enfleurage (LISAN,2014).

#### **2.9.4. L'extraction par solvant**

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel, consiste à dissoudre les essences dans un solvant volatil et non pas dans l'eau tel que le benzène et l'éthanol. Elle est utilisée pour les fleurs délicates qui ne supportent pas la chaleur de la distillation, après macérées dans le solvant, se charge des molécules odorantes en dissolvant les composantes parfumées des plantes. Pour récupérer l'H.E on élimine le solvant par évaporation. On obtient ce qu'on appelle la concrète, un parfum cireux, demi solide.

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

### 2.9.5. L'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique

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

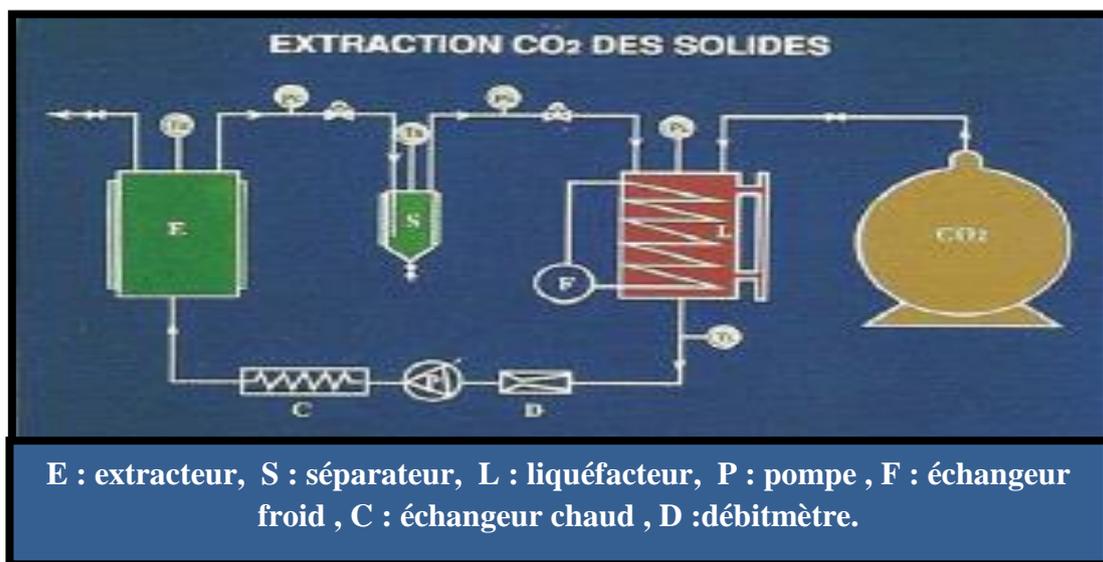
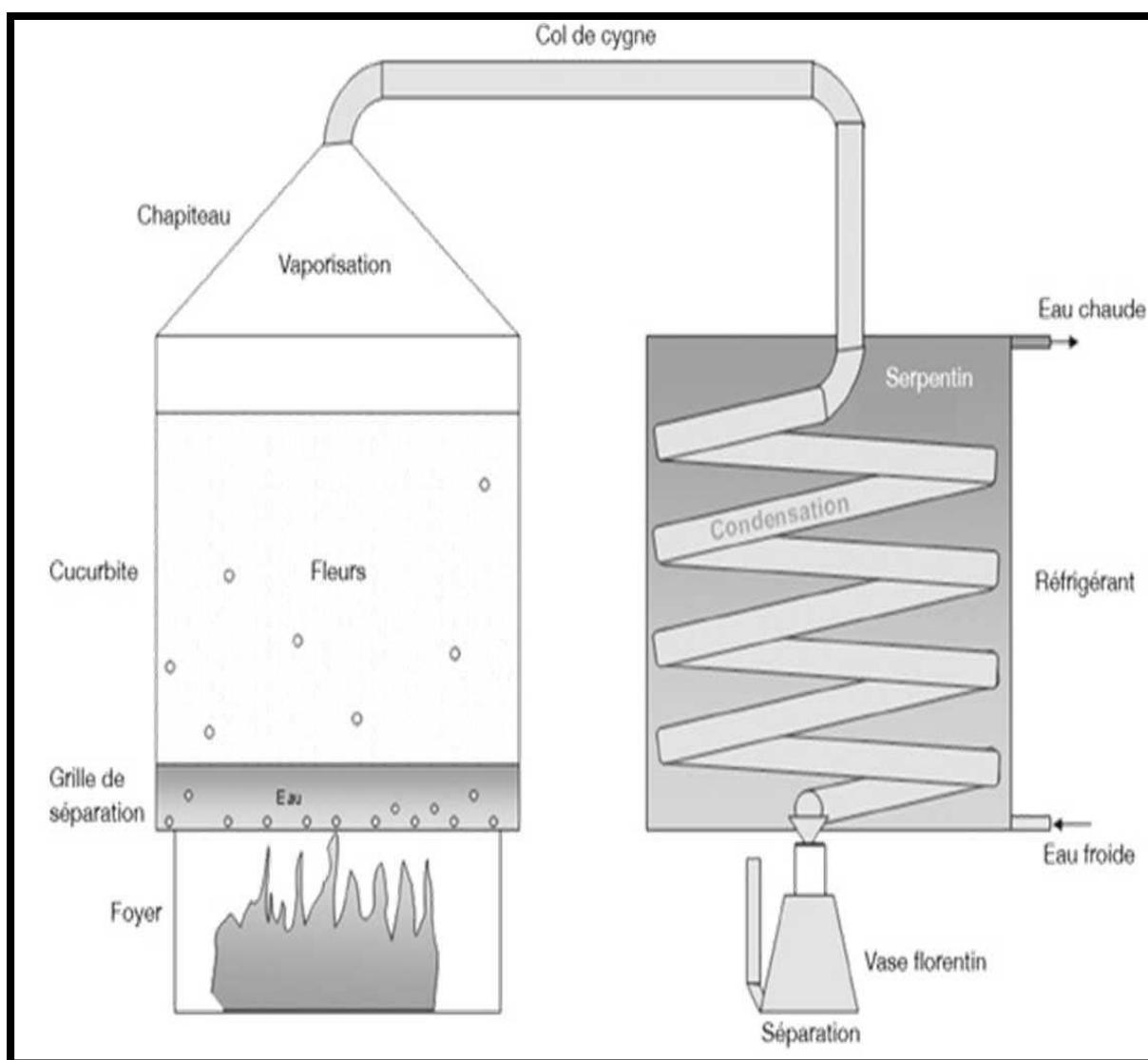


Fig.10 : L'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique (BENETEAUD,2011).

### 2.9.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche

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

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



**Fig.11:** L'extraction par entraînement à la vapeur sèche. (BENETEAUD, 2011).

Partie

expérimentale

chapitre 03

Zone d'étude



### 3.2. Climat régional

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

### 3.3. Présentation de la commune de Sidi bakhti

Notre zone d'étude se trouve dans la commune de Sidi bakhti qui se situe au sud ouest de chef lieu de la wilaya à 37 km comme le mentionne la fig.14, d'une superficie de 214 km<sup>2</sup>. Cette région est marquée par un relief de collines et des versants embrassé de massifs culminants à 1205.63 m d'altitude, marquant que le plus bas point à 619.812 m.

Ce relief varie entre normale et peu accidenté avec une pente de 0.042 à 59.86%.la zones est occupée par plusieurs influents permanent et temporaire.

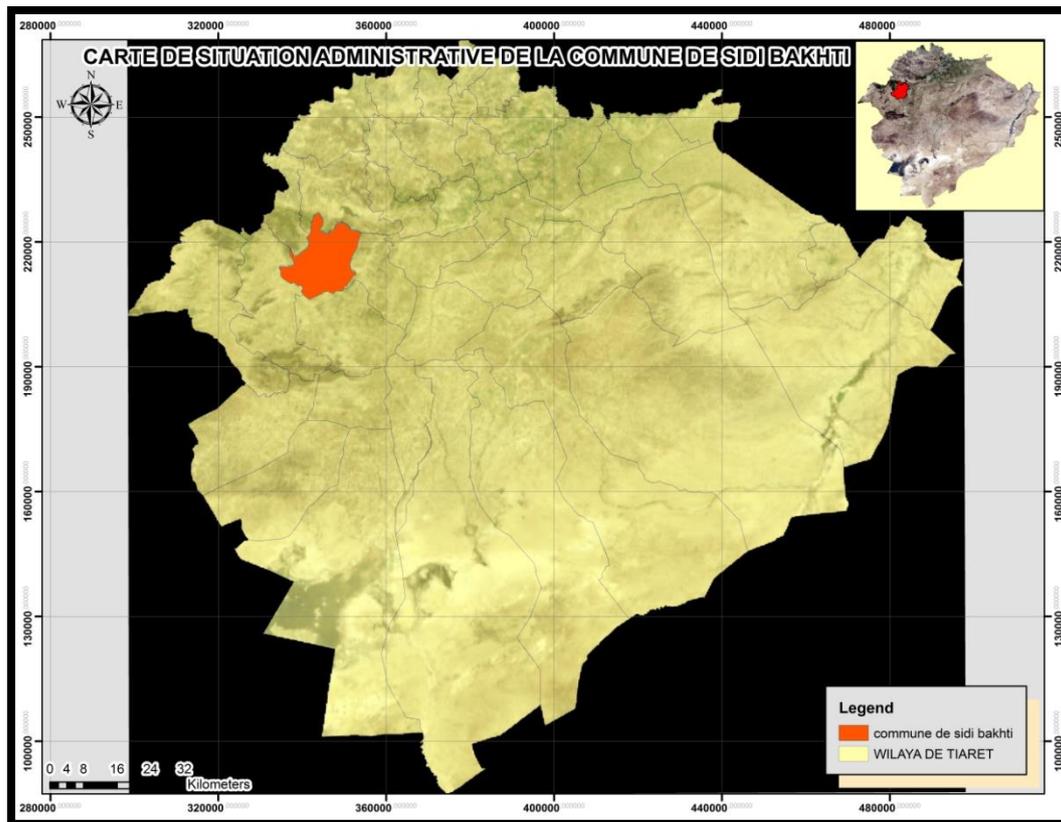
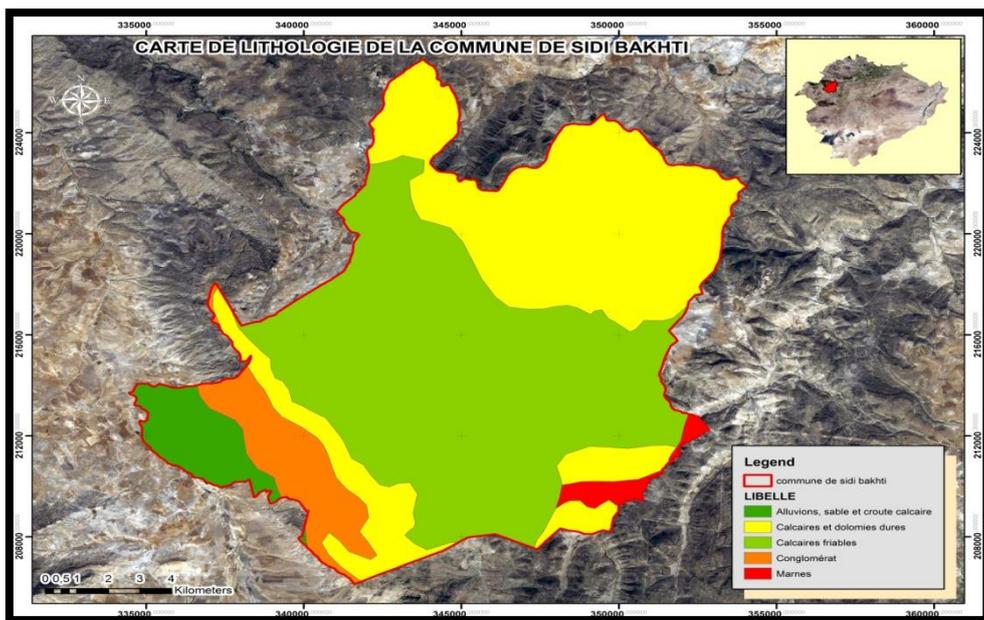


Fig.13 : la situation de la commune de Sidi bakhti (C.F.T,2017).

Sa lithologie présente une diversification entre les sols marnes, conglomérat, calcaires friables, calcaires et dolomies dures ainsi des alluvions sable et croute calcaire. Mais les plus dominants sont les sols calcaires friables au centre et calcaires associé à des dolomies dures dans le nord de la station, cette composition donne une stabilité aux sols.

Les sols de la commune de Sidi bakhti ambent différents occupations, sont :

- Sol agricole ;
- Alfa ;
- Forêt ;
- Maquis ;
- Maquis arboré ;
- Parcours ;
- Reboisement.



**Fig.14** : Carte de lithologie de Sidi bakhti (C.F.T,2017).

Avec une végétation variées et éparpillé (**Annexe 02**), on remarque :

- Chêne kermès (*Quercus coccifera*)
- Thuya de Berbérie (*Tetraclinis articu- lata*)
- Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*)
- Chêne vert (*Quercus ilex*)
- Genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus. L*)
- Olivier sauvage (*oléastres*)

- Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)
- Phyllaie.
- Romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Ainsi un tapis herbacé contenant : l'Alfa, Diss (*Ampélodesmos*), Doum, Thym, l'Origan.

Sans oublier les cultures maraichères y compris les pommes de terre, carottes, concombres, poivrons....(D.S.A,2016).

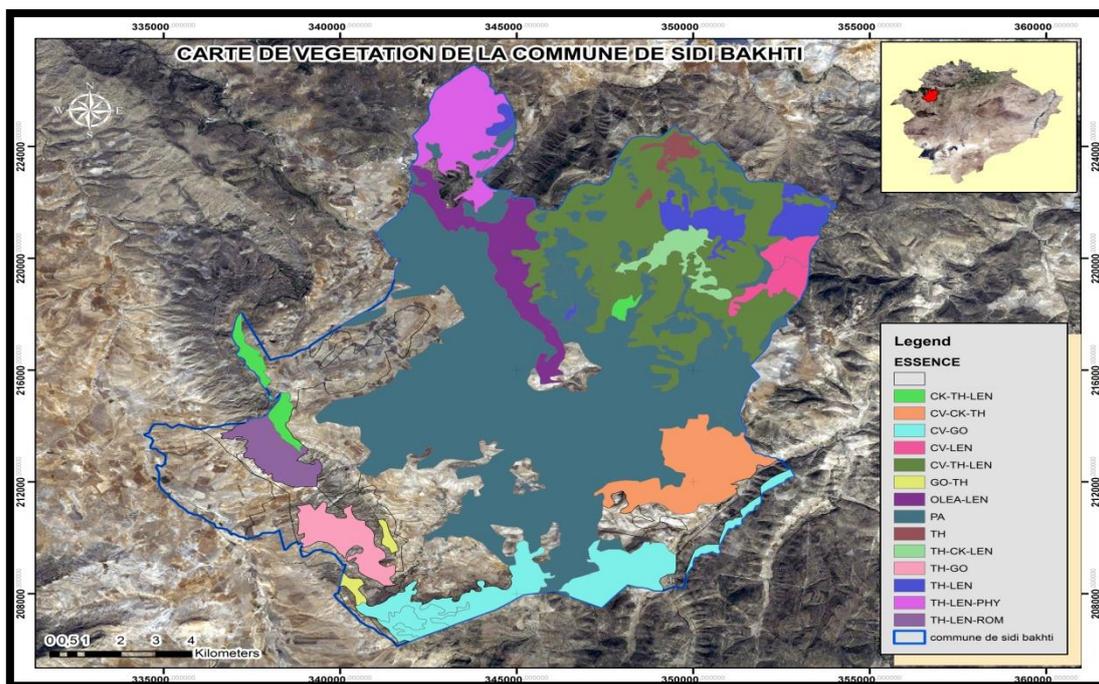


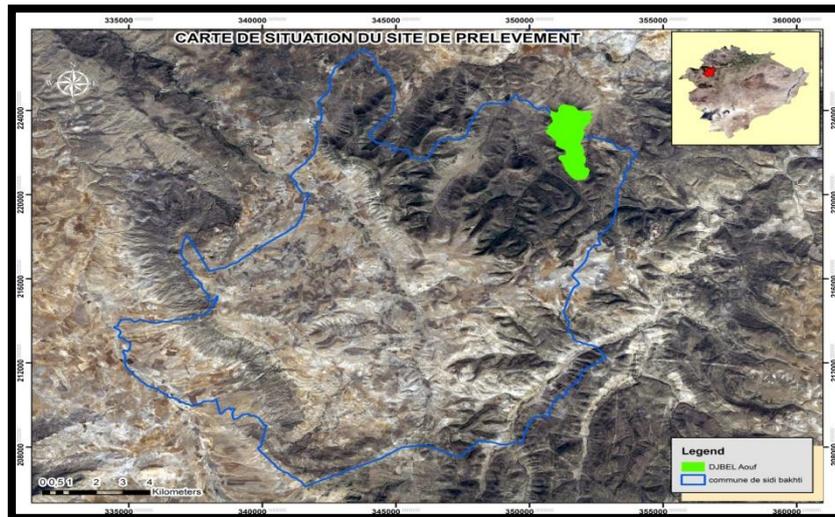
Fig.15 : Carte de végétation de la commune de Sidi bakhti (C.F.T,2017).

### 3.4. Présentation du site de prélèvement

Notre zone d'étude se limite au niveau d'une montagne dit Djebel Aouf située dans le nord est de la commune de Sidi bakhti, cette montagne coïncide avec l'ensemble tellien, avec la vallée de la Mina autour du barrage de Bakhadda et occupe une superficie de 1870 h avec le versant nachef.

Il s'étant entre 900 et 1000 m d'altitude, l'exposition du sommet est nord ouest et ouest- sud ouest avec des versants raides. Un terrain accidenté des pentes entre 32.2% à 42% (Annexe 03).

La zone fait partie d'un grand massif forestier où il y'a présence des essences suivantes : Chêne vert, Thuya de Berberie, Pistachier lentisque et le pin d'Alep sur un sol carrément calcaire et dolomies dures.



**Fig.16** : La situation de djbel Aouf- Sidi bakhti (C.F.T,2017).

### 3.5. Climat du site de prélèvement

Le climat représente le facteur fondamental qui détermine la distribution des organismes, dont l'influence s'exerce et peut être perçue à toutes les échelles d'observation de la biosphère (GUINIER, 1995; LACOSTE et al., 2006 in MOKHFI, 2012).

Dans le but de pouvoir caractériser le climat d'une station ou d'une localité, nombreux indices, formules et expressions graphiques ont été proposés. Ces diverses formulations font toutes intervenir températures et précipitation comme principaux variables (LACOSTE et al., 2006 in MOKHFI, 2012).

La zone de Sidi Bakhti se caractérise par un climat de type méditerranéen, contraste avec une saison estivale sèche et chaude alternante avec une saison hivernale pluvieuse, fraîche voire froide. Les précipitations enregistrées, plus faibles, présentent une grande variabilité inter-mensuelle et interannuelle. Les régimes thermiques sont relativement contrastés de type continental.

Pour pouvoir identifier le climat de la zone d'étude, nous nous sommes référés aux données climatiques enregistrées par la station météorologique d'Aine Bouchakif mentionné dans le site tutienpo pendant la période **2000-2016**. La différence altitudinale entre la zone d'étude et celle de la station météorologique est de 35 m.

#### 3.5.1. Précipitations

La concordance relativement étroite qui se manifeste, à l'échelle du globe, entre pluviosité générale et répartition des grands biomes, suffit à démontrer l'importance du facteur eau sur la distribution des organismes (LACOSTE et al., 2006 in MOKHFI, 2012).

Les précipitations enregistrées durant la période 2000-2016 font l'objet de présentation du tableau 02.

**Tableau 02 :** Précipitations mensuelles moyennes enregistrées dans la station AIN BOUCHAKIF durant la période 2000-2016.

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Précipitations (mm)	48.59	49.61	43.8	45.75	33.8	17.47	6.09	13.69	42.45	43.34	56.47	48.4

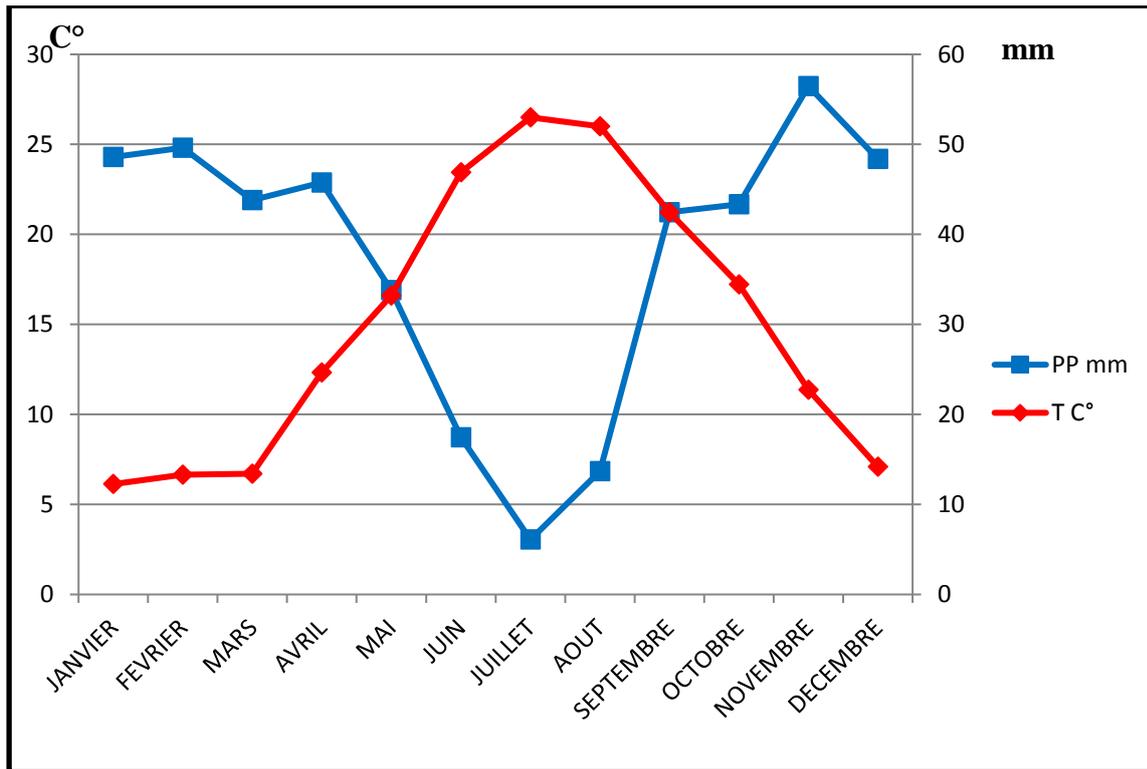
### 3.5.2. Températures

Les températures enregistrées durant la période 2000-2016, sont relevées dans le tableau 03.

**Tableau 03 :** Températures mensuelles moyennes enregistrées dans la station AIN BOUCHAKIF durant la période 2000-2016.

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Températures (°C)	6.13	6.65	6.7	12.32	16.6	23.44	26.5	26	21.23	17.22	11.37	7.1

Comme le montre la **fig.17**, les périodes sèche et humide de la zone d'étude sont déterminés à travers le diagramme ombrothermique de GAUSSEN établi à partir des données de précipitations et de températures.



**Fig.17** :Diagramme ombrothermique de la zone d'étude (djebel Aouf).

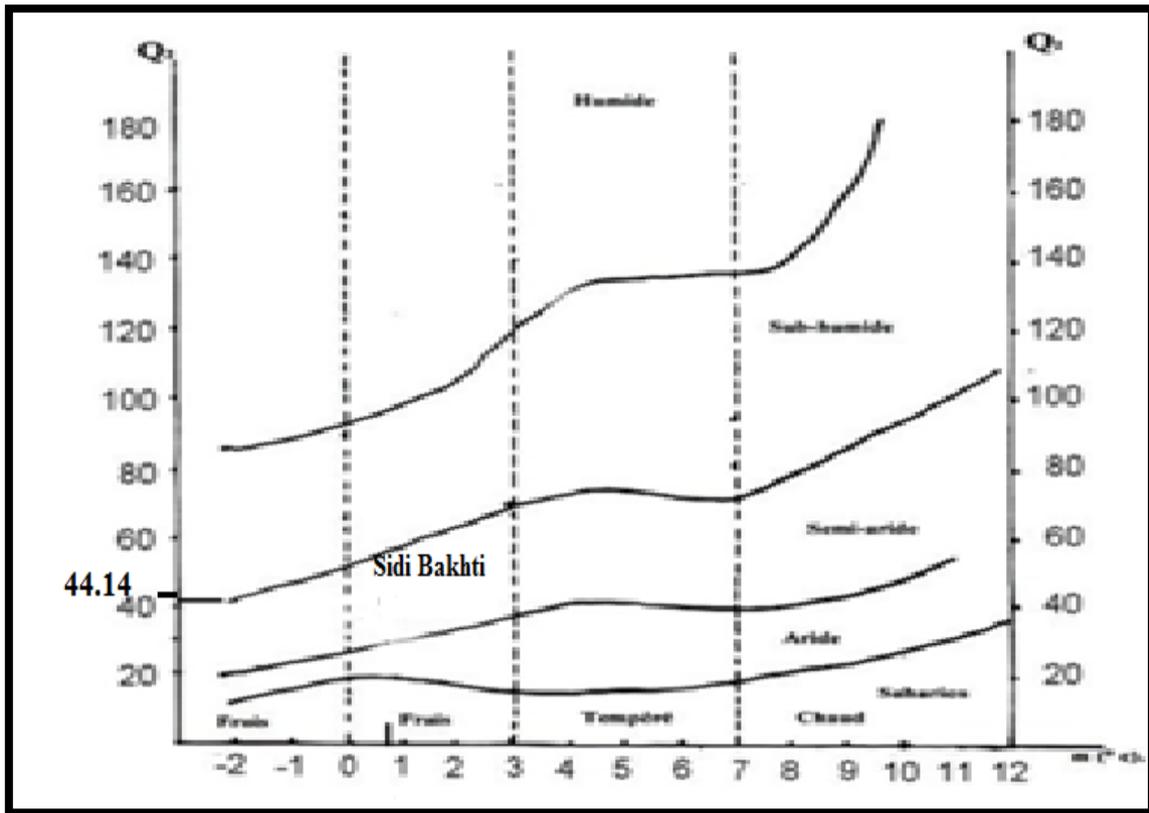
A travers le tracé du diagramme ombrothermique de la zone d'étude Fig.18, il en ressort que la période sèche s'étale de la moitié du mois de mai jusqu'à la moitié du mois de septembre de l'année. Les températures les plus basses y sont enregistrées au courant des mois de janvier, février et mars, alors que les températures maximales durant les mois de juillet et d'août.

L'étage bioclimatique de la zone d'étude est déterminé sur la base du quotient pluviométrique d'EMBERGER « Q<sub>2</sub> » (GUINIER, 1995 in MOKHFI, 2012).

$$Q_2 = 3,43 * PP / TM - T_m$$

$$Q_2 = 3.43 * 449.46 / 35.53 - 0.6$$

$$Q_2 = 44.14.$$



**Fig.18** :Localisation de la zone d'étude dans le climagramme d'EMBERGER.

D'après le Climagramme d'Emberger de la région de Sidi Bakhti entre 2000-2016 cette région se trouve dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais.

# chapitre 04

## Matériels et méthodes

#### 4.1. Objectif de travail

Le but de notre étude est :

- L'extraction des huiles essentielles du *thymus vulgaris* et du *origanum vulgare* par la méthode d'hydro distillation et voir leurs activités (effet) antibactériennes vis-à-vis des certaines souches (*Escherichia Coli* « E.Coli » , *Staphylococcus Aureus* « S.A » et *Pseudomonas Aeruginosa* « P.A » ) selon un Protocole bien déterminé dans l'organigramme suivant.

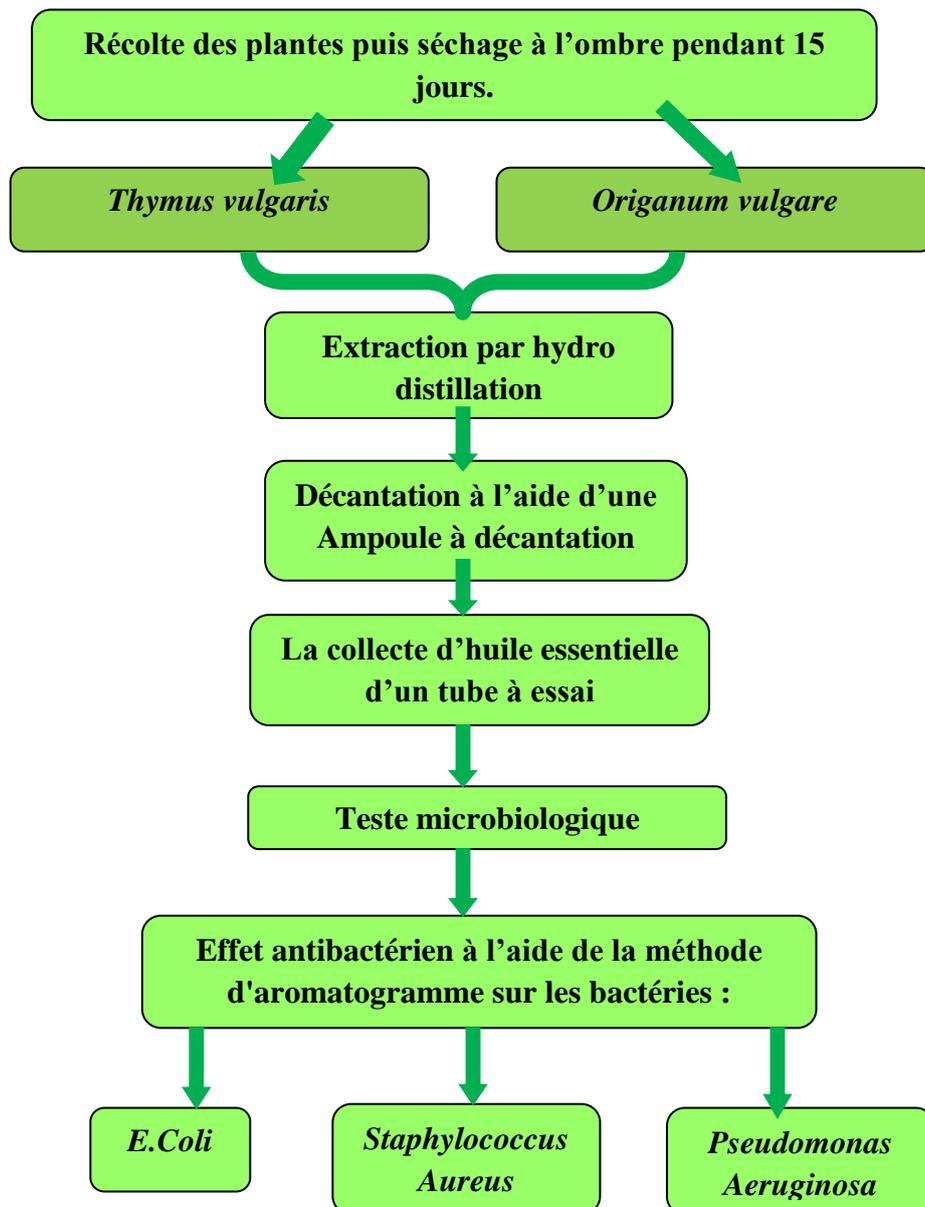


Fig.19 : Protocole expérimental.

## 4.2. Lieu et période d'étude

L'extraction et l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des touffes de *thymus vulgaris* et *origanum vulgare* réalisée au laboratoire de biotechnologie végétale et de microbiologie" au niveau de la faculté de science de la nature et de la vie de l'université **Ibn khaldoun –Tiaret-** débutée le 22 février de l'année 2017 jusqu'à 30 mai.

## 4.3. Matériels

### 4.3.1. Matière Végétale

Les touffes de *thymus vulgaris* et *origanum vulgare* ont été récoltées de la région de la wilaya de Tiaret (Sidi bakhti, djebel Aouf). Les feuilles ont été fraîchement récoltées au mois de septembre 2016 sur des touffes spontanés. Après un séchage à l'ombre en endroit sec et aéré, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et de l'humidité (**fig. 20**).



**Fig.20** : Séchage et pesé des touffes des deux espèces (thym et origan).

### 4.3.2. Souches bactériennes testés

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

- Des bactéries Gram négatif : *E.Coli ATCC (25922)* et *P.A ATCC (27853)*.
- Des bactéries Gram positif : *S.A ATCC (25923)*.

#### 4.3.3. Milieux de Cultures utilisées

D'après **GACHKR et al (2006)**, selon les souches bactériennes et les méthodes employées , les milieux de cultures utilisé sont les suivants (**Annexe 04**) :

- ✓ Milieux de cultures sélectifs: **Chapman** :La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans l'huile. **Mac conky** : La gélose de Mac Conkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Salmonella, des Shigella, ainsi que des bactéries coliformes dans eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale
- ✓ Mueller Hinton : C'est le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens .Ce milieu est préparé selon la méthode suivante :on pèse avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente **29.4 g** dans un ballon en y ajoutant **700 ml** d'eau distillée (selon les flacons utilisés).

Le mélange de la poudre-eau distillée mit dans un bécher est chauffé sur un agitateur magnétique à l'aide d'un barreau magnétique pendant **20 min** afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux. Le milieu MH est ensuite réparti dans des flacons stériles remplis 3/4 avant d'être autoclaves pendant **15 min** à **121°C** avec une pression de **1 bar**.

### 3.3.4. Matériels du laboratoire

#### 3.3.4.1. Verreries et appareillages

Les différents verreries et appareillages utilisée sont mentionnés dans le tableau suivant;

**Tableau 04:** Verreries et appareillages utilisés.

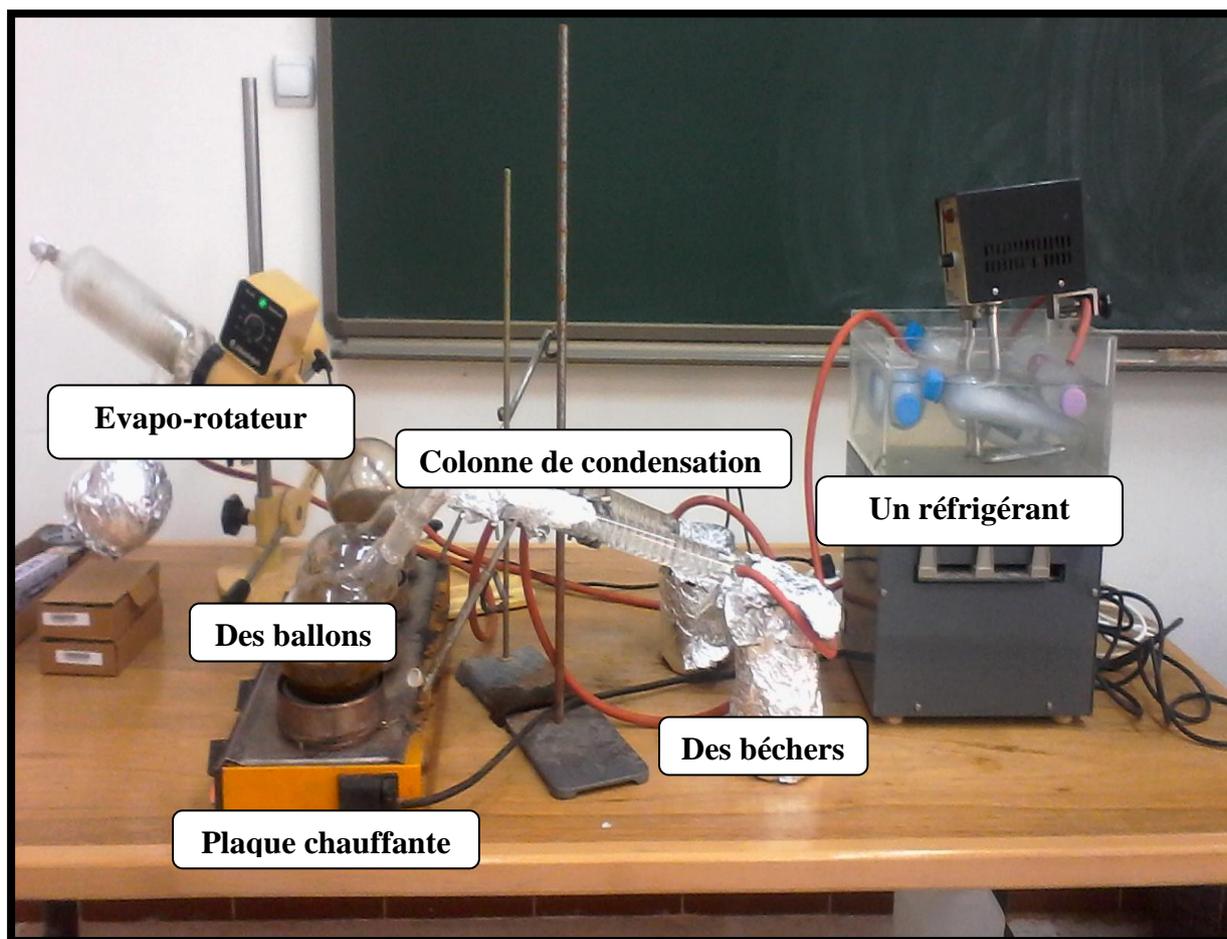
Verreries et autres	Appareillages
Ampoule à décantation	Hydro distillateur
Ballon	Bec bunsen
Barreau magnétique	Autoclave
Béchers	Agitateur
Boites de Pétri	Balance
Flacons	Cuve
Lance métallique	Incubateur
Micropipette	Pied à coulisse
Papiers watt man	Spectrophotomètre
Pipette de Pasteur	Stérilisateur
Pince	Vortex
Tubes à essai	
Verre de montre	
Cristallisoir	
Pissette	

### 3.4. Méthodes

#### 3.4.1. Extraction des huiles essentielles

##### 3.4.1.1. Montage d'extraction

D'après **BENETEAUD,(2011)** L'extraction des HEs des touffes de *thymus vulgaris* et *origanum vulgare* est faite par un hydro distillateur de type Clevenger. Il est constitué d'une plaque chauffante, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur lié à un réfrigérant (**fig.21**).



**Fig.21** : Dispositif d'hydro distillation.

#### 4.4.1.2. Procédé d'extraction

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

Le distillat obtenu est récupéré dans un bécier mit d'une ampoule à décanter. En fin, le distillat est recueilli dans un tube à essai et les huiles essentielles des deux espèces seront par la suite récupérées dans un tube à essai.

#### 4.4.1.3. Conservation de l'huile

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

#### 3.4.1.4. Détermination du rendement d'extraction

Selon **TOURE (2016)**, le rendement en huile essentielle (Rd), est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse d'H.E et la masse de la plante séchée. Il est donné par la formule suivante : **Rd** %= (m1/m0)\* 100

**Rd**: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%) ;

**M1** : la masse en gramme d'H.E

**M<sub>o</sub>**: la masse en gramme de la plante séchée.

### 3.4.2 Test microbiologique

#### 3.4.2.1. Préparation des suspensions bactériennes

##### 3.4.2.1.1. Revivification des souches

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

- Milieu Chapman pour *S.A* et *P.A*
- Milieu Mac Conky pour *E.coli*.

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

#### 4.4.2.1.3. Préparation des aliquotes et standardisation

**DURAFFOUR et al., (1990)** signale que des cultures jeunes de 18 heures, sont préparées par l'ajout de quelques colonnes bactériennes à 9 ml d'eau physiologique (**Annexe 05**) mit dans des cuves pour la lecture à l'aide d'un spectrophotomètre (**Annexe 06**).

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

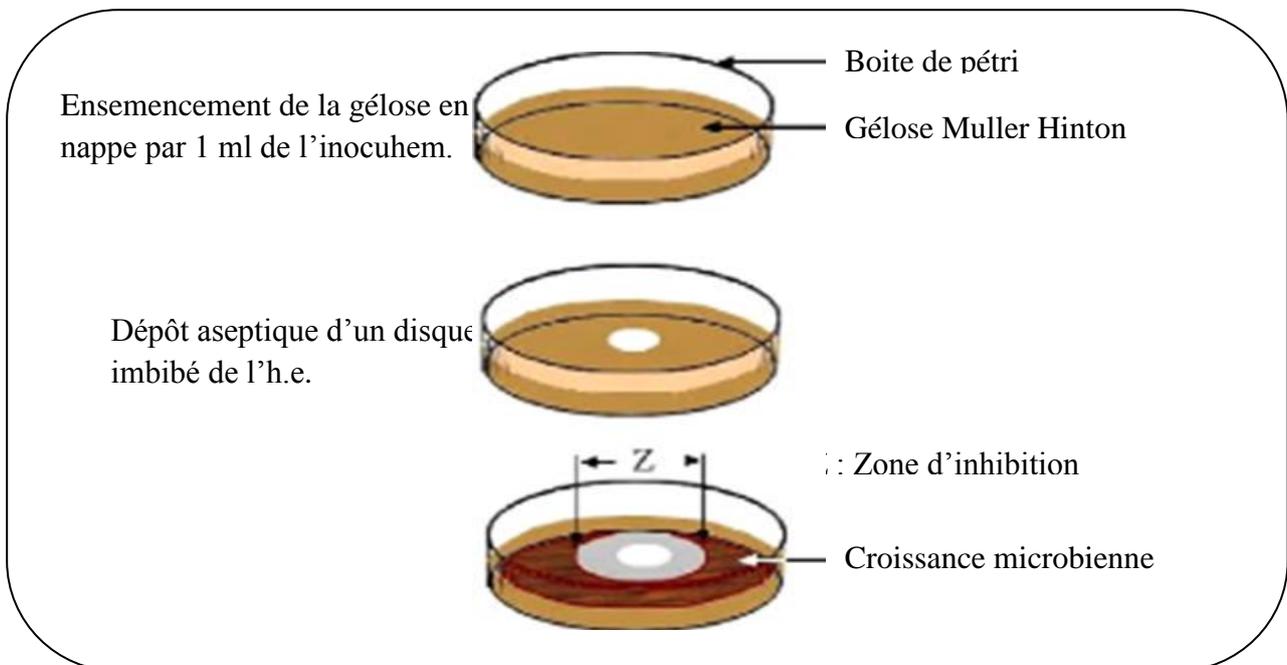
Une dilution par l'eau physiologique doit être effectuée pour standardiser les suspensions bactériennes à 10<sup>6</sup> germes / ml.

#### 4.4.2.3. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

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

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

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition qui varie selon la méthode utilisée (**Annexe 07**).



**Fig.22:** Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boitez de Pétri (**ZAIKA, 1988**)

# Chapitre 05

## Résultats et discussions

## 5.1. Résultats et interprétation

### 5.1.1. Calcul du rendement d' H.Es obtenu

Les calculs sont faits à partir des mesures de la masse des plantes séchées et la masse d'H.E obtenues montrés dans le **tableau 05**.

**Tableau 05** : le rendement des huiles essentielles obtenu par hydro distillation.

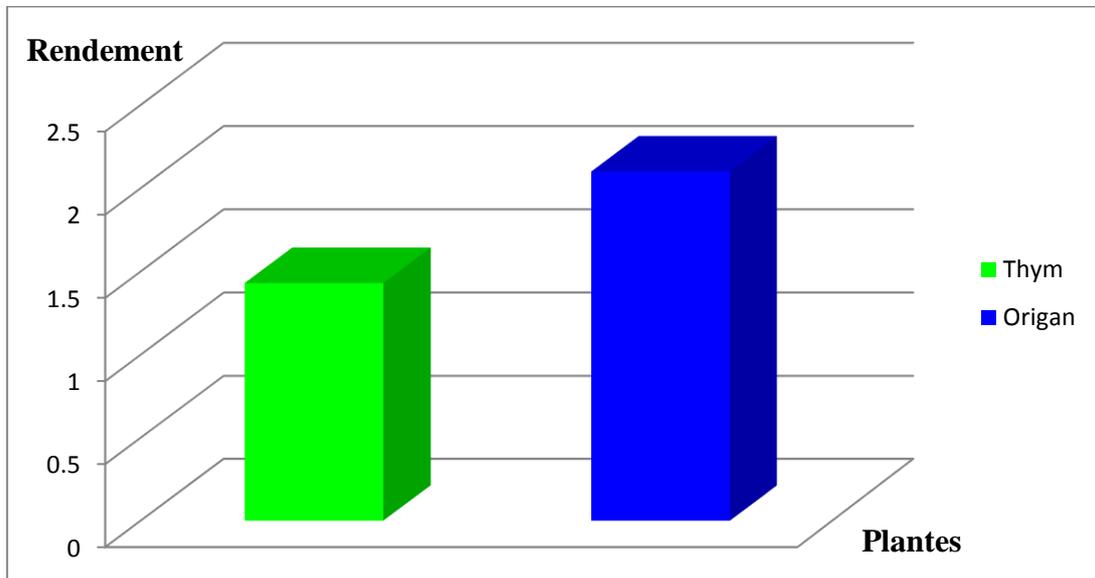
	Plantes					
	Thym			Origan		
	m <sub>o</sub>	m <sub>l</sub>	R 1	m <sub>o</sub>	m <sub>l</sub>	R 1
Essais n° 1	50 g	0,4283	0,8566%	50 g	1,1004	2,2008%
Essais n° 2	50 g	0,7722	1,5444%	50 g	0,5678	1,1356%
Essais n° 3	50 g	0,7046	1,4092%	50 g	1,277	2,554%
Essais n° 4	50 g	0,8636	1,7272%	50 g	1,1	2,2%
Essais n° 5	50 g	0,8162	1,6324%	50 g	1,2	2,4%
la somme	250 g	3,5849	7,1698%	250 g	5,2452	10,4904%
		moyenne	1,43%		moyenne	2,10%

Les résultats démontrent un rendement moyen du thym de l'ordre de 1,43%, Par ailleurs, on note une variation du rendement entre 0.85% et 1.72% .

Le rendement en huile essentielle calculée pour l' origan , est de l'ordre de 2.10%. avec une valeur minimale égale à 1.13% et une autre maximale égale 2.5% . (**Annexe 08**)

Ces paramètres influencés par plusieurs facteurs : l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), La période de récolte, traitement après récolte ainsi que la durée de stockage du matériel végétal peuvent entraîner de profondes modifications sur l'essence **BOUZIDI , (2016)** et la méthode d'extraction, le solvant d'extraction, le temps d'extraction.

La comparaison entre les valeurs du rendement en huile essentielle de ces deux espèces qui appartiennent à la même famille, démontre que l'origan est plus riche en huile essentielle que le thym (**fig.23**) .



**Fig.23** : Comparaison entre le rendement d'huile essentielle du thym et l'origan.

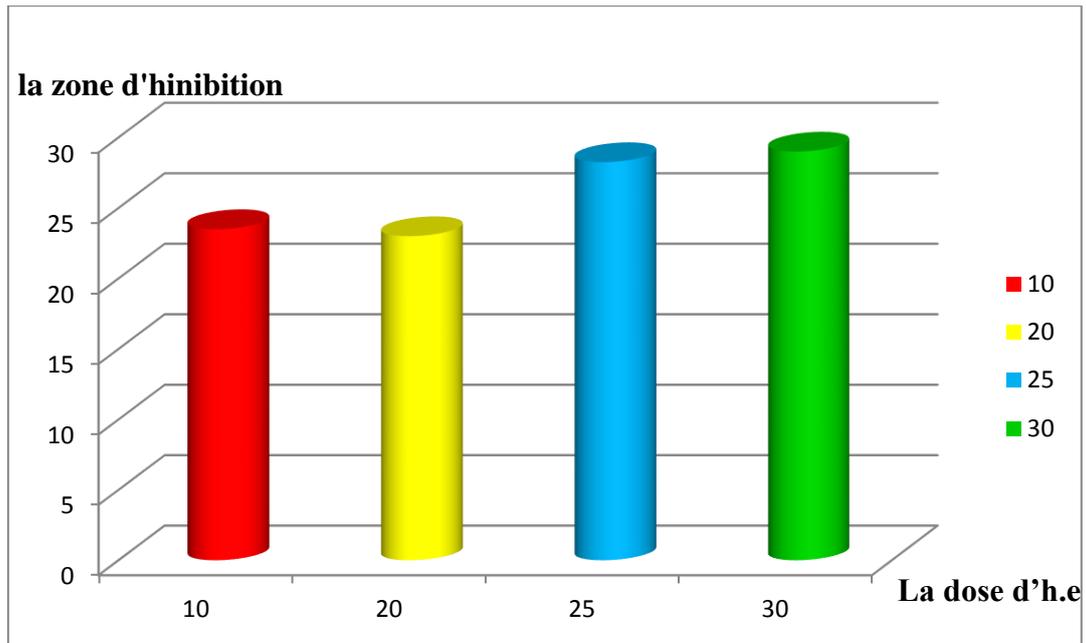
## 5.1.2. L'activité antibactérienne des huiles essentielles

### 5.1.2.1.Thym

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du thym en utilisant la méthode d'aromatogramme (diffusion sur disque), nous a permis de démontrer l'effet bactéricide de cette huile essentielle envers les bactéries Gram( -) *E.COLI* (**tableau 06 et fig. 24**) .

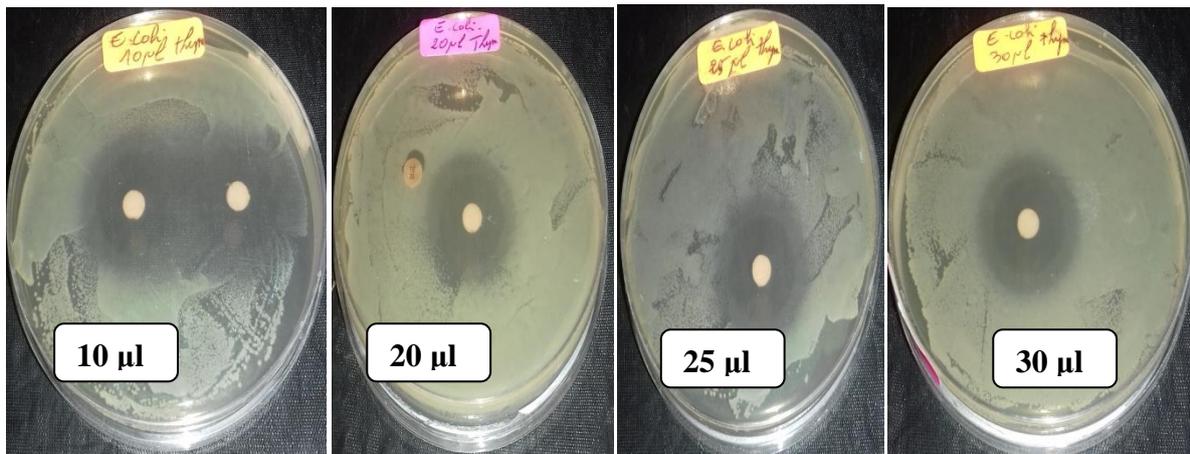
**Tableau 06** : L'effet antibactérien d'H.E du thym sur la bactérie *E.COLI*.

<b>µl</b>	10	20	25	30
<b>mm</b>	23,5	23	28,25	29



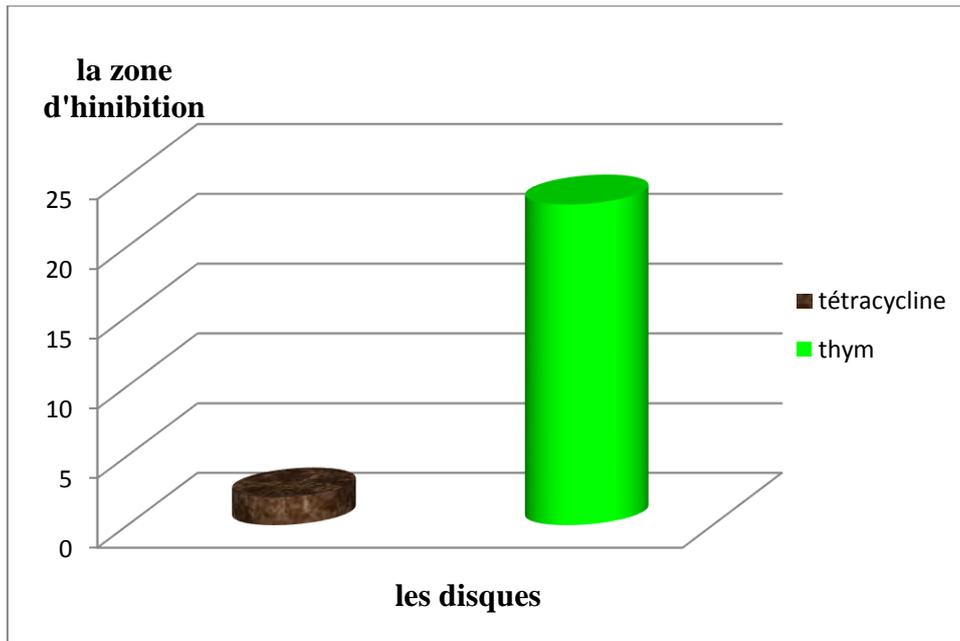
**Fig.24 :** Effet inhibiteur d'H.E du thym sur la souche *E.coli* .

Il en ressort que la zone d'inhibition est très importante avec des valeurs moyennes oscillant entre 23,5 mm pour la dose 10  $\mu$ l , et 29 mm pour la dose 30  $\mu$ l.

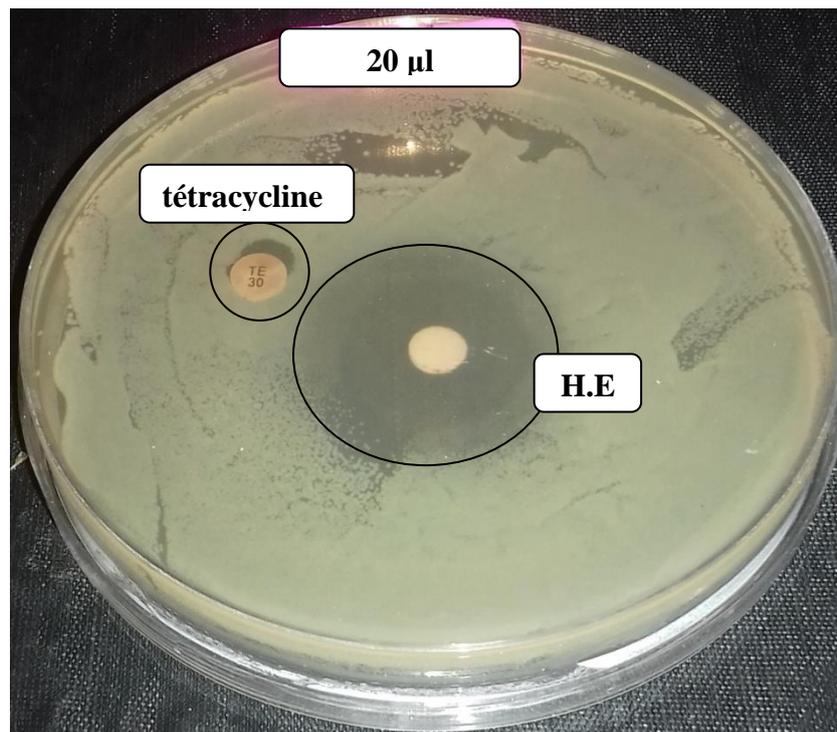


**Fig.25:** La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'*E. Coli* suivant les doses utilisées de l'H.E du thym .

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



**Fig.26** : Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique tétracycline avec l'*E. Coli*.



**Fig.27** : Comparaison entre l'effet inhibiteur d'H.E du thym et le disque antibiotique tétracycline sur l'*E. Coli*.

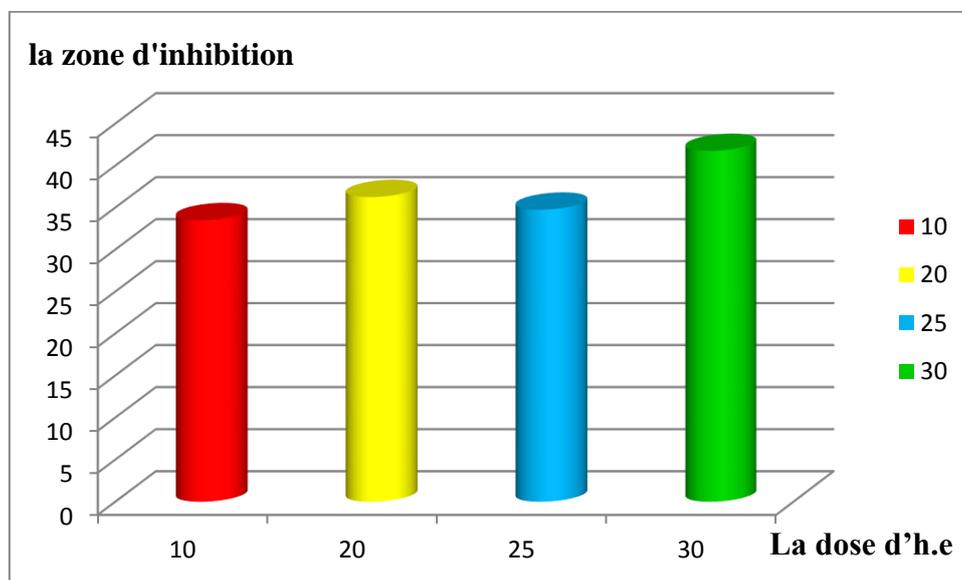
Pour la deuxième bactérie « *Staphylococcus Aureus* », les testes réalisés ont montré efficacité très importante de l'HE du thym en vers ces bactéries gram (+), les valeurs des

diamètres moyennes de la zone d'inhibition varient entre 33,5 mm et 41,75mm. (**tableau 07**).

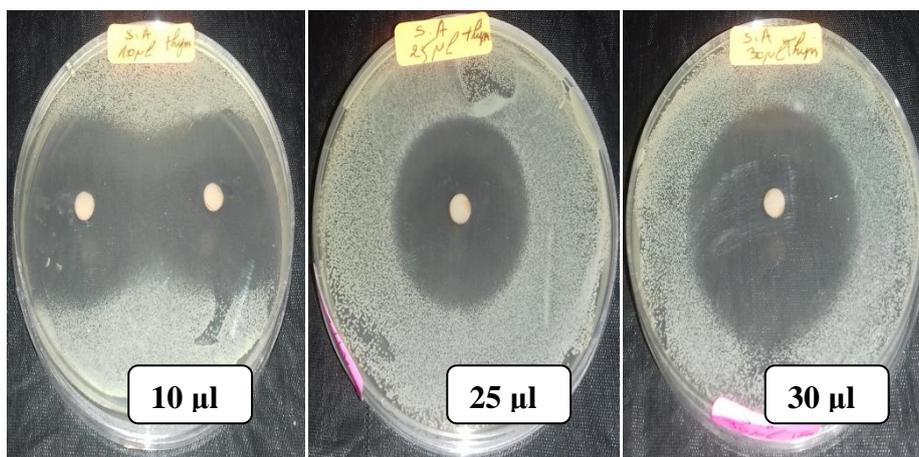
**Tableau 07:** l'effet antibactérien d'H.E du thym sur la bactérie *Staphylococcus Aureus* suivant différentes doses.

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

Les **fig.28** et **29** explicitent mieux l'importance de l'efficacité de l'huile pour les différentes doses utilisées .

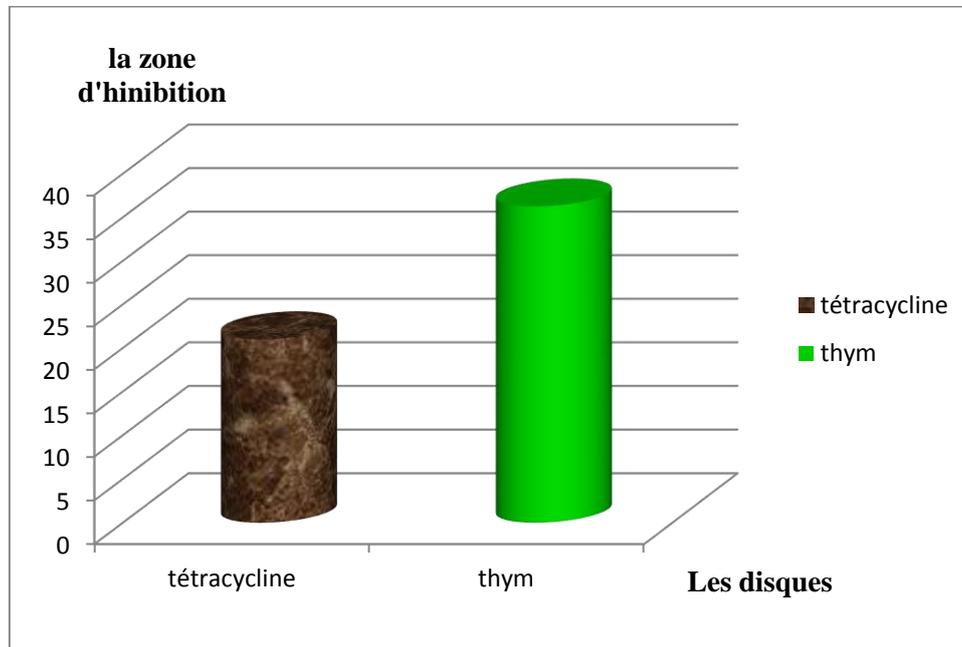


**Fig.28 :** Effet inhibiteur d'H.E du thym sur la souche S.A.

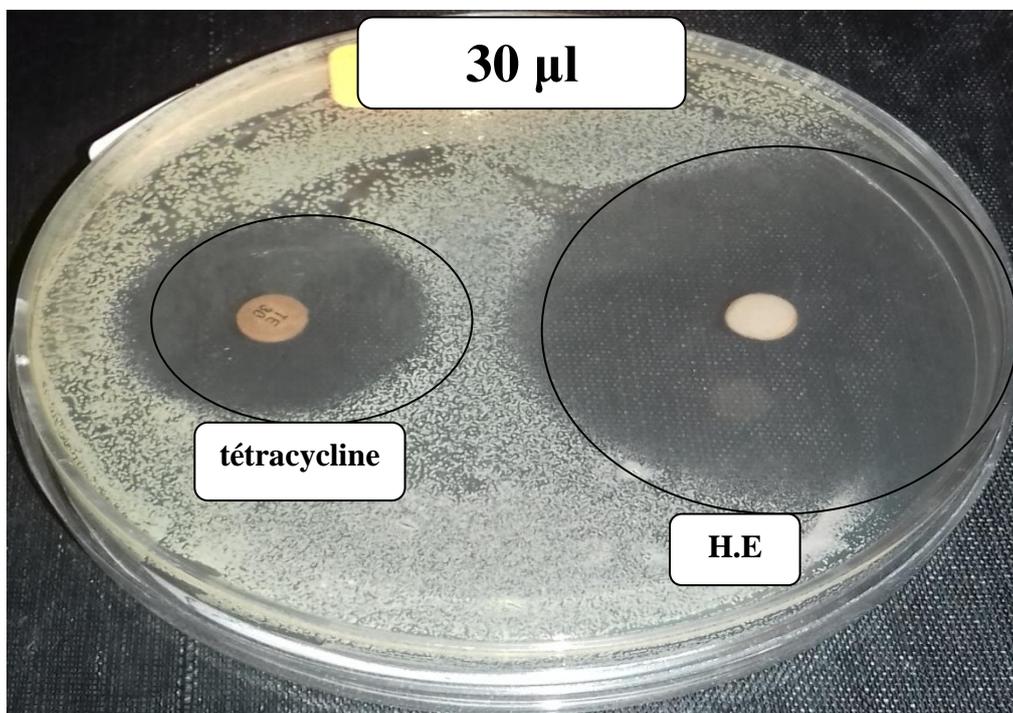


**Fig.29 :** La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de S.A suivant les doses utilisées de l'H.E du thym .

Une comparaison entre l'effet antibactérien de l'HE de *thymus vulgaris* et le témoin tétracycline, montre que les staphylocoques sont plus sensibles à l'HE que le témoin (fig. 30 et 31).



**Fig.30** : Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E du thym et celui du disque antibiotique avec la souche S.A.



**Fig.31** : Comparaison entre la zone d'inhibition d'H.E de thym et le disque antibiotique tétracycline sur le S.A.

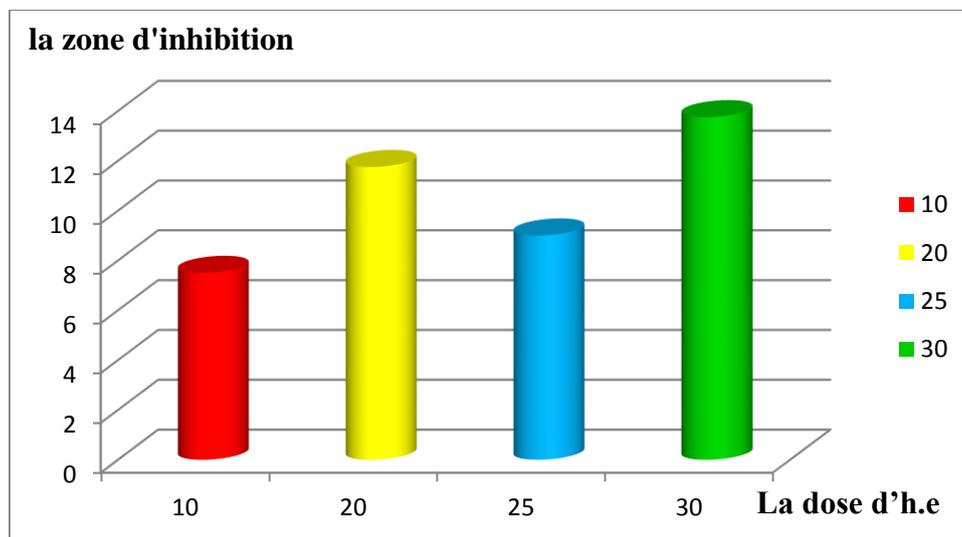
Les résultats obtenues, nous ont incité de tester l'efficacité de cette huile sur une bactérie plus résistante, il s'agit de *Pseudomonas Aeruginosa*.

La lecture du **tableau 08** et les **fig. 32** et **33**, démontre que la bactérie *P.A* est moins sensible à l'huile essentielle du thym, il en ressort que la dose 30  $\mu$ l est la dose la plus efficace contre cette bactérie, avec un effet bactériostatique.

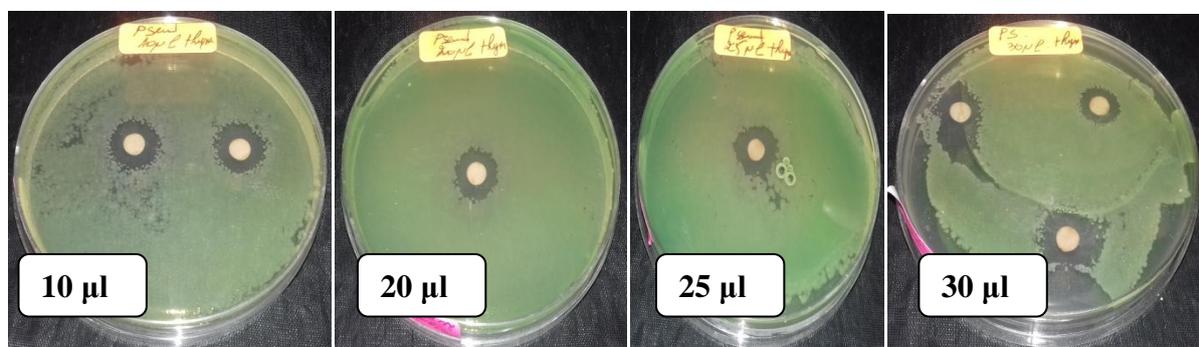
La valeur moyenne minimale des zones d'inhibition est de l'ordre de 7,5 mm, elle est enregistrée pour la dose 10  $\mu$ l.

**Tableau 08** : l'effet antibactérien d'H.E du thym sur la bactérie *P.A*.

$\mu$ l	10	20	25	30
mm	7,5	11,75	9	13,75

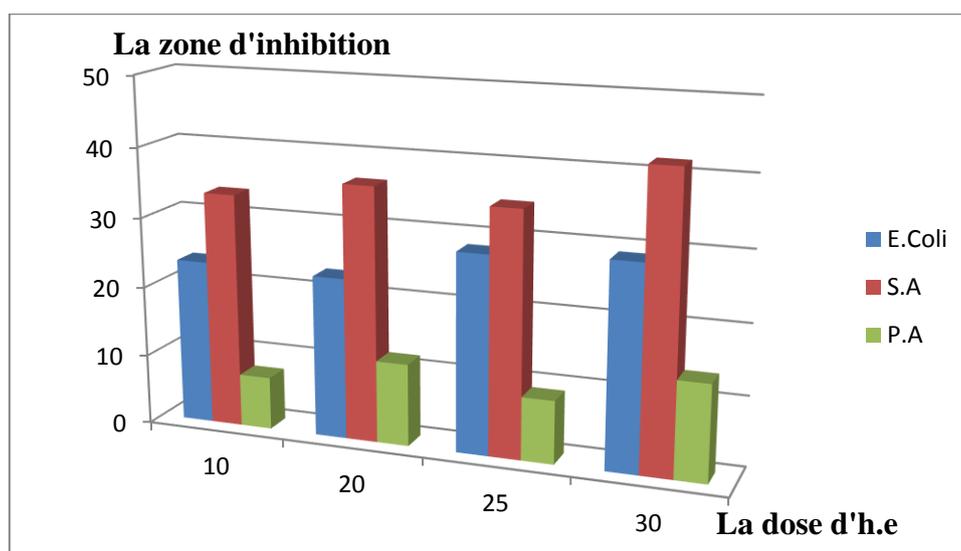


**Fig.32** : Diamètres des zones d'inhibition de la souche *Pseudomonas Aeruginosa* par l'effet d'H.E du thym.



**Fig.33** : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de la souche *P.A* suivant les doses utilisées de l'H.E du thym.

A travers les résultats, il en ressort que, les bactéries Gram(+) sont plus sensibles à l'huile essentielle du thym que les bactéries Gram (-) pour les différentes doses utilisées. (fig.34).



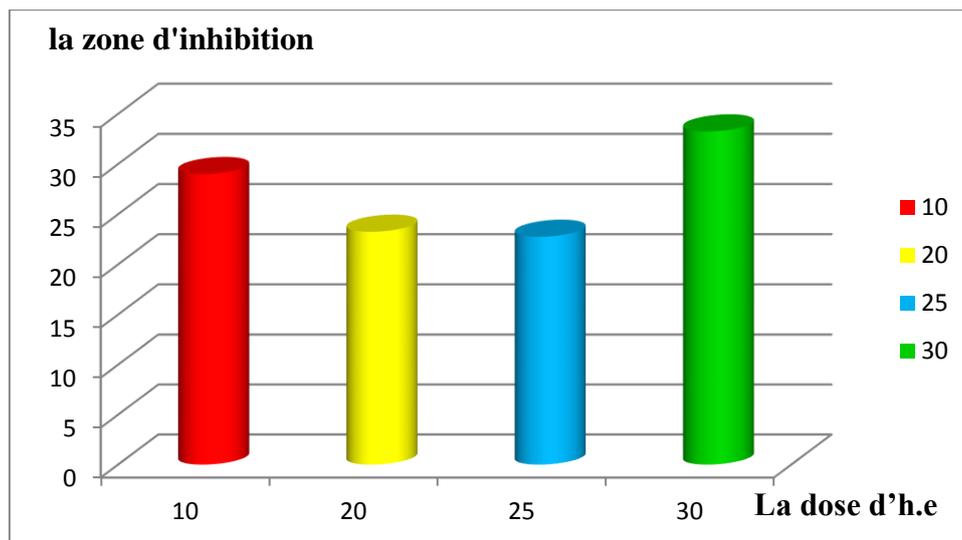
**Fig.34** : La comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E du thym.

#### 5.1.2.2. Origan

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'origan en utilisant la méthode d'aromatogramme (diffusion sur disque), nous a permis de démontrer l'effet bactéricide de cette huile essentielle envers les bactéries Gram (-) *E. COLI*. (tableau 09 et fig. 35) .

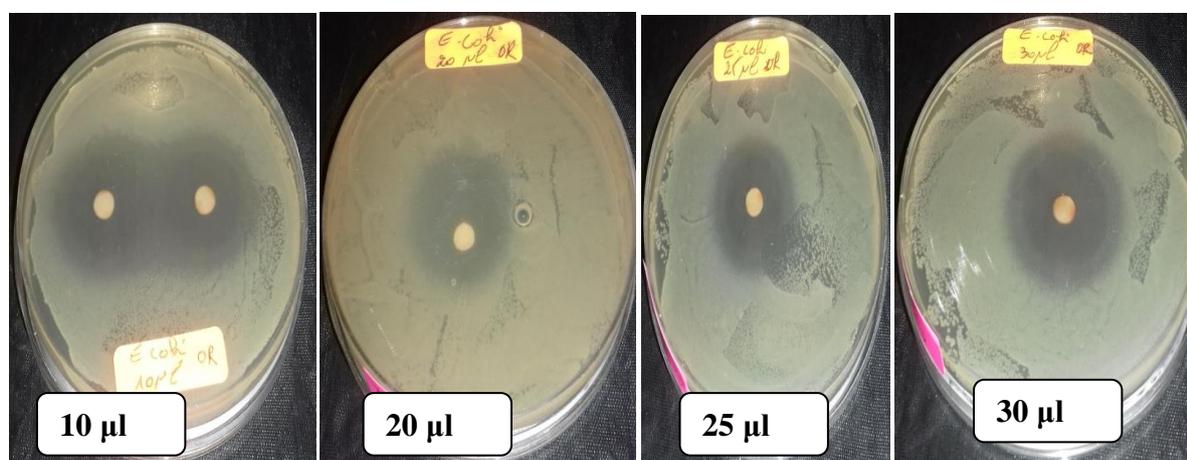
**Tableau 09** : L'effet antibactérien d'H.E d'origan sur la bactérie *E. Coli*.

µl	10	20	25	30
mm	29	23,25	22,75	33,25



**Fig.35 :** Diamètres des zones d'inhibitions de la souche *E.Coli* par l'effet d'H.E d'origan.

A travers les résultats obtenus, il en ressort que la zone d'inhibition est grande avec des valeurs moyennes oscillant entre 22,75 mm pour la dose 25  $\mu$ l, et 33,25 mm pour la dose 30 $\mu$ l.

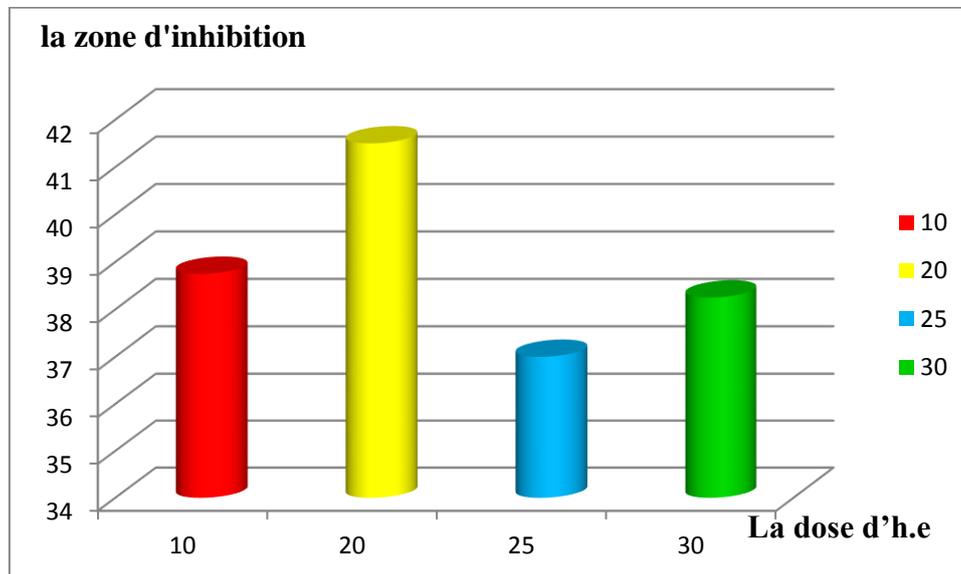


**Fig.36 :** La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'*E.Coli* suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan .

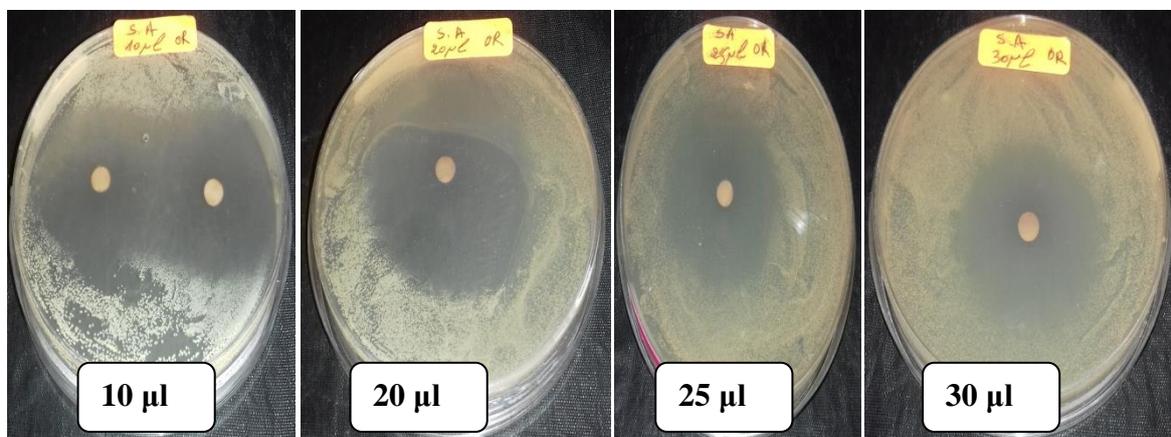
Pour la bactérie *Staphylococcus aureus* et a partir des résultats obtenus (**tableau 10** et les **fig. 37** et **38**), on remarque que l'huile est très efficace et présente un effet bactéricide. Cette efficacité est justifiée par un diamètre de zone d'inhibition très élevé pour toutes les doses. La valeur minimale enregistrée est égale à 37 mm et la valeur maximale est égale à 41,5 mm.

**Tableau 10** : L'effet antibactérien d'H.E de l'origan sur la bactérie S.A.

$\mu\text{l}$	10	20	25	30
mm	38,75	41,5	37	38,25



**Fig.37** : Diamètres des zones d'inhibition de souche S.A sous l'effet d'H.E d'origan.

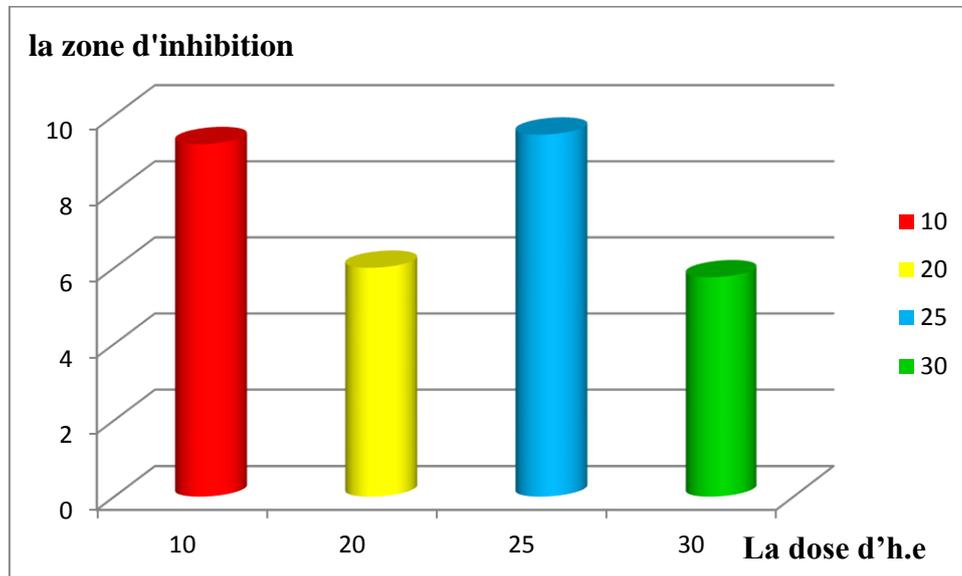


**Fig.38** : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de S.A suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan.

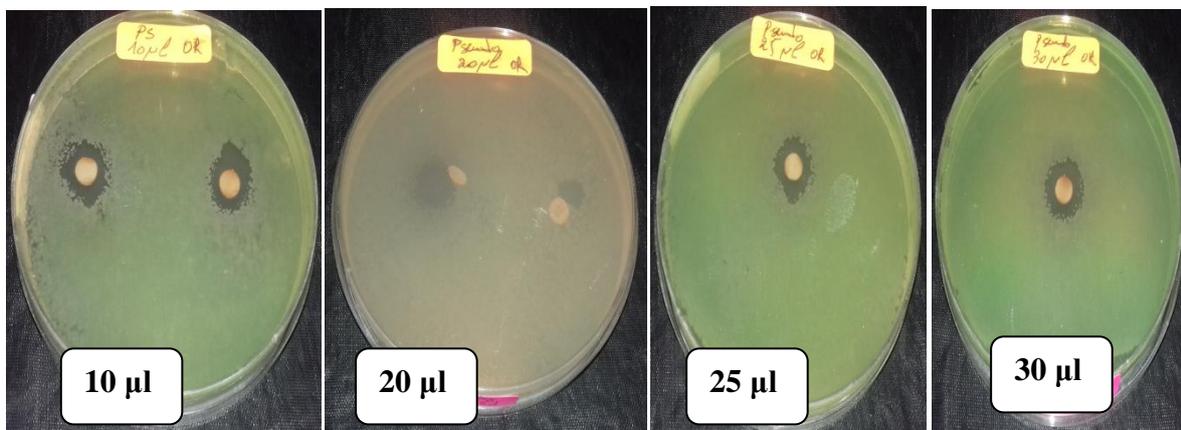
A partir des résultats obtenus pour la souche bactérienne pseudomonas A( **tableau 11** et les **fig.39** et **40**) , on déduit que la bactérie pseudomonas est moins sensible à l'huile essentielle d'origan, La valeur moyenne minimale des zones d'inhibition est de l'ordre de 5,75 mm.

**Tableau 11** : l'effet antibactérien d'HE d'origan sur la bactérie *P. A.*

<b>µl</b>	10	20	25	30
<b>mm</b>	9,25	6	9,5	5,75



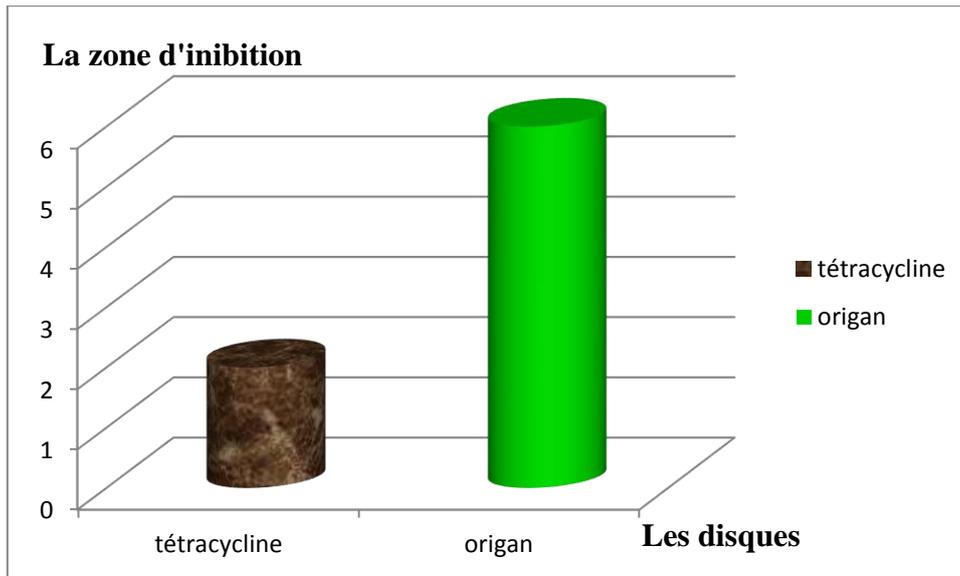
**Fig.39** : Diamètres des zones d'inhibition de la souche *P.A* par l'effet d'H.E d'origan.



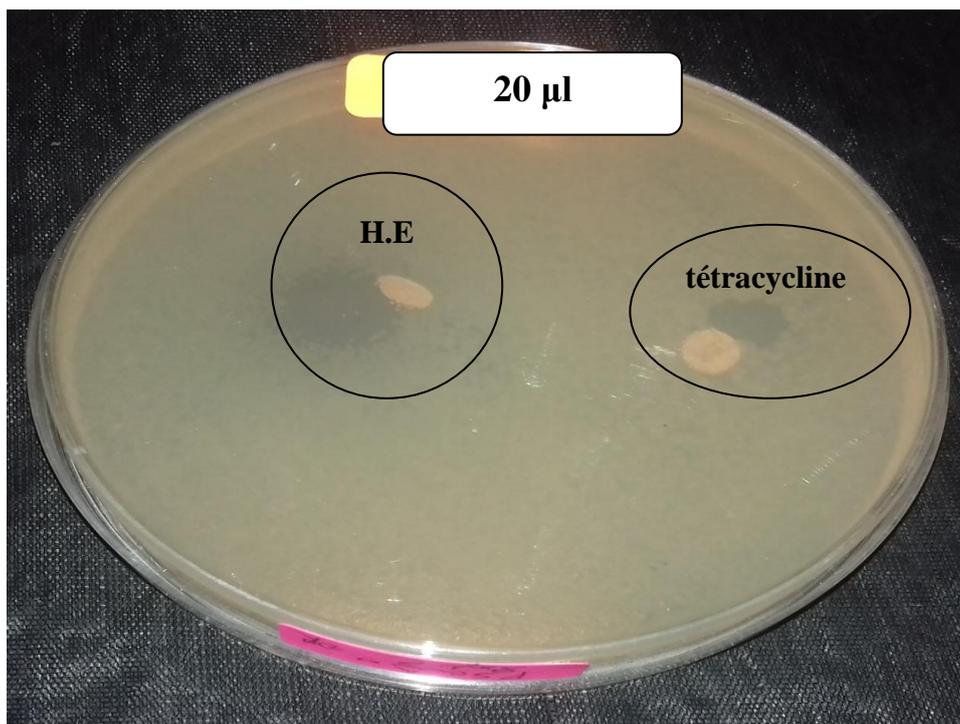
**Fig.40** : La zone d'inhibition de l'activité bactérienne de *P.A* suivant les doses utilisées de l'H.E d'origan.

Pour mieux démontré l'efficacité de l'huile essentielle de l'origan vis-à-vis la souche *P.A*, on utilisé un disque antibiotique ( tétracycline), pour comparer les diamètres d'inhibitions .

A partir des **fig.41** et **42**, il en ressort que l'HE d'origan est plus efficace que le disque antibiotique témoin.

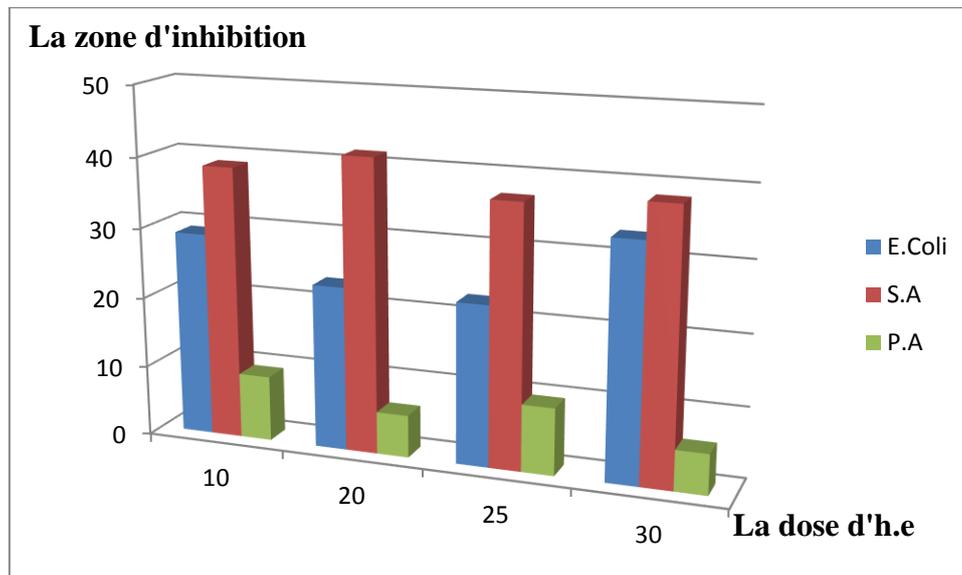


**Fig.41** : Histogramme comparatif de la zone d'inhibition de l'H.E d'origan et celui du disque antibiotique tétracycline avec la *P.A.*



**Fig.42** : Comparaison entre l'effet inhibiteur d'H.E d'origan et le disque antibiotique tétracycline sur la *Pseudomonas Aeruginosa*.

Comparaison de la sensibilité des trois souches à l'H.E d'origan, montre que les souches bactériennes Gram (+) sont les plus sensibles. (fig.43)



**Fig.43 :** La comparaison entre la sensibilité des trois souches bactériennes utilisées à l'H.E d'origan.

## 5.2. DISCUSSION

Le rendement en huile essentielle obtenue des deux espèces étudiées par la méthode d'hydro distillation est proche de la littérature. Pour le thym le rendement (1,43%) est proche de celui trouvé par **NEZHADALI et al (2014)** qui est de 1,39 % .Pour l'origan le rendement est de 2,10% , ce dernier est plus élevé que celui de **HERNANDEZ (2005)** qui est de l'ordre de 1,12 %.

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

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

L'effet inhibiteur de l'HE du thym vis-à-vis les souches Gram (+) et plus élève à celui des Gram (-) , mais il est toujours efficaces vis-à-vis *E. COLI*. Cette différence d'effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi cellulaire et le type de Gram. Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis-à-vis des HE.

Pour l'origan, les mêmes constats que celles du thym sont enregistrés, l'huile essentielle est efficace contre les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *pseudomonas aeroginosa*). Les Gram (+) sont les plus sensibles.

La faible sensibilité des bactéries Gram (-) est justifiée par la présence d'une seconde membrane lipo-polysaccharidique jouant un rôle de barrière. On outre, elle est plus riche en protéines que celle de Gram (+) ce qui les rend plus hydrophiles empêchant ainsi les composés hydrophobes de pénétrer dans la couche lipidique et exercer leur activité antimicrobienne à l'intérieur de la cellule microbienne (**AL-BAYATI, 2008; ALVESALO et al., 2008**).

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

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Entero bacteriaero genes* a aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**). Les H.E peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. Néanmoins, certains

composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipo poly saccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable. (**DORMAN** et **DEANS, 2000**). D'autre part, **DEFOE** et *al* (**2003**) dans une étude de la composition chimique de l'huile essentielle *Thymus spinulosus* avec réalisation de tests biologiques sur son activité antibactérienne contre des souches de bactérie, ont constatés que ce sont les monoterpènes (thymol) qui sont principalement inhibiteur de la croissance bactérienne.

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

# Conclusion

# CONCLUSION

Ce travail contribue à la valorisation des H.Es de deux plantes médicinales et aromatiques populaires. Il s'agit du *thymus vulgaris* et l'*origanum vulgare*. Les plantes sont récoltées à partir de la région de Sidi bakhti djebel Aouf.

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

Le rendement terris de ces deux espèces est très appréciable. On a remarqué que l'origan est plus riches en huile essentielle que le thym, les rendements sont respectivement 2.1% et 1.43%.

L'activité antibactérienne est confirmée vu les résultats préliminaires, concernant l'H.E du thym on a marqué :

- Effet bactéricide pour les souches bactériennes :
  - \* Bactérie Gram (-) *E.Coli* : absence de souche à travers un halo de 23 à 29 mm de diamètre à différentes doses.
  - \* Bactéries Gram (+) *S.A* : inhibition de la croissance jusqu' à un diamètre de 33.5 à 41.75 mm selon les différentes doses utilisées.
- Effet bactériostatique sur la souche Gram (-) *P.A* qui est très pathogène pour l'homme avec un diamètre de 7.5 à 13.75 mm.

A propos de l'effet d'H.E d'origan, il a manifesté d'une façon très dure et sévère contre ses souches bactériennes Gram (-) *E. Coli* et Gram (+) *S.A* qui sont respectivement d'un diamètre de 29 à 33 mm et 38 à 41 mm. Un témoin d'effet bactéricide.

Et pour la bactérie Gram (-) *P.A* une très résistance ,son influence est bactériostatique inhibant le plus possible sa croissance de 5 à 9 mm de diamètre.

Ces deux H.Es testées témoignent d'une activité antibactérienne importante sur les souches bactériennes pathogènes contrairement aux antibiotiques se qu'était le cas pour le *Tétracycline* 30mg utilisé au laboratoire, ces derniers ne sont plus efficace qu'avant puisque les bactéries devient moine sensibles de temps à l'autre.

Cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'utilisation des H.Es dans la production pharmaceutique, l'industrie agroalimentaire..., mais elle doit être complété par d'autres travaux concernant la composition chimique ainsi que sa toxicité ou bien la manière dont la quelle influence sur les autres êtres vivants.

Références

bibliographiques

- AL-BAYATI , F-A. 2008.** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 166 (3) PP : 403-406.
- ALVESALO , J., Vuorela H., Tammela P., Leinonen M., Saikku P.,Vuorela P.(2006).** Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on *Chlamydia pneumoniae* in cell cultures; *Biochem Pharmacol* 71. PP :735-741.
- ANDREWS , J.M . 2001 :** The Development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing. *J. Antimic. Chemo* , Vol. 48, Suppl. S1. PP : 29-42.
- ANSEL, J-L. 2003.**Les arbres parfumeurs. ed EYROLLES.Paris. 143 pp.
- BAKKALI , F ;AVEBECK,S ; IDOMAR,M. 2008.**Biological effects of essential oils. *Food Chem Toxicol*. PP : 446-475.
- BELOUED,AEK. 2009.** Plantes médicinales d'Algérie,5 ième édition. Ed O.P.U. 284 pp.
- BEN ZEGGOUTA ,N.**Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, Algérie,( 2005) : 110 pp.
- BENETEAUD,E .2011.** Les techniques d'extraction. Edition comité français du parfum. France. PP :02-07.
- BÉZANGER, L; PINKAS, B-M;TORCK,M;TORTINE,F.1980.**Plantes médicinales des régions tempérées, Ed Maloine SA. Paris.439 pp.
- BIANCHINI ,F.; CORBETTA ,F. 1975.** Atlas des plantes médicinales, Fernand NATHAN éditeur. Paris. 243 pp.
- BURT, S.**Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2004. n° 94: 223–253.
- CARSON, C-F., MEE, B-J. and RILEY, T-V.** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* . 2002 .N° 46, 1914–1920.
- CHAO, S-C., Young, D-G., Oberg,C-J.** Screening for inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of Essential Oil Research*. 2000.Vol. 12 . PP: 639-649.

**CHEVALLIER, A.2007.** Plantes médicinales , Ed Gründ. Paris.288 pp.

**Conservation des forets de la wilaya de Tiaret, 2017.**

**CRETE, P. 1965.** Précis de botanique Tome 2. Ed Masson et C<sup>e</sup> edituers.425 PP.

**COX, S.D., MANN, C-M., MARKHAM, J-L., BELL, H-C., GUSTAFSON, J-E., WARMINGTON, J-R. and WYLLIE, S-G.**The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).*Journal of Applied Microbiology*. **2000**.n° 88, PP:170–175.

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

**Direction services agricoles. Tiaret. 2017.**

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

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

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

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

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

**HERNANDEZ,L-R.2005.** SUBSTITUTION DE SOLVANTS ET MATIERES ACTIVES DE SYNTHÈSE PAR UN COMBINÉ « SOLVANT/ACTIF » D’ORIGINE VÉGÉTALE. THESE de doctorat en Science de procédés, spécialité Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse.France.(2005 ):208 PP+ Annexe.

**GACHKAR, L., YADEGARI, D., REZAEI, M-B., TAGHIZDEH, M., ASTANEH ,S-A., RASOOLI, I. 2007.**Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*.n° 102: 898-904.

**GUIGNARD ,J-L.1994.** Abrèges botanique, 9<sup>ème</sup> édition. Edition MASSON. Paris . PP : 197- 199.

**GUY, G. 2005 .** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse Boutanique-Culture-Chimie-Production et marché. Ed L'Harmattan.414 PP+ Annexes.

**IBRAHIM,N-D., AKEDI, A.** Etude de l'effet des huiles essentielles des plants spontanées (*Artemisia herba alba* et *Thymus vulgaris*) de la région de Tiaret dans la lutte contre *Tribolium castaneum*. MÉMOIRE de master 2 en Sciences agronomiques ,Option: Agrobiotechnologie. Univ. IBN KHALDOUN .Tiaret. (2016). PP : 55+ Annexes.

**KRESANEK ,J. 1985.** Les plantes médicinales .Ed Baudouin. Paris. 222 pp.

**LEFIEL,A. 2012.** Le grand livre des huiles essentielles.Edition ESI.Paris. 191 pp.

**LISAN, B.2014.** Atelier présentation huiles essentielles. Version v1.France. 90 pp.

**MAHBOUBI, M. 2014.** Plantes médicinales de méditerranée et d'orient. Edition Sabil. France. 137 pp.

**MAHMOUDI, Y. (S.A).** La thérapeutique par les plantes les plus communes en Algerie.Palais du livre.Blida. 128 pp.

**MEBARKI, N.** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne.Mémoire de magistère en Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Option industrie pharmaceutique. Univ.M'hamed Bougara.Boumerdes.(2010). 137 pp+ Annexes.

**Miara , M-D.** Contribution à l'étude de la végétation du massif de Guezoul (Tiaret ). Mémoire de magister en Biologie , option d'écologie végétale, Univ. Senia, Oran, (2011) : 126 pp + Annexe.

**MOKHFI ,F.Z.** Inventaire et étude éco-dendrométrique du pistachier de l'Atlas « *Pistacia atlantica* DESF. » dans la forêt domaniale de Rechaiga. Mémoire Magister en biodiversité végétale méditerranéenne de l'Algérie occidentale. Option: inventaire, valorisation et écologie de la restauration.Univ. IBN KHALDOUN .Tiaret.(2012).PP : 85 + Annexes.

**MORO BURONZO. A.** 2009. Grande guide des huiles essentielles santé beauté bien être.Ed Hachette livre Italie. 254 pp.

**MORO BURONZO. A** et **CHARLES SCHNEBELEN. J.2012.** huiles essentielles.Edition first, un département d'Edi8. Italie. 157 pp.

**NEZHADALI, A ; NABAVI,M ; RADJABIAN, M ; AKBARPOUR,M; POURALI,P ; AMINI,F.** Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and *in vitro* antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Lamiaceae , from Iran.Ed Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. **2014.Volume 3, Issue 2, PP : 87-92.**

**Organisation mondiale de la Santé.2013.** Stratégie de l'O.M.S pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. PP 72.

**Organisation Mondiale de la Santé.** Rapport sur Perspectives Politiques de l'OMS sur les médicaments la médecine traditionnelle : Besoins Croissants et Potentiel 2002. Genève .n° 02 06 PP.

**PIBIRI ,M. C. (2006)** - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, pp161.

**RODET, J-C.2013.**Vertus médicinales des plantes aromatiques « Fleurs comestibles et épices, une pharmacie dans notre cuisine.Editions Médicis. Paris. 189 PP+ Annexes.

**SCHNEIDER,C. 2013.** Plantes sauvages aromatiques, les reconnaître , les utiliser.Edition Ulmer. Paris. PP : 74-77.

**SPICHIGER , R. ;SAVOLAINEN ,V. ; FIGEAT, M. ;JEANMONOD ,D. 2004.**Botanique systématique des plantes à fleurs, Troisième édition. Presses polytechniques et universitaires Romandes .328 pp.

**TEUSCHER, E; ANTON, R; LOBSTIEN, A. 2005.** Plantes aromatiques. Ed Lavoisier.Paris . 522 pp.

**THURZOVA, L. 1978.** Les plantes –santé qui poussent au tour de nous, Ed Elsevier Séquoia. Bruxelles. 268 pp.

**TOURE, D.** études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de doctorat en Biologie Humaine Tropicale, Univ. Félix HOUPOUËT- BOIGNY, côte d'ivoire, (2016) : 154 pp.

**VOLÁK, J ; STODOLA, J. 1983.** Plantes médicinales. Ed Gründ.Paris. PP : 212-289.

**WENDAKOON, C. N. and SAKAGUCHI, M.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components of spices. *Journal of Food Protection*, 1995. n°58, 280-283.

**WILSON, M.2010.**Huiles essentielles pour la cuisine et le bien être. Edition Fides.Canada. 192 pp.

**WOLFGANG, H. 2008.** 350 plantes médicinales,Ed Delachaux et Niestlé SA.Paris.256 pp.

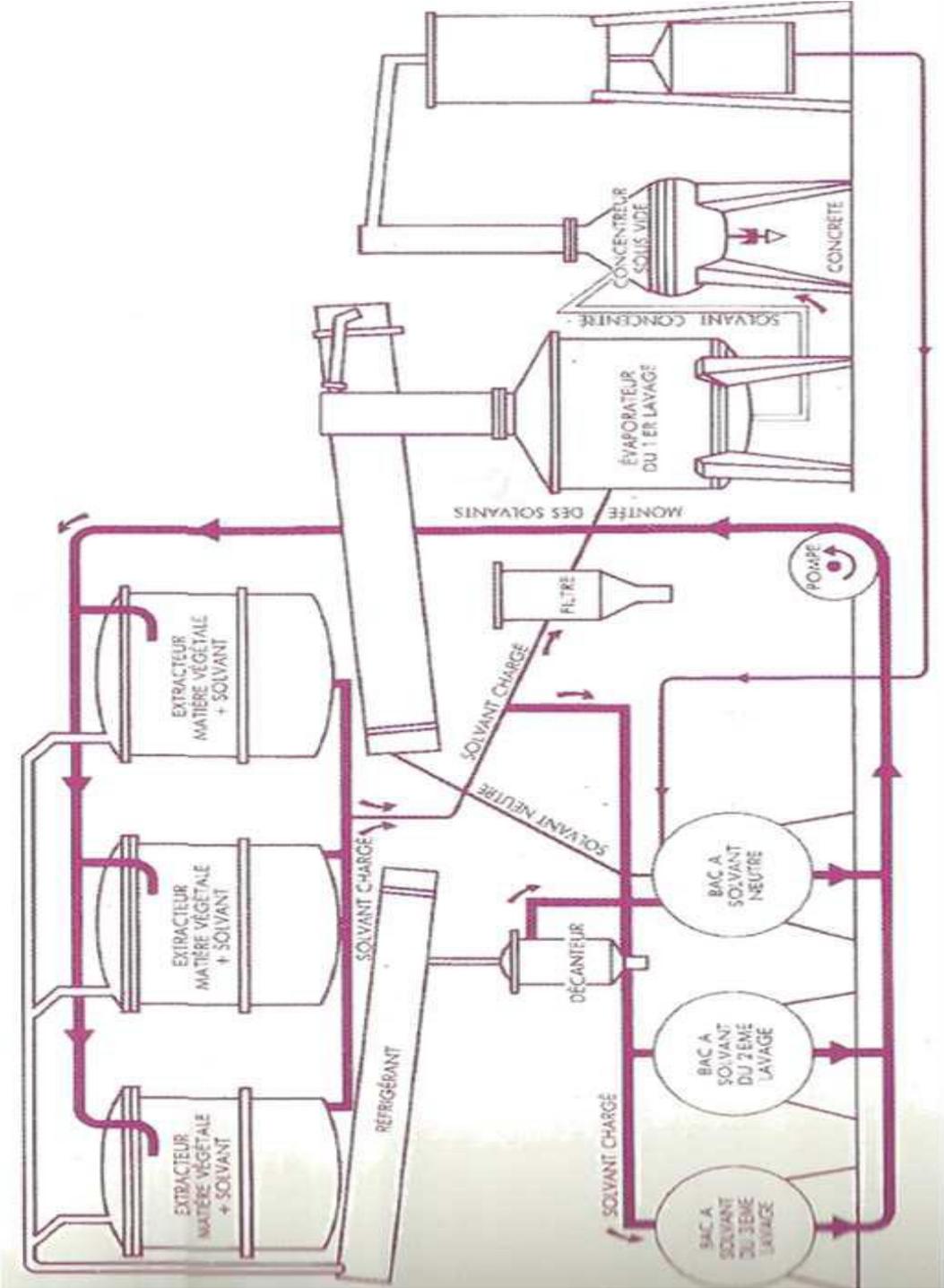
**ZAIKA, L.L.** Spices and Herbs, Their antimicrobial Activity and Its Détermination. *Journal of food Safety*, 1988.Vol. 9, N° 2. PP: 97-118.

<http://fr.tutiempo.net/climat/algerie.html>.

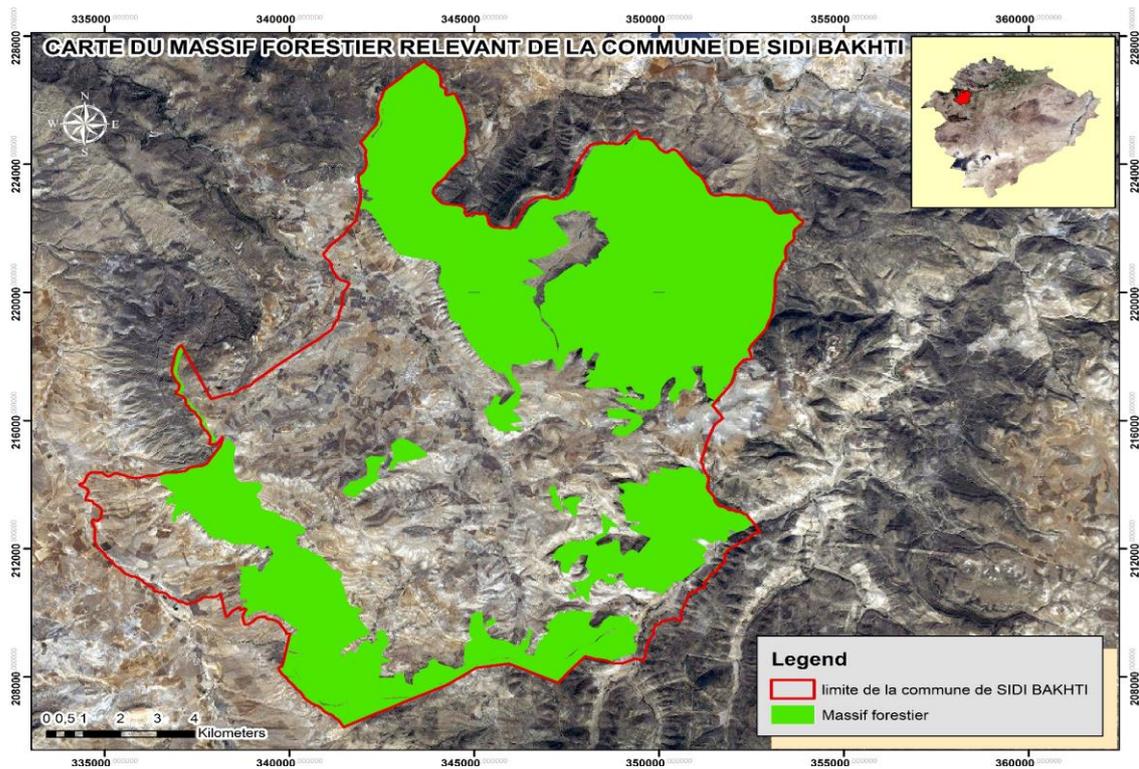
<http://www.cartograf.fr,2017>.

# Annexes

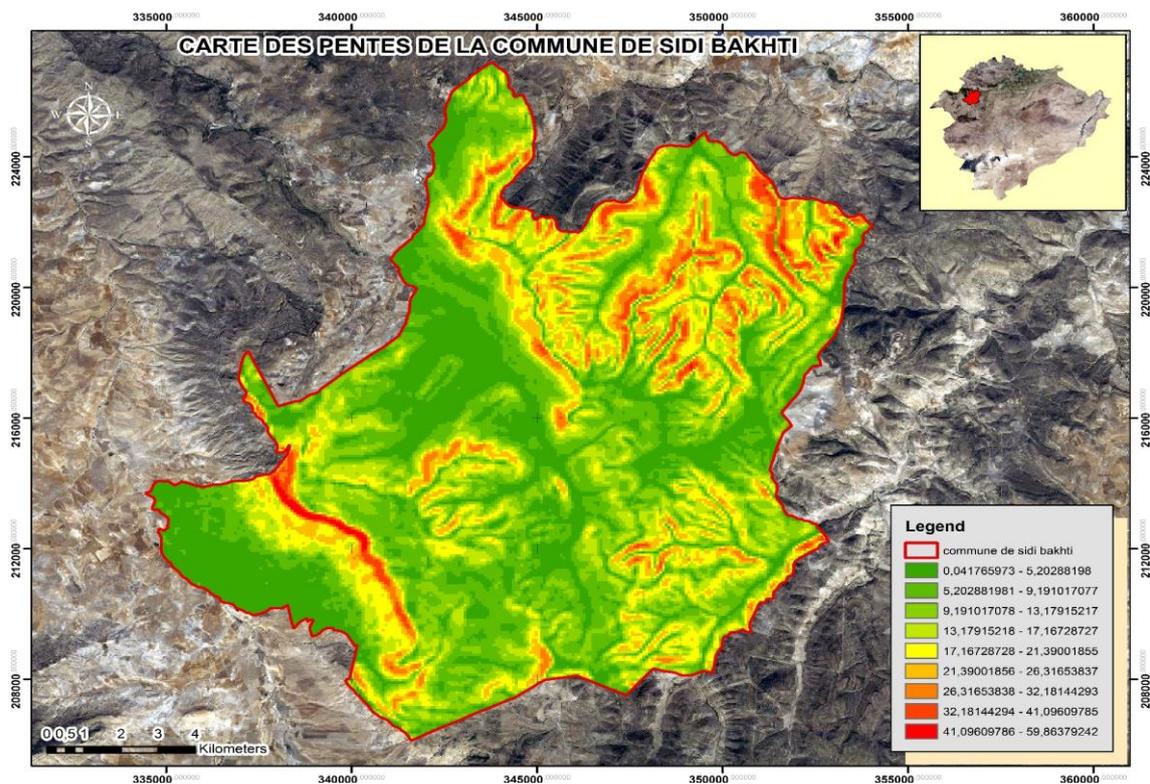
**Annexe 01 :** l'extraction par solvant.



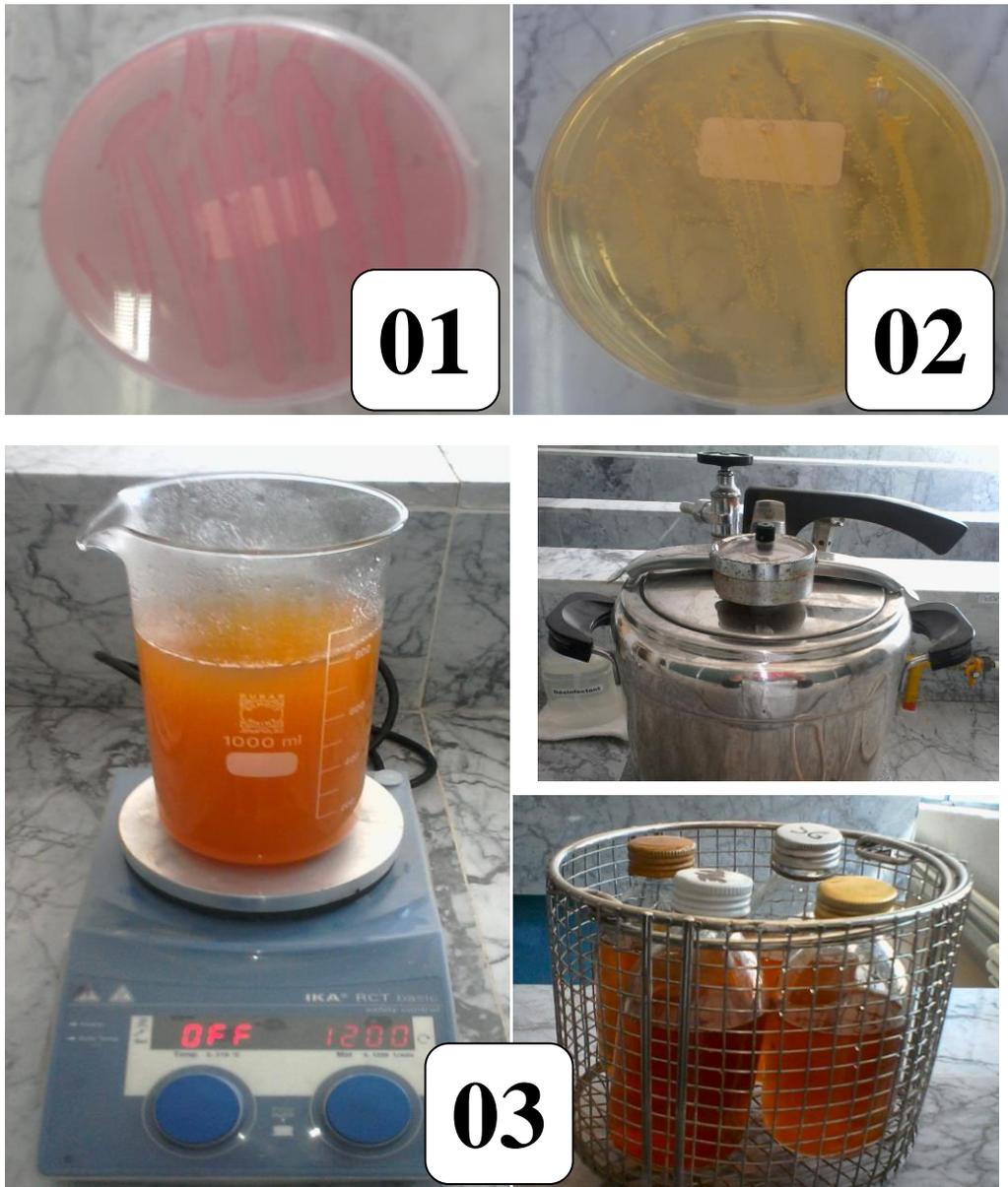
**Annexe 02 :** Carte du massif forestier relevant de la commune de SIDI BAKHTI (C.F.T.2017).



**Annexe 03 :** Carte des pentes de la commune de SIDI BAKHTI (C.F.T.2017).



**Annexe 04** : les milieux de cultures utilisés (1 : chapman, 2 : Mac conky, 3 : Mueller Hinton).



**Annexe 05** : Préparation d'eau physiologique

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

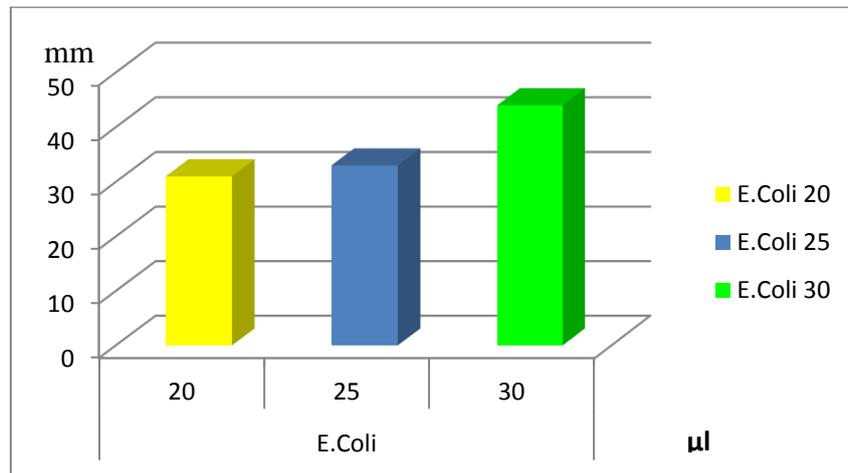
**Annexe 06 : 1** :Préparation des aliquotes.2 : Spectrophotomètre,3 : Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme).



**Annexe 07 : Résultats issus par la méthode des puits.**

**Thym**

	<i>E. Coli</i>		
<b>Doses d'H.E du thym</b>	20µl	25 µl	30µl
<b>Zone d'inhibition</b>	31mm	33 mm	44 mm



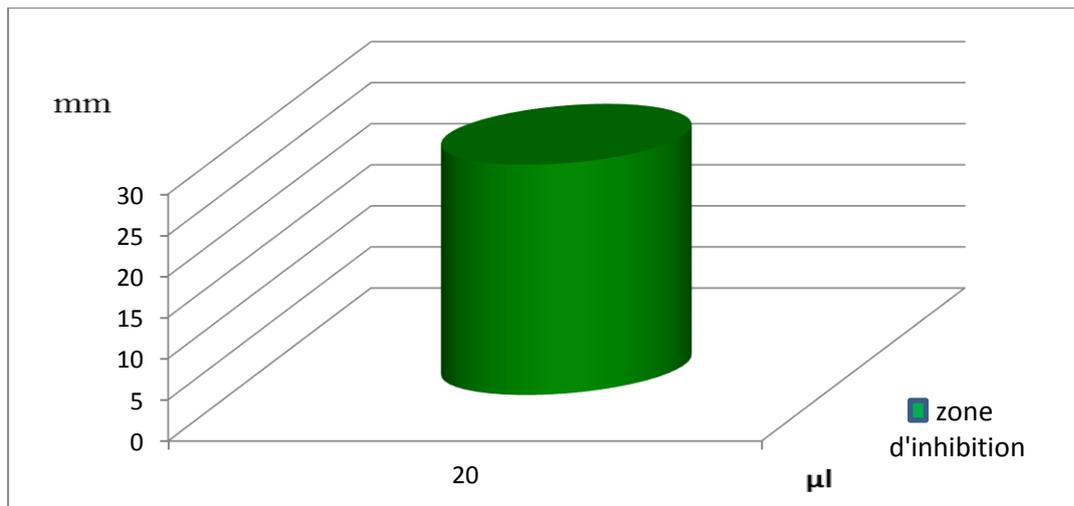
L'effet inhibiteur d'H.E du thym avec des doses différentes.



La zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'*E. Coli* issu d'effet de l'H.E du thym.

**Origan**

<b>La dose d'H.E</b>	20 µl
<b>La zone d'inhibition</b>	28 mm



Zone d'inhibition de l'activité bactérienne d'*E.Coli* issu d'effet de l'H.E d'origan avec la dose 20  $\mu$ l .

### Comparaison entre les puits et les disques d'H.E :

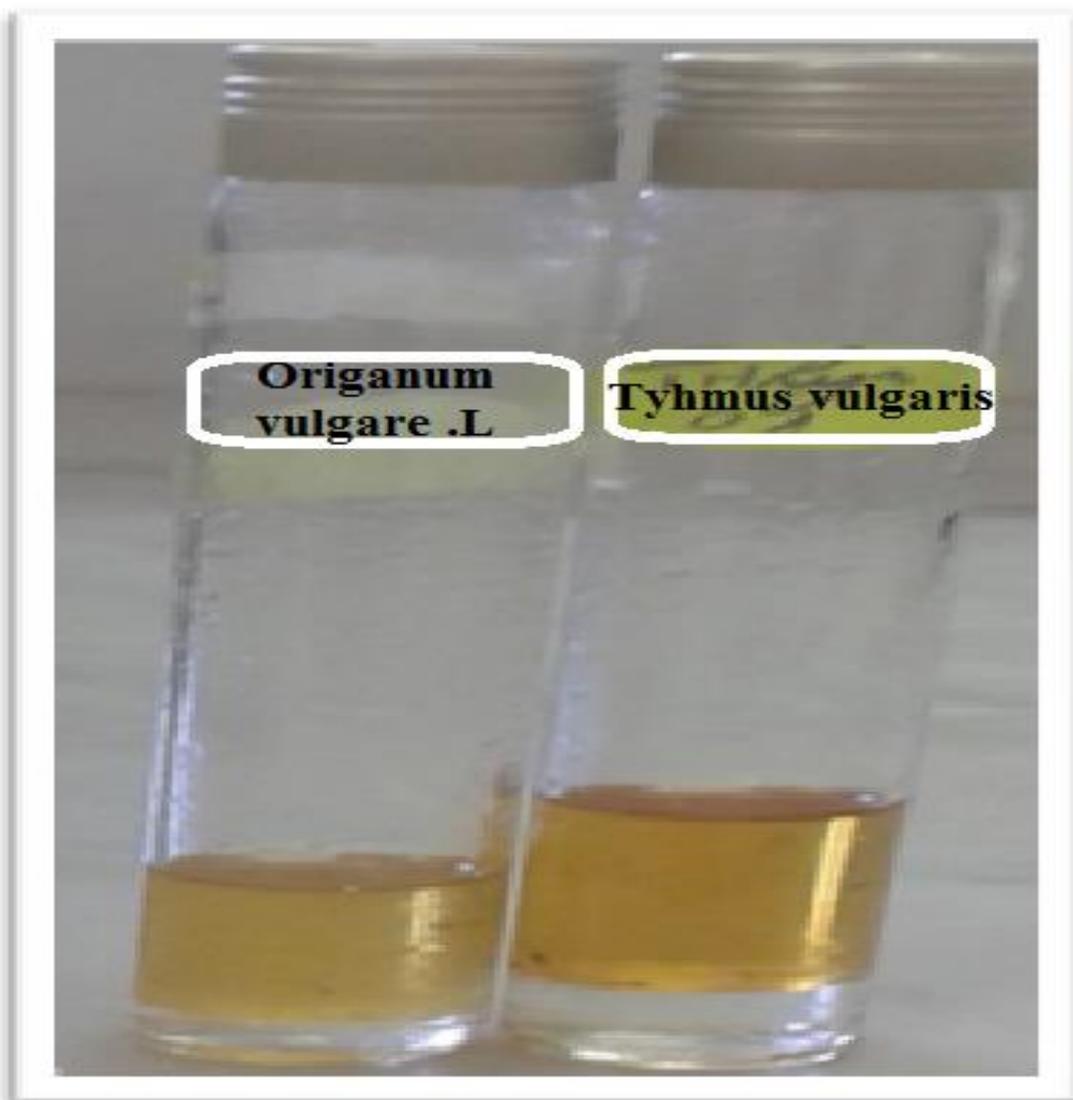
#### Thym

La dose d'H.E	20 $\mu$ l	25 $\mu$ l	30 $\mu$ l
<b>puits</b>	31 mm	33 mm	44 mm
<b>disques</b>	23 mm	28,25 mm	29 mm

#### Origan

La dose d'H.E	20 $\mu$ l
<b>puits</b>	28 mm
<b>disques</b>	23,25 mm

**Annexe 08** : Les huiles essentielles des espèces utilisées.



# Résumé

# Résumé

Le présent travail consiste à évaluer aux laboratoires l'effet antibactérien des H.Es de deux plantes spontanées *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur les souches bactériennes très fréquentée par L'homme. Les deux espèces présentent un rendement considérable en H.E.

Le rendement de l'origan (2.1%) est plus élevé que celui du thym (1.43%) ainsi que son efficacité sur les bactéries qui est plus élevée chez l'H.E d'origan que celui du thym. Les différentes doses utilisées ont un effet bactéricide sur *E.Coli* et *S.A* et un effet bactériostatique sur *P. A*.

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

## Abstract

The present work consists to evaluating in laboratorie the antibacterial effect of the EOs of two spontaneous plants *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on the bacterial strains very frequented by humans. Both species show considerable yield in EO.

The yield of oregano (2.1%) is higher than that of thyme (1.43%) and its efficiency on bacteria is higher in oregano H.E than in thyme. The different doses used have a bactericidal effect on *E.Coli* and *S.A* and a bacteriostatic effect on *P. A*.

**Key words:** EO, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, antibacterial effect, Gram (+) bacterium, Gram bacterium (-).

## ملخص

ماهية دراستنا تتمثل في بحث و تحديد التأثير المضاد البكتيري لزيوت الطيارة لنباتين طبيين هما الصعتر (الزعتري) البري و الزعيترة البرية على

ثلاثة أنواع من البكتيريا الموجودة في محيط الإنسان. النباتين قدما مردودا معتبر من الزيوت الطيارة.

تم التحصل على هذين الزيتين بواسطة التقطير المائي، حيث كان المردود الذي تحصلنا عليه من الزعيترة هو 2.1 % أكثر من المتحصل

عليه من الصعتر هو 1.43 % وكذا تأثيره. الملاحظ أن الزيتين بإختلاف الكميات التي تم إستعمالها كلاهما ذو تأثير فعال جدا على بكتيريا القولون

و المكورات العنقودية الذهبية فهما مبيدان لهما في حين أنهما يقللان من إنتشار بكتيريا الزائفة الزنجارية فقط.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الطيارة، الصعتر البري، الزعيترة البرية، تأثير مضاد للبكتيريا، بكتيريا غرام سالب، بكتيريا غرام موجب.

