

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



THESE DE DOCTORAT LMD

Présentée

Par Yasmine MESSARA

DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

SPECIALITE : CHIMIE DES MATERIAUX ET DE L'ENVIRONNEMENT

OPTION : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**VALORISATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES,
THERAPEUTIQUES ET ENVIRONNEMENTALES DES PLANTES
MEDICINALES DE LA KABYLIE**

Soutenu le 18 Décembre 2018 devant le Jury composé de :

MEZIANE	Smail	PROFESSEUR	UMMTO	PRESIDENT
FERNANE	Farida	PROFESSEURE	UMMTO	ENCADREURE
MEDDOUR	Rachid	PROFESSEUR	UMMTO	Co-ENCADREUR
HOUALI	Karim	PROFESSEUR	UMMTO	EXAMINATEUR
BOUTEKDJIRET	Chahrazed	PROFESSEURE	ENP	EXAMINATRICE
GONTIER	ERIC	PROFESSEUR	UPJV	EXAMINATEUR

Avant-Propos

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de Chimie Pharmaceutique du département de Chimie de la faculté des Sciences sous la proposition et la direction de Madame FERNANE Farida et Monsieur MEDDOUR Rachid tous deux Professeurs à l'UMMTO.

Je tiens à leur exprimer mes remerciements pour leur suivi, soutien, corrections et suggestions tout au long de la conduite de ce travail.

J'exprime également ma gratitude aux membres du jury qui ont bien voulu et accepté de lire mon travail et d'y apporter leurs remarques et critiques à l'occasion de la soutenance. Je spécifie Monsieur MEZIANE Smail Professeur au département de Chimie pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Je remercie également Mr GONTIER Eric Professeur à l'UPJV d'Amiens. Mme BOUTEKDJIRET Chahrazed PROFESSEURE à l'ENP et Mr HOUALI Karim Professeur à l'UMMTO pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.

Un grand merci à Mr Roland MOLINIER Maître de conférences à l'UPJV d'Amiens pour ses conseils et son aide dans le traitement des données analytiques

Un très grand merci à Mme Emmanuelle LIPKA, Mr Christoph FURMAN et Mr Djamel El BAKALI, maîtres de conférences à l'Université de Lille, pour leurs soutiens, leurs conseils et leurs aides,

Je voudrais aussi remercier très chaleureusement ma famille pour son soutien moral et financier et surtout un grand merci à mon père qui s'est soigneusement occupé de la cueillette et du tri des plantes.

Sommaire

Sommaire	3
LISTE DES TABLEAUX.....	10
LISTE DES FIGURES.....	12
INTRODUCTION GENERALE.....	1
I- Revue bibliographique	4
I.1 Description de la famille des Lamiaceae.....	4
I.1.1 Genre <i>Lavandula</i>	4
I.1.1.1 Description générale	4
I.1.1.2 Composition chimique	5
I.1.1.3 Domaines d'application et activités biologiques	6
I.1.2 Genre <i>Thymus</i>	6
I.1.2.1 Description générale	6
I.1.2.2 Composition chimique	6
I.1.2.3 Domaines d'application et activités biologiques	8
I.1.3 Genre <i>Origanum</i>	8
I.1.3.1 Description générale	8
I.1.3.2 Composition chimique	9
I.1.3.3 Domaines d'application et activités biologiques	10
I.2 Les huiles essentielles.....	11
I.2.1 Définition	11
I.2.2 Historique	11
I.2.3 Modes d'obtention des huiles essentielles	12
I.2.3.1 Expression à froid	12

I.2.3.2	Distillation.....	12
I.2.4	Composition chimique des huiles essentielles	13
I.2.5	Facteurs influant la qualité et la composition des huiles essentielles	13
I.2.5.1	Facteurs environnementaux	14
I.2.5.2	Facteurs génétiques et chémotypes	14
I.2.5.3	Autres facteurs	14
I.2.6	Analyse des huiles essentielles.....	14
I.3	Les composés phénoliques (les polyphénols)	15
I.3.1	Polyphénols simples.....	16
I.3.1.1	Acides phénoliques	16
a.	Description générale.....	16
b.	Activités biologiques.....	17
I.3.1.2	Flavonoïdes	18
a.	Description générale.....	18
b.	Activités biologiques.....	19
I.3.1.3	Alcools phénoliques.....	20
a.	Description générale.....	20
I.3.1.4	Activités biologiques	20
I.3.2	Polyphénols complexes (les tanins)	21
I.3.2.1	Description générale	21
•	Les tanins hydrolysables	21
•	Les tanins condensés	21
I.3.2.2	Activités biologiques	22
I.3.3	Polyphénols identifiés dans le genre <i>Thymus</i>	23

I.3.4	Polyphénols identifiés dans le genre <i>Lavandula</i>	24
I.3.5	Polyphénols identifiés dans le genre <i>Origanum</i>	24
I.4	Biosorption	24
I.4.1	Principe.....	25
I.4.2	Paramètres influants sur l'adsorption.....	25
I.4.3	Modélisation du processus d'adsorption.....	26
I.4.3.1	Isotherme d'adsorption	26
I.4.3.2	Etude cinétique du processus d'adsorption.....	27
I.4.3.3	Etude thermodynamique du processus d'adsorption	28
II-	Extraction et caractérisation des huiles essentielles	30
II.1	Matériel	30
II.1.1	Matériel végétal.....	30
II.1.2	Produits chimiques	33
II.2	Méthodes	33
II.2.1	Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal	33
II.2.2	Extraction des huiles essentielles	33
II.2.3	Détermination du rendement.....	34
II.2.4	Analyse des huiles essentielles.....	34
II.2.4.1	Analyses GC-MS.....	34
II.2.4.2	Identification des composés	35
II.3	Résultats et discussion	36
II.3.1	Teneur en eau	36
II.3.2	Teneur en huiles essentielles.....	37

II.3.2.1	<i>Lavandula stoechas</i>	37
II.3.2.2	<i>Thymus numidicus</i>	38
II.3.2.3	<i>Origanum glandulosum</i>	38
II.3.3	Caractérisation physicochimique et organoleptique des HEs	39
II.3.4	Etude qualitative des huiles essentielles	41
II.4	Conclusion.....	54
III-	Extraction et caractérisation des composés phénoliques	
	58	
III.1	Introduction	58
III.2	Matériels et méthodes	58
III.2.1	Présentation du matériel végétal	58
III.2.2	Tests phytochimiques sur les extraits des plantes fraîches et sèches	
	58	
III.2.2.1	Protocole d'identification des tanins.....	59
III.2.2.2	Protocole d'identification des alcaloïdes	59
III.2.2.3	Protocole d'identification des terpénoïdes.....	59
III.2.2.4	Protocole d'identification des flavonoïdes.....	59
III.2.2.5	Protocole d'identification des leucoanthocyanes.....	59
III.2.3	Extraction des polyphénols	60
III.2.3.1	Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	60
III.2.3.2	Protocole d'extraction des tanins	60
III.2.3.3	Calcul des rendements	60
III.2.4	Analyse physicochimique des extraits	62
III.2.4.1	Analyse CCM.....	62

III.2.5	Analyse des extraits par LC/MS	63
III.3	Résultats et discussions.....	64
III.3.1	Screening phytochimique.....	64
III.3.2	Rendement d'extraction en métabolites secondaires	66
III.3.3	Analyse CCM des extraits.....	68
	Evaluation des activités biologiques et étude cytotoxique des différents extraits de plantes	80
IV-	Evaluation des activités biologiques et étude cytotoxiques des différents extraits de plantes	81
IV.1	Introduction	81
IV.2	Matériels et méthodes	81
IV.2.1	Matériels.....	81
IV.2.1.1	Souches microbiennes testées.....	81
IV.2.1.2	Milieus de culture.....	81
IV.2.2	Méthodes	82
IV.2.2.1	Etude qualitative et détermination des zones d'inhibition.....	83
IV.2.2.2	Evaluation de la CMI : Etude quantitative	84
a-	Préparation de l'inoculum	84
IV.2.2.3	Etude de la viabilité cellulaire : Test MTS	85
IV.3	Résultats et discussion	86
IV.3.1	Evaluation du pouvoir antimicrobien des l'HEs de <i>T. numidicus</i>	86
b-	Evaluation de la CMI	89

c-	Nature de l'activité antimicrobienne.....	90
IV.3.2	Evaluation du pouvoir antimicrobien de l'HE de l' <i>Origanum glandulosum</i>	91
IV.3.3	Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i>	95
IV.3.4	Evaluation de l'activité antimicrobienne des tanins extraits de <i>L. stoechas</i>	100
IV.3.5	Résultats du test MTS	102
V-	Impact environnemental.....	104
V.1	Introduction	104
V.2	Matériels et méthodes	104
V.2.1	Préparation des biosorbants.....	104
V.2.2	Présentation du polluant.....	104
V.2.3	Expériences d'adsorption.....	105
V.2.3.1	Etude de la cinétique d'adsorption.....	105
V.2.3.2	Optimisation du pH de la solution	106
V.2.3.3	Effet de la concentration initiale en bleu de méthylène	106
V.2.3.4	Effet de la quantité en biosorbant	106
V.2.3.5	Etablissement des isothermes d'adsorption	106
V.3	Résultats et discussion	107
V.3.1	Modélisation de la cinétique d'adsorption.....	107
V.3.1.1	Résultats d'adsorption sur les résidus de <i>T.numidicus</i>	107
V.3.1.2	Résultats d'adsorption sur les résidus d' <i>O.glandulosum</i>	110

V.3.2	Effet du pH sur l'adsorption du BM sur les résidus de Thym et Origan	111
V.3.3	Effet du rapport solide/liquide	113
V.3.4	Isothermes d'adsorption	114
V.3.5	Evaluation des paramètres thermodynamiques.....	117
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES		120
REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		123

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Localisation des principales espèces du thym en Algérie (Quézel et al., 1963)	7
Tableau 2: Composition chimique de quelques espèces de <i>Thymus</i> en Algérie	8
Tableau 3: Répartition géographique des espèces d'origan en Algérie	9
Tableau 4 : Structure des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	16
Tableau 5 : Structure des dérivés de l'acide hydroxycinnamique.....	16
Tableau 6: Substituants des différentes classes des flavonoïdes	19
Tableau 7 : Exemple de flavonoïdes isolés dans le genre <i>Thymus</i>	23
Tableau 8 : Exemples de monoterpènes isolés de <i>Thymus vulgaris</i>	23
Tableau 9 : Exemple de polyphénol extrait de l' <i>Origanum vulgare</i>	24
Tableau 10 : Localisation géographique des localités de récolte des plantes étudiées	31
Tableau 11 : Moyennes des précipitations annuelles (P moy.) dans la région de Tizi Ouzou. 33	
Tableau 12 : Rendements en huiles essentielles de <i>Thymus numidicus</i> de différentes régions et années de récolte	38
Tableau 13 : Rendements en huiles essentielles d' <i>O. glandulosum</i> de différentes régions et années de récolte.	39
Tableau 14 : Propriétés physicochimiques et organoleptiques de l'HE de <i>T. numidicus</i>	39
Tableau 15 : Propriétés physicochimiques de l'HE de <i>Lavandula stoechas</i>	40
Tableau 16 : Propriétés physicochimiques de l'HE de l' <i>O. glandulosum</i>	40
Tableau 17 Identification des principaux composés des HEs de l' <i>Origanum glandulosum</i> et de <i>Thymus numidicus</i>	42
Tableau 18 : Identification de la composition chimique des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i>	43
Tableau 19 : Teneur relative (%) des composés des HE d'origan récolté en 2013, 2014 et 2015	44
Tableau 20 : Teneur relative des constituants majoritaires de l'HE de <i>Thymus numidicus</i> récolté en 2012 à Tifrit	48
Tableau 21 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Thymus numidicus</i> récolté en mai 2013, 2014 et 2015	49
Tableau 22 : Comparaison des teneurs relatives en composés aromatiques des huiles essentielles de thym à thymol de cette étude avec celles décrites dans la pharmacopée européenne	52

Tableau 23 : Teneurs relatives en différents composés des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i>	53
Tableau 24 : Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches du <i>Thymus numidicus</i> de Boussoir	65
Tableau 25: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches de <i>Lavandula stoechas</i> de Boussoir	65
Tableau 26: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches de l' <i>Origanum glandulosum</i> d'Ain el Hammam (AEH).	66
Tableau 27: Rendement en flavonoïdes et tanins des plantes récoltées en Mai 2015 au niveau de Tifrit, Boussoir, Tamgout et Ain El Hammam.....	67
Tableau 28 : Rendement en Tanins des feuilles et sommités de <i>Lavandula stoechas</i> récoltées en 2016 à Tikobaine et Beni douala.	68
Tableau 29: Rendement en Tanins et flavonoïdes des feuilles et sommités de <i>Lavandula stoechas</i> récoltées en 2017 à Boghni et Iferhounene	68
Tableau 30 Ions spécifiques, des composés détectés dans les extraits de tanins de l' <i>O.glandulosum</i>	74
Tableau 31 : Liste des souches microbiennes utilisées	82
Tableau 32- Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition (D en mm) et du taux d'inhibition (I%) des souches bactériennes par l'HE de <i>Thymus numidicus</i>	89
Tableau 33 : Résultats de la CMI pour l'HE de <i>Thymus numidicus</i>	90
Tableau 34 : Nature de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>Thymus numidicus</i>	91

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure de base des flavonoïdes (Crozier et <i>al.</i> , 2003).....	18
Figure 2: Structure chimique des flavonoïdes. A : Flavones ; B : Flavonols ; C : Flavon-3-ol ; D : Isoflavone et E : Anthocyanidines (Crozier et <i>al.</i> , 2003).....	18
Figure 3 : Structure des biophénols : A : hydroxytyrosol, B : tyrosol, C : oleuropéine, D : verbascoside (Crozier et <i>al.</i> , 2003).....	20
Figure 4 : Structure chimique des tanins, A : tanin condensé (proanthocyanidine), B : 1,2,3-tri-O-gallyol- β -D-glucose).....	22
Figure 5 : Localisation géographique des localités de récolte des plantes (Google Earth, 2018).....	31
Figure 6 : Données pluviométriques de la région Tizi Ouzou en 2013, 2014 et 2015(https://www.infoclimat.fr/climatologie/annee/2015/tizi-ouzou/valeurs/60395.html). Date de consultation : 05/03/2018.....	32
Figure 7 : Dispositif d'hydrodistillation utilisé pour l'obtention des huiles essentielles.....	34
Figure 8- Teneur en eau et en matière sèche (MS) des plantes utilisées.....	37
Figure 9 : Rendement en HE de <i>L.stoechas</i>	37
Figure 10 : Biosynthèse du thymol et carvacrol (Crocoll, 2010).....	46
Figure 11 : Evaluation de la teneur en huiles essentielles de l' <i>Origanum glandulosum</i> exprimée en % d'aires des pics en fonction de l'année de récolte.....	47
Figure 12 : Teneur relative des composés majoritaires des HEs de <i>Thymus numidicus</i> selon les années.....	51
Figure 13: Evaluation de la teneur en composés chimiques des huiles essentielles de Lavande récoltée à Tikobaine et Béni Douala à deux dates de récolte et deux parties de plantes utilisées.....	56
Figure 14– Organigramme des étapes d'extraction des flavonoïdes.....	61
Figure 15 : Organigramme des étapes d'extraction des tanins.....	62
Figure 16 : Analyse CCM des tanins extraits des feuilles et des sommités de la <i>Lavandula stoechas</i> récoltées fin Avril et Mai 2016 à Beni Douala. Système de solvant (A et B) : toluène/ acétone/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec AlCl ₃ 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation AlCl ₃ 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation AlCl ₃ sous UV à 365 nm.....	69
Figure 17: Profil chromatographique des extraits des sommités fleuries de <i>Lavandula stoechas</i> récoltée en le 3 Mai 2016 à Beni Douala.....	71

Figure 18: spectre UV du pic à RT= 1,68 min	71
Figure 19 : Spectre de masse du pic à RT= 1,68 min.....	72
Figure 20: Acide rosmarinique.....	72
Figure 21: Profil chromatographique des tanins extrait de <i>O.glandulosum</i> récoltées à Tamgoute en 2015.....	73
Figure 22 : Structure chimique du Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle.....	74
Figure 23: Profil chromatographique des extraits taniques des feuilles de <i>T.numidicus</i> récoltées à Tifrit en 2015.....	75
Figure 24: Spectre de masse en mode négatif des tanins extraits de <i>T .numidicus</i>	76
Figure 25: Profil chromatographique des extraits n-butanol des feuille d' <i>O.glandulosum</i>	77
Figure 26 : Spectre de masse en mode négatif et positif des composés séparés par LC/MS des extraits n-butanol des feuilles d' <i>O.glandulosum</i>	78
Figure 27 : Schéma méthodologique de l'étude de l'activité antimicrobienne des HEs.....	83
Figure 28 : Organigramme du déroulement d'un test de viabilité cellulaire	87
Figure 29 : Etapes du test MTS	87
Figure 30 : Zone d'inhibition de différentes souches bactériennes par l'HE de <i>Thymus numidicus</i> : A: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , B: <i>Escherichia coli</i> , C: <i>Listeria monocytogenes</i> , D: <i>Staphylococcus aureus</i> , E : <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , F: <i>Staphylococcus epidermidis</i> , G : <i>Candida albicans</i>	88
Figure 31- Zone d'inhibition de différentes souches bactériennes par l'HE de l' <i>Origanum glandulosum</i> . A: <i>Escherichia coli</i> , B: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , C: <i>Listeria monocytogenes</i> , D: <i>Staphylococcus aureus</i> , E : <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , F: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	92
Figure 32- Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Tikobainesur A : <i>E. coli</i> , B : <i>S. aureus</i> , C : <i>A. niger</i> , D : <i>P. aeruginosa</i>	96
Figure 33 : Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Beni doualaser A : <i>E.coli</i> , : <i>S.aureus</i> , C <i>A.niger</i> , D: <i>P.Aeruginosa</i>	97
Figure 34 : Activité antimicrobienne (AAM) de l'HE de <i>L.stoechas</i> de Tikobaine	99
Figure 35 : Activité antibactérienne et antifongique des extraits de tanin de la région de Tikobainesur A : <i>E. coli</i> , B : <i>S. aureus</i> , C : <i>A. niger</i> , D : <i>P. aeruginosa</i>	101
Figure 36 Activité antibactérienne et antifongique des extraits de tanins de la région de Beni Doualaser A : <i>E. coli</i> , B : <i>S. aureus</i> , C : <i>A. niger</i> , D : <i>P. aeruginosa</i>	101
Figure 37 : Formule développée du bleu de méthylène	105

Figure 38 : Tests de stabilité dans le temps des solutions de BM diluées.....	107
Figure 39 : Cinétique d'adsorption du BM sur les résidus de <i>Thymus numidicus</i>	108
Figure 40: Représentation des modèles cinétiques pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du <i>Thymus numidicus</i> de granulométrie moyenne 407,5µm a) pseudo premier ordre. b) pseudo second ordre.....	108
Figure 41 : Représentation des modèles cinétiques pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du <i>Thymus numidicus</i> de granulométrie moyenne 750µm a) pseudo premier ordre. b) pseudo second ordre.....	109
Figure 42 : Cinétique d'adsorption du BM sur les résidus d' <i>Origanum glandulosum</i>	110
Figure 43 : Représentation du modèle cinétique pour la cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur le résidu des feuilles d' <i>Origanum glandulosum</i> de granulométrie moyenne $D > 407,5 \mu\text{m}$. a) modèle pseudo-premier ordre. b) modèle pseudo second ordre.....	110
Figure 44 : Représentation des modèles cinétiques pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du l' <i>Origanum glandulosum</i> de granulométrie moyenne 750µm C) pseudo premier ordre. d) pseudo second ordre.....	111
Figure 45- Influence du pH sur le rendement d'adsorption du BM par les résidus des feuilles du <i>Thymus numidicus</i>	112
Figure 46 : Effet du pH sur le rendement d'adsorption du BM par les résidus des feuilles d' <i>Origanum Glandulosum</i>	113
Figure 47 : Effet du rapport solide /liquide de l'adsorption du BM sur les résidus A : <i>T.numidicus</i> , B : <i>O.glandulosum</i> ?.....	114
Figure 48 : Isothermes de l'adsorption du bleu de méthylène. A : sur les résidus de <i>T.numidicus</i> , B : sur les résidus de l' <i>O.glandulosum</i>	114
Figure 49 : Modélisation linéaire de l'équation de Langmuir – A : résidus de l'Origan, B : résidus de Thym.	115
Figure 50 : Modélisation linéaire de l'équation de Freundlich. A : résidus de l'Origan, B : résidus de Thym.	115
Figure 51 : Influence de la température sur la rétention du bleu de méthylène sur les résidus des plantes A : résidus de <i>T.numidicus</i> , B : Résidus de l' <i>O. glandulosum</i> , pour différentes concentrations initiales des solutions du bleu de méthylène.....	117
Figure 52 : Tracés de K_d en fonction de $1/T$. X_1 : Résidus <i>T.numidicus</i> , X_2 : Résidus <i>O.glandulosum</i>	118

Figure 53 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de <i>L.stoechas</i> récoltée à Benidouala début mai 2016	138
Figure 54 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de l' <i>O.glandulosum</i> récolté à Tamgout la fin mai 2015	
Figure 55 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de <i>T.numidicus</i> récolté à Tifrit la fin mai 2014	138
Figure 56 : Spectre de masse du p-Cymène	139
Figure 57 : Spectre de masse du γ -terpinène.....	139
Figure 58 : Spectre de masse du Thymol	139
Figure 59 : Spectre de masse du Carvacrol	140
Figure 60 : Spectre de masse du Fenchone	140
Figure 61 : Spectre de masse du Camphre	140
Figure 62 : Spectre de masse du Borbeol acetate.....	140
Figure 63 : Mise en évidence de la présence des tanins extraits des feuilles et des sommités de la <i>lavandula stoechas</i> récoltée le 28 mai et 03 avril 2016 à Tikouvain. Système de solvant : toluène/ acétone/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 365nm.C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation $AlCl_3$ sous UV à 365 nm.....	142
Figure 64 Mise en évidence des tanins extraits des feuilles du <i>Thymus numidicus</i> , et <i>O.glandulosum</i> récoltées fin Mai 2015 au niveau de Tifrit et de Tamgout. Système de solvant : acétone/ toluène/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation $AlCl_3$ sous UV à 365 nm.....	142
Figure 65/ Analyse CCM des flavonoïdes extraits des feuilles de <i>Thymus numidicus</i> , <i>O.glandulosum</i> récoltées fin Mai 2015 dans les localités de Tifrit et de Tamgout respectivement. A : Système de solvant : acétate d'éthyle/acide formique/eau (8V :1V :1V). Révélation avec $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : Système de solvant : acétate d'éthyle/ methanol/eau (16V :12V : 1V). Révélation $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (10 V :8V :2V), Révélation $AlCl_3$ sous UV à 365 nm.....	143
Figure 66 : Spectre de masse en mode négatif des tanins extraits de l' <i>O.glandulosum</i>	144
Figure 67 : Profils chromatographiques des extraits de Tanins de <i>L.stoechas</i> issus de différentes récoltes.	146
Figure 68 : Courbe d'étalonnage UV visible des solutions du bleu de méthylène effectuée à 660nm.....	147

INTRODUCTION GENERALE

Avant même la médecine, différents domaines scientifiques, dont la botanique, la chimie, la biochimie, la biologie contribuèrent à identifier, extraire et traiter les substances actives tirées des plantes, autrefois utilisées d'une manière expérimentale selon des croyances, des coutumes et des cultures ancestrales.

Afin de combattre les maladies, les populations des différents continents se sont longuement penchées sur la Nature en général et les plantes en particulier. Depuis l'antiquité, les traitements et les remèdes à base de plantes étaient empiriques, compte tenu du fait, qu'il n'existait pas d'informations suffisantes, ni sur les causes des maladies, ni même sur la plante ou la manière dont elle pouvait être utilisée (Petrovska *et al.*, 2012). Par la suite, l'efficacité des traitements à base de plantes a été prouvée et l'usage des plantes médicinales fut passé du simple empirique vers une utilisation fondée sur des faits établis (Jassem *et al.*, 2010). En effet, de nombreux médicaments classiques proviennent de sources végétales tels que l'aspirine issue de l'écorce du saule (*Salix cinerea*), la digitoxine des feuilles de la grande digitale (*Digitalis purpurea*) (Andrade-Neto *et al.*, 2003), la quinine de l'écorce de quinquina (*Cinchona officinalis*) et la morphine du pavot à opium (*Papaver somniferum*) (Gillian *et al.*, 2000).

De nos jours, les médecins, les organismes de santé ainsi que les laboratoires pharmaceutiques reconnaissent la valeur et l'efficacité des traitements par les plantes. Ils admettent que la place des plantes est de plus en plus importante dans la production pharmaceutique moderne (Ouraini *et al.*, 2000). Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent une immense source de chimio diversité, avec souvent des structures chimiques très originales, dont la synthèse (complexité structurale, stéréospécificité...) est souvent impossible à réaliser.

La Kabylie, de par sa situation géographique particulière et sa diversité écosystémique, composée de forêts, de montagnes et de biotopes littoraux, constitue une des régions les plus riches en biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen. En effet, la grande et la petite Kabylie abritent respectivement 487 et 467 taxons végétaux rares et 101 et 86 taxons endémiques (Véla *et al.*, 2007). Dans cette région, les espèces végétales ont été utilisées depuis des temps immémoriaux dans la vie courante au quotidien, tels que l'alimentation et la préparation de plats traditionnels (couscous avec "*Taghediw*", "*Tafourout*", pain Kabyle aux herbes (Moussa, 2013; Derradji, 2014), les soins naturels

(remèdes à base de plantes)(Derridj et *al.*, 2010) et la désinfection des ustensiles de cuisine (lentisque pistachier) (*Tidekt*).

Notre étude porte sur la valorisation des activités biologiques, thérapeutiques et environnementales de trois espèces de la famille des Lamiacées. Il s'agit de *Thymus numidicus*, *Origanum vulgare* subsp. *Glandulosum* et *Lavandula stoecha* provenant de différentes localités de la wilaya de Tizi Ouzou. Le choix de ces trois espèces est motivé par le fait que deux d'entre elles sont endémiques algéro-tunisiennes et riches en huiles essentielles et composés phénoliques, notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses (Zaabat et al., 2010; Goetz et *al.*, 2012).

Le volet valorisation des activités biologiques et thérapeutiques des trois espèces portera sur l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles et des fractions lourdes (tanins, alcaloïdes et flavonoïdes) extraites des parties aériennes des espèces étudiées. Il portera également sur l'effet de plusieurs paramètres, tels que l'habitat, le stade de développement et les facteurs climatiques, sur la composition qualitative et quantitative des extraits végétaux. Par la suite, des tests *in vitro* seront menés pour l'étude de l'effet biologique et thérapeutique des différents extraits.

Le volet valorisation de l'activité environnementale des trois plantes choisies consistera à étudier l'efficacité des résidus des feuilles, épuisées en principe actif de ces plantes, pour traiter des solutions aqueuses du colorant cationique bleu de méthylène. La *biosorption* est un procédé physico-chimique utilisant la biomasse d'origine végétale, animale, bactérienne ou fongique pour ses propriétés de rétention de polluants en solution aqueuse (Behra, 1996). Le recours aux biosorbants et à la phytoremédiation est motivé par leur abondance dans la nature, leur faible coût de revient, ainsi que leurs propriétés de rétention des polluants.

Pour ce faire, nous étudierons l'influence de divers paramètres sur la biosorption du bleu de méthylène : le temps de contact polluant/biosorbant, la concentration initiale de la solution de bleu de méthylène, le pH et la température du milieu. Après étude des cinétiques et des isothermes de biosorption la capacité maximale de sorption en bleu de méthylène sera évaluée pour chacun des biosorbants.

Le mémoire ainsi présenté est structuré en cinq chapitres :

- Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les plantes étudiées, les métabolites secondaires qu'elles renferment, ainsi que des généralités sur la biosorption.

- Le second chapitre portera sur l'extraction, la caractérisation des huiles essentielles et l'étude de l'impact environnemental sur la composition des extraits. Nous présenterons les méthodes et les protocoles expérimentaux adoptés, ainsi que les résultats obtenus et leurs interprétations.
- Le troisième chapitre est consacré à l'extraction et à la caractérisation des produits phénoliques. Les protocoles expérimentaux seront présentés ainsi que leurs résultats et discussion.
- Le quatrième chapitre rassemblera les tests biologiques sur les différents extraits obtenus. Nous y présenterons les différents protocoles utilisés ainsi que les résultats obtenus.
- Le cinquième chapitre portera sur la valorisation des résidus des feuilles de thym et origan épuisées pour l'élimination du bleu de méthylène en solution aqueuse. Les protocoles expérimentaux suivis, ainsi que les résultats obtenus y seront présentés.

Enfin, une conclusion générale dans laquelle une rétrospective des résultats obtenus sera développée. Suivi des perspectives à venir pour une éventuelle poursuite des travaux entamés, afin de valoriser nos résultats sur les plantes médicinales, tant sur le volet thérapeutique qu'environnemental.

I- Revue bibliographique

I.1 Description de la famille des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae est une grande famille de plantes aromatiques, connue pour sa diversité et ses propriétés médicinales. Elle comprend plusieurs herbes aromatiques représentées par plus de 236 genres et 7172 espèces, qui sont utilisés depuis l'Antiquité en art culinaire, en parfumerie et en thérapeutique (Hussain et *al.*, 2009).

Caractérisées par leurs arômes, les Lamiacées sont très riches en huiles essentielles. Ces dernières sont synthétisées pratiquement par toutes les parties des plantes, feuilles, tiges, fleurs, etc. Elles contiennent de précieux réservoirs de composés chimiques multiples ayant une activité biologique différente selon leurs compositions structurales. Par conséquent, les huiles essentielles de cette famille possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes, etc. (Bakkalia et *al.* 2007).

Les genres les plus cités dans la littérature sont : *Lavandula* (avec différentes espèces de lavandes), *Mentha* (menthes), *Rosmarinus* (romarins), *Salvia* (sauves), *Thymus* (thyms), *Origanum* (Origans). Dans notre étude, nous nous intéresserons aux genres *Thymus*, *Lavandula* et *Origanum*. Ces genres sont utilisés dans ma famille à des fins thérapeutiques et culinaires.

I.1.1 Genre *Lavandula*

I.1.1.1 Description générale

Le genre *Lavandula* se compose d'environ 20 espèces (Angioni et *al.*, 2006), dont cinq sont présentées en Algérie (Quézel et Santa, 1963) :

- *Lavandula dentata*, un sous-arbrisseau méditerranéen, très commun dans l'Ouest algérien,
- *Lavandula multifida*, un sous-arbrisseau méditerranéen, assez commun dans toute l'Algérie.
- *Lavandula coronopifolia* et *Lavandula antineae* (plante à forte odeur de géraniole), qui sont assez communes au Sahara algérien.
- *Lavandula stoechas*, dite lavande à toupet, un sous-arbrisseau méditerranéen, qui est très commun dans tout le Tell en Algérie, dans les maquis et les forêts sur silice. Il peut atteindre jusqu'à un mètre de hauteur, avec des tiges à feuilles vertes pâles et des fleurs d'un bleu violet. L'ensemble fleurs et feuilles est très aromatique (Hsu *etal.*, 2007).

I.1.1.2 Composition chimique

Des études phytochimiques (Mohammedi et *al.*, 2011, Belmont, 2013) sur le genre *Lavandula* ont révélé plus d'une cinquantaine de composés chimiques, qui varient qualitativement et quantitativement d'une espèce à une autre, selon le chémotype et l'environnement. Les constituants majoritaires sont des terpènes, regroupant structurellement et fonctionnellement différentes classes et sont issus de l'assemblage de plusieurs unités d'isoprène C₅H₈. On y trouve généralement les mono- et sesquiterpènes.

Les monoterpènes sont des composés comprenant deux unités d'isoprènes, avec différentes fonctions. Les composés majoritaires sont les monoterpènes oxygénés, représentant 73,8% de l'huile essentielle. Ils sont à l'origine de la fragrance des huiles essentielles de *L. angustifolia* (Plusinowska *etal.*, 2014). Parmi ces composés, nous retrouvons :

- Les alcools, tels que le linalol, terpinéol, terpène-4-ol et le lavandulol,
- Les éthers, avec le 1,8-cinéole,
- Les cétones, comme le camphre, carvone, coumarine, cryptone, fenchone, méthylheptenone, n-octanone, nopinone, p-méthylacétophenone,
- Les esters comme l'acétate de linalyl, lavandulol acétate et le geranylacétate (Dob *et al.*, 2006).

Les composés restants sont les carbures, avec différentes structures, les monocycliques, tels que le cymène et terpinène, les bicycliques, comme le sabinène et le α -pinène

Les sesquiterpènes sont formés par trois unités d'isoprène C₁₅. Leurs structures et leurs fonctions sont semblables à celles des monoterpènes. Les plus rencontrés pour *Lavandula angustifolia* sont les carbures, comme le caryophyllène, le frenscène et l'époxyde, tel que le caryophyllène oxyde (Belmont 2013).

Pour *Lavandula stoechas*, les composants majoritaires de ses huiles essentielles sont le α -pinène, le fenchone, le camphre et l'acétate de myrtenyl, avec des variations quantitatives importantes dépendant de la région de récolte. Les autres constituants sont le β -pinène, le camphène, l'eucalyptol, le para-cymène, le linalol, le bornéol, l'acétate de bornéol, le carvacrol, l'iso-eugénol et l'iso-eugénol-méthyl éther (Attou, 2017). Cependant, des études sur *Lavandula stoechas* provenant de différents pays méditerranéens ont révélé des résultats variables (Dob *etal*, 2006 ; Hassiotis *etal.*, 2010).

I.1.1.3 Domaines d'application et activités biologiques

L. stoechas a été utilisée, depuis des siècles, sous forme d'huiles essentielles ou de fleurs séchées. Traditionnellement, cette plante est utilisée comme carminative¹, antispasmodique², désobstruant, stimulante et expectorante (Gilani et al., 2000).

Des études ont montré que l'huile essentielle de *L. Stoechas* réduit la glycémie (Gámez et al., 1987), possède des effets bénéfiques pour le traitement du cancer (Gilani et al., 2000) et présente un pouvoir antifongique (Angioni et al., 2006) et antioxydant (Matos et al., 2009).

I.1.2 Genre *Thymus*

I.1.2.1 Description générale

Le genre *Thymus* est composé de plantes vivaces originaires d'Europe et d'Afrique du Nord. Il existe plus de 350 espèces réparties dans le monde, dont plusieurs espèces sont endémiques à leurs régions (Benayache et al., 2014). Selon Nickavar et al. (2005), il existe environ 110 espèces différentes dans les régions chaudes et arides du bassin méditerranéen.

Les thymus sont des sous-arbrisseaux pouvant atteindre jusqu'à 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles vertes recourbées sur les bords, riches en huiles essentielles.

En Algérie, selon Quézel et Santa (1963), ce genre est représenté par douze espèces, réparties dans le nord du pays (tableau 1). Cependant, de nombreuses espèces ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement, dont l'espèce que nous allons étudier (*Thymus numidicus*).

I.1.2.2 Composition chimique

Beaucoup d'études (Baser et al., 1992 ; Guillen et al., 1998 ; Papageorgio, 1980 ; Hazzit et al. 2006) ont montré que les huiles essentielles du genre *Thymus* sont composés d'une centaine de constituants différents d'une variété à une autre. Les terpènes, phénol, thymol et carvacrol représentent les composés les plus importants du genre, suivis par le linalol, le p-cymène, γ -terpinène, le bornéol, le terpinène-4-ol et 1, 8-cinéole (Stahl-Biskup, 1990).

¹Carminative : Terme associé à toute substance augmentant l'évacuation des gaz intestinaux

²Antispasmodique : Terme désignant un produit permettant de lutter contre les spasmes musculaires.

Tableau 1: Localisation des principales espèces de thym en Algérie (Quézel et Santa, 1963)

Espèces	Localisation
<i>Thymus numidicus</i>	Assez rare, sur l'Atlas tellien algéro-constantinois ; endémique algéro-tunisien
<i>Thymus guyonii</i>	Rare, sur les hauts plateaux orano-algéro-constantinois ; endémique algérien
<i>Thymus lanceolatus</i>	Rare, sur l'Atlas tellien et les hauts plateaux algéro-oranais ; endémique algérien
<i>Thymus capitatus</i>	Très rare, dans la région de Tlemcen ; méditerranéen
<i>Thymus commutatus</i>	Très rare, endémique orano-marocain
<i>Thymus dreatensis</i>	Très rare, sur les monts de Dreat, Dira et Takoucht ; endémique algérien
<i>Thymus pallidus</i>	Très rare, sur les djBELs Mzi et Aissa ; endémique algéro-marocain
<i>Thymus glandulosus</i>	Très rare, sur les hauts plateaux oranais ; ibéro-maghrébin
<i>Thymus hirtus</i>	Commun en Algérie sauf sur le littoral ; ibéro-maghrébin
<i>Thymus fontanesii</i>	Commun dans le Tell, endémique algéro-tunisien
<i>Thymus algeriensis</i>	Très commun dans toutes les régions montagneuses ; endémique nord-africain
<i>Thymus munbyanus</i> (= <i>T. ciliatus</i>)	Très commun, dans toute l'Algérie ; endémique nord-africain

Le polymorphisme chimique des huiles essentielles des plantes du genre *Thymus* a été examiné par Stahl-Biskup (1990). Plus de 20 chémotypes d'huiles essentielles ont été recensés chez les différentes espèces du genre *Thymus*. Parmi ces chémotypes nous pouvons citer :

- Chémotype thymol : *Thymus vulgaris* (Hazzit et al., 2009)
- Chémotype 1,8-cinéol : *Thymus mastichina* (Miguel et al., 2004)
- Chémotype a-terpinéol : *Thymus caespititius* (Hazzit et al., 2009)
- Chémotype linalol : *Thymus algeriensis* (Skoula et al., 1996)
- Chémotype carvacrol : *Thymus capitatus* (Akrouf, 2001)

La composition chimique des huiles essentielles d'espèces de thym présentes en Algérie est récapitulée dans le tableau 2.

Tableau 2: Composition chimique des espèces de *Thymus* en Algérie

Nom de l'espèce	Composition chimique	Références
<i>Thymus algeriensis</i> ,	Monoterpenes oxygénés (79.5%), linalool (47.3%), thymol (29.2%) et <i>p</i> -cymène (6.8%).	(Skoula et <i>al.</i> , 1996)
<i>Thymus pallescens</i> (= <i>T. fontanesii</i>)	Carvacrol (44.4–57.7%), <i>p</i> -cymène (10.3–17.3%) et <i>c</i> -terpinène (10.8–14.2%)	(Hazzit et <i>al.</i> 2009)
<i>Thymus dreatensis</i>	Linalol (30.4%), thymol (20.2%), géraniol (19.6%)	(Hazzit et <i>al.</i> 2009)
<i>Thymus numidicus</i>	thymol (66 à 57%), Linalol (8.6 à 9.3%), <i>p</i> -Cymène (6.2 à 7.55%), γ -Terpinène (6.12 à 9.19%)	(Giordani et <i>al.</i> , 2008)

I.1.2.3 Domaines d'application et activités biologiques

Le genre *Thymus* est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes. Les feuilles et les fleurs sont utilisées en infusion contre la toux. En décoction, elles sont utilisées comme anti-inflammatoire pour guérir les maux de tête, l'hypertension et les gastrites. En usage externe, elles sont utilisées comme cicatrisant et antiseptique (Amarti et *al.*, 2011 ; Kholkhal et *al.*, 2013).

Les feuilles de thym sont riches en huile essentielle, dont ses propriétés sont mises à profit en phytothérapie. Elle est antiseptique et utilisée à ce titre pour soigner les infections pulmonaires. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée et il est aussi vermifuge (Ben El Hadj Ali et *al.*, 2014 ; Akrouit, 2001).

En Kabylie, *Thymus numidicus* remédie spécifiquement aux problèmes respiratoires et ceux de la sphère ORL tels que rhume, grippe, angine, pharyngite, asthme...etc.(Meddour et *al.*, 2010).

I.1.3 Genre *Origanum*

Le mot origan vient du grec, "oros" et "genos" qui signifie "éclat de montagne" (Bekhechi et *al.*, 2008).

I.1.3.1 Description générale

Le genre *Origanum* est bien connu pour son huile volatile et ses constituants et se caractérise par une grande diversité morphologique et chimique. Il pousse dans les régions montagneuses et rocheuses. Trente-huit (38) espèces ont été recensées et 70 % ont une distribution autour du bassin méditerranéen et sont endémiques dans certaines régions (Ietswaart, 1980 ; El Gendy et *al.*, 2015).

La plupart des espèces méditerranéennes d'origans atteignent généralement 30 à 60 cm de hauteur. Ce sont des plantes ligneuses ayant généralement plusieurs tiges, de longueur

variable (10 à 30 cm), et formant un sous-arbrisseau, avec des feuilles arrondies, vertes et légèrement dentées. Les fleurs sont roses, sous forme de panicules au bout de chaque tige.

En Algérie, l'origan est communément appelé "Zaatar". On distingue trois espèces qui poussent en Algérie (Quézel et Santa, 1963) : *Origanum majorana*, *Origanum floribundum* et *Origanum glandulosum*. Leur répartition est indiquée dans le tableau 3. Dans le cadre de notre présente étude, nous nous intéresserons à l'*Origanum glandulosum*.

L'*Origanum glandulosum* est une espèce endémique algéro-tunisienne, qui pousse spontanément dans les montagnes du Tell, à une altitude de 300 à 1600 m, dans les garrigues et les broussailles. C'est une espèce à tiges dressées, les fleurs sont en épis denses, contigües après floraison, dont la corolle possède une lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure (Quézel et Santa 1963, p. 819).

Tableau 3: Répartition géographique des espèces d'origan en Algérie

Espèces	Localités
<i>Origanum glandulosum</i> (<i>O. vulgare</i> subsp. <i>glandulosum</i>)	Commune dans tout le Tell. Endémique algéro-tunisienne. Pousse dans les broussailles et garrigues
<i>Origanum floribundum</i>	Espèce rare dans le Tell algérois et en Kabylie. Endémique de l'Algérie. Pousse dans les pâturages, surtout en montagne.
<i>Origanum majorana</i>	Cultivée et sub-spontanée. Est-méditerranéenne

I.1.3.2 Composition chimique

Le genre *Origanum*, caractérisé par sa forte odeur, est bien connu pour ses huiles essentielles, ainsi que leurs diversités qualitatives. La composition chimique des huiles essentielles du genre *Origanum* varie d'une région à une autre et d'une espèce à une autre.

Le genre *Origanum* peut être divisé en plusieurs groupes selon les composés majoritaires. Parmi eux nous pouvons citer :

- Linalol, terpinèn-4-ol et sabinène (Dardioti et *al.*, 2012).
- Carvacrol et/ou thymol et leurs précurseurs biosynthétiques terpinène et le p-cymène (Bendahou et *al.*, 2008 ; Özbek et *al.*, 2017).
- Sesquiterpène (thymoquinon et thymohydroquinon) (Skoula et *al.*, 1999).

Plusieurs études ont été menées afin de déterminer la variation de la composition chimique des huiles essentielles de l'*Origanum glandulosum* dans différentes régions en Algérie et en Tunisie :

- Belhatab et *al.* (2005) ont montré que les plantes récoltées à Sétif durant la période de floraison (Juin) présentent de fortes teneurs en carvacrol (47%), suivi de γ -terpinène (13,4%), de p-Cymène (11,2%) et du thymol à 6,6%.
- Bendahou et *al.* (2007) ont montré que l'huile essentielle de l'*Origanum glandulosum* récoltée à Tlemcen, durant la période de floraison (juin), possède une forte teneur en thymol (41,6 à 81,1%), suivie du γ -terpinène (27 à 30%), p-cymène (7,2%) et du carvacrol (3,5%).
- Dans le but de déterminer l'évolution qualitative et quantitative des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* relative à l'année de récolte, Mechergui et *al.* (2016), ont montré que le p-cymène, le γ -terpinène, le thymol et le carvacrol sont les principaux composés de toutes les huiles issues des plantes récoltées dans différentes stations en Tunisie, à savoir Nefza, et Krib. Cependant, leur teneur relative est variable selon les années de récolte. Par exemple, la teneur en p-cymène de Nefza était de 35,7% en 2007, de 12,7% en 2008 et de 11,5% en 2009 et à Krib, elle était de 46,3% en 2007, de 29,1% en 2008 et de 27,3% en 2009. Ces résultats montrent une différence significative entre les années. L'auteur a lié cette différence aux conditions climatiques durant la période de floraison, notamment aux précipitations (Mechergui et *al.* 2016).

I.1.3.3 Domaines d'application et activités biologiques

L'origan est une herbe culinaire aromatique très utilisée dans la cuisine méditerranéenne. L'*Origanum* est utilisé dans le nord de l'Afrique non seulement dans l'alimentation, mais aussi comme remède contre plusieurs maux, à savoir les rhumatismes, la toux et les troubles digestifs (Orhan et *al.*, 2010). En Algérie, l'origan est utilisé comme remède contre la toux et les infections respiratoires (Baba Aissa et *al.*, 1991).

Ces dernières années l'activité pharmacologique des huiles essentielles de l'origan a été beaucoup étudiée. Ces études ont montré que les huiles essentielles de l'origan possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne et antifongique (Rhayour et *al.*, 2003; Bendahou et *al.*, 2007).

Lemhadri et *al.* (2004) et Licina et *al.* (2013) ont rapporté que l'extrait aqueux d'origan a un potentiel antiglycémiant. Quant aux extraits alcooliques, ils ont un effet anti-inflammatoire (Albano et *al.*, 2011).

I.2 Les huiles essentielles

I.2.1 Définition

Les huiles essentielles sont des composés naturels, volatils, très complexes, produites par les plantes aromatiques. Elles sont caractérisées par une forte odeur qui est responsable de la saveur et du parfum de la plante. Elles sont principalement obtenues grâce aux procédés d'hydrodistillation. Le mode d'extraction est choisi en fonction de l'objectif de l'utilisation (Roux, 2008).

En effet, l'Association Française de Normalisation (AFNOR) définit les huiles essentielles selon leur mode d'extraction : « Ce sont des produits obtenus, soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus (zeste d'agrumes) par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000).

I.2.2 Historique

L'histoire de l'exploitation des plantes odoriférantes date de l'Antiquité. Quant aux "essences", elles ne sont apparues que plus tard vers l'an mille avant J.-C, grâce aux premières distillations pratiquées en Perse (Le Guéner, 2017). Ainsi, les qualités antiseptiques des plantes aromatiques et médicinales ont été reconnues à leur tour. Au cours du XIX^e siècle et début du XX^e siècle, les progrès de la chimie organique ont permis, d'une part, d'identifier les principaux constituants des huiles essentielles les plus actifs et, d'autre part, d'imiter ces molécules en laboratoire et de les remplacer par des composés de synthèse complètement différents, pharmacologiquement très actifs et parfois moins chers (Ouraini et *al.* 2007).

Au cours des dernières années, l'intérêt porté aux produits naturels, notamment à l'utilisation des plantes médicinales, ainsi que leurs huiles essentielles, a connu un grand essor. Cet intérêt est dû à plusieurs raisons (Hussain et *al.*, 2008) :

- La cherté des médicaments de synthèse.
- L'utilisation de produits bio, dénués de tous les produits nocifs.
- L'absence des effets secondaires dus aux produits chimiques.
- La protection de l'environnement.
- L'efficacité des effets thérapeutiques des plantes, qui est de plus en plus prouvée par la science.

De ce fait, plusieurs industries pharmaceutiques s'intéressent de plus près à l'étude ainsi qu'à l'utilisation des huiles essentielles, notamment le groupe Sidal en Algérie, qui a développé une unité de recherche "huiles essentielles" (Taleb-Toudert, 2015).

I.2.3 Modes d'obtention des huiles essentielles

Il existe divers procédés d'extraction des essences des plantes : distillation, expression à froid, extraction par micro-ondes ou par ultrasons, etc... (Chiasson et *al.*, 2001).

Cependant, l'extraction des huiles essentielles à usage pharmaceutique et cosmétique est une opération qui doit permettre d'obtenir des produits volatils, fragiles, de bonne qualité, sans additifs ni solvants susceptibles de nuire à la santé. Ainsi, la pharmacopée autorise deux méthodes d'extraction qui sont : l'expression à froid et la distillation (Bakkali et *al.*, 2008 ; Hussain et *al.* 2008).

I.2.3.1 Expression à froid

Le procédé d'expression à froid ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences fragiles. Ce procédé réalisé à température ambiante consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches sécrétrices d'essence, afin d'en libérer leur contenu. Cette technique, purement mécanique limite l'oxydation, car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile. Le produit ainsi obtenu s'appelle aussi une « essence », car il n'a subi aucune modification chimique et reste identique au produit sécrété par la plante (Roux, 2008).

I.2.3.2 Distillation

La distillation à la vapeur d'eau est une méthode ancienne très utilisée pour extraire des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Elle est simple dans son principe et se présente sous deux variantes: l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation.

- Entraînement à la vapeur d'eau

Le procédé consiste à faire injecter de la vapeur d'eau à une cuve remplie de plantes aromatiques. A la sortie, un essencier recueille l'eau et l'huile essentielle. La différence de densité entre les deux liquides permet alors leur séparation (Silou et *al.*, 2004).

- Hydrodistillation

La plante est immergée directement dans un alambic rempli d'eau et placé sur une source de chaleur. Porté à ébullition, le mélange dégage des vapeurs qui se condensent dans

un réfrigérant et sont, ensuite, récupérées dans un essencier. On obtient ainsi un mélange d'huile essentielle et d'eau qui se sépare en deux phases en raison de la différence de densité (Silou et *al.*, 2004).

I.2.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses. Elles sont reconnues par deux ou trois composants majeurs présents à des concentrations assez élevées (20-70%) comparativement aux autres. En général, les huiles essentielles pures sont subdivisées en deux groupes biosynthétiques distincts : un groupe principal composé de terpènes et terpénoïdes et un autre constitué de composés aromatiques et aliphatiques (Bakkali et *al.*, 2008).

Les terpènes regroupent structurellement et fonctionnellement différentes classes. Les principaux terpènes sont des monoterpènes (C10) et sesquiterpènes (C15). Mais des hémiterpènes (C5), diterpènes (C20), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40) existent également. Une combinaison oxygène terpène est appelée un terpénoïde (Bakkali et *al.* 2008).

Les monoterpènes sont formés à partir du couplage de deux motifs d'isoprène (C10). Ce sont les molécules les plus représentatives qui constituent 90% des huiles essentielles et permettent une grande variété de structures. Ils renferment plusieurs fonctions : Carbures, Alcools, Aldéhydes, Esters, Éthers et Phénols.

Les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités d'isoprènes (C15). La structure et la fonction des sesquiterpènes sont semblables à ceux des monoterpènes : Carbures, Alcools, Cétones et Époxydes.

Les composés aromatiques sont moins fréquents que les terpènes. Ils comprennent des aldéhydes, des alcools, des phénols et des méthoxy.

I.2.5 Facteurs influant la qualité et la composition des huiles essentielles

De nombreux facteurs influencent la composition quantitative et qualitative des plantes aromatiques. Ces facteurs déterminent la composition et le rendement des huiles essentielles obtenues. Dans certains cas, il est difficile d'isoler ces facteurs les uns des autres, car beaucoup sont interdépendants et s'influencent mutuellement. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer les variations saisonnières, géographiques et climatiques, ainsi que les variations génétiques et les chémotypes (Hussain et *al.*, 2004).

Plusieurs auteurs ont comparé la variation du rendement et la qualité des huiles essentielles par rapport à différents stades de maturité. Par exemple, Marotti et *al.* (1994) ont

signalé que le rendement en huile essentielle de jeunes plants de *Tagetes minuta*, de la famille des *Asteraceae*, avant floraison était élevé par rapport à celle des plants à des stades de floraison précoce ou complète. D'autres auteurs, comme Badia et *al.* (2004) ont conclu que la formation du principe actif des huiles essentielles se fait principalement pendant la floraison.

I.2.5.1 Facteurs environnementaux

Parmi les facteurs environnementaux, on peut inclure les variations géographiques et climatiques, qui sont étroitement liées. Plusieurs études scientifiques (Telci et *al.*, 2008 ; Lozien et *al.*, 2005) démontrent que les plantes aromatiques se trouvant dans les régions ensoleillées produisent des huiles essentielles proportionnellement à la durée de l'exposition à la lumière et à l'intensité de celle-ci. En effet, la quantité des sesquiterpènes est plus élevée dans les endroits chauds, tandis que celles des monoterpènes l'est dans les endroits tempérés (Fouche et *al.*, 2009).

I.2.5.2 Facteurs génétiques et chémotypes

La biosynthèse d'une plante et son profil génétique peuvent influencer sur la composition chimique des huiles essentielles. Le chémotype est une race chimique où une même espèce végétale peut fournir des huiles essentielles de compositions chimiques différentes. C'est ce qu'on retrouve souvent dans le cas du thym (Fouche et *al.*, 2002 ; Hector et *al.*, 2002).

I.2.5.3 Autres facteurs

Le procédé d'extraction, le séchage, la partie de la plante utilisée, la teneur en humidité des plantes au moment de la récolte, représentent autant de facteurs influant sur le rendement et la composition chimique d'une huile essentielle d'une plante aromatique donnée (Chalchat et *al.*, 1995).

I.2.6 Analyse des huiles essentielles

De nombreuses techniques analytiques ont été utilisées pour l'étude du profil chimique des huiles essentielles. La technique la plus utilisée et la plus cataloguée est la CPG (la Chromatographie en Phase Gazeuse), c'est la méthode générique pour la caractérisation des huiles essentielles. Elle est couplée soit à un Détecteur d'Ionisation de Flamme (FID) ou à un Spectromètre de Masse (SM) (Bakkali et *al.*, 2008 ; Hussain et *al.*, 2008 ; Tomescu et *al.*, 2015).

Le couplage de la CPG avec les techniques spectroscopiques a permis une approche beaucoup plus précise de l'identification des composés présents dans les huiles essentielles. Il permet simultanément la séparation et l'analyse des composants présents dans les huiles

essentielles. Les inconvénients de cette technique résident dans la préparation des échantillons et dans l'analyse qui sont chronophages. De plus, cette technique entraîne la destruction des échantillons après utilisation (Hussain, 2004).

Une autre technique spectroscopique d'analyse, la RMN-H (résonance magnétique nucléaire du proton) permet l'identification et la quantification des constituants de mélanges complexes. Malgré son inconvénient d'être moins sensible que la CPG, elle reste complémentaire à cette dernière. Elle permet d'identifier les composés difficilement séparables par la CPG, comme les sesquiterpènes qui possèdent des spectres de masse très proches (Badesi et *al.*, 1996).

Bradesi et *al.* (1996) et Rivero-Cruz et *al.* (2008) ont mené une étude sur l'analyse quantitative et qualitative des composants actifs de l'huile essentielle de *Brickellia veronicaefolia* en développant une méthode en RMN-H. Leurs résultats ont montré que la spectroscopie RMN quantitative est un excellent outil analytique. Elle offre plusieurs avantages par rapport aux méthodes chromatographiques classiques, comme la linéarité, la précision et la répétabilité selon les directives internationales et les exigences de la pharmacopée.

Par ailleurs, plusieurs tests peuvent être envisagés afin d'identifier et de garantir la qualité des huiles essentielles. Cette évaluation est accomplie par la mesure d'un certain nombre d'indices physiques et chimiques, ainsi qu'une caractérisation par des techniques physico-chimiques :

- **Indices physiques** : densité relative, indice de réfraction, angle de rotation optique, point de solidification, résidu d'évaporation, solubilité dans l'alcool, etc.
- **Indices chimiques** : indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde, etc.

I.3 Les composés phénoliques (les polyphénols)

Les métabolites secondaires des plantes aromatiques jouent un rôle de défense et de relation entre les plantes et leur environnement. Telle que la défense contre le rayonnement ultraviolet et les agents pathogènes comme les moisissures, les champignons et les bactéries (Zhao et *al.*, 2005).

Trois grandes familles de métabolites secondaires sont distinguées chez les végétaux : les alcaloïdes et composés azotés, les composés phénoliques et les composés terpéniques.

Dans cette partie nous nous intéresserons aux composés phénoliques.

Les polyphénols sont constitués d'environ 8000 composés, largement présents dans les fruits, les légumes et les produits naturels (Dai et *al.*, 2010). Leur structure générale est

caractérisée par la présence d'un noyau phénolique, avec un groupement hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une fonction ester ou éther (Jee *et al.*, 1999 ; Stalikas *et al.*, 2007).

Les polyphénols naturels peuvent aller de molécules simples, telles que les acides phénoliques, vers des composés hautement polymérisés, tels que les tanins. Ainsi, ils sont divisés en deux principaux groupes : les polyphénols simples et les polyphénols complexes.

I.3.1 Polyphénols simples

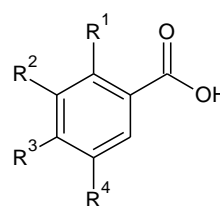
I.3.1.1 Acides phénoliques

a. Description générale

Ce sont des composés organiques avec au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont caractérisés par deux sous-groupes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Tableaux 4 et 5) (Bruneton, 2008).

Tableau 4 : Structure des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque(Bruneton, 2008)

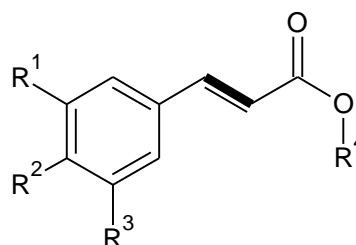
Nom	R1	R2	R3	R4
Acide benzoïque	H	H	H	H
Acide p-Hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Acide vanilique	H	OCH ₃	OH	H
Acide gallique	H	OH	OH	OH
Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
Acide synergique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide gentérique	OH	H	H	OH
Acide veratrique	H	OCH ₃	OCH ₃	H
Acide salicylique	OH	H	H	H



l'acide hydroxybenzoïque

Tableau 5 : Structure des dérivés de l'acide hydroxycinnamique(Bruneton, 2008)

Nom	R1	R2	R3	R4
Acide cinnamique	H	H	H	H
o-Acide coumarique	OH	H	H	H
m-Acide coumarique	H	OH	H	H
p-acide coumarique	H	H	OH	H
acide férulique	H	OCH ₃	OH	H
Acide sinapique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Acide caféique	OH	OH	H	OH
Acide veratrique	H	OCH ₃	OCH ₃	H



Acide cinnamique

En général, les acides phénoliques ne sont pas présents dans les plantes en l'état. Par exemple, l'acide tartrique ou l'acide quinique produit des esters avec le glucose (Herrmann, 1989). L'acide phénolique le plus connu est l'acide caféique, il existe sous forme d'ester quinonique, principalement dans les fruits (pommes, kiwi, prune) (Vauzour et *al.*, 2014). L'acide caféique, l'acide ferulique, et l'acide coumarique ont été détectés dans les extraits méthanoliques de plusieurs plantes aromatiques étudiées : *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus* et *Mentha pulegium* (Proestos et *al.*, 2017).

b. Activités biologiques

En raison de leur structure chimique, les acides phénoliques présentent un effet antioxydant très important. Plusieurs chercheurs (Wu et *al.*, 2007 ; Weng 2012 ; Kurat et *al.*, 2007), leur ont attribué un rôle probable dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif. Telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et autres maladies chroniques (Rocha et *al.*, 2012).

Ainsi, Kampa et *al.* (2004) ont étudié l'action antiproliférative de l'acide caféique, de l'acide syringique, de l'acide sinapique, de l'acide protocatéchique, de l'acide ferulique et de l'acide 3,4-dihydroxy-phénylacétique sur des cellules cancéreuses mammaires humaines (T47D). Les résultats ont montré un effet inhibiteur dépendant du temps, des composés et de la dose sur la croissance cellulaire entre les composés (acide caféique > acide ferulique = acide protocatéchique = l'acide 3,4-dihydroxy-phénylacétique > acide sinapique = acide syringique). Pour l'acide rosmarinique, des études ont révélées des propriétés antidépressives (Takeda et *al.*, 2002) et un effet inhibiteur des amylases pancréatiques du porc in vitro (Patrick et *al.*, 2004).

Par ailleurs, l'acide caféique semble posséder un effet antioxydant supérieur aux autres acides hydroxycinamiques en inhibant l'oxydation des LDL et l'extinction des radicaux et des oxygènes libres (Gülçin et *al.*, 2010). Les herbes médicinales, telles que l'estragon et le thym contenant de l'acide caféique, ont un effet bactéricide, virucide et fongicide (Gülçin et *al.*, 2010)

En raison de leur activité antioxydante, des études (Urs, 1975 ; Scalbert et *al.*, 1991) suggèrent que ces composés peuvent également agir par d'autres mécanismes en plus de la capacité antioxydante en modulant l'activité de certaines enzymes spécifiques et en inhibant la prolifération cellulaire (Cowan, 1998).

I.3.1.2 Flavonoïdes

a. Description générale

C'est un groupe très important et très abondant des composés phénoliques. Ils sont présents dans une grande variété d'aliments (céréales, jus, vin, fruits et légumes), ainsi que dans de nombreux végétaux. Ils sont composés de deux noyaux aromatiques (A et B) et d'un hétérocycle (C) de type pyranne au centre (Figure 1).

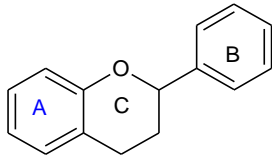


Figure 1: Structure de base des flavonoïdes (Crozier et al., 2003)

Les flavonoïdes sont classés en six sous-groupes suivant la nature, le nombre et la position des substituants des noyaux aromatiques. Ainsi, nous pouvons distinguer : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavan-3-ols et les anthocyanes (Figure 2, Tableau 6)

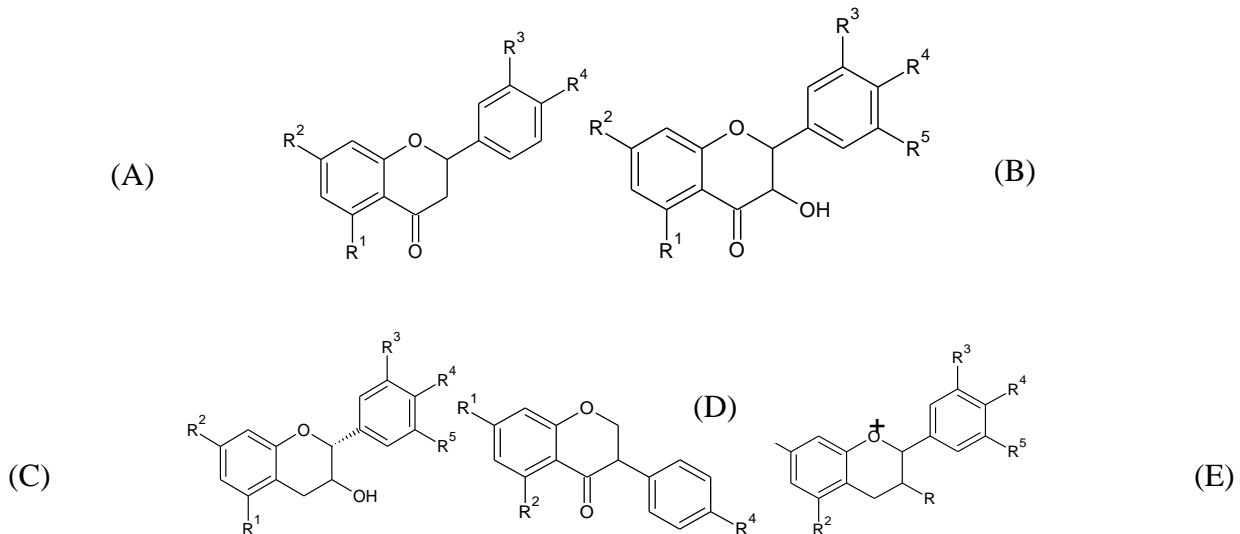


Figure 2: Structure chimique des flavonoïdes. A : Flavones ; B : Flavonols ; C : Flavon-3-ol ; D : Isoflavone et E : Anthocyanidines (Crozier et al., 2003)

b. Activités biologiques

De nombreux travaux (Harborne et *al.*, 2000 ; Matkowski et *al.*, 2006) indiquent que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydantes et anti-radicalaires. D'après Lahlou (2004), les flavonoïdes ont un rôle protecteur dans la prévention et la limitation des effets secondaires des médicaments anticancéreux chez le rat.

Bouterfas et *al.* (2016) ont montré que les extraits flavonoïques du *Marrubium vulgare*, récolté au mont Tessala (Algérie occidentale) ont un effet antibactérien contre des souches à Gram+ et antifongiques sur *Aspergillus niger* et sur *Candida albicans*. Cet effet varie significativement en fonction de la localité.

Tableau 6: Substituants des différentes classes de flavonoïdes (Crozier et *al.*, 2003)

Symbole	Classe	Nom	R	R1	R2	R3	R4	R5
A	Flavones	Apigenin		OH	OH	.	OH	
		Luteolin		OH	OH	OH	OH	
		Chrysin		OH	OH			
B	Flavonols	Quercetin		OH	OH	OH	OH	
		Kaempferol		OH	OH		OH	
		Fisetin			OH	OH	OH	
		Myricetin		OH	OH	OH	OH	OH
C	Flavan-3-ols	(+)Catechine	β OH	OH	OH	OH	OH	
		(-)Epicatechine	α OH	OH	OH	OH	OH	.
		(-)epigallocatechine	α OH	OH	OH	OH	OH	OH
D	Isoflavones	Genisteine		OH	OH		OH	
		Genistine		OH	o-GLU		OH	
		Daidzeine			OH		OH	
		Daidzine			o-GLU		OH	
		Ononine		OH	o-GLU		CH3	
E	Anthocyanidines	Cyanidine	OH	OH	OH	OH	OH	
		Cyanine	O-Glu	OH	OH	OH	OH	
		Peonidine	OH	OH	OH	OCH ₄	OH	
		Delphinidine		OH	OH	OH		OH
		Pelargonidine	OH	OH	OH		OH	
		Malvidine	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃

Les activités antibactérienne et antioxydante des extraits alcooliques des sommités fleuries de l'*Origanum compactum* ont été évaluées par Bouyahya et *al.* (2017). Cette étude a révélé que la forte teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes améliore significativement l'activité antioxydante et antimicrobienne.

Une étude sur l'activité antiamnésique et antioxydante des extraits aqueux de sauge officinale (*Salvia officinalis*), riches en flavonoïdes et en polyphénols totaux, a été menée par Smach et al. (2015) *in vivo* sur des souris. Les résultats de cette étude ont révélé que les extraits de flavonoïdes (caractérisés par 2,44 mg d'équivalents de catéchine/g d'extrait sec) présentent une activité antiradicalaire significative (CI50 = 14,5 g/ml). Ainsi, les souris traitées pendant sept jours par 300 mg par kg de poids corporel montrent une baisse significative des erreurs d'évitements et de discriminations lors des essais de rétention, comparées à un groupe témoin. Cela peut être traduit par la baisse significative de l'activité anticholinestérasique chez les souris traitées par l'extrait de sauge.

I.3.1.3 Alcools phénoliques

a. Description générale

Ce sont des composés organiques possédant un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. En général, ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Figure 3).

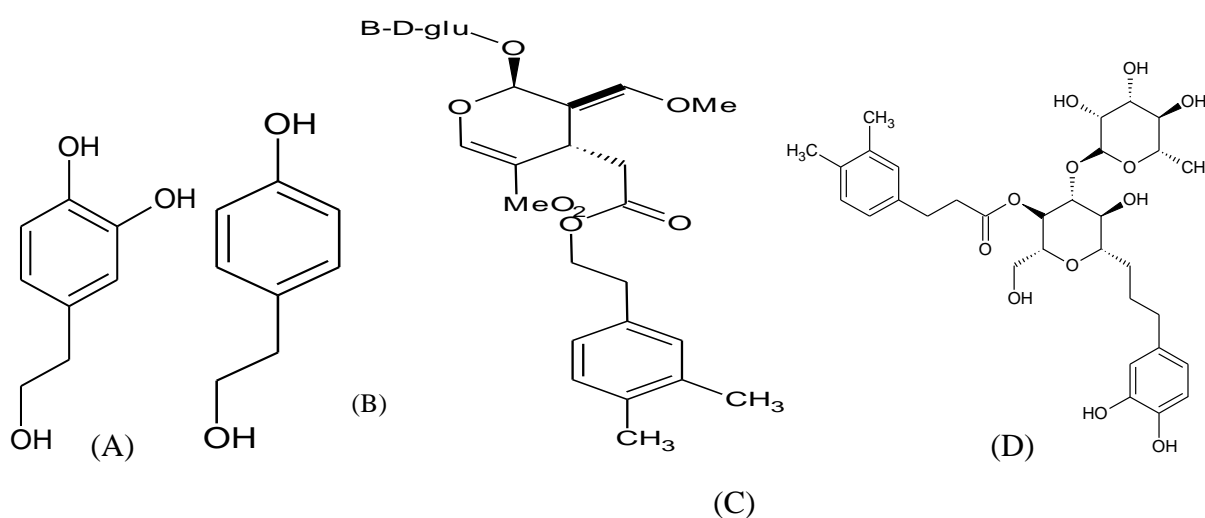


Figure 3 : Structure des biophénols : A : hydroxytyrosol, B : tyrosol, C : oleuropéine, D : verbascoside (Crozier et al., 2003)

I.3.1.4 Activités biologiques

Les biophénols, tels que l'oleuropéine, verbascoside, ligidroside, tyrosol et hydroxytyrosol sont des composés qui ont une large activité biologique. Ils ont été identifiés dans les feuilles de l'olivier (*Olea europaea*). Parmi leurs propriétés, nous pouvons citer : l'activité antioxydante (Visioi et al, 1998), l'activité antimicrobienne qui a été démontrée

par l'inhibition d'une large variété de bactéries, de champignons et de virus (Hirschman et *al.*, 1972), ainsi que la propriété photoprotectrice de la peau contre les rayonnements ultraviolets (Saija et *al.*, 2001).

L'oleuropéine est un alcool phénolique, qui est très abondant dans l'olivier (fruit et feuille). Les résultats d'une étude *in vitro* ont révélé une activité inhibitrice de l'oleuropéine contre le virus de la septicémie hémorragique virale. L'incubation du virus avec l'oleuropéine a réduit l'infection virale de 30% et a un effet virucide, lorsqu'il est ajouté aux monocouches cellulaires 36 h après l'infection (Mico et *al.*, 2005).

I.3.2 Polyphénols complexes (les tanins)

I.3.2.1 Description générale

Les tanins sont présents dans la nature dans de nombreuses familles de plantes. Ce sont des molécules de poids moléculaire d'environ 30000 Da (dalton) fortement hydrolysées pouvant former des complexes insolubles avec les hydrates de carbone et les protéines (King et *al.*, 1994). La fonction des tanins est responsable de l'astringence des aliments en raison de la précipitation des protéines salivaires (Bravo et *al.*, 1998).

Les tanins végétaux peuvent être divisés en deux catégories suivant leurs structures et leurs propriétés : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

- **Les tanins hydrolysables**

Ce sont des molécules qui subissent facilement une hydrolyse par voie chimique (acido-basique) ou par voie enzymatique pour donner de l'alcool polyhydrique et de l'acide phényl carboxylique. Les tanins hydrolysables peuvent être subdivisés en deux genres : les gallotannins, qui sont dérivés de l'acide gallique, et les ellagitannins, qui sont dérivés de l'acide hexahydroxydiphénique et qui tirent leur nom de l'acide lactagène ellagique. Le tanin hydrolysable le plus connu est l'acide tannique (Khanbabaee et *al.*, 2001).

- **Les tanins condensés**

Les tanins condensés, aussi appelés les proanthocyanidines, sont des polymères de haut poids moléculaire. Ils résultent de la polymérisation oxydative d'un monomère flavan-3-ol (appelé catéchine, épicatechine), avec une molécule flavan-3,4-diol comme précurseur (leucoanthocyanidine) (Haslam et *al.*, 1996). La liaison se fait entre le carbone C-4 de l'hétérocycle et le carbone C-6 ou C-8 des unités adjacentes (Cowan, 1999).

I.3.2.2 Activités biologiques

Ces dernières années, une importance accrue a été accordée aux tanins et à leurs propriétés biologiques. Il a été prouvé que la consommation de boissons riches en tanins, tel que le thé vert pouvait guérir de nombreuses maladies (Serafini *et al.*, 1994).

De nombreuses activités physiologiques humaines ont été attribuées aux tanins, tels que l'effet cytotoxique (inhibition de la prolifération tumorale) et un large mode d'action anti-infectieux (Haslam *et al.*, 1996).

Par ailleurs, Okuda *et al.* (1993) ont démontré une inhibition significative de l'effet cytopathogène du VIH et de l'expression de l'antigène VIH dans les cellules MT-4 positives du virus lymphotrope humain de type I (HTLV-1) par plusieurs tanins hydrolysables, mais pas par les proanthocyanidines (tanins condensés). Ainsi, l'activité anti-VIH des divers esters galloyl et hexahydroxydiphényl augmente avec l'augmentation de la taille moléculaire.

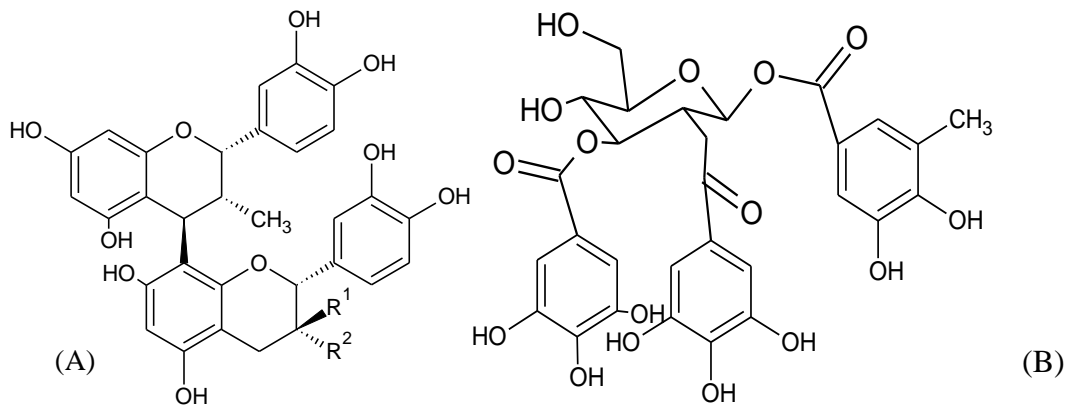


Figure 4 : Structure chimique des tanins, A : tanin condensé (proanthocyanidine), B : 1,2,3- tri-O-gallyol-β-D-glucose)

Scalbert *et al.* (1991) ont passé en revue les propriétés antimicrobiennes et les activités inhibitrices des tanins. Selon leurs recherches, les tanins peuvent être toxiques pour les champignons filamenteux, les levures et les bactéries. Les tanins condensés sont capables de lier les parois cellulaires des bactéries du rumen, empêchant ainsi la croissance de l'activité des protéases.

I.3.3 Polyphénols identifiés dans le genre *Thymus*

De nombreuses études (Roger et al., 2004 ; Benayache et al., 2014) ont été menées sur l'analyse phytochimique du genre *Thymus*, afin d'isoler des métabolites secondaires. Les plus présents sont les terpènes et les flavonoïdes (Tableaux 7 et 8).

D'autres polyphénols ont été identifiés au niveau de différentes espèces de thym, tels que les acides phénoliques (acide caféique et acide rosmarinique) (Takeuchi et al., 2004) et les tanins (Cowan, 1999 ; Chalchat et al., 2004).

Tableau 7 : Exemple de flavonoïdes isolés dans le genre *Thymus*

Espèces	Composés isolés	Références
Thymus Numidicus	Circilinéol	(Benayache et al., 2014)
	Circimaritine	
	Apignénine	
	Lutéoline	
	Apignénine 7-O-β glucopyranoside	
Thymus vulgaris	Acacitine	(Roger et al., 2004)
	Hispiduline	
	Cirisimaritine	
	Scutellarine	
	Circinéol	
	Thymonine	
	8-methoxycircilinéol	
	Quercétine	
	Rutine	
Thymus algeriensis	Kampférol	(Martos et al., 1997)
	Quercétine	
	Isorhamnétine	
	5,3'-di-hydroxy-3,7,4',5'-tetraméthoxyflavone	
	Galangin	
	Chrysine	

Tableau 8 : Exemples de monoterpènes isolés de *Thymus vulgaris*

Espèce	Composés isolés	Références
Thymus vulgaris	(R)-p-cymen-9-yl beta-D-glucopyranoside	(Takeuchi et al., 2004)
	2-β-D-glucopyranosylthymoquinols	
	5-β-D- glucopyranosylthymoquinols	
	(-)-angelicoïdenol-beta-D-glucopyranoside	

I.3.4 Polyphénols identifiés dans le genre *Lavandula*

D'après une étude (Balchim, 2002), les composants majoritaires des feuilles de lavande sont les flavones glycosides : flavone C-glycosides, 6-Hydroxyflavone-7-glycoside, 8-hydroxy flavone-7.

Chez *Lavandula stoechas*, les polyphénols majoritaires identifiés sont les flavonoïdes : apigénine, genkwanine, lureoline, apigénine 7-glucoside, lureolien 7glucoside et 7-rutinoside, Hypolaétine, Sutellaréine, Xanthomicrol, Salvigénine, Delphinidine, Malvidine, les anthocyanines, tels que le delphinidine 3-(6-p-coumarylglucoside)-5-(6-malonylglucoside) et les hydroxycinamique acide esters, tel que l'acide rosmarinique (Balchim, 2002).

I.3.5 Polyphénols identifiés dans le genre *Origanum*

Les composés phénoliques majoritaires du genre *Origanum* identifiés et reportés dans la littérature sont les flavonoïdes et les acides phénoliques (Tableau 9).

Tableau 9 : Exemple de polyphénols extraits de l'*Origanum vulgare*

Composés	Noms	Références
Flavonoïdes	Lutolin glycoside	(Gayoso et al., 2018)
	4-(3,4-Dihydroxybenzoyloxymethyl)-phenil-β-D-glycopyranoside	
	Flavones Tri OH et OCH ₃ ethers	(Roger et al., 2004)
	Flavonestetra OH et OCH ₃ éthers	
Acide phénolique	Acide caféique	(Roger et al., 2004)
	Acide rosmarinique	

I.4 Biosorption

Le développement industriel dans le monde entraîne une menace potentielle sur l'environnement par l'augmentation des effluents et déchets, contenant plusieurs substances actives et toxiques déversées dans les systèmes aquatiques. Ces substances présentent des effets cancérigènes et mutagènes et sont potentiellement toxiques pour tous les organismes vivants. Parmi ces polluants, nous distinguerons particulièrement les colorants utilisés par les industries textiles, papier, plastique, cosmétique et pharmaceutique (Khataee et al., 2012).

Les colorants organiques en raison de leurs origines synthétiques et de leurs structures aromatiques sont très nocifs et biologiquement non dégradables. Plusieurs techniques de traitement des déchets et effluents comportant ces colorants ont été développées. Parmi ces

techniques, nous pouvons citer la biodégradation (Barragan et *al.*, 2007), l'oxydation chimique (Wang et *al.*, 2008), l'électrolyse (Yue et *al.*, 2008), la photocatalyse (Malekbala et *al.*, 2012) et l'adsorption. Cette dernière demeure le procédé le plus utilisé pour l'élimination des colorants contenus dans les eaux usées (Aksu et *al.*, 2010).

I.4.1 Principe

Le processus d'adsorption se produit lorsque des molécules d'un adsorbat (gaz ou liquide) se fixent sur la surface d'un solide, appelé adsorbant, constitué par un réseau de pores et de cavités (Sun et *al.*, 2005).

Deux types de processus d'adsorption sont à distinguer (Sun et *al.*, 2005):

- La physiosorption : adsorption physique basée sur des forces électrostatiques, forces de Van der Waals. Ces forces sont dues au mouvement des électrons à l'intérieur des molécules qui provoquent des petits mouvement dipolaires. Ce processus est réversible et exothermique.
- La chimiosorption : adsorption chimique qui implique des liaisons chimiques sur la surface du biosorbant. Le phénomène est lent et parfois irréversible, du aux énergies mises en jeu qui sont plus importantes.

I.4.2 Paramètres influants sur l'adsorption

Plusieurs paramètres peuvent influencer le processus d'adsorption parmi lesquels nous pouvons citer :

- La nature de l'adsorbant et sa structure sont des éléments clé dans l'étude de l'efficacité de l'adsorption. En effet, l'adsorbant doit posséder une large surface spécifique, une porosité importante pour faciliter la diffusion des molécules et le piégeage de celles-ci à l'intérieur (Das et *al.*, 2004). Les fonctions de surfaces ainsi que la taille des particules jouent un rôle important sur la vitesse et la cinétique d'adsorption (Sun et *al.*, 2005). Au cours des dernières années, l'efficacité de plusieurs biosorbants a été prouvée lors de la dépollution des sites contaminés. Ainsi, une grande variété de biosorbants, tels que les bactéries et les champignons (Yeddou, 2010), les algues (Daneshvar et *al.*, 2008), les plantes (Susarla et *al.*, 2002), les argiles (Bentahar, 2016), ont montré leur efficacité dans la dépollution des eaux chargées en colorants textiles.
- La nature et les paramètres physico-chimiques de l'adsorbat sont des facteurs influençant largement leur affinité vis-à-vis des adsorbants. Ainsi, plus leurs structures sont volumineuses plus leur rétention à la surface des adsorbants devient difficile. Il en est de

même pour les autres paramètres physico-chimiques, tels que le pH, les ions compétitifs, la vitesse d'agitation et la température (Li et *al.*, 2016). En effet, le pH influe sur l'état de charge de l'adsorbat et de l'adsorbant, ce qui permet l'adsorption des anions aux pH acides et des cations aux pH alcalins. De même, l'augmentation de la température favorise souvent le processus de chimiosorption et sa diminution accentue la physiosorption (Siti et *al.*, 2013).

I.4.3 Modélisation du processus d'adsorption

I.4.3.1 Isotherme d'adsorption

L'isotherme d'adsorption a été introduit afin de décrire le mécanisme d'interaction de l'adsorbat à l'interface de l'adsorbant. Elle représente graphiquement la quantité de matière adsorbée par unité de masse en fonction de la concentration du soluté à l'équilibre, telle que traduite par l'équation (1) (Han et *al.*, 2006) :

$$q = \frac{(C_i - C_e)}{m} V \quad (1)$$

q : Quantité adsorbée exprimée en mg de soluté par gramme d'adsorbant (mg/g)

C_i : Concentration initiale d'adsorbat en solution (mg/l)

C_e : Concentration de l'adsorbat à l'équilibre en (mg/l)

V : Volume de la solution d'adsorbat mis en contact de l'adsorbant (L)

m : masse d'adsorbant mise en contact avec la solution d'adsorbat (g).

Il existe plusieurs modèles d'isotherme pour l'étude de l'adsorption. Les plus fréquents sont le modèle de Langmuir (1919) et celui de Freundlich (1906) .

a. Isotherme de Langmuir

Le modèle de Langmuir stipule l'absence d'interaction entre l'adsorbant et l'adsorbat et que tous les sites d'adsorption possèdent les mêmes propriétés et sont distribués en monocouche de façon homogène. Le modèle est décrit par l'équation (2) (Langmuir, 1919) :

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (2)$$

q_e : Quantité d'adsorbat retenue par gramme d'adsorbant à l'équilibre (mg/g)

q_{max} : Quantité maximale d'adsorbat retenue par gramme d'adsorbant (mg/g)

C_e : Concentration de l'adsorbat à l'équilibre (mg/L)

K_L: constante de Langmuir L /mg

Le tracé de la transformée linéaire de l'équation (2) permet d'évaluer graphiquement les valeurs de k_L et q_{max} :

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Kq_{\max}} + \frac{C_e}{q_{\max}} \quad (3)$$

b. Isotherme de Freundlich

Le modèle de Freundlich suppose que la surface d'adsorption est hétérogène et que le dépôt de l'adsorbat sur l'adsorbant ne forme pas une monocouche. Le modèle est décrit par l'équation (4) :

$$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (4)$$

q_e : Quantité d'adsorbat retenue par gramme d'adsorbant à l'équilibre (mg/g)

C_e : Concentration de l'adsorbat à l'équilibre (mg/L)

K_F : Constante de Freundlich qui exprime l'affinité d'adsorption (mg/g)

$1/n$: Constante de Freundlich qui traduit l'intensité d'adsorption

Si $1/n < 1$ ceci implique que l'adsorption est favorable

Plus la valeur de k_f est élevée, plus le pouvoir adsorbant est important. Ainsi, la transformée linéaire de l'équation (4) permet d'évaluer graphiquement les constantes k_F et $1/n$:

$$\log(q_e) = \log(K_F) + \frac{\log(C_e)}{n} \quad (5)$$

I.4.3.2 Etude cinétique du processus d'adsorption

Il est en général nécessaire de faire au préalable une étude cinétique de l'adsorption pour établir le temps nécessaire à l'établissement de l'équilibre.

La cinétique d'adsorption est traduite par de nombreux modèles décrits dans la littérature. Dans le cadre de notre étude, nous nous intéresserons à deux modèles : les modèles cinétiques du pseudo premier ordre et du pseudo second ordre (Beltrama et al., 2015).

a. Modèle du pseudo premier-ordre

Ce modèle se réfère à l'hypothèse que la vitesse de sorption du soluté à l'instant t est directement proportionnelle à la différence de la concentration de saturation C_e et de la quantité adsorbée à l'instant t . L'équation de Lagergren (Lagergren, 1898) est donnée par la formule suivante :

$$\frac{dq_t}{dt} = K_1(q_e - q_t) \quad (6)$$

q_t : Quantité adsorbée à l'instant t en mg/g

q_e : Quantité adsorbée à l'équilibre en mg/g

K_1 : Constante de vitesse de pseudo premier ordre (min^{-1})

L'intégration de l'équation (6) permet de calculer q_e , k_1 et donne lieu à l'équation (7) :

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_1}{2,303} t \quad (7)$$

b. Modèle du pseudo second-ordre

Ce modèle est traduit par la relation (8) :

$$\frac{dq_t}{dt} = K_2(q_e - q_t)^2 \quad (8)$$

q_t : Quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g)

K_2 : Constante de vitesse pour le modèle pseudo-second ordre ($\text{g mol}^{-1}\text{min}^{-1}$).

Le modèle est basé sur l'hypothèse que la fixation rapide des solutés se fait sur les sites les plus réactifs et inversement. L'intégration de l'équation (8) nous donne la relation (9) :

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (9)$$

I.4.3.3 Etude thermodynamique du processus d'adsorption

La température est un paramètre très important lors de l'étude des processus d'adsorption. En effet, si la quantité adsorbée augmente lorsque la température augmente, la sorption est dite endothermique. Dans le cas contraire, si la quantité adsorbée diminue quand la température augmente, le processus d'adsorption est dite exothermique.

La constante d'équilibre obtenue par l'équation de Langmuir à différente température, nous permet de déterminer les paramètres thermodynamiques, tels que : l'enthalpie standard (ΔH°), l'enthalpie libre standard (ΔG°) et l'entropie standard (ΔS°), en se servant des équations suivantes (Han et *al.*, 2005) :

$$\Delta G^\circ = -RT \ln k_c \quad (10)$$

$$\ln k_c = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad (11)$$

Chapitre II

Extraction et caractérisation des huiles essentielles

II- Extraction et caractérisation des huiles essentielles

Dans ce chapitre, nous allons étudier la variation de la composition chimique des huiles essentielles extraites de différentes espèces de plante, à savoir : *T.numidicus*, *O.glandulosum* et *L.stoechas*, suivant des facteurs environnementaux, tels que la pluviométrie, la localité et la période de récolte.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Les plantes retenues pour cette étude sont : *Lavandula stoechas*, *Thymus numidicus* et *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum*.

Des sorties sur le terrain ont été effectuées durant le mois de Mai des années 2012, 2013, 2014, 2015, 2016 et 2017, à la période juste avant la floraison, dans différentes localités de la wilaya de Tizi Ouzou. L'objectif de ces sorties est de récolter ces espèces végétales dans différentes localités, afin d'évaluer l'activité pharmacologique de leurs huiles essentielles. Pour ce faire, il est nécessaire d'établir un profil de leur composition chimique dans le but d'élaborer une corrélation entre la teneur en huile essentielle, leur activité biologique et les conditions climatiques de ces localités. Les données géographiques des différentes localités de cueille sont résumées dans le tableau 10 et la figure 5.

Chaque espèce a été échantillonnée plusieurs fois dans des endroits différents et représentatifs.

Une identification botanique a été faite au sein des laboratoires de recherche de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.

Les échantillons de plantes ont été séchés au laboratoire pendant 10 jours, à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Le climat des sites de collecte des plantes étudiées est tempéré ou chaud. Selon la classification de Köppen-Geiger, le climat est de type CSA (*warm temperature, summer dry, hot summer*). Les températures moyennes annuelles varient de 14,8°C à 19°C selon les régions. Les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 600 à 1000 mm(*climate-data.org*).

Les données pluviométriques de la station de Tizi Ouzou sont représentées sur la figure 6 et le tableau 11.

Tableau 10- Données géographiques sur les localités de récolte des plantes étudiées

Localités	Altitude (en m)	Latitude Nord	Longitude Est	Plantes récoltées
Tikobaine	254	36°46'12"	4°10'29''	LS
Boghni	500	36°32'28"	3°57'20"	LS
Boussouar (Akaoudj)	600	36°45'00"	4°04'00"	TN
Tifrit	600	36°47'57''	4°25'14''	TN
Béni Douala	750	36°37'00''	4°04'00''	LS
Ain el Hammam	1080	36°34'17''	4°18'35''	OG
Iferhounene	1200	36°32'02"	4°22'12"	LS
Tamgout	1200	36°49'08''	4°24'56''	OG

LS : *Lavandula stoechas*, TN : *Thymus numidicus*, OG : *Origanum glandulosum*.

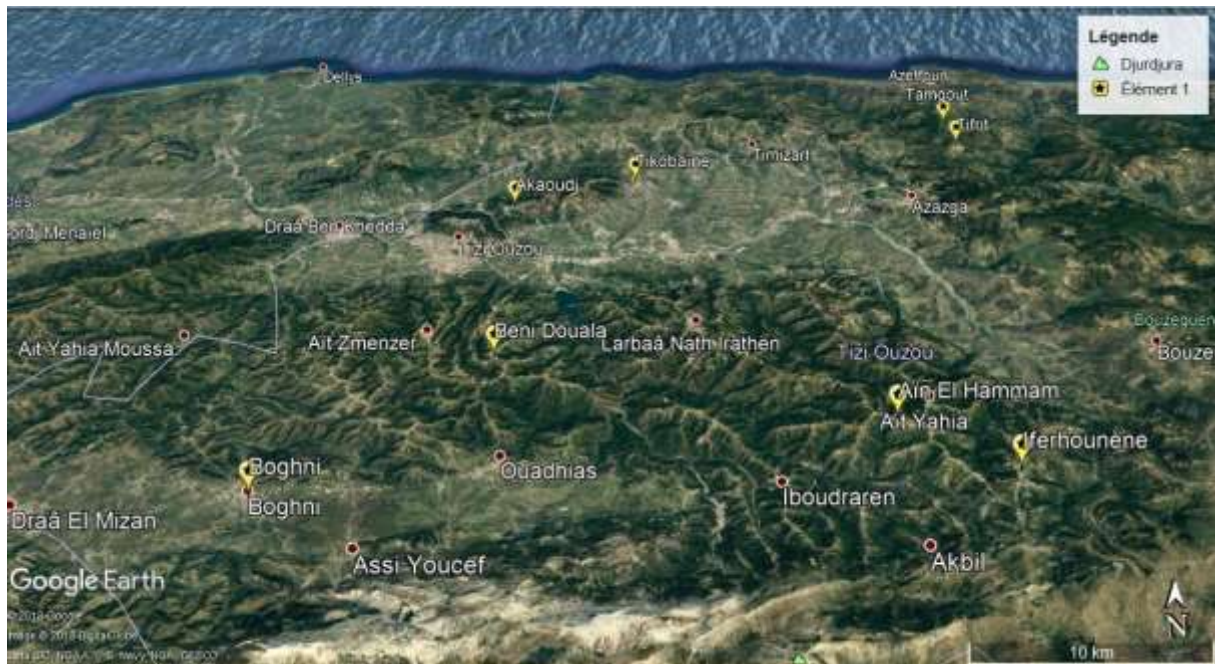


Figure 5 : Localisation géographique des localités de récolte des plantes (Google Earth, 2018)

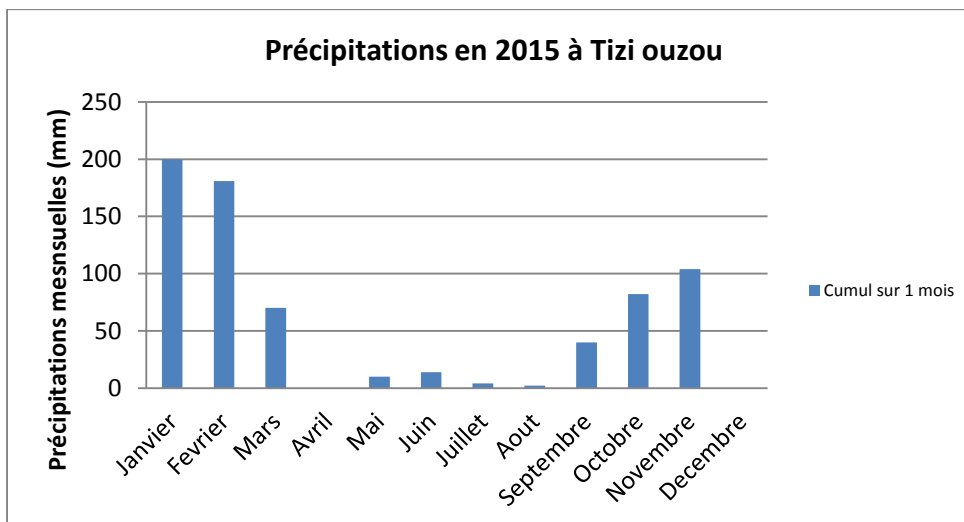
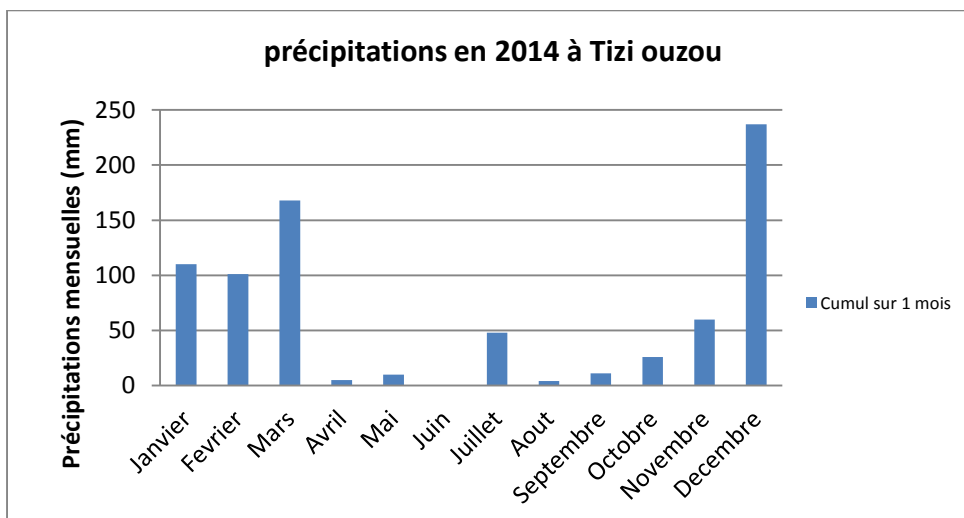
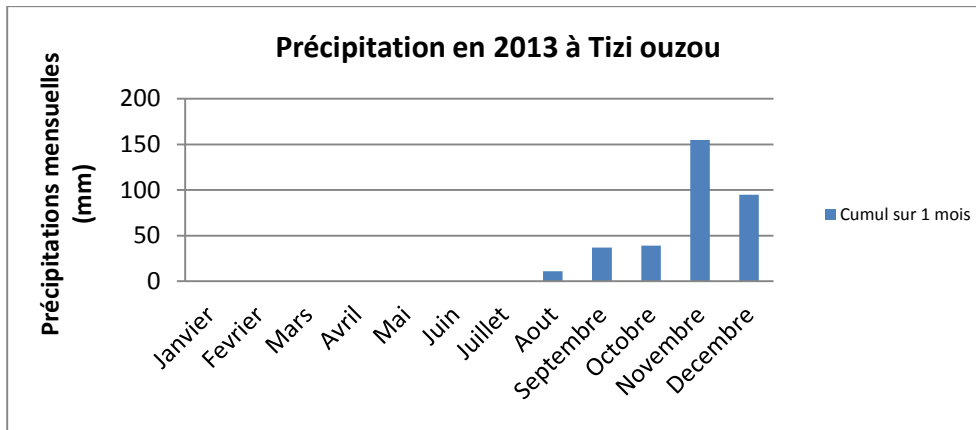


Figure 6 : Données pluviométriques de la région Tizi Ouzou en 2013, 2014 et 2015 (<https://www.infoclimat.fr/climatologie/annee/2015/tizi-ouzou/valeurs/60395.html>).

Date de consultation : 05/03/2018.

Tableau 11 : Moyennes des précipitations annuelles (P moy.) dans la région deTizi**Ouzou**

Années	2013	2014	2015
P moy. (en mm)	337	780	707
Climat (<i>sensu</i> Quézel, 1979)	Semi-aride	Subhumide	Subhumide

II.1.2 Produits chimiques

Les standards utilisés pour la confirmation de l'identification des composés des huiles essentielles par CG/SM.sont : le 1,8-Cineol à 98 % de pureté et le bornéol à 98 % de pureté, fournis par Merck. Le linalol (99%), le (R)-(+)-limonène (98%), (±) camphre (95%), α -terpeneol (95,8 %), (+)-terpinen-4-ol (98 %), (-) terpinen-4-ol (95%), lavandulol (98%), acétate de linalyl (98%), acétophénone (99%) pentadécane et l' Hexane sont fournis par Sigma Aldrich.

II.2 Méthodes**II.2.1 Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal**

La détermination de la teneur en eau de la plante a été réalisée par séchage à l'étuve à 105°C, selon la méthode décrite par (Twidwell et al. 2002)

Le taux d'humidité est évalué selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (12)$$

m_1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m_2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g)

H% : Teneur en eau

Pour plusieurs essais, on calcule la moyenne arithmétique selon l'équation suivante:

$$H\%(moy.) = \frac{H_1\% + H_2\% + \dots + H_n\%}{n} \quad (13)$$

$H_i\%$: Teneur en humidité de l'échantillon i (i variable de 1 à n)

$i = 1, 2, \dots, n$: nombre d'échantillons.

II.2.2 Extraction des huiles essentielles

Trois cents grammes (300 g) de matériel végétal ont été soumis à l'hydrodistillation avec 700 ml d'eau, pendant 2 heures, à l'aide d'un appareil de type Clevenger (figure 7). L'huile essentielle (HE) a été récupérée, pesée et conservée à 4°C.



Figure 7 : Dispositif d'hydrodistillation (type Clevenger) utilisé pour l'obtention des huiles essentielles

II.2.3 Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse totale du matériel végétal traité. Il est calculé à l'aide la formule suivante (Bousbia, 2013) :

$$R_{HE}(\%) = \frac{M_{HE}}{M_f} \times 100 \quad (14)$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (en % - g/100g).

M_{HE} : Masse de l'huile essentielle (en g).

M_f : Masse de la matière sèche (en g).

II.2.4 Analyse des huiles essentielles

II.2.4.1 Analyses GC-MS

Une étude qualitative et quantitative préliminaire a été effectuée par CG-MS et GC, sur les huiles essentielles de *Thymus numidicus* récolté en Mai 2012. L'appareil CG-MS utilisé est de marque Hewlett Packard 6890 pour la CGet Agilent MSD 5973.

Nous avons utilisé une colonne capillaire de type HP5 MS (30 m x 0.32 x 0,25 μ m). L'injection est conduite à une température de 250°C avec une quantité de 0.2 μ l. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium, avec un débit de 0.5 ml/mn. Nous avons utilisé un gradient de température de 45°C pendant 8 mn jusqu'à 250°C, pendant 10 mn à raison de 2°C/mn. L'analyseur utilisé est de type impact électronique à 70 eV, avec un balayage automatique de 25 à 350 m/z. La température de la source est de 280°C.

Les échantillons récoltés en 2013, 2014 et 2015 pour le thym et l'origan, ainsi que la lavande récoltée en 2016, ont été analysés au niveau du laboratoire de recherche BIOPI-EA 3900 de l'UPJV (Université de Picardie Jules Verne) d'Amiens à l'aide d'un Chromatographe en Phase Gazeuse couplé à un Spectromètre de Masse de type simple quadripôle (CG/MS).

Après dilution dans l'hexane (1/100 : v/v avec du C15, comme étalon interne, à 0,01 µl/ml), les huiles essentielles et les solutions étalons ont été analysées par CG/MS de type simple quadripôle.

En nous inspirant des travaux de Sussa et *al.* (2016), nous avons utilisé une colonne capillaire TG-5MS (30 m de longueur x 0,25 mm diamètre x 0,25 µm), fournie par Thermo Scientific (France). L'injection s'est faite en mode splitless à une température d'injection de 220°C. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1,2 ml/mn. La séparation des composés est réalisée avec un gradient de température allant de 60 à 120°C à 3°C/mn, puis de 120 à 300°C à 15°C/mn et un plateau de 6 mn à 300°C. La détection des molécules se fait après ionisation en impact électronique à 70 eV (source d'ionisation à 230°C, ligne de transfert à 280°C) et l'analyse se fait entre 30 et 800 m/z.

II.2.4.2 Identification des composés

Les composés présents dans nos huiles essentielles ont été déterminés en se référant à la banque de données NIST05 (spectres de masses), ainsi qu'aux données issues de la littérature (Benayache et *al.*, 2014).

Pour chaque pic chromatographique, nous avons extrait un spectre de masse (SM) expérimental ponctuel, moyen ou moyen avec soustraction de spectre avant et après (option dans Xcalibur pour éliminer le bruit de fond). Ce spectre de masse est ensuite comparé aux banques de données présentes dans NIST05. Une valeur de "Match" (et de "reverse Match") comprise entre 0 et 1000 indique le niveau d'inclusion du spectre de masse expérimental dans celui contenu dans la banque NIST05 (et inversement).

Ainsi, Xcalibur propose une liste d'identifications possibles par ordre de probabilité décroissante. En général, seules les valeurs de Match et Reverse Match supérieures à 800 sont considérées comme acceptables. Néanmoins, pour une bonne identification des composés, il est nécessaire de disposer d'éléments concordants supplémentaires. Ainsi, le temps de rétention des pics est pris en considération sous la forme d'index de rétention (RI) ou indices

de Kovats. Le RI correspond au temps de rétention relatif à des alcanes saturés linéaires. En parallèle, à la base des données de la littérature, un tableau prévisionnel de sortie des composés connus est mis en place. L'ensemble des données théoriques (similarité de spectre et RI fournis par NIST05, identité et RT-RI donnés par la littérature) permet d'annoter les composés avec un bon niveau de fiabilité.

En outre, lorsque des molécules pures sont commercialisées, leur injection en tant que standard permet de valider définitivement l'identification et de passer au stade de la quantification absolue.

- **Quantification des composés**

La teneur en composés chimiques des huiles essentielles a été déterminée à partir de la surface des pics, mesurée en courant d'ions total (TIC) et en comparant cette valeur entre les différents chromatogrammes ou bien en exprimant cette valeur en % de la surface de tous les pics du chromatogramme.

Cette approche permet de comparer les compositions et les teneurs relatives dans des échantillons différents. Le pentadécane a été utilisé comme étalon interne afin de corriger les données de surfaces des pics et de minimiser la variabilité liée à la CG/MS et à l'échantillon (évaporation de solvant, variabilité liée à la réalisation des dilutions, ...).

Dans tous les cas, seuls les pics dont l'aire est supérieure à 0.1% seront pris en considération.

- **Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R, version (3,3, 64). L'étude de la normalité et de l'homoscédasticité a été effectuée par les tests de Shapiro-Wilk et Bartlett respectivement. Les tests paramétriques ont été réalisés avec le test de Student. Les tests non paramétriques ont été effectués par les tests Wilcoxon et Kruskal (Milot, 2011).

II.3 Résultats et discussion

II.3.1 Teneur en eau

Les taux d'humidité évalués pour les feuilles de thym de lavande et d'origan sont 65%, 81% et 85% respectivement. Ceci signifie que plus de la moitié du poids des plantes que nous avons utilisé est constituée d'eau. Ces résultats sont présentés sur la figure 8.

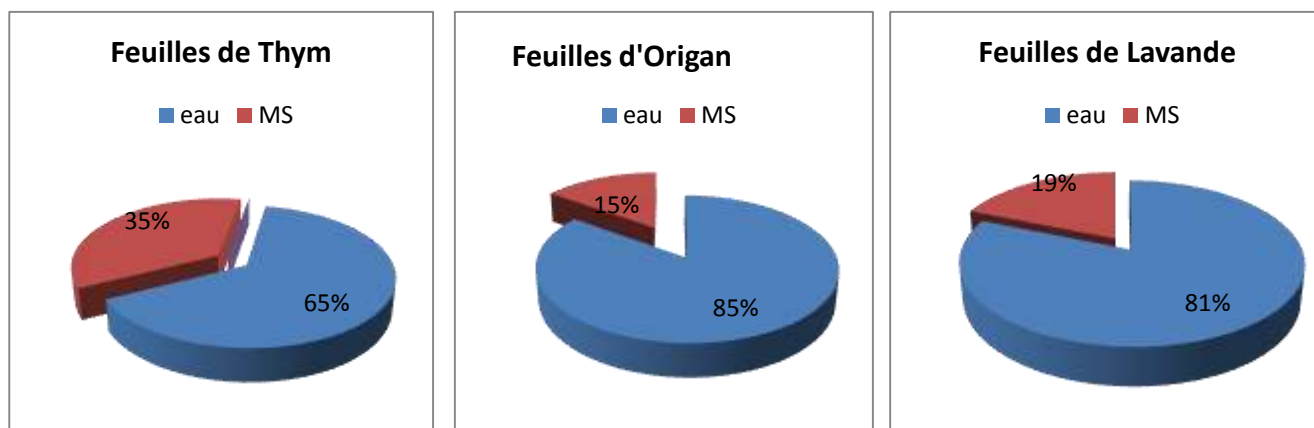


Figure 8- Teneur en eau et en matière sèche (MS) des plantes utilisées

II.3.2 Teneur en huiles essentielles

II.3.2.1 *Lavandula stoechas*

La figure 9 rassemble les résultats obtenus pour le rendement d'extraction en huile essentielle (HE) des feuilles et des sommités de *Lavandula stoechas* de deux régions (Tikobaine, Beni Douala) et pour différentes périodes de récolte (avril-mai 2016, plein floraison).

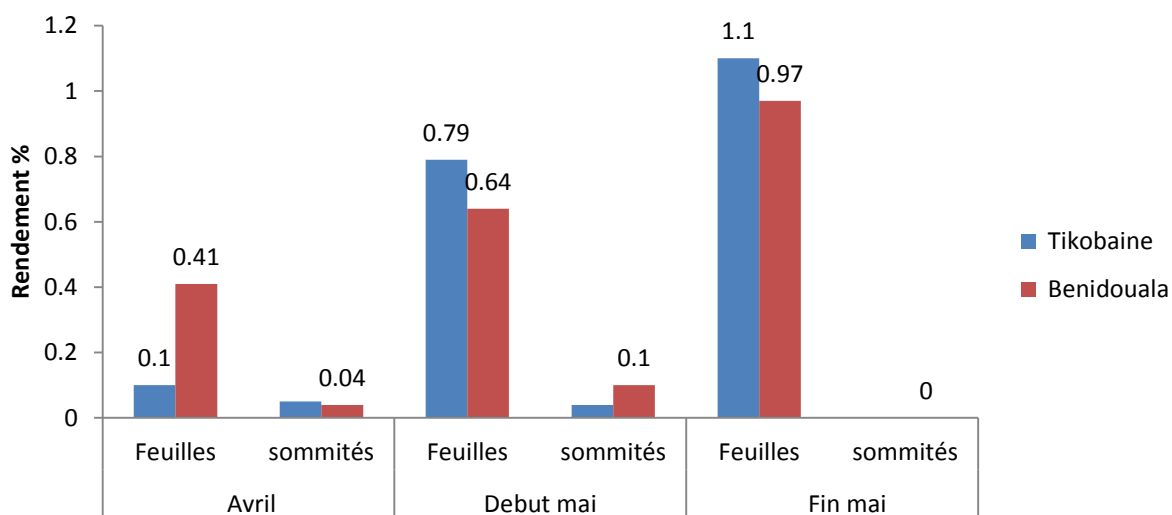


Figure 9 : Rendement en HE de *L.stoechas*

Nous constatons que le rendement en huile essentielle de *L. stoechas* varie selon la région et la période de récolte, ainsi que de la nature de l'organe ciblé (feuilles ou sommités).

Pour une même période de récolte début mai et fin mai, il semble que le rendement en HE des feuilles récoltées à Tikobaine est plus élevé que celles récoltées à Béni Douala. Ces rendements sont faibles pour les deux parties de la plante étudiée comparativement à ceux avancés dans la littérature. En effet Mohammadi et *al.* (2012) ont obtenu des rendements variant de 0,77 à 1,2% pour *L.stoechas* récoltée à Oum el Alou (Tlemcen).

Ces différences dans les rendements en HE peuvent être dues à plusieurs facteurs, notamment la maturité de la plante (stade végétatif de la plante, dans le cas de notre étude, c'est le stade avant floraison), l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), la période de la récolte, le mode d'extraction ainsi que l'altitude (Fouche et *al.*,2009).

II.3.2.2 *Thymus numidicus*

Les rendements obtenus pour les différentes extractions en huiles essentielles de *Thymus numidicus* récolté dans différentes localités sont rassemblés dans le tableau 12.

Les résultats de notre étude montrent que les rendements en huile essentielle varient d'une région à l'autre et d'une année de récolte à une autre.

En effet, nous constatons que pour la même année et période de récolte une différence notable est obtenue pour les rendements en HEs de *T. numidicus* récolté à Boussouar (1,95%) et Tifrit 2,4%, et aussi, pour la même région une différence notable suivant l'année de récolte.

Ces différences peuvent être attribuées à la pluviométrie et la répartition géographique. (Russo et *al.*, 1998 ; Karoussou et *al.*, 2005).

Tableau 12 : Rendements en huiles essentielles de *Thymus numidicus* pour différentes régions et années de récolte

Localité/Année de récolte	Rendement % (m/m)		
	2013	2014	2015
Tifrit (600 m)	1,24	2,5	2,4
Boussouar (600 m)	-	-	1,95

II.3.2.3 *Origanum glandulosum*

Les rendements obtenus pour les différentes extractions en huiles essentielles de l'*Origanum glandulosum*, récolté dans deux localités, sont rassemblés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Rendements en huiles essentielles d'*O. glandulosum* de différentes régions et années de récolte

Localité/Année de récolte	Rendement % (m/m)		
	2013	2014	2015
Tamgout (1200 m)	2,2	2,45	3,82
Ain El Hammam (1080 m)	-	-	3,53

Comme pour les résultats des rendements en huiles essentielles de *T. numidicus* et *L. stoechas*, illustrés précédemment, nous constatons une différence de rendement entre les différentes récoltes étudiées. Ce qui semble confirmer l'influence des facteurs climatiques et géographiques sur la variation des rendements en huiles essentielles de ces plantes.

II.3.3 Caractérisation physicochimique et organoleptique des HEs

- Cas de *Thymus numidicus*

Les caractéristiques physicochimiques et organoleptiques des huiles essentielles de *T. numidicus* sont regroupées dans le tableau 14.

La densité relative ainsi que l'indice de réfraction de ces huiles essentielles sont comparables à celles décrites dans la Pharmacopée Européenne 8ème édition pour le thym à chémotype thymol et qui sont respectivement de 0,915 à 0,935 et de 1,490 à 1,505.

Tableau 14 : Propriétés physicochimiques et organoleptiques de l'HE de *T. numidicus*

Caractéristiques	Huiles essentielles	
	Tifrit	Boussouar
Organoleptique	Aspect	
	Liquide	
	Couleur	
	Limpide jaune	
	Odeur	
	Aromatique, phénolique forte odeur aromatique, épicée rappelant celle du thymol	
Physique	Indice de réfraction	1,495
	Densité à 20°C	0,915
		1,498
		0,917

- Cas de *Lavandula stoechas*

Les résultats de l'analyse physicochimique et organoleptique des HEs de *L. stoechas* sont regroupés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Propriétés physicochimiques de l'HE de *Lavandula stoechas*

Caractéristiques		Huiles essentielles	
		Tikobaine	Béni Douala
Organoleptiques	Aspect	Liquide visqueux	
	Couleur	jaune orangée	
	Odeur	Aromatique, phénolique forte camphrée, entêtante	
Physique	Indice de réfraction	1,495	1,486
	Densité à 20°C	0,934	0,934

Les résultats obtenus avec les huiles essentielles des deux régions, Tikobaine et BéniDouala, semblent plus élevés que ceux annoncés dans la littérature. En effet, la densité des huiles essentielles de *L.stoechas* récoltée dans la région Oum el Alou (Tlemcen) est de 0,813 (Mohammadi et *al.*, 2011).

- **Cas de l'*Origanum glandulosum***

Nous regroupons dans le tableau 16 quelques résultats obtenus pour les paramètres physicochimiques de l'HE de l'*O. glandulosum*.

Tableau 16 : Propriétés physicochimiques de l'HE de l'*O. glandulosum*

Caractéristiques		Huiles essentielles	
		Tamgout	Ain El Hammam
Organoleptiques	Aspect	Liquide mobile	
	Couleur	jaune orangée	
	Odeur	Aromatique, phénolique forte, épicée	
Physique	Indice de réfraction	1,518	1,492
	Densité à 20°C	0,917	0,923
	Indice d'acide	1,65	1,68

Les résultats obtenus avec les huiles essentielles des deux régions de montagne, Tamgout et Ain El Hammam, semblent comparables à ceux annoncés dans la littérature. En effet, l'indice de réfraction et la densité de l'*Origanum vulgare* trouvés par Figueredo(2007) varient de 1,4861 à 1,508 et de 0,976 à 0,989 respectivement.

II.3.4 Etude qualitative des huiles essentielles

A partir des chromatogrammes obtenus en GC-MS, une partie des constituants a pu être annotée (identification très probable) ou identifiée (identification certaine grâce à l'utilisation de témoins). Ainsi, notre méthode GC-MS a permis d'annoter 15 composés (dont 6 identifiés) pour l'*Origanum glandulosum*, ainsi que pour *Thymus numidicus*.

1. Origan et Thym

Les huiles essentielles d'origan et de thym étudiées sont principalement composées de monoterpènes et de sesquiterpènes :

- Monoterpènes oxygénées avec la fonction alcool : thymol, carvacrol,
- Monoterpènes aliphatiques, tels que b-cymène, et le terpinène.
- Sesquiterpènes aliphatiques carbures : β -bisabolène, et le caryophyllène.

Les différents composés identifiés, leur temps de rétention (TR), ainsi que leurs spectres de masse (SM) sont répertoriés dans le tableau 17.

2- Lavande

L'analyse GC-MS des huiles essentielles a été effectuée sur les échantillons de lavande récoltés dans la région de Béni Douala et Tikobaine en 2016, à différents stades de développement. Les différents composés identifiés, leur temps de rétention, ainsi que leurs spectres de masse sont répertoriés dans le tableau 18.

La méthode GC-MS a permis d'annoter dix composés qui constituent les huiles essentielles des lavandes étudiées. Les composés sont divisés en deux classes : les monoterpènes et les sesquiterpènes.

Les monoterpènes présents sont principalement les oxygénées, avec la fonction éther pour le 1,8-cineol, la fonction cétone comme le fenchone et le camphre, ainsi que la fonction ester avec le bornylacetate et le myrténylacétate.

Les sesquiterpènes majoritaires identifiées sont les sesquiterpènes aliphatiques avec le γ -cadinène et l'aromadendrène.

Tableau 17. Identification des principaux composés des HEs de l'*Origanum glandulosum* et de *Thymus numidicus*

Classe		Fonction	Composés	TR	KI	IS	SM
Monoterpènes	Aliphatiques	Cyclique	p-cymène	7,62	1042	119	119(999), 91 (375),134(237), 117(147),77(110), 120(101), 39(93), (89115
		Cyclique	g-terpinène	8,51	1053	93	93(999), 91(355), 77(323), 136(286), 121(237), 43(229), 92(216), 79(203), 41(193), 39(185)
	oxygénés	Alcool	Linalol	9,93	1081	71	71(999), 93(760), 55(637), 43(598), 41(564), 69(426), 80(321), 121(232), 67(207), 39(179)
		Éther	méthylthymilether	15,19	1215(1231)	149	149((999), 164(278), 91(142), 119(139), 150(139), 150(105), 77(69), 117(59), 115(58), 41(57),39(56)
		Alcool	thymol	17,65	1262	135	135(999), 150(291), 115(152), 91(148), 136(91), 107(90), 117(71), 105(50), 79(39)
			carvacrol	17,99	1278	135	135(999), 150(314), 91(131), 136(102), 77(69), 107(67), 117(64), 115(50), 79(44), 39(39)
Sesquiterpènes	Aliphatiques	Carbure	Caryophyllène	21,79	1440	133	99(999), 133(921), 91(858), 41(769), 79(763), 69(754), 105(623), 107(483), 120(447), 77(439)
			b-bisabolène	23,33	1500	69	69(999), 93(690),41(686), 94(265), 67(255), 204(245), 79(238), 109(238), 107(176), 161(173)
			G-Murolène	23,40		161	161(999), 41(728), 195(658), 91(622), 119(580), 79(540), 93(520), 77(359), 81(318), 133(312)
			Cig-cadinène	23,51		119	161(999), 119(626), 105(621), 134(507), 204(472), 32(360), 91(319), 41(283), 81(244), 159(223)
	oxygénés	Epoxyde	Caryophyllène oxyde	24,28	1564	79	41(999), 43(666), 79(473), 93(445), 91(418), 55(308), 69(274), 107(254), 67(253), 105(249)

TR : Temps de rétention. KI : Indice de rétention (Kovaks). IS : Ion spécifique. SM : spectre de masse

Tableau 18 : Identification de la composition chimique des huiles essentielles de *Lavandulastoechas*

Classe		Fonction	Composés	TR	KI	IS	SM
Monoterpènes	oxygénés	éther	1-8-Cineol	7.61	1059		44(999), 81(603), 108(504), 93(470), 71(452), 84(431), 111(417), 68(391),
		Cétone	Fenchone	9.74	1121	81	81(999), 69(530), 41(264), 80(164), 39(130), 152(130), 67(111), 82(85)
			Camphre	11.62	1139	108	95(999), 81(718), 41(513), 69(425), 55(424), 108(358), 67(352), 83(320)
		Ester	borneolacétate	17.33	1285	95	95(999), 93(450), 121(423), 43(384), 163(351), 41(197), 108(146), 80(131)
			Myrtenylacétate	18.92	1314	91	91(99), 119(538), 92(419), 43(335), 108(192), 79(169), 134(163), 93(159),
Sesquiterpenes	Aliphatiques	cycliques	(+) γ -cadinène	23.55	15.14	134	166(999), 134(578), 119(501), 204(474), 105(469), 81(255), 159(248), 91(245)
			3,7(11)-Selinadiène	23.81	1535	161	161(999), 122(618), 107(613), 204(447), 105(442), 91(410), 93(364), 133(297)
			Aromadendrène,	24.05	1545	159	145(999), 159(659), 202(600), 131(566), 105(472), 91(401), 41(383), 187(304)
	oxygénés	alcool	Viridiflorol/Ledol	24.42	1594	109	43(999), 41(684), 107(389), 67(356), 81(333), 55(329), 109(323), 69(313),
			Globulol	24.55	1610	109/95	43(999), 41(623), 69(452), 81(435), 109(412), 55(254), 95(342), 67(333),

TR : Temps de rétention. KI : Indice de rétention (Kovaks). IS : Ion spécifique. SM : spectre de masse

1.7.3. Etude quantitative des huiles essentielles

1- *Origanum glandulosum*

La méthode de quantification relative a permis de déterminer les teneurs relatives de tous les composés identifiés dans le tableau 19. Cette méthode a été établie à la base des principaux pics détectés. Les résultats révèlent que les 10 composés identifiés représentent 98% de la composition totale des huiles essentielles étudiées.

Tableau 19 : Teneur relative (%) des composés des HE d'origan récolté à Tamgout en 2013, 2014 et 2015

Années de récolte	2013	2014	2015
Composés	M± Et (%)	M±Et (%)	M±Et (%)
p-cymene	17.78±0.88	51.88±2.33	44.07±1.11
γ-terpinene	6.18±0.93	19.76±2.03	16.13±0.84
Linalol	3.86±0.73	0.1±15	T
thymol methylether	4.78±0.40	0.07±75	T
Thymol	36.24±1.71	22.94±1.42	30.11±1.36
Carvacrol	24.67±2.35	2.88±0.15	6.88±0.54
Caryophyllene	1.68±0.45	0.49±0.33	0.96±0.29
b-bisabolene	3.85±1.9	1.35±0.18	1.18±0.21
Murolene	0.43±0.29	0.35±0.07	0.29±0.11
caryophyllene oxyde	0.48±0.20	0.37±0.31	0.28±0.17

T : traces, M : moyenne, Et : écart-type

Pour la récolte de l'année 2013, nous constatons une prédominance des monoterpènes oxygénés à raison de 70% de la teneur totale. Les plus importants sont les monoterpènes alcools : le thymol avec une teneur relative de $36,24 \pm 1,71\%$, suivi du carvacrol à $24,67 \pm 2,35\%$. Nous trouvons aussi les monoterpènes aliphatiques, les plus importants sont le β-cymène et le γ-terpinène avec une teneur relative de $17,78 \pm 0,88\%$ et $6,18 \pm 0,93\%$ respectivement. La teneur relative en sesquiterpènes est très faible, les plus importants le b-bisabolène avec une teneur de $3,85 \pm 1,9\%$.

Pour les récoltes de 2014 et 2015, les composés majoritaires sont les monoterpènes aliphatiques, qui représentent 71,64% et 60,2% de la teneur totale, respectivement. Le β-cymène est le composé majoritaire de la récolte de 2014 et de 2015, avec une teneur de $51,88 \pm 2,33\%$ et de $44,07 \pm 1,11\%$ respectivement. Suivi par les monoterpènes oxygénés tel que le thymol à raison de $22,94 \pm 1,42$ et $30,11 \pm 1,36$ pour l'année 2014 et 2015 respectivement.

Afin de comparer les teneurs obtenues en fonction des années de récoltes, nous avons réalisé des graphiques à l'aide du logiciel R qui permettent de visualiser et de déterminer les écarts entre les différentes récoltes (figure 11).

L'analyse de la figure 11, nous permet de constater des différences entre la composition chimique des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum*, récolté durant les années 2013, 2014 et 2015. L'examen des résultats montre une teneur plus élevée en β -cymène pour l'origan récolté en 2014 par rapport à celui récolté en 2015. Il est largement supérieur à celui de l'échantillon récolté en 2013. Inversement, les teneurs en thymol et en carvacrol sont largement supérieures pour l'échantillon récolté en 2013, par rapport à ceux récoltés en 2015 et 2014. Le t.test montre que ces différences sont statistiquement significatives (la comparaison des teneurs entre 2013 et 2014, P-Value = $6,6 \cdot 10^{-5}$ pour le Thymol et p-Value = $5,1 \cdot 10^{-3}$ pour le carvacrol, et entre 2013 et 2015, P-Value = $3,17 \cdot 10^{-3}$ pour le Thymol et p-Value = $6,8 \cdot 10^{-3}$ pour le carvacrol).

Plusieurs auteurs ont rapporté, qu'en Algérie, les composés majoritaires des HEs de l'*Origanum glandulosum* sont le thymol et/ou le carvacrol (Ruberto et al., 2002 ; Hazzit et al., 2006 ; Sari et al., 2006). Ce qui concorde avec nos résultats obtenus en 2013.

Quant aux résultats observés avec les récoltes de 2014 et de 2015, l'HE est de chémotype p-cymène.

Rappelons que la biosynthèse du thymol et de son isomère le carvacrol est basée sur l'hydrolyse du cymène et du γ -terpinène, dont les teneurs sont inversement proportionnelles aux teneurs du carvacrol et du thymol (figure 10). Ce qui confirme que la variation de la composition chimique des huiles essentielles est étroitement liée à plusieurs facteurs, notamment les facteurs climatiques, dont la pluviométrie annuelle.

Cette différence de chémotype est ainsi due probablement à la baisse du cumul de la pluviométrie annuelle, relevée à Tizi Ouzou en 2013, qui était de 337 mm (climat semi-aride), par rapport au cumul de la pluviométrie annuelle en 2014 et 2015, qui étaient respectivement de 780 mm et 707 mm (climat subhumide).

D'autre part, il n'y a pas eu de précipitation durant la période végétative des plantes (figure 6, p.32), de janvier à mai 2013. Ce qui a accéléré la biosynthèse du thymol et du carvacrol, dont la teneur est la plus élevée en 2013 (36,24 et 24,67% respectivement). Inversement pour les années 2014 et 2015, nous relevons des précipitations importantes durant la période avant récolte du matériel végétal en Mai, ce qui a ralenti la voie de la

biosynthèse (figure 10) et d'où la teneur très importante en p-cymène (51,88% en 2014 et 44,07% en 2015).

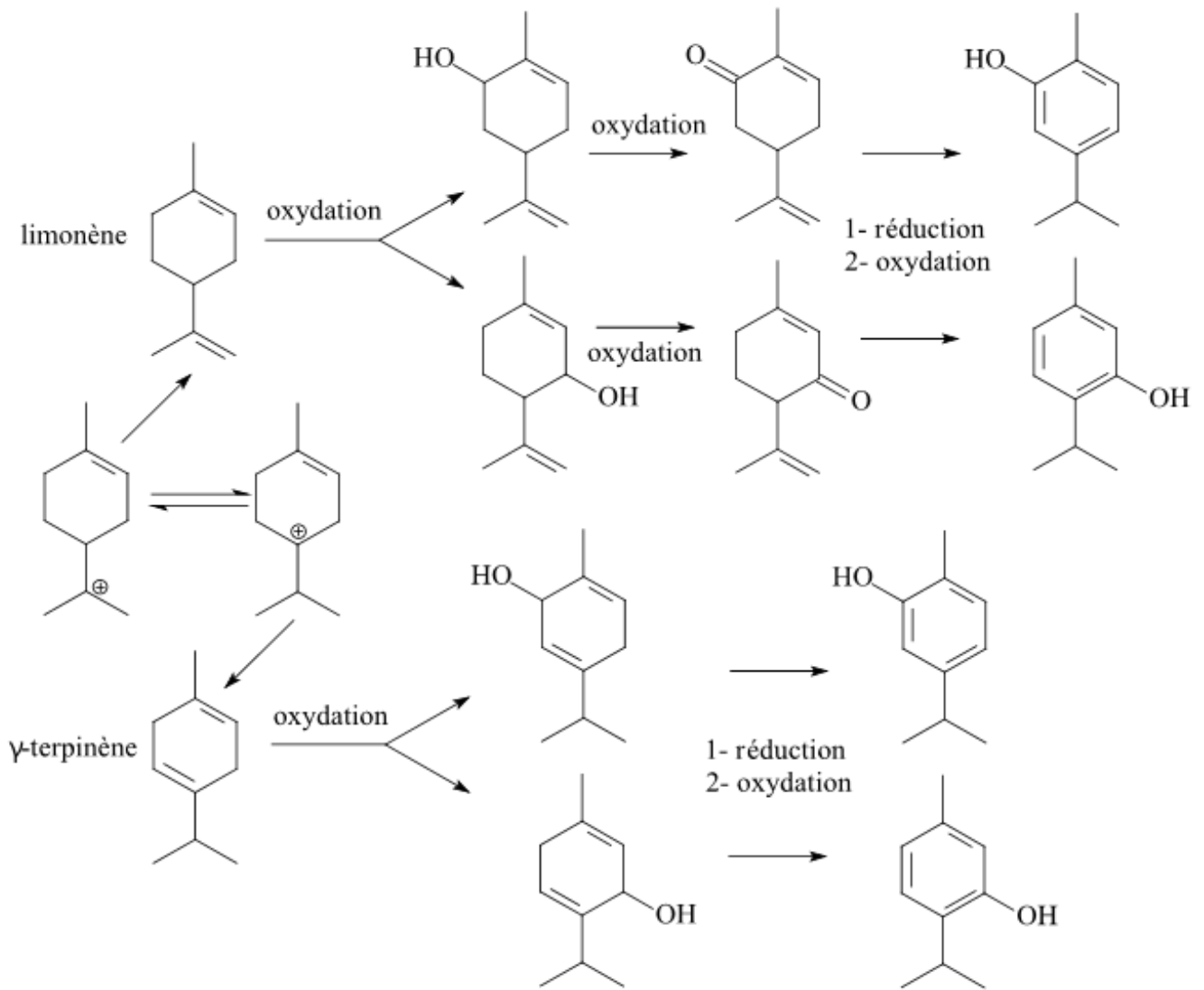


Figure 10 : Biosynthèse du thymol et carvacrol (Crocoll , 2010)

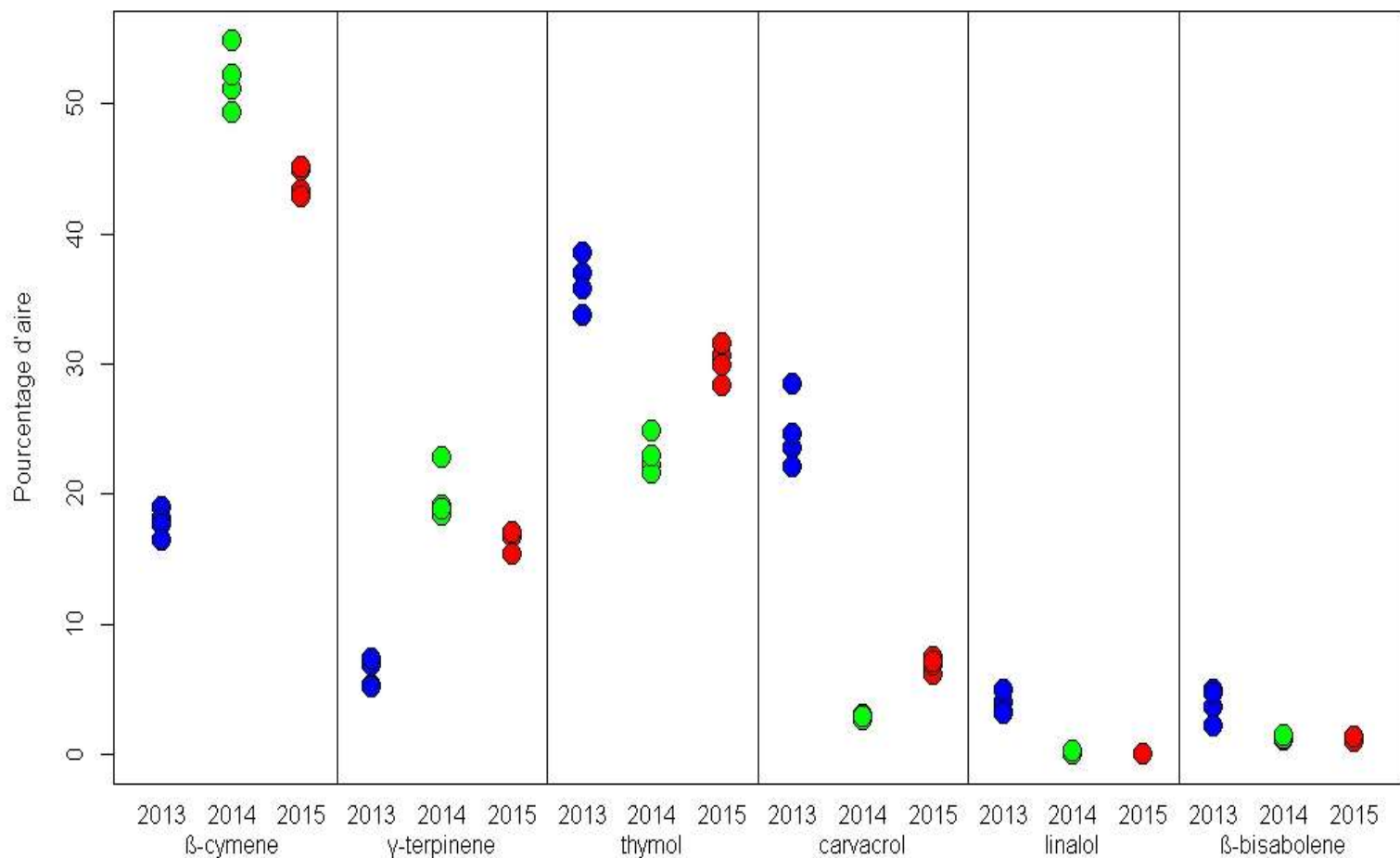


Figure 11 : Evaluation de la teneur en huiles essentielles de l'*Origanum glandulosum* exprimée en % d'aires des pics en fonction de l'année de récolte

2- *Thymus numidicus*

L'analyse CG/MS de l'huile essentielle extraite de *Thymus numidicus* permis d'identifier plusieurs composés caractéristiques. Les résultats sont regroupés dans le tableau 20.

Thymus numidicus est riche en monoterpènes (82,07%), avec le thymol et le carvacrol qui sont les principaux composés, dont le taux est de 40,4% et 13.3%, respectivement.

La prédominance des composés phénoliques est en accord avec les résultats rapportés par Kabouche et *al.* (2005). Ces auteurs ont trouvé que la composition de l'huile essentielle de *T. numidicus* de Constantine (Nord-Est de l'Algérie) est représentée principalement par le thymol, dont le taux est de 68,2%, suivi du carvacrol à 16,9% et le linalol à 11,5%. Cependant, celle de *T. numidicus* de Berrahal (Nord-Est de l'Algérie) étudié par Haddaf et *al.* (2004) contient majoritairement du thymol 60,8%, linalol 8,0% et du carvacrol 5,1%. Cette différence de composition chimique de l'huile essentielle du thym récolté en Kabylie par rapport à celle de Constantine et de Berrahal, est due probablement à la période de récolte. *Thymus numidicus* de Berrahal et de Constantine ont été récoltés au mois de Juin, par contre, le notre en mois de mai.

Par ailleurs, on sait que le γ -terpinène et le p-cymène sont les précurseurs de la biosynthèse du thymol et du carvacrol par hydroxylation. Donc, si la teneur de l'un des éléments augmente ou diminue, la teneur du précurseur varie nécessairement.

Afin d'étudier la variation de la composition chimique des huiles essentielles suivant les facteurs considérés (années et localités), une étude quantitative et statistique a été menée sur des échantillons récoltés en 2013, 2014 et 2015.

Tableau 20 :Teneur relative des constituants majoritaires de l'HE de *Thymus numidicus* récolté en 2012 à Tifrit

Composition	Temps de rétention (mn)	%	Classification
b-myrène	20.534	2.36	Monoterpènes
p- cymene	23,055	7,18	Monoterpènes
terpinene	25.842	6.41	Monoterpènes
linalool	28.402	4,04	Monoterpènes
Thymol methyl ether	38.930	8.30	Monoterpènes
thymol	44,059	40,40	Monoterpènes
carvacrol	44.927	13.38	Monoterpènes
trans-caryophyllène	50.906	2.48	Sesquiterpènes
Bisabolène	56.550	3.55	Sesquiterpènes

La quantification des principaux composés des échantillons de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* est consignée dans le Tableau 21 et la figure 12.

Tableau 21 : Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus numidicus* récolté en mai 2013, 2014 et 2015 à Tifrit

Composés	2013	2014	2015
	M±Et (%)	M±Et (%)	M±Et (%)
p-cymene	13,90±1,36	11,77±1,53	13,40±1,65
ga-terpinene	3,729±1,48	7,68±1,68	12,33±1,96
Linalol	6,75±1,44	2,82±1,23	6,25±1,39
thymol methylether	10,97±1,79	3,13±1,28	3,83±0,66
thymol	45,57±4,46	47,52±1,68	45,12±1,26
carvacrol	11,44±2,49	22,18±2,03	12,76±1,62
caryophyllene	1,41±0,95	1,05±0,73	2,33±1,29
b-bisabollene	3,61±0,86	2,43±0,52	3,71±1,31
murolene	0,63±0,50	0,75±0,76	0,57±0,23

L'examen des résultats montre un taux très élevé en thymol pour les années de récolte étudiées, à savoir 2013, 2014 et 2015, avec des teneurs de $45,57 \pm 4,46\%$, $47,52 \pm 1,68\%$ et $45,12 \pm 1,26\%$ respectivement. Le thymol est suivi du carvacrol, avec des teneurs inversement proportionnelles avec le p-cymène, et qui sont respectivement de $11,44 \pm 2,49\%$, et $13,90 \pm 1,36\%$ en 2013, de $22,18 \pm 2,03\%$ et $11,77 \pm 1,53\%$ en 2014 et enfin de $12,76 \pm 1,62\%$ et $13,40 \pm 1,65\%$ en 2015.

Néanmoins, les différences de teneurs des composés suivant l'année de récolte sont statistiquement non significatives pour le thymol et le p-cymène mais significatives pour le carvacrol et le thymol methylether. En effet, la teneur en thymol methylether la plus élevée a été obtenue en 2013, avec une valeur de $10,97 \pm 1,79\%$ par rapport à 2014 et 2015 avec des valeurs respectives de $3,13 \pm 1,28\%$ et $3,83 \pm 0,66\%$. La comparaison des teneurs entre 2013 et 2014, p-Value = $6 \cdot 10^{-4}$ et entre 2013 et 2015, p-Value = $3,17 \cdot 10^{-3}$ p-Value = $2 \cdot 10^{-3}$. Si nous comparons ces résultats avec ceux obtenus pour l'*Origanum glandulosum*, nous constatons, que malgré la similitude des composés constituant les deux huiles essentielles, les teneurs et leurs variations sont différentes d'une plante à une autre, d'une région à une autre et la voie de biosynthèse diffère aussi d'une plante à une autre. Aussi, nous pouvons dire que pour *Thymus numidicus*, le carvacrol et le thymol methylether sont influencés par le facteur pluviométrique (tableau 11). En effet, la teneur relative en thymol methyl éther, que ce soit dans le *Thymus*

numidicus ou dans l'*Origanum glandulosum*, est plus importante en 2013 par rapport à 2014 et 2015, où le climat est semi-aride et la pluviométrie est faible.

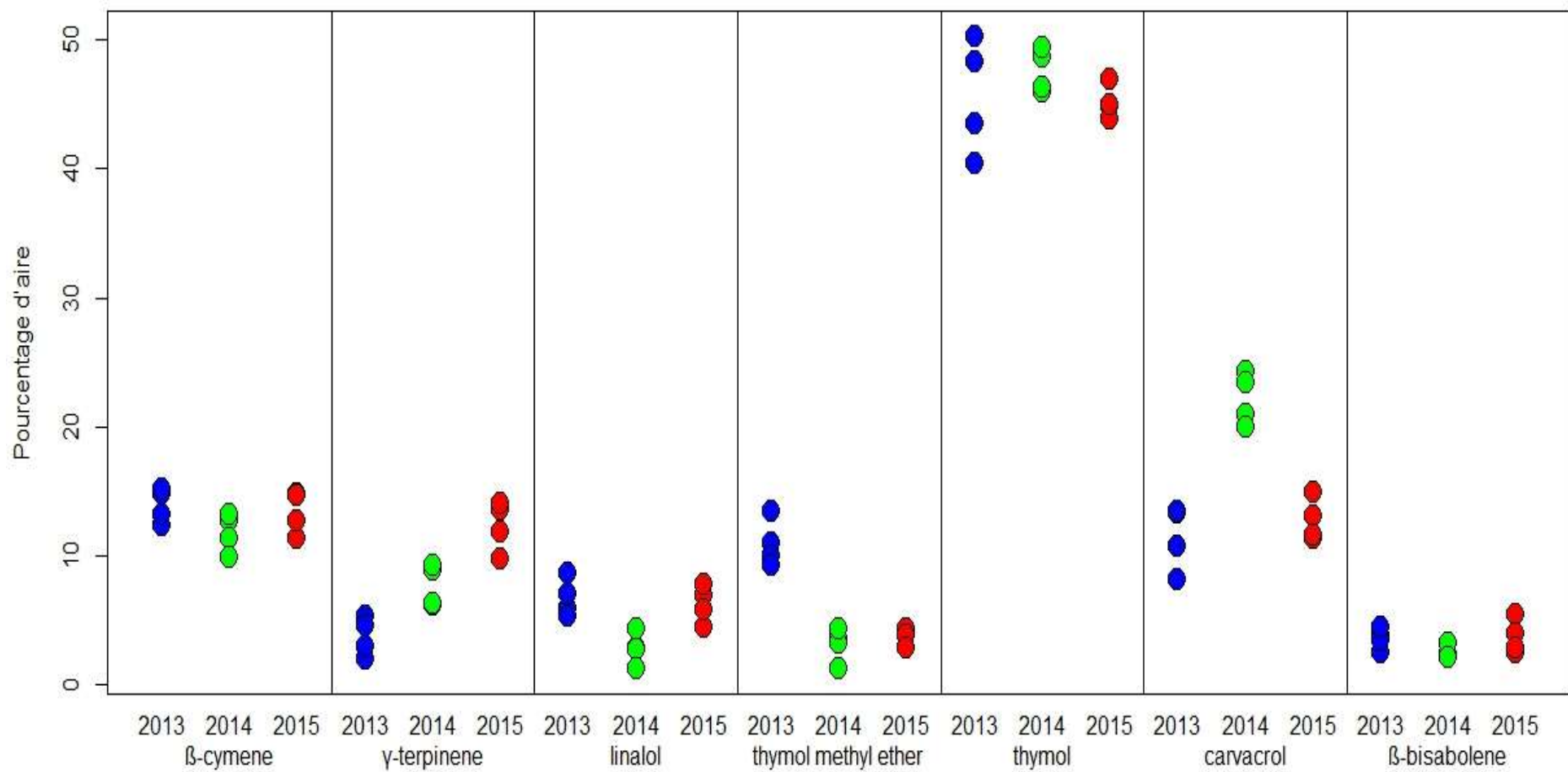


Figure 12 : Teneur relative des composés majoritaires des HEs de *Thymus numidicus* selon les années

En comparant nos résultats (tableau 22) avec ceux avancés par la Pharmacopée, nous constatons que les huiles essentielles du *Thymus numidicus* récolté en 2012 se rapprochent le plus de la norme que les autres huiles obtenues en 2013, 2014 et 2015. Toutefois, les conditions climatiques variables d'une année à une autre, ainsi que les conditions d'extraction peuvent être les sources des écarts observés dans la composition des différentes huiles essentielles étudiées.

Tableau 22 : Comparaison des teneurs relatives en composés aromatiques des huiles essentielles de thym avec celles décrites dans la pharmacopée européenne

Composés	Pharmacopée	2012	2013	2014	2015
α -thuyène	0,2-1,5	0,47	-	-	-
β -myrcène	1,0-3,0	2,37	-	-	-
α-terpinène	0,9-2,6	0,59	-	-	-
p-cymène	14,0-28,0	7,18	13,90\pm1,36	11,77\pm1,53	13,40\pm1,65
γ -terpinène	4,0-12,0	0,59	3,729 \pm 1,48	7,68 \pm 1,68	12,33 \pm 1,96
Linalol	1,5- 6,5	4,06	6,75 \pm 1,44	2,82 \pm 1,23	6,25 \pm 1,39
terpinène-4-ol	4,0-12,0	0,14	-	-	-
éthyl méthylique de carvacrol	0,05-1,5	0,34	-	-	-
Thymol	37,0-55,0	40,4	45,57\pm4,46	47,52\pm1,68	45,12\pm1,26
Carvacrol	0,5-5,5	13,37	11,44\pm2,49	22,18\pm2,03	12,76\pm1,62

3- *Lavandula stoechas*

L'analyse GC-MS des huiles essentielles ont été effectuées sur les échantillons d'huiles essentielles de lavande récoltés en 2016 dans les régions de Béni Douala et Tikobaine, durant différents stades de développement végétatifs.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 23 et présentés sur la figure 13. L'analyse de ces résultats montre que les échantillons de *Lavandula stoechas* étudiés sont de chémotype fenchone (61 à 77%), qui est le composé majoritaire de l'HE, suivi du camphre et du mertenylacetate. Ceci est vrai quelle que soit la période (début et fin mai), le site de récolte (Beni Douala, Tikobaine), ainsi que la date de récolte (3, 23 et 28 mai).

Cependant, les teneurs varient significativement selon le facteur étudié. En effet, la teneur en fenchone varie suivant le site de récolte et la date de récolte. La plus grande teneur en fenchone a été obtenue pour la récolte de Tikobaine du 03 Mai 2016, avec une valeur de 77,11 \pm 1.45%. Cette différence est statistiquement significative avec les teneurs retrouvées dans les HEs de Béni Douala du 03 et 28 Mai (t.test, p-value= 0.001, et p-value= 5.410⁻⁶), dont les valeurs sont respectivement : 72,85 \pm 2,07% et 61,21 \pm 1,04 %. Quant à la variation de la

teneur en fenchone dans les feuilles et dans les sommités, la différence est statistiquement non significative.

Tableau 23 : Teneurs relatives en différents composés des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*

Localité	Béni Douala			Tikobaine	
	3 mai	28 mai	3 mai	3 mai	23 mai
Dates de récolte	Feuilles		Sommités fleuries	Feuilles	
Composés	Feuilles		Sommités fleuries	Feuilles	
Cineol	4,19±0,97	2,70±0,34	6,65±0,55	2,34±0,56	1,47±0,32
L-fenchone	72,85±2,08	61,21±1,04	73,41±2,1	77,19±1,45	73,96±0,90
Camphre	11,62±1,61	11,15±0,98	7,13±0,68	9,34±0,95	18,81±1,29
Borneol	1,14±0,62	0,58±0,27	1,04±0,54	0,99±0,67	0,68±0,24
Borneolacetate	3,13±0,56	3,64±0,55	7,42±0,65	3,49±0,87	1,77±0,22
Mertenylacetate	3,20±0,27	2,74±0,24	6,86±0,64	2,71±0,99	1,50±0,33
Cubedol	0,95±0,48	0,50±0,13	1,74±0,48	0,71±0,71	0,34±0,22

Le camphre est le deuxième composé majoritaire de la lavande étudiée. Sa teneur varie de 7,12 ± 0,68% à 18,81 ± 1,29%. Cette dernière est la plus élevée et a été obtenue avec la lavande récoltée à Tikobaine le 23 Mai 2016.

Aucune différence significative (t.test) entre la teneur en camphre des feuilles et des sommités n'a été détectée. Les esters identifiés, le bornylacétate et le myrénylacétate varient quasiment de la même façon, quelles que soit la partie de la plante, la date de récolte, ainsi que la localité de récolte. En effet, les teneurs varient de 3,49 ± 0,56 et 2,71 ± 0,99 à 7,42 ± 0,65% et 6,86 ± 0,64% respectivement. La différence est statistiquement non significative.

La comparaison des teneurs obtenues dans les HES récoltées à Tikobaine, ainsi que celles récoltées à Béni Douala, quelle que soit la période de récolte montre une différence significative. Ainsi, les teneurs en cétone (fenchone et camphre) sont plus élevées avec la récolte de Tikobaine. Les teneurs en ester bornylacétate et myrénylacétate sont plus élevées à Béni Douala.

Les résultats de cette étude montrent que la variation en teneur des composés des HES de *Lavandula stoechas* est influencée par la localité de la récolte, ainsi que la date de récolte, mais pas par la partie de la plante utilisée (feuilles, sommités fleuries).

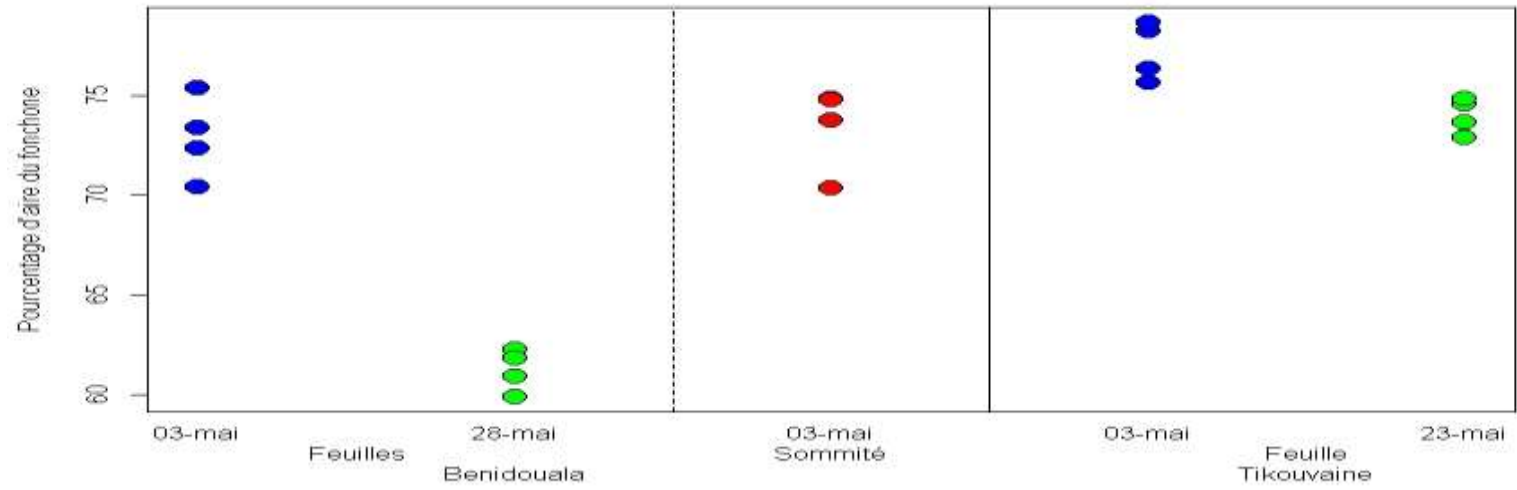
Nos résultats sont en concordance avec les résultats obtenus par Angioni et *al.* (2006). Les résultats avancés par ces auteurs ont montré que les huiles essentielles des tiges / feuilles (L) et des fleurs (F) de *Lavandula stoechas*, qui poussent à l'état sauvage dans le sud de la Sardaigne (Italie), sont composées principalement de fenchone. Ce dernier est présent en moyenne à 52,60% dans L et 66,20% dans F, suivi par le camphre, 13,13% dans L et 27,08% dans F. De même, pour les résultats obtenus par Tuttolomondo et *al.* (2014), le chémotype de *Lavandula stoechas* récolté en Sicile (Italie) est de type fenchone avec une teneur variant de 45.29% à 60.27%, suivie du camphre avec 7,94 à 20, 15%.

II.4 Conclusion

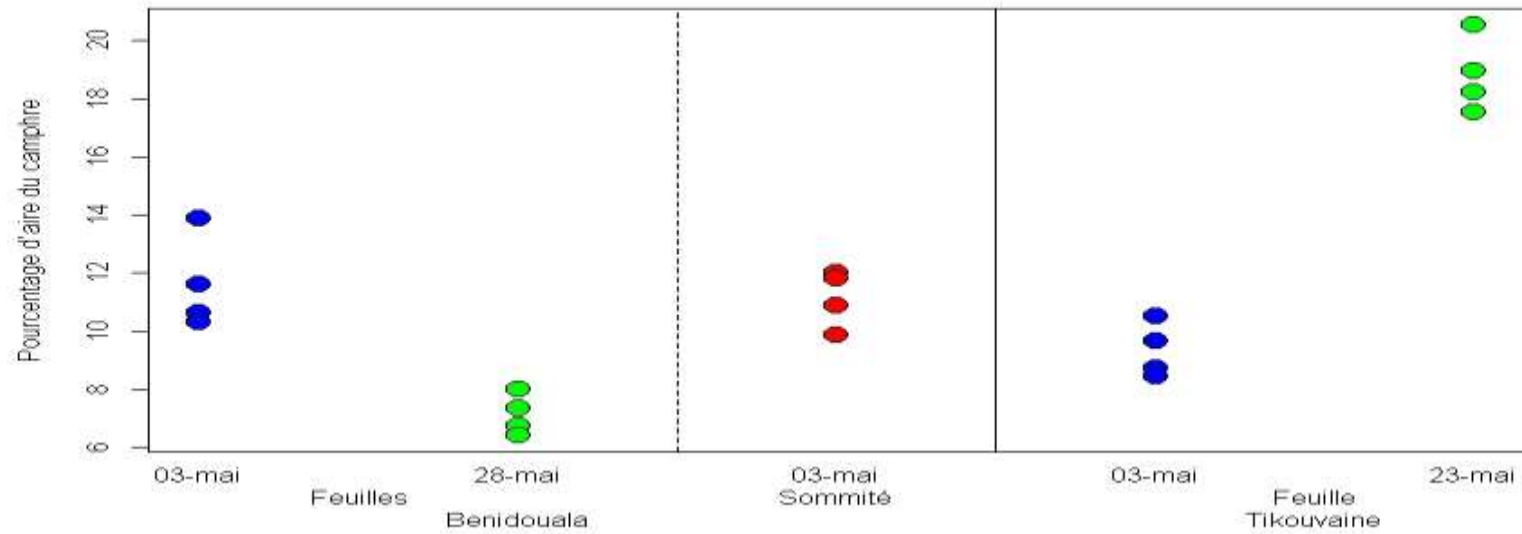
L'étude de la variation de la composition des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et de *Thymus Numidicus* révèle que ces espèces sont influencées par la variation de la pluviométrie. En effet le chémotype varie d'une année à une autre.

L'étude de la variation de la composition chimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* étudiée révèle que la composition des huiles essentielles est influencée par la localité et la période de récolte, mais pas par la partie de la plante utilisée. En effet, la lavande récoltée à Tikobaine est plus riche en cétone et celle récoltée à Béni Douala est plus riche en ester. La teneur relative en fenchone est plus importante pour les récoltes du début Mai (3 Mai) 2016.

Teneur en fonchone des HEs de lavande



Teneur relative en camphre des HEs de lavande



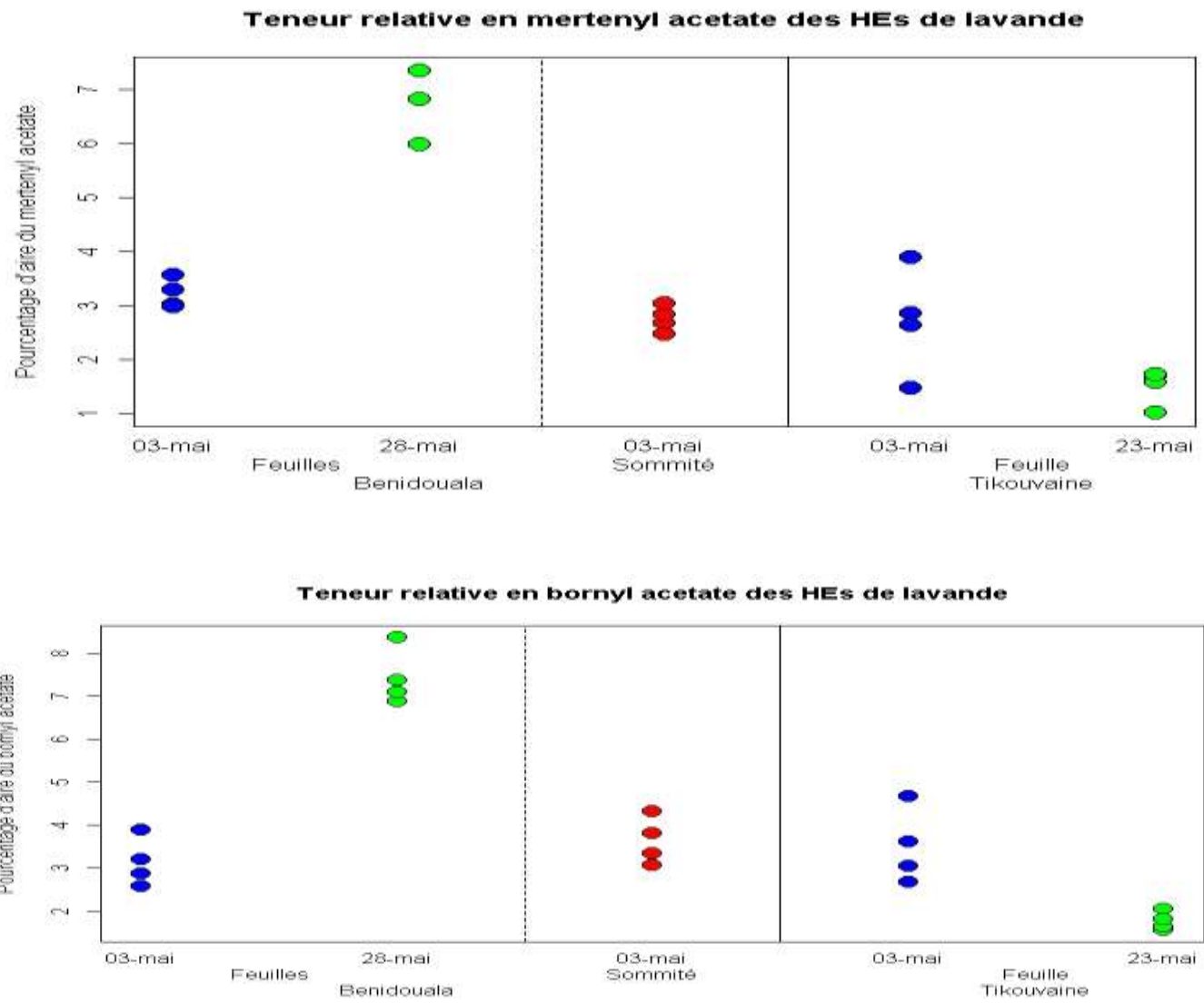


Figure 13: Evaluation de la teneur en composés chimiques des huiles essentielles de Lavande récoltée à Tikobaine et Béni Douala à deux dates de récolte et deux parties de plantes utilisées.

Chapitre III
Extraction et caractérisation des composés phénoliques

III- Extraction et caractérisation des composés phénoliques

III.1 Introduction

Le principal objectif de ce chapitre est l'étude phytochimique sur des extraits de trois plantes : *Thymus numidicus*, *Lavandula stoechase* t *Origanum glandulosum*.

En premier lieu, des tests ont été menés sur des extraits de feuilles fraîches des espèces ci dessus, afin de déterminer la présence ou l'absence des polyphénols. En second lieu des protocoles d'extraction des flavonoïdes, tannins ont été suivi, afin d'évaluer la composition qualitative des trois plantes en ces différents composés.

III.2 Matériels et méthodes

III.2.1 Présentation du matériel végétal

Pour cette étude, différentes récoltes ont été effectuées dans différentes localités :

Récolte 1 : Les parties aériennes du *Thymus numidicus*, de *Lavandulastoechaset* de l'*Origanum glandulosum* ont été récoltées durant le mois de Mai 2015 à Ain el Hammam, Boussouar et Tifrit.

Récolte 2 : Les parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) de *Lavandula stoechas* récoltées durant le mois d'Avril, début et fin Mai 2016 dans les régions de Tikobaine et Béni Douala.

Récolte 3 : Les parties aériennes de *L.stoechas*récoltées fin Avril et fin Mai 2017 dans les régions de Boghni et Iferhounene.

III.2.2 Tests phytochimiques sur les extraits des plantes fraîches et sèches

Le screening phytochimique est une étude qualitative qui permet de détecter les différentes familles des métabolites secondaires constituant les plantes. La caractérisation a été effectuée sur les extraits obtenus en milieu aqueux (décoction, infusion, macération) (Annexe 3) et en milieu organique (éthanol) des plantes fraîches et séchées de la récolte 1.

Ainsi, nous avons procédé à la caractérisation des composés d'intérêt pharmacologique importants, à savoir les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les saponosides et les leucoanthocyanes suivant des protocoles expérimentaux d'identification décrits par Trease et *al.* (1989) et Harbone et *al.* (1998).

III.2.2.1 Protocole d'identification des tanins

Des volumes de 5ml d'extrait à analyser sont introduits dans un tube à essai. Après ajout d'1ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2%, une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence des tanins (Rizk, 1982).

III.2.2.2 Protocole d'identification des alcaloïdes

Nous avons introduit, dans deux tubes à essais, 1 ml d'extrait à analyser et acidifiés avec quelques gouttes de HCl dilué. Deux réactifs ont été utilisés pour déterminer la présence d'alcaloïdes : le réactif de Wanger (dans le premier tube) avec l'apparition d'un précipité blanc et le réactif de Mayer (dans le second tube) avec l'apparition d'un précipité brun (Trease et *al.*, 1989). L'apparition de ces précipités témoigne de la présence des alcaloïdes.

III.2.2.3 Protocole d'identification des terpénoïdes

Nous avons ajouté 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique à 2,5 ml d'extrait à analyser. La présence des terpénoïdes est indiquée par la formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase (Das et *al.*, 2014).

III.2.2.4 Protocole d'identification des flavonoïdes

Pour l'identification des flavonoïdes, nous avons ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique, 1ml d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium à 5 ml d'infusion de feuilles de plante.

L'apparition de coloration spécifique nous renseigne sur la présence des différentes familles de flavonoïdes comme suit :

- Rose orangé indique la présence de flavones
- Rose violacée indique celle des flavanones
- Rouge indique la présence de flavanols et flavanonols.

III.2.2.5 Protocole d'identification des leucoanthocyanes

Nous avons ajouté 5ml d'alcool chlorhydrique et 1ml d'alcool isoamylique à 5ml d'infusion de feuilles de plante. Le mélange a été chauffé au bain marin pendant 15minutes. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence des leucoanthocyanes.

III.2.3 Extraction des polyphénols

III.2.3.1 Protocole d'extraction des flavonoïdes

L'isolation des flavonoïdes a été effectuée sur 30g de poudre végétale macérée dans 100ml de méthanol pendant 72h. Le résidu sec obtenu après évaporation du méthanol du macérât a été traité avec 50 ml d'eau tiède. Par la suite, nous avons procédé à une série d'extraction liquide-liquide de la partie aqueuse par ajout de plusieurs fractions de solvants non miscibles, à polarité croissante comme suit :

- Lavage avec trois fractions de 30 ml de chloroforme permettant d'éliminer la chlorophylle et les lipides.
- Lavage avec trois fractions de 30 ml d'éther diéthylique permettant d'extraire les génines et les flavonoïdes libres.
- Lavage avec trois fractions d'acétate d'éthyle permettant d'éliminer les monosides et d'entraîner les hétérosides flavoniques.
- A la fin, la phase aqueuse est lavée avec trois fractions de butanol à 30 ml afin de récupérer la phase alcoolique. Après évaporation de cette dernière à 55°C, le résidu sec est récupéré, pesé et stocké pour analyses (figure 13) (Feknous et *al.*, 2013).

III.2.3.2 Protocole d'extraction des tanins

Une quantité de 30 g de poudre végétale a été dégraissée en la laissant macérer dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h. Après filtration, le marc est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés. Le marc récupéré est ensuite traité avec 50 ml d'éther diéthylique, puis filtré pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique.

Le marc est repris une seconde fois avec 100 ml de méthanol. Le mélange est ensuite filtré et le filtrat méthanolique soumis à une évaporation rotative. Le résidu sec est récupéré, pesé et stocké à l'abri de l'humidité et de la chaleur (figure 14) (Feknous et *al.*, 2013).

III.2.3.3 Calcul des rendements

Le calcul du rendement en extrait sec (de flavonoïdes ou tanins) est évalué à la base de la formule suivante :

$$R = \frac{m_{\text{sec}}}{m_m} \times 100\% \quad (13)$$

m_{sec} : masse de l'extrait sec en (g)

m_m : masse de la poudre végétale (sèche) en (g)

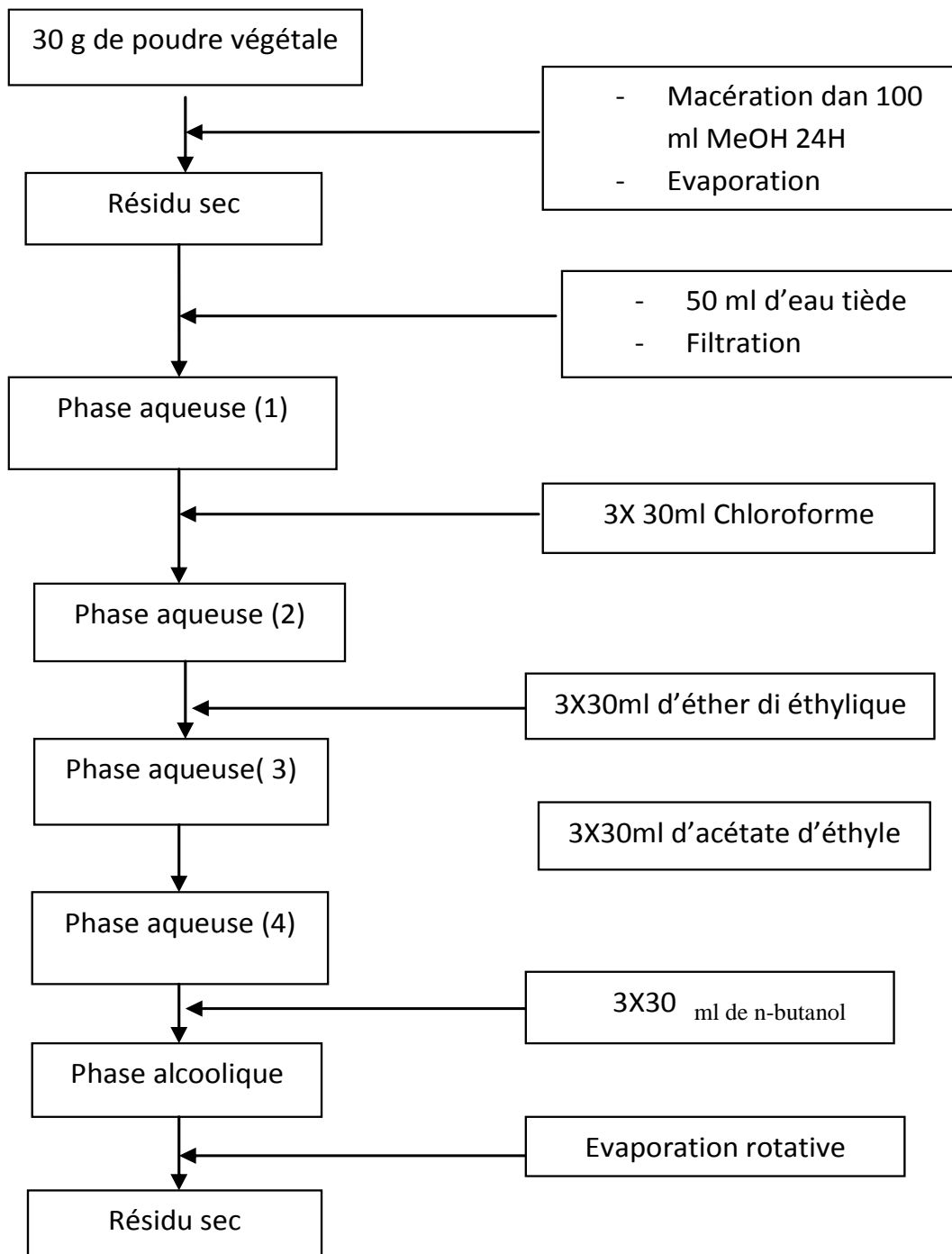


Figure 14– Organigramme des étapes d'extraction des flavonoïdes

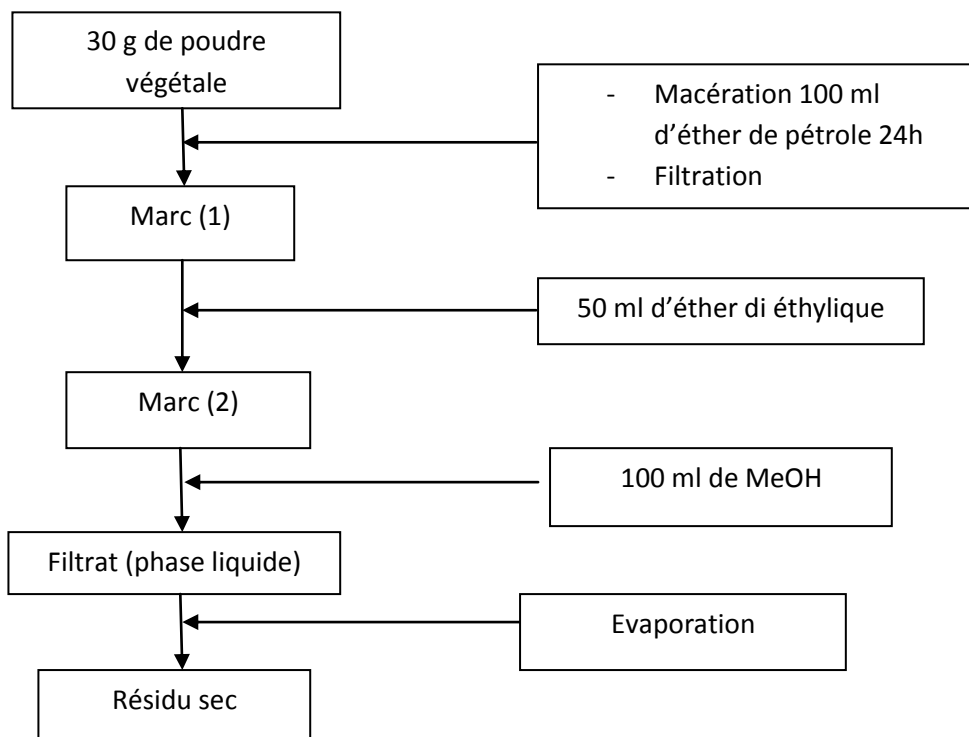


Figure 15 : Organigramme des étapes d'extraction des tanins

III.2.4 Analyse physicochimique des extraits

III.2.4.1 Analyse CCM

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode de séparation des composés d'un mélange liquide. La technique repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interaction et de polarité. Après que l'échantillon ait été déposé sur un support solide, plongé dans un solvant appelé phase mobile, il se déplacera par capillarité à travers la phase stationnaire. Lors du déplacement, les constituants de l'échantillon migreront à hauteur en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire. Cette hauteur est appelée rapport frontal (R_f) lequel détermine la distance de migration du composé par rapport à celle du solvant. La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité (Bandyukova et *al.*, 1973).

Si les constituants sont colorés, ils seront directement visibles sur la plaque, sinon la révélation peut se faire soit par UV ou bien par des méthodes chimiques ou les deux en même temps. La révélation aux UV se fait à l'aide d'une lampe UV à deux différentes longueurs

d'ondes : 254 et 365 nm. La révélation par des méthodes chimiques consiste en la pulvérisation de la plaque CCM par un réactif spécifique qui révèle une coloration par réaction chimique avec les substances présentes dans l'extrait. Dans notre étude, nous avons utilisé le chlorure d'aluminium(AlCl_3) à 2 % dilué dans du méthanol à 99%.

Les substances peuvent être identifiées en calculant la valeur du rapport frontal qui sera comparée à celle de la littérature ou à celles des substances étalons.

En effet, dans le système de solvant benzène/pyridine/acide formique (36 :9 :0,5) les polyhydroxy flavones présentent des faibles valeurs de R_f (0.00-0.25), les oligo hydroxy et les oligométhoxy flavones, ont des valeurs comprises entre 0.3 et 0.5, les flavanones, les flavanols et les méthoxyflavanes, ont des valeurs plus élevées de R_f (0.5 à 0.75)(Bandyukova et *al.*, 1973).

a) Séparation des flavonoïdes extraits

Les flavonoïdes extraits (extraits n-butanol) ont été séparés par CCM de type DC-Fertigfolien ALUGRAM[®] Xtra SIL G/UV 254 (silice sur plaque d'Aluminium). Les mélanges de solvants de migration choisis sont les suivants :

- Acétate d'éthyle/ acide formique/ eau (8V : 1V : 1V)
- Acétate d'éthyle/méthanol/eau (5V : 2V :1V).

b) Séparation des tanins extraits par CCM

Les extraits de tanins ont été séparés par CCM. Le mélange de solvants utilisés est Toluène /Acétone/ acide formique (3V :3V :1V).

III.2.5 Analyse des extraits par LC/MS

L'analyse par LCMS a été réalisée au niveau du laboratoire UMR-S1172, par l'équipe Onco & Neurochemistry, de l'Université de Lille. L'appareil utilisé est de type Micromass ZQ 2000 de Waters Alliance équipée d'un gestionnaire de solvants 2695, d'un détecteur à barrettes de photodiodes 2996 et d'une colonne HPLC de taille de particule C18 Xbridge de 3,5 μm (dimensions 4,6 mm x 50 mm).

L'élution a été réalisée en 5 min à un débit de 2 ml/min avec de l'acide formique aqueux (pH = 3,8) comme éluant A et acétonitrile-formique (pH = 3,8) comme éluant B. Un plateau de 0,25 min avec 0% B et un gradient linéaire de 0% B à 98% B en 3,25 min, suivi d'un plateau de 0,5 min avec 98% de B a été utilisé. Ensuite, le rééquilibrage de la colonne a

été effectué sur 1 min. L'ionisation a été effectuée à l'aide d'une source ESI (Electrospray Source Ionisation) en mode négatif et positif avec un détecteur simple quadripôle.

III.3 Résultats et discussions

III.3.1 Screening phytochimique

Les résultats des tests préliminaires de présence ou non des tanins, saponosides, alcaloïdes, terpénoïdes, flavonoïdes et leucoanthocyanes dans les extraits des plantes fraîches et sèches sont rassemblés dans les tableaux 24, 25 et 26 respectivement pour le cas du *Thymus numidicus*, *Lavandula stoechas* et l'*Origanum glandulosum*.

D'après les résultats du tableau 24, nous constatons que les tanins, terpénoïdes et alcaloïdes, sont présents dans tous les extraits des feuilles de *T. numidicus* quel que soit le mode de préparation ainsi que l'état de la plante (fraîche ou séchée).

Nous constatons aussi la présence de flavonoïdes dans tous les extraits hormis l'extrait obtenu par décoction des plantes fraîches. Concernant les leucoanthocyanes, ils sont présents dans l'extrait obtenu par macération de la plante sèche dans l'éthanol ainsi que la macération de la plante fraîche dans l'eau.

Les résultats illustrés dans le tableau 25, montrent que les tanins et les terpénoïdes sont présents dans tous les extraits étudiés.

Les alcaloïdes sont présents dans tous les extrais sauf dans l'infusion et la macération dans l'éthanol. Les leucoanthocyanes sont présents dans les décoctions et les macérât des plantes fraîches et séchées dans l'éthanol.

Nous constatons aussi la présence des saponosides dans les extraits de décoction et des macérât des feuilles de lavande fraîches et séchées.

Le screening phytochimique effectué sur les extraits des feuilles de l'*Origanum glandulosum* (tableau 26) montre que tous les extraits de plantes fraîches et sèches contiennent des tanins et des terpénoïdes. Tandis que les leucoanthocyanes sont présents dans les macérât d'éthanol, les décoctions des plantes ainsi que dans l'infusion des plantes fraîches. Les flavonoïdes ne sont pas présents dans les décoctions des plantes fraîche et cela quelque soit l'espèce étudiée.

Quant aux saponosides, ils sont très abondants dans la décoction de la plante fraîche.

Tableau 24 : Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches du *Thymus numidicus* de Boussouar

Etat de la plante	Préparation de l'extrait	Tanins	Saponosides	Alcaloïdes		Terpénoides	Flavonoïdes			Leuco-anthocyanes
				Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flavanol	
Fraîche	Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	-
	Décoction	+	++	-	+	+	-	-	-	-
	Macération (eau)	+	-	+	+	+	+	-	-	+
	Macération (EtOH)	+	-	+	+	+	-	-	+	-
Sèche	Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	-
	Décoction	+	+	-	+	+	+	-	-	-
	Macération (eau)	+	-	+	+	+	+	-	-	-
	Macération (EtOH)	+	-	+	+	+	+	-	-	+

« + » présence de composé
« - » absence de composé

Tableau 25: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches de *Lavandula stoechas* de Boussouar

Nature de la plante	Préparation de l'extrait	Tanins	Saponosides	Alcaloïdes		Terpénoides	Flavonoïdes			Leuco-anthocyanes
				Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flavaol	
Fraîches	Infusion	+	-	-	-	+	+	-	-	-
	Décoction	+	+++	+	+	+	-	-	-	□
	Macération (eau)	+	++	+	+	+	+	-	-	-
	Macération (EtOH)	+	++	-	-	+	-	-	+	□
Sèches	Infusion	+	++	+	+	+	+	-	-	-
	Décoction	+	+++	+	+	+	-	+	-	+
	Macération (eau)	+	++	+	+	+	+	-	-	-
	Macération (EtOH)	+	- +	-	+	+	-	-	-	+

**Tableau 26: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles sèches et fraîches de
l'*Origanum glandulosum* d'Ain el Hammam**

Nature de la plante	préparation de l'extrait	Tanins	Saponoside	Alcaloïde		Terpenoïde	Flavonoïde			Leuco-anthocyanes
				Mayer	Wenger		Flavo	Flava	Flava _ol	
Fraïches	Infusion	+	-	+	+	+	+	-	-	-
	Décoction	+	+++	-	+	+	-	-	-	-
	Macération (eau)	+	-+	+	+	+	+	-	-	-
	Macération EtOH	+	-+	+	+	+	+	-	-	-
Sèches	Infusion	+	-+	+	+	+	+	-	-	-
	Décoction	+	-	+	+	+	-	-	+	+
	Macération (eau)	+	-	-	+	+	+	-	-	-
	Macération EtOH	+	-	+	+	+	+	-	-	+

III.3.2 Rendement d'extraction en métabolites secondaires

L'isolation des flavonoïdes et des tanins a été effectuée sur les récoltes de Thym, de Lavande et d'origan de 2015 (les localités de Tamgout, Boussouar et Ain el Hammam) et sur la Lavande récoltée en 2016 (dans les localités de Tikobaine et BeniDouala).

Dans un premier lieu, nous avons effectué l'isolation des flavonoïdes et des tanins des différentes plantes récoltées afin de comparer l'impact de la situation géographique, ainsi que l'altitude sur le rendement d'extraction.

Par la suite, nous avons étudié la variation de la nature des métabolites secondaires suivant la partie de la plante (*Lavandula stoechas*) utilisée pour l'extraction, ainsi que la période de récolte. Les rendements sont illustrés dans les tableaux 27, 28 et 29).

Les résultats figurants dans les tableaux (27, 28 et 29) montrent que les rendements en tanins et flavonoïdes varient selon l'espèce, l'organe de la plante utilisé pour l'extraction, la localité, ainsi que l'année de récolte des plantes étudiées.

Les résultats regroupés dans le tableau 27 permettent de constater que *Lavandula stoechas* renferme plus de tanins comparativement au *Thymus numidicus* et *Origanum glandulosum*. Les résultats indiquent des teneurs de 3,04%, 2,45% et 1,42% respectivement pour *L.stoeckas* de Boussouar, *T. numidicus* de Tifrit et Boussouar. Quant à l'*O. glandulosum* la plus grande teneur en tanins a été enregistrée pour les échantillons récoltés à Tamgout avec une valeur de 0,82.

Pour les flavonoïdes, les meilleurs rendements ont été obtenus pour *T. numidicus* récolté à Boussouar avec une teneur de 1,81%, suivi de l'*O. glandulosum* récolté à Tamgout avec une teneur de 1,103%.

Tableau 27: Rendement en flavonoïdes et tanins des plantes récoltées en Mai 2015 au niveau de Tifrit, Boussouar, Tamgout et Ain El Hammam(AEH)

		Rendement (en %)			
Composés	Plantes	Tifrit	Boussouar	Tamgout	AEH
Flavonoïdes	Thym	0,317	1,81	-	-
	Origan	-	-	1,103	1,08
	Lavande	-	0,403		
Tanins	Thym	2,45	1,42	-	-
	Origan	-	-	0,82	0,507
	Lavande	-	3,04	-	-

Les résultats regroupés dans le tableau 28 montrent que, pour une même période de récolte, les feuilles de *Lavandulas stoeckas* renferment plus de tanins que les sommités. En effet, nous avons enregistrés, pour les feuilles récoltées fin Mai 2016, un rendement de 4,65% et 4,53% respectivement pour les localités de Beni Douala et Tikobaine.

Enfin, les résultats figurants dans le tableau 29, révèlent que les teneurs les plus élevées en Tanins et flavonoïdes ont été obtenues avec les feuilles de *L.stoechas* récoltées fin Mai 2017 dans la localité d'Iferhounene. Nous avons enregistrés une teneur de 5,7% et 5,8% respectivement pour les flavonoïdes et les tanins.

Tableau 28 : Rendement en Tanins des feuilles et sommités de *Lavandula stoechas* récoltées en 2016 à Tikobaine et Beni douala

Période	Rendement %			
	Fin avril		Fin mai	
	Sommités	Feuilles	Sommités	Feuilles
Tikobaine	1,55	3,35	2,08	4,53
Beni douala	2,03	3,55	2,3	4,65

Tableau 29: Rendement en Tanins et flavonoïdes des feuilles et sommités de *Lavandula stoechas* récoltées en 2017 à Boghni et Iferhounene

Composés	Localité/Partie plante	Rendement %			
		Fin Avril		Fin Mai	
		Sommités	Feuilles	Sommités	Feuilles
Tanins	Boghni	1,36	3,06	1,06	3,96
	Iferhounene	1,13	2,6	3,34	5,7
Flavonoïdes	Boghni	2,3	4,13	1,06	2,96
	Iferhounene	2,43	5,63	1,6	5,8

A travers tous ces résultats, nous pouvons conclure que l'altitude, le stade de récolte ainsi que l'organe utilisé dans l'extraction ont un impact direct sur les teneurs en métabolites secondaires notamment pour les tanins et flavonoïdes (Zhang et *al.*, 2003 ; Djahra et *al.*, 2013).

III.3.3 Analyse CCM des extraits

L'analyse CCM a été effectuée sur les tanins et flavonoïdes extraits des feuilles des sommités fleuries de *L.stoechas* récoltée début et fin mai 2016 dans les localités de Beni Doula et Tikobain, des feuilles de l'*O.glandulosum*, récoltées en mai 2015 dans la localité de Tamgout ainsi que les feuilles du *T. numidicus* récoltées en mai 2015 à Tifrit

La révélation des plaques CCM a été effectuée par une lampe UV après pulvérisation d'une solution d' $AlCl_3$ à 2% dans du méthanol

Les résultats sont illustrés sur les figures 15 et 16.

- **Tanins extraits de *Lavandula stoechas***

L'observation des plaques CCM présentées sur les figures 16 (A et B), (figure 1 annexe 4) (A et B) nous montrent la présence, dans les tanins extraits des feuilles et des sommités fleuries, de deux tâches importantes brunes avec des R_f respectives de 0,71 et 0,58.

Ces taches se confirment sous lampe UV à 365nm avec des colorations qui virent au bleu violet pour les taches avec $R_f=0,73$ et au bleu vert pour les taches avec $R_f= 0,58$. Sous révélation a la lampe UV, nous constatons une autre tâche jaune vert fluo qui apparait à $R_f = 0,28$.

Pour la figure C, nous avons changé le système d'élution, en augmentant l'acidité du solvant par ajout d'un volume double d'acide formique. Nous observons une tache rose à un $R_f = 0,84$ sur tous les échantillons de tanins étudiés. Cette tache correspond probablement à des anthocyanidine-glucoside.

Si nous comparons nos résultats avec ceux de Bahorun (1995), obtenus pour le même solvant d'élution, nous pouvons supposer que les taches relatives aux valeurs de 0,28 et 0,70 de R_f , correspondent respectivement aux pronthocyanidines et aux catéchines.



Figure 16 : Analyse CCM des tanins extraits des feuilles et des sommités de la *Lavandula stoechas* récoltées fin Avril et Mai 2016 à Beni Douala. Système de solvant (A et B) : toluène/ acétone/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation $AlCl_3$ 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation $AlCl_3$ sous UV à 365 nm.

La révélation des plaques CCM nous permet de constater une principale tâche brune sous UV à 254 et bleu vert fluo sous UV 365 avec un rapport frontal $R_f= 0,75$. Le changement

du système d'élution, en augmentant l'acidité et en diminuant la polarité, nous permet constater l'apparition d'une tache rose fluo avec un R_f très élevé (ANNEXE 4).

- **Flavonoïdes**

La plaque CCM de la figure 18, révèle une tache brune pour *L.stoechas*, l'*O.glandulosum* et le *T.numidicus* avec un même rapport frontal de 0,86 et une autre tâche brune pour l'*O.glandulosum* avec $R_f=0,75$. La révélation sous lampe UV à 365 nm, ne nous permet pas de calculer les R_f , elle nous indique la présence de composés mais qui ne sont pas bien séparés. Par conséquent, le meilleur système d'élution est l'acétate d'éthyle/acide formique/eau (8V :1V :1V)

V-4 Analyse qualitative LC/MS

- **Tanins extraits de la *L.stoechas***

L'analyse des tanins extraits de *L. stoechas* récoltée en mai 2016 à Beni Douala par LC/MS nous a permis la séparation d'un principale composé majoritaire (figure 17). D'après les figures tous les échantillons ont le même profil chromatographique.

L'analyse par spectrométrie de masse du pic séparé par LC en modes positif et négatif révèle un ion moléculaire de m/z 361, 14 et 359,18 respectivement. Ce qui nous conduit vers une molécule correspondant à la masse molaire de 360 uma (figure 19). La figure 18représente le spectre UV du pi à $t_r=1.68$. La figure 20 représente le spectre UV du composé qui apparait à t_r de 1,68 mn.

L'analyse des différentes résultats LC/MS obtenues (Annexe6) nous permet de conclure que tous les échantillons ont le même profile chromatographique. Ce qui signifie qu'il n y a pas de variation de la composition des tanins suivant l'organe d'extraction, la date de récolte ainsi que la localité de récolte.

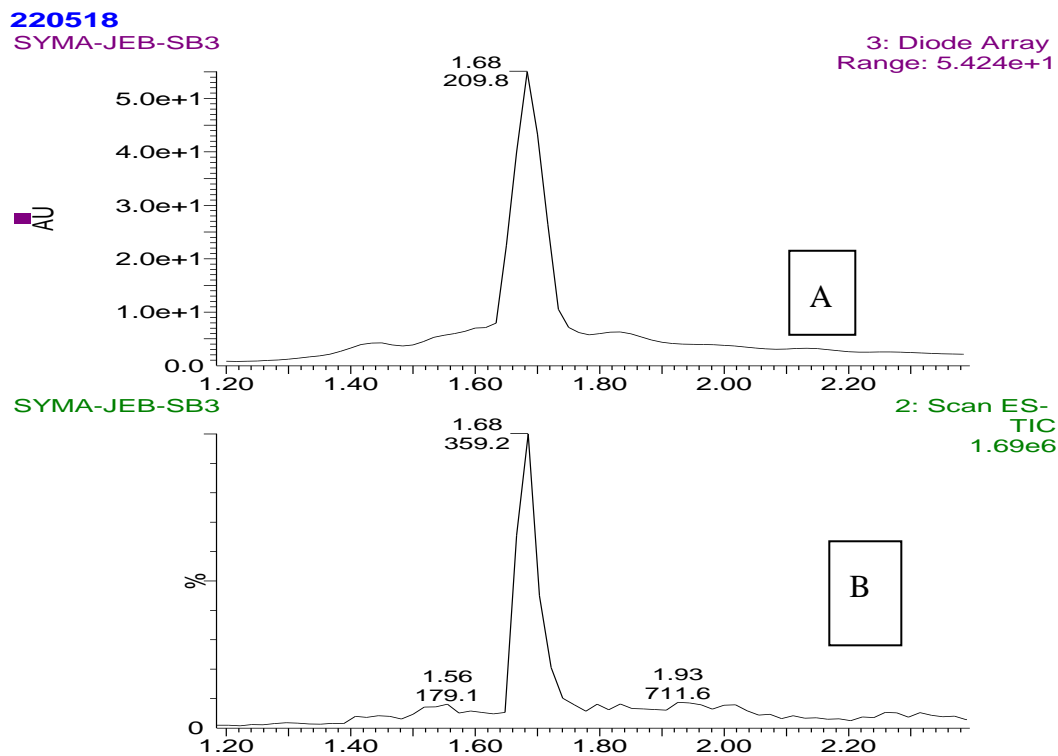


Figure 17: Profil chromatographique des extraits des sommités fleuries de Lavandula stoechas récoltée en le 3 Mai 2016 à Beni Douala.

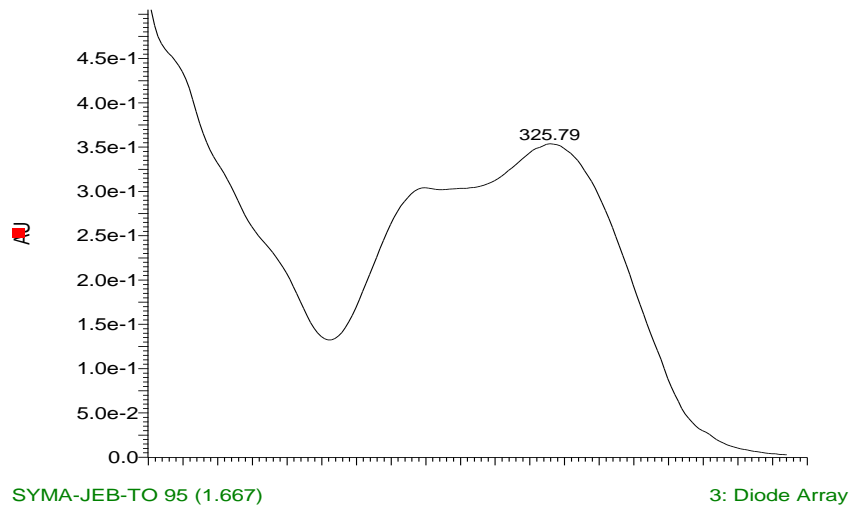


Figure 18: spectre UV du pic à RT= 1,68 min

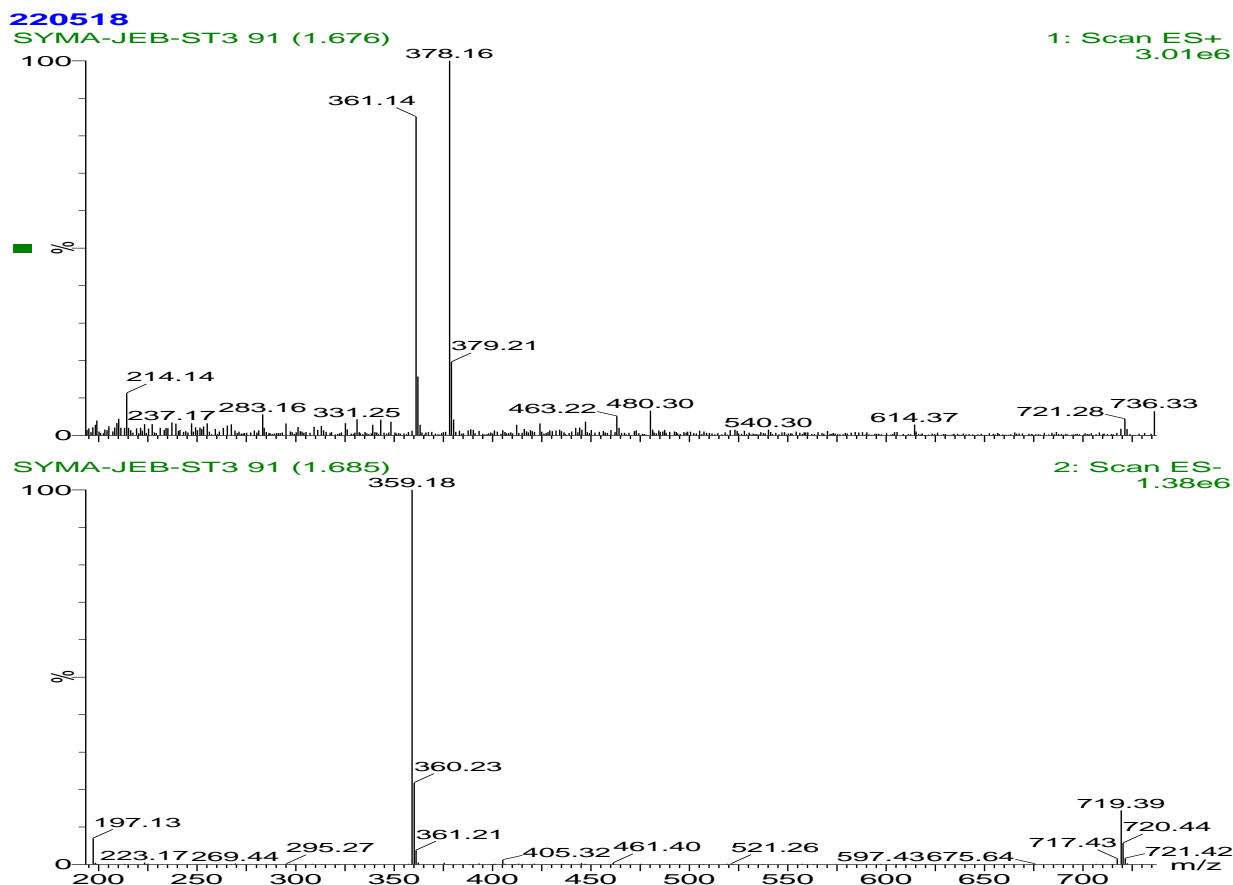


Figure 19 : Spectre de masse du pic à RT= 1,68 min

Si nous comparons nos résultats avec ceux de Abidini, (2014) nous pouvons conclure que la molécule identifiée majoritairement dans nos extraits de tanins de *L.Stoechas* est l'acide rosmarinique de formule chimique indiquée par la figure 20 :

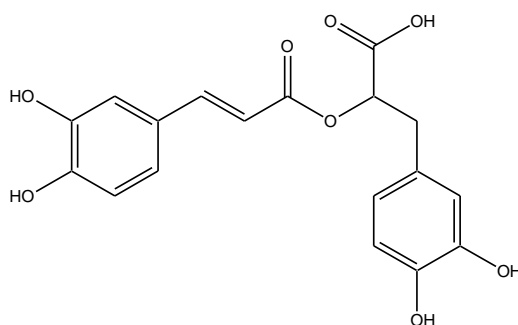


Figure 20: Formule développée de l'Acide rosmarinique

- **Tanins extraits de l'*O.glandulosum***

L'analyse LC/MS des tanins extraits des feuilles de l'*O.glandulosum* de Tifrit récolté en mai 2015, révèle neufs différents composés. Dont les majoritaires sont apparus à des temps de rétention de 1,50, 1,67, 1,82, 2,57, 2,92. (Figure21). Les spectres de masse en mode négatif des différents pics de la figure (21) sont représentés dans la figure en annexe 5.

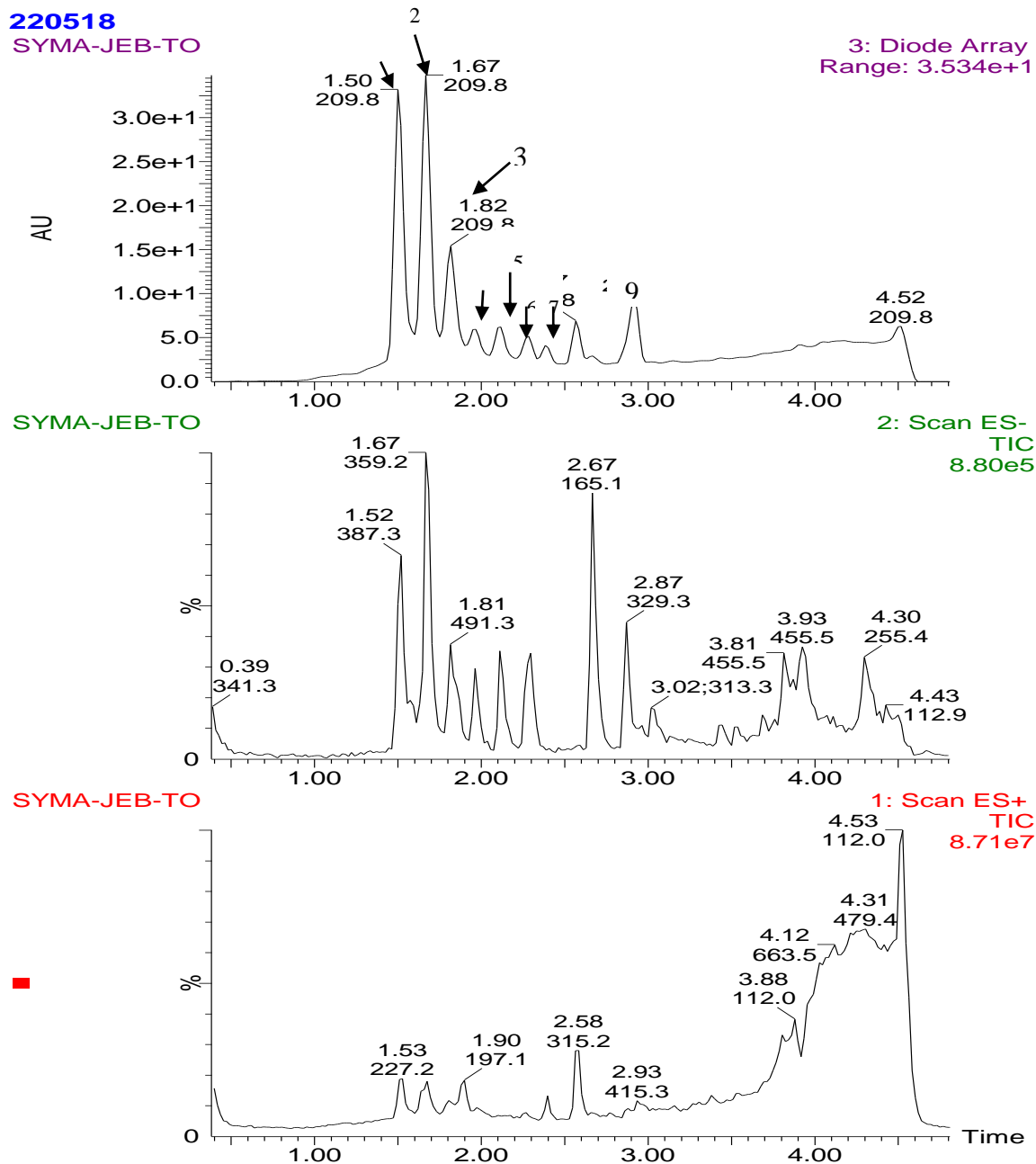


Figure 21: Profil chromatographique des tanins extrait de *O.glandulosum* récoltées à Tamgout en 2015

Les temps de rétention, les ions spécifiques ainsi que les noms des composés sont résumés dans le tableau 30.

Tableau 30 : Ions spécifiques, des composés détectés dans les extraits de tanins des feuilles de l'*O.glandulosum* récoltées en mai 2015 à Tamgout

Pics	tr (min)	Masse molaire	MS(m/z) Anion	MS(m/Z) Cation	Proposition de structure	Proposition de nom	comparaison Réf.
1	1,5	388	387,33	389,29	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle	Karbran et al., 2014
2	1,67	360	359,18	361,21	C ₁₈ H ₈ O ₈	Acide rosmarinique	Abidini 2014
3	1,82	472	473,16	471,34	ND		
4	1,97	288	287,22	289,11	ND		
5	2,11	288	287,22	289,1	ND		
6	2,29	272	271,19	273,08	ND		
7	2,51	314	313,19	315,15	ND		
8	2,68	166	165,15	167,18	ND		
9	2,9	328	329,22	327,39	ND		

ND : Non défini

L'analyse des spectres de masse réalisée en ESI et en mode négatif du pic à 1,5 min, montre un ion moléculaire à $m/z = 387,33[M-H]^-$. La comparaison de ce dernier avec les résultats trouvés par Karbran et al. (2014) nous permet de conclure qu'il s'agit probablement du Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle dont la structure chimique est représentée sur la figure 22

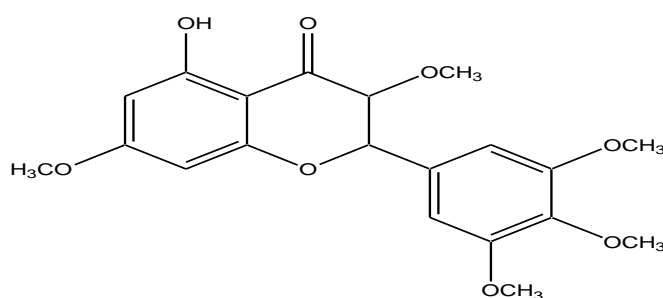


Figure 22 : Structure chimique du Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle

L'analyse du spectre de masse de l'ion moléculaire détecté au temps de rétention de 1,68min correspond à celui identifié dans la lavande et qui est l'acide rosmarinique.

La technique LC/MS est une méthode qui ne permet pas à elle seule d'identifier les autres pics. Il est donc nécessaire de recourir à une chromatographie préparative afin de fractionner les composés des échantillons. Par la suite effectuer une analyse RMN pour chacune des fractions qui nous permettra ainsi l'identification des différents pics.

- **Tanins extraits du *Thymus Numidicus***

Les résultats de l'analyse LC/MS des tanins extraits de *T.numidicus* sont présentés dans la figure 23, 24.

Le profil chromatographique (figure 23) obtenu pour les tanins extraits du *T.numidicus* est comparable à celui obtenu pour l'*O.glandulosum*, sauf pour le pic à 1,8 min qui correspond à l'ion moléculaire de 472 [M-H]⁻. La différence qui peut être constatée, aussi est la prédominance de certains composés par rapport à d'autres. En effet, on constate que le pic à 1,5min qui correspond au Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle lequel n'apparaît pratiquement pas dans les tanins extraits de *T.numidicus*, et il est plus abondant dans les extraits de *O.glandulosum*.

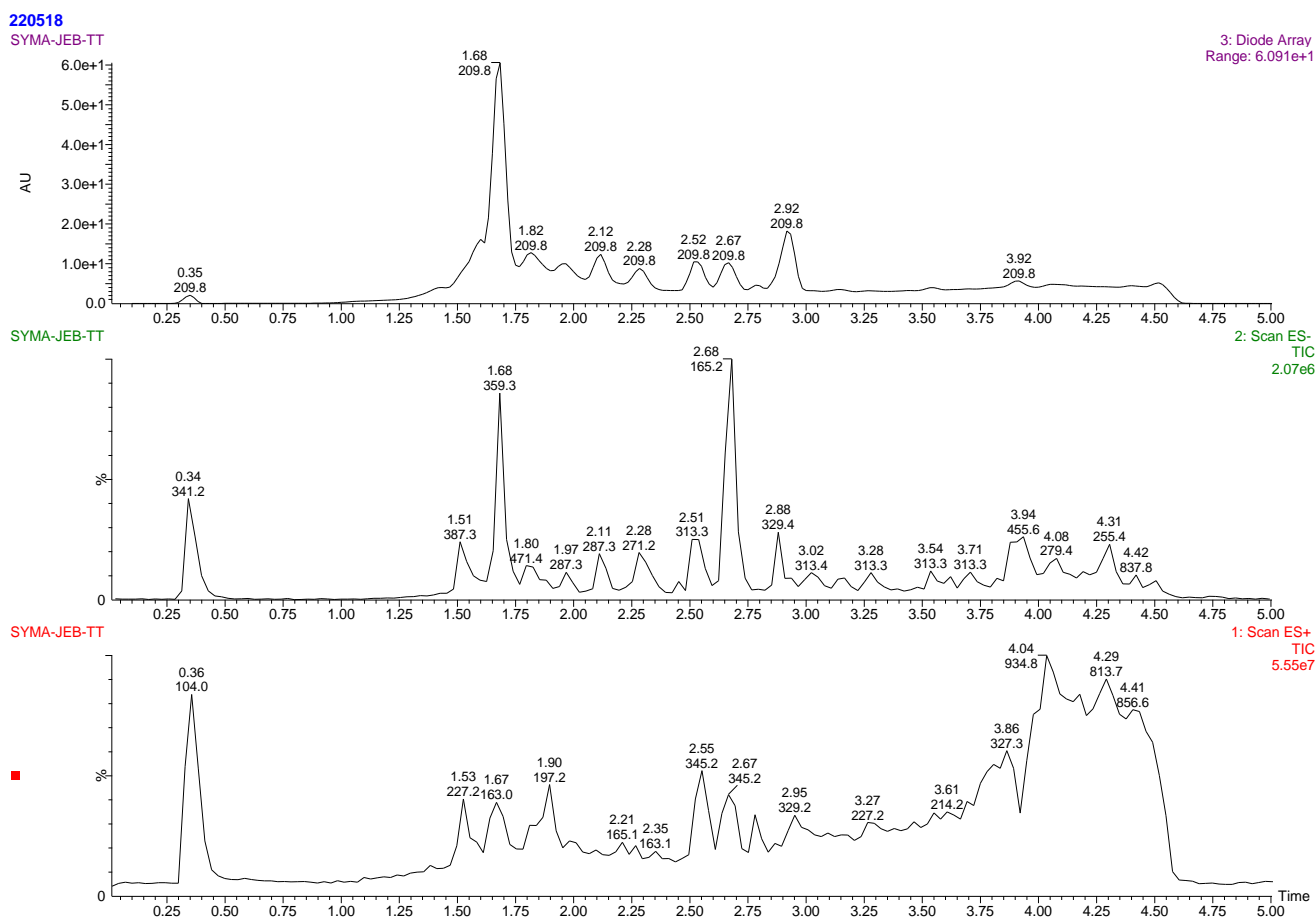
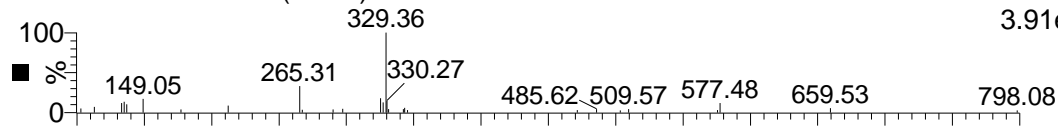


Figure 23: Profil chromatographique des extraits taniques des feuilles de *T.numidicus* récoltées à Tifrit en 2015

220518

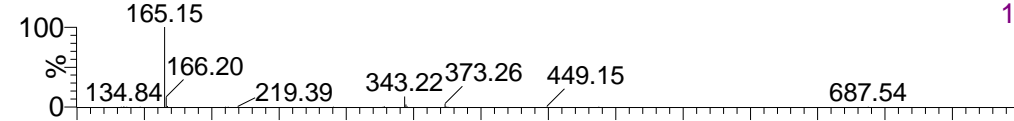
SYMA-JEB-TT-2 157 (2.907)

2: Scan ES-
3.91e4



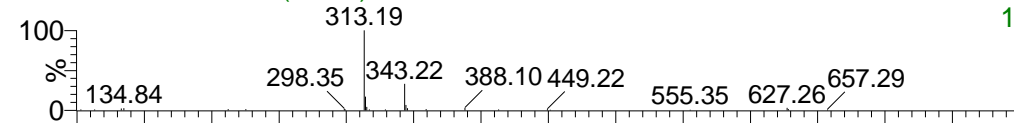
SYMA-JEB-TT-2 144 (2.666)

2: Scan ES-
1.25e6



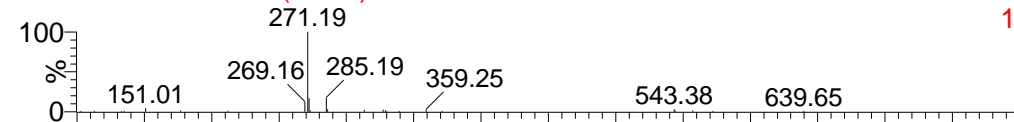
SYMA-JEB-TT-2 137 (2.537)

2: Scan ES-
1.81e5



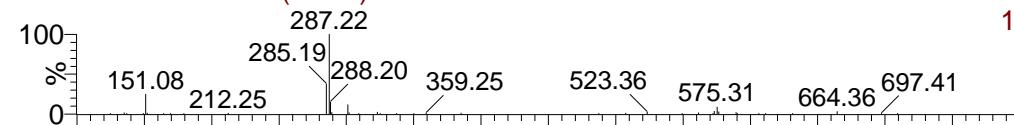
SYMA-JEB-TT-2 124 (2.296)

2: Scan ES-
1.86e5



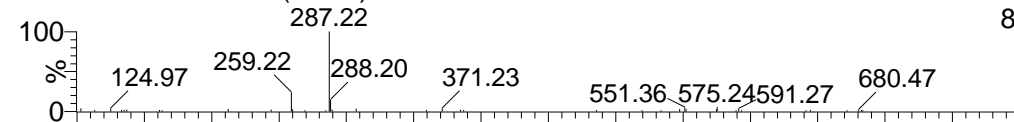
SYMA-JEB-TT-2 114 (2.111)

2: Scan ES-
1.39e5



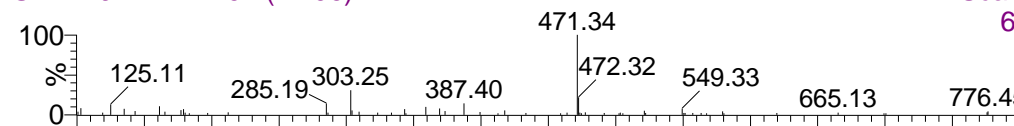
SYMA-JEB-TT-2 106 (1.963)

2: Scan ES-
8.72e4



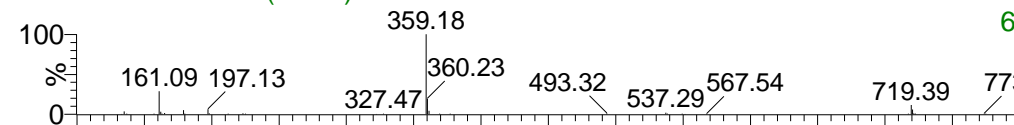
SYMA-JEB-TT-2 97 (1.796)

2: Scan ES-
6.62e4



SYMA-JEB-TT-2 91 (1.685)

2: Scan ES-
6.17e5



SYMA-JEB-TT-2 83 (1.537)

2: Scan ES-
1.23e5

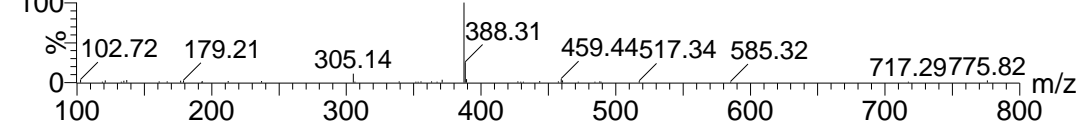


Figure 24: Spectre de masse en mode négatif des tanins extraits de *T. numidicus*

- **Flavonoïdes**

L'analyse chromatographique des extraits de flavonoïdes n-butanol des plantes ont permis de séparer trois composés pour les trois espèces de plantes étudiées. Les résultats sont illustrés par la figure 26 pour l'*O.glandulosum* et en Annexe 6 pour le *T.numidicus* et la *L.stoechas*.

L'analyse chromatographique a permis la séparation de trois composés pour toutes les espèces de plantes étudiées. Un composé à un temps de 1,50min lequel correspond à l'ion spécifique en analyse SM obtenu en mode négatif à 388 m/z (figure 26). Ce composé correspond probablement au Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle. Le second composé détecté est l'acide rosmarinique avec l'ion moléculaire de 359 m/z [M-H]⁻. Un dernier composé lequel apparait au temps de rétention de 1,81min avec un ion spécifique de 491 m/z en mode négatif.

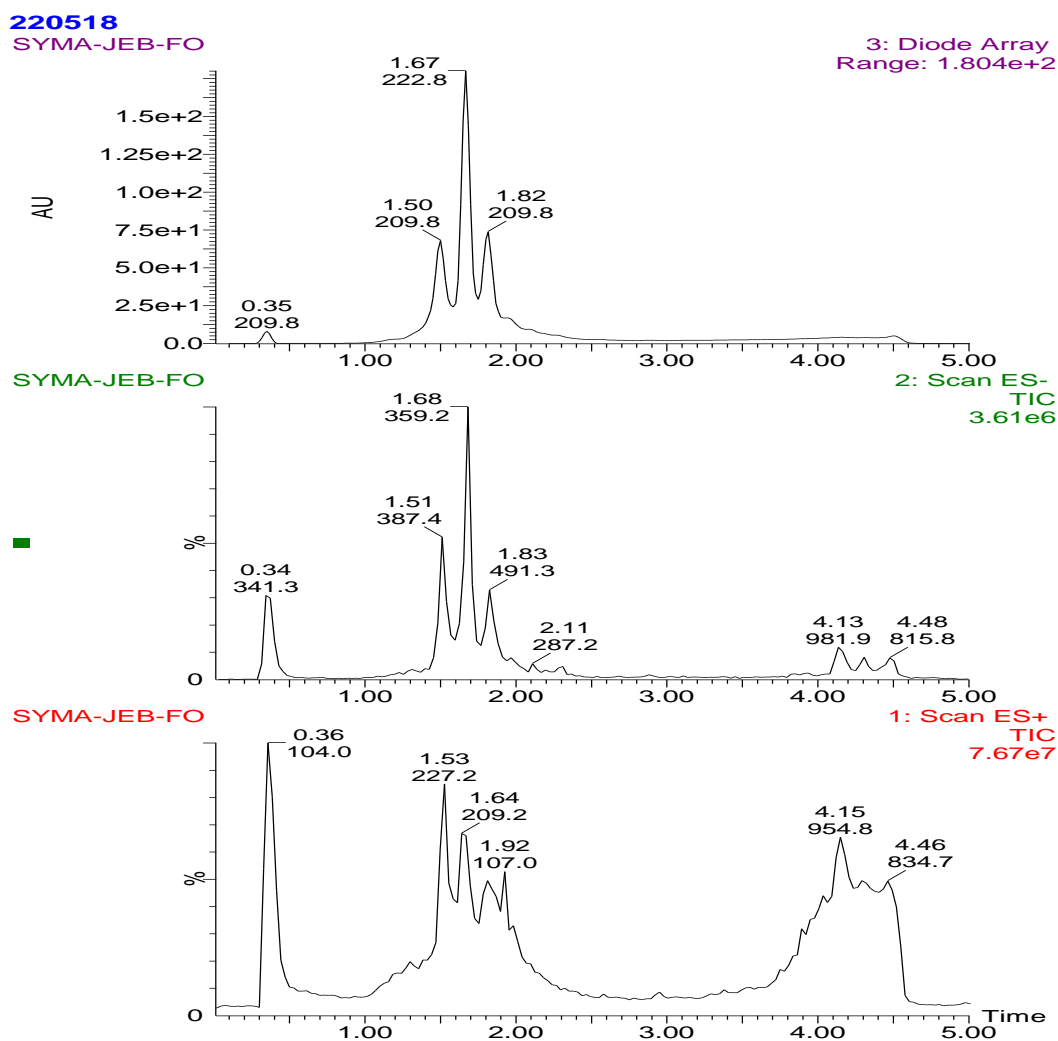
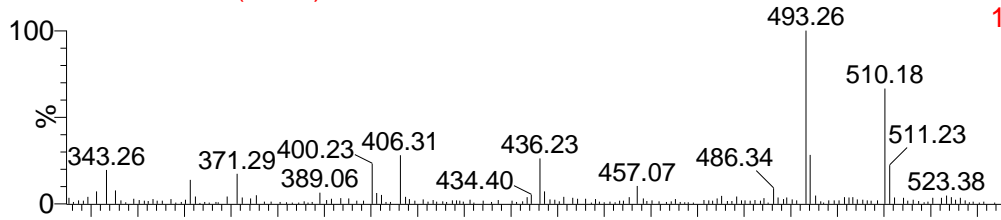


Figure 25: Profil chromatographique des extraits n-butanol des feuilles d'*O.glandulosum*

220518

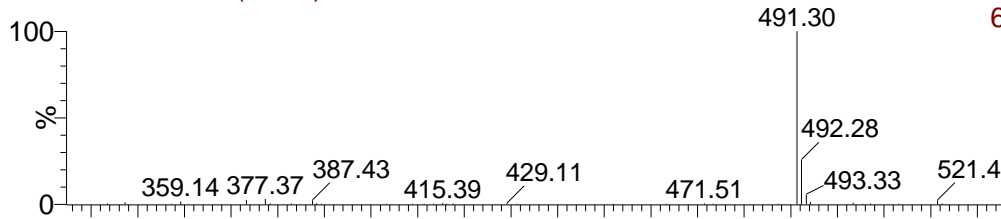
SYMA-JEB-FO 64 (1.811)

1: Scan ES+
1.10e6



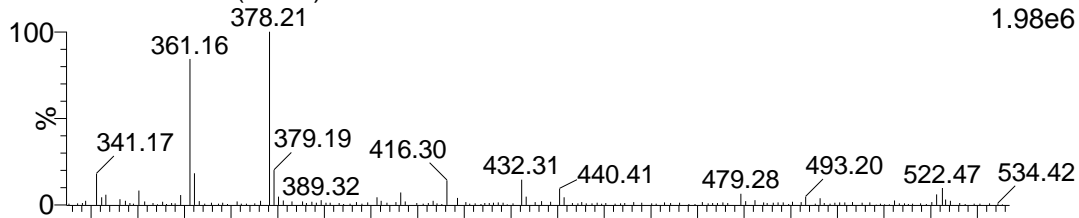
SYMA-JEB-FO 64 (1.825)

2: Scan ES-
6.09e5



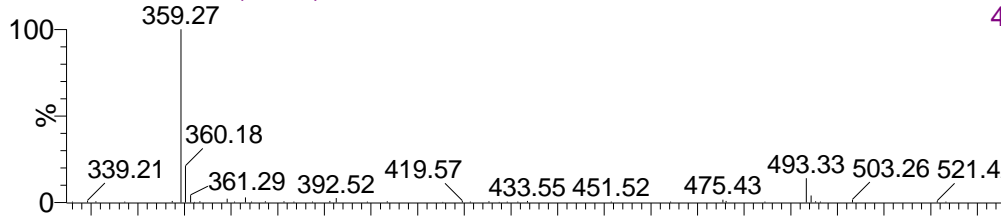
SYMA-JEB-FO 59 (1.668)

1: Scan ES+
1.98e6



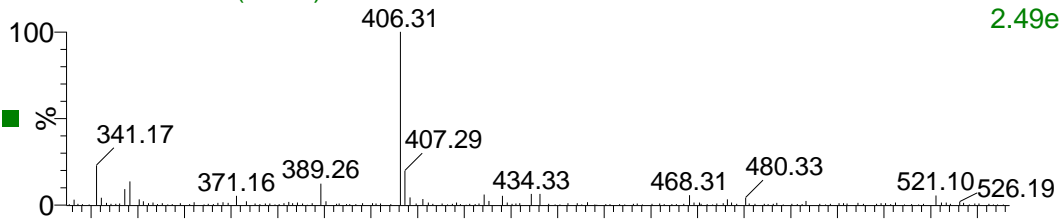
SYMA-JEB-FO 58 (1.654)

2: Scan ES-
4.52e5



SYMA-JEB-FO 53 (1.497)

1: Scan ES+
2.49e6



SYMA-JEB-FO 53 (1.511)

2: Scan ES-
7.61e5

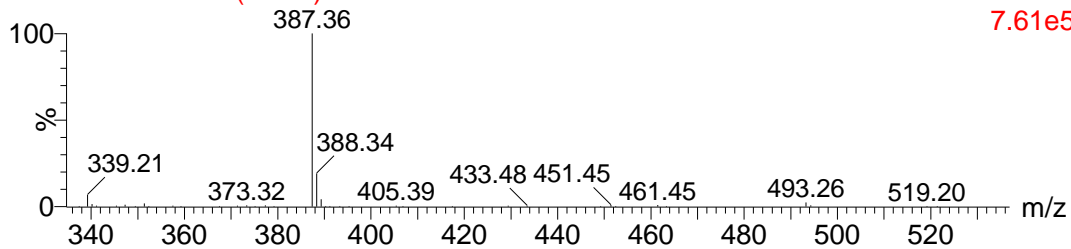


Figure26 : Spectre de masse en mode négatif et positif des composés séparés par LC/MS des extraits n-butanol des feuilles d'*O.glandulosum*

Nos résultats obtenus pour les extraits au n-butanol des feuilles de *T.numidicus*, diffèrent de ceux avancés par Benayache et *al.*, (2014). En effet, ses résultats d'analyse RMN du proton et du carbone 13 des extraits au butanol du *Thymus Numidicus* ont permis l'identification d'un composé qui correspond à la formule développée de $C_{12}H_{18}O_{11}$. Ce composé est l'Apigénine 7-O-B-glucopyranoside de masse molaire équivalente à 446 g/mol.

Chapitre IV :
Evaluation des activités biologiques et étude cytotoxique des
différents extraits de plantes

IV-Evaluation des activités biologiques et étude cytotoxique des différents extraits de plantes

IV.1 Introduction

Les analyses microbiologiques consistent à rechercher l'activité antimicrobienne et antifongique des extraits des plantes sur la croissance des microorganismes (bactéries et levures) selon la méthode de "diffusion sur milieu gélosé" (WHO, 2005).

La méthode consiste à évaluer la CMI (concentration inhibitrice minimale) des différents extraits de la plante (huile essentielle, tanins, flavonoïdes) définie comme étant la plus petite concentration en cet extrait capable d'inhiber la croissance microbienne de 90% (donc ne laisse survivre que 10% de la population microbienne)(Zeghib, 2013).

Par ailleurs, le travail sera complété par une étude de l'activité pharmacologique des différents extraits des plantes sur des lignées cellulaires cancéreuses humaines *in vitro*. C'est une méthode largement utilisée dans les firmes biotechnologiques dans le criblage de nouveaux candidats médicamenteux. La méthode est appelée test du MTS, adaptés pour la mesure de la prolifération et de la viabilité cellulaire, en utilisant des sels de tétrazolium(Zeghib, 2013).

IV.2 Matériels et méthodes

IV.2.1 Matériels

IV.2.1.1 Souches microbiennes testées

Les souches utilisées dans ces tests font parties de trois groupes de microorganismes pathogènes et contaminants. Elles proviennent du laboratoire de contrôle microbiologique de l'unité DIMED Production, situé à Azazga, ainsi que du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO. Les souches ont été repiquées pour confirmer leur authenticité sur des milieux de cultures sélectives. Elles sont présentées dans le tableau 31

Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de conservation.

IV.2.1.2 Milieux de culture

Selon les méthodes et les souches utilisées, nous avons choisi les milieux de cultures suivants :

- Milieu de conservation
- Gélose Mueller-Hinton pour les bactéries

- Gélose Nutritive (ou GN) pour les bactéries
- Gélose Sabouraud base pour les levures
- Bouillon Nutritif.

La composition et les caractéristiques des milieux de culture sont rappelées dans l'Annexe 5

Tableau 31 : Liste des souches microbiennes utilisées

Espèce	Nom de la souche	Référence	Familles	Principales infections
Bactéries	<i>Escherichia coli</i> Gram-	ATTC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>	Infections urinaires, diarrhée, diverses infections communautaires ou nosocomiales (Zhao et al., 2018).
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Gram-	ATTC 27853	<i>Pseudomonadaceae</i>	Infections de l'œil, des plaies ; infection gastro-intestinales et des poumons (Kirkeby et al., 2017).
	<i>Listeria monocytogenes</i> Gram+	Prélèvement clinique	<i>Listeriaceae</i>	Infections éventuellement mortelles du fœtus et du nouveau-né ; accouchements prématurés (Yang et al., 2017).
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> Gram+	Prélèvement clinique	<i>Staphylococcaceae</i>	Infections cutanées, nasales et urinaires (Salgueiro et al., 2017).
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> Gram +	Prélèvement clinique	<i>Staphylococcaceae</i>	Infections du tractus urinaire principalement chez la jeune femme (Deutch et al., 2017).
	<i>Staphylococcus aureus</i> Gram+	ATTC 25923	<i>Staphylococcaceae</i>	Intoxications alimentaires pneumonies, endocardite, infections urinaires, phlébites, certains types d'entérite, méningites (Giacinti et al., 2017).
Levures	<i>Candida albicans</i>	Prélèvement clinique	<i>Saccharomycetaceae</i>	Infections fongiques (candidose) infection superficielle cutanée bronchopneumonie et/ou une pneumonie (Luo et al., 2018)
	<i>Aspergillus niger</i>	Prélèvement clinique	<i>Trichomaceae</i>	Habituellement inoffensive, elle peut être toxique et pathogène et responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme (Blumenthal et al., 2004)

IV.2.2 Méthodes

Afin d'estimer l'activité antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles extraites des plantes, nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme (El amri J. et al., 2014). Les étapes du protocole sont résumées par l'organigramme de la figure 27.

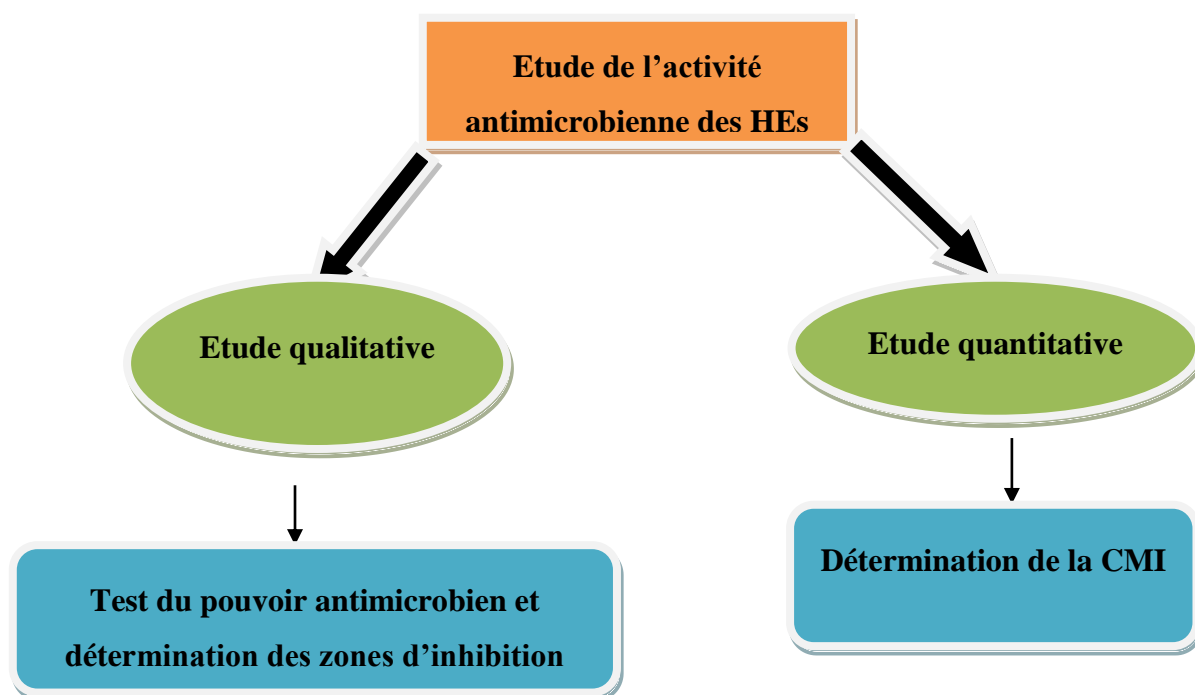


Figure 27 : Schéma méthodologique de l'étude de l'activité antimicrobienne des HEs

IV.2.2.1 Etude qualitative et détermination des zones d'inhibition

L'étude qualitative consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes en contact des huiles essentielles et ce par la méthode de l'aromatogramme (Valnet et al. 1973). La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition autour du disque (Standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS, 2005).

a. Préparation de l'inoculum

A partir de culture jeune de 18 à 24 h pour les bactéries et de 48 h pour les levures sur le milieu gélosé adéquat, des suspensions bactériennes dans l'eau physiologique à 0,9% ont été réalisées à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml. Cette dernière est obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre en mesurant la densité optique à 620 nm. Cette concentration correspond à une DO située dans l'intervalle 0,08-0,1. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (OMS, 2005).

b. Diffusion sur milieu gélosé

Le milieu Mueller-Hinton (MH) a été utilisé pour les bactéries et le M-H additionné de glucose pour les levures. En premier lieu, les deux milieux ont été fondus au bain-marie à 95°C et refroidis à 45°C. Ensuite, ils ont été versés dans des boîtes de Petri à raison de 15 ml

par boîte. Les boîtes ont été conservées à 4°C pendant 24 h (pour permettre au milieu de culture de sécher) (OMS, 2005).

L'ensemencement se fait à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier est introduit dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fortement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 60° et en pivotant l'écouvillon sur lui-même et, L'opération se termine en retournant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (OMS, 2005).

A l'aide d'une pince stérile, des disques en papier buvard stériles sont prélevés, imbibés d'huile essentielle et déposés sur les boîtes de Petri préalablement ensemencées. Après 20 mn, les boîtes de Petri sont incubées pendant 24 h à l'étuve réglée à 25°C pour les levures et à 37°C pour les bactéries. Un disque de papier buvard stériles a été utilisé comme témoins négatif.

La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition et calcul du pourcentage d'inhibition, selon la formule suivante (Hadeef et *al.* 2004 ; Rota et *al.*, 2018) :

$$\% \text{ Inhibition} = \left(\frac{D_{\text{test}}}{D_{\text{boîtesdepétris}}} \right) \times 100 \quad (14)$$

D_{test} : Diamètre de la zone d'inhibition.

$D_{\text{boîtesdepétris}}$: Diamètre de la boîte de Petri.

IV.2.2.2 Evaluation de la CMI : Etude quantitative

a- Préparation de l'inoculum

On prépare les suspensions de la même façon que celle décrite dans l'aromatogramme (Hadeef et *al.*, 2004). Dans des tubes stériles, on dilue l'HE dans le milieu M-H ou SAB additionné de Tween 80 (0,01 v/v) et maintenu en surfusion, de façon à obtenir des concentrations finales correspondantes à 1%, 0,5%, 0,2%, 0,1%, 0,05%, 0,03%, 0,02%.

Les mélanges de chaque dilution sont immédiatement versés dans les boîtes Petri à raison de 15 ml pour chaque boîte, qu'on laisse solidifier sur la paillasse.

A l'aide d'une pince stérile, des disques stériles sont déposés, imbibés de la suspension bactérienne ou fongique sur les boîtes correspondantes. Ces dernières sont incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les levures.

La lecture des résultats se fait par observation de la croissance ou de l'inhibition des microorganismes testés. La CMI est définie comme étant la plus petite concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu.

b- Détermination de la nature de l'activité antimicrobienne des HEs

Le principe consiste à déterminer si l'activité antimicrobienne des HEs est bactéricide ou bactériostatique (pour les bactéries), et fongicide ou fongistatique (pour champignons).

La méthode suivie est celle décrite par Kouamé-Bi *et al.* (2012). Elle consiste à transférer les disques des boîtes ne présentant pas de croissance microbienne, vers les boîtes de M-H (nature) pour une incubation de 24 h pour les bactéries et de 48 h pour les levures.

La lecture se fait en calculant le rapport CMB /CMI et CMF /CMI tel que:

- CMB/CMI ou CMF/CMI < 4 l'activité est bactéricide ou fongicide.
- CMB/CMI ou CMF/CMI \geq 4 l'activité est bactériostatique ou fongistatique.

IV.2.2.3 Etude de la viabilité cellulaire : Test MTS

a- Principe

La prolifération des cellules est évaluée en se basant sur une méthode colorimétrique développée par Promega, Le CellTiter96**A*queous (One Solution Cell Proliferation Assay). La méthode consiste en la réduction d'un solvant appelé le MTS (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-(3-carboxymethoxyphényl)-2-(4-sulfophényl)-2H-tétrazolium) qui est coloré par la NADPH ou la NADH déshydrogénase des cellules métaboliquement actives. La quantité de formazan produite est déduite par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 490 nm. Elle est directement proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Dans ce test, il est nécessaire de définir le nombre de cellules à ensemercer en fonction du type cellulaire. Dans notre étude, nous avons utilisé la lignée cellulaire HT 29, dont le nombre par puits est de 3000 cellules.

b- Mode opératoire

Le test MTS a été effectué au niveau du laboratoire du LIRIC (*Lille Inflammation Research International Center* / Université de Lille). Trois phases sont distinguées :

- Ensemencement des cellules pendant 24 h dans 100 μ l de milieu de culture de façon à stabiliser la population avant l'introduction des composés à tester.
- Ajout du composé à tester à une concentration définie (screening) ou réalisation d'une gamme de concentration (établissement d'une courbe de type effet-dose). Dans notre étude les composés sont ajoutés à une concentration de 25 μ g/ml. Pour une densité de 3000 cellules/puits. La durée de l'exposition étant de 72 h.

- Les mesures de viabilité ou de cytotoxicité des cellules sont déterminées à la fin de la période d'exposition (MTS ou resazurine). Dans le cas où il y'a un effet anti prolifération, on évalue *in vitro* la concentration inhibitrice 50 (CI50) du composé testé.

L'analyse des données consiste en la détermination du pourcentage de viabilité cellulaire ou du CI50 par rapport à un blanc. Le rapport est déterminé par la formule suivante :

$$R \% = \frac{\text{absorbance des cellules traitées}}{\text{absorbance des cellules contrôles}} \times 100 \quad (15)$$

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques Power wave XS (Biotek) à 490 nm. Le schéma général du test MTS est représenté sur la figure 28.

IV.3 Résultats et discussion

L'étude de l'activité antimicrobienne a été effectuée sur l'huile essentielle de *Thymus numidicus* et d'*Origanum glandulosum* récoltés en Mai 2013 dans la région de Tifrit, ainsi que sur *Lavandula stoechas* récoltée en Mai 2016 dans les régions de Tikobaine et Béni Douala.

IV.3.1 Evaluation du pouvoir antimicrobien des l'HEs de *T. numidicus*

a- Activité antibactérienne

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des HEs a été faite par la méthode de l'aromatogramme. Cette méthode consiste en la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Les résultats sont présentés sur la figure 30 et résumés dans le tableau 32.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *T.numidicus* montrent que cette dernière possède un effet inhibiteur très intéressant sur toutes les souches testées. Cet effet est représenté par une forte activité contre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*, avec des diamètres d'inhibition de 56, 64, 50, 33 et 33 mm respectivement. En revanche, *Pseudomonas aeruginosaa* montré une résistance plus importante et se distingue avec un diamètre faible de 18 mm. Une bonne activité est témoignée contre les levures par rapport aux bactéries. En effet, nous avons enregistré une activité fortement inhibitrice sur la croissance

de la souche fongique testée (*Candida albicans*) représentée par un grand diamètre de la zone d'inhibition atteignant 86 mm.

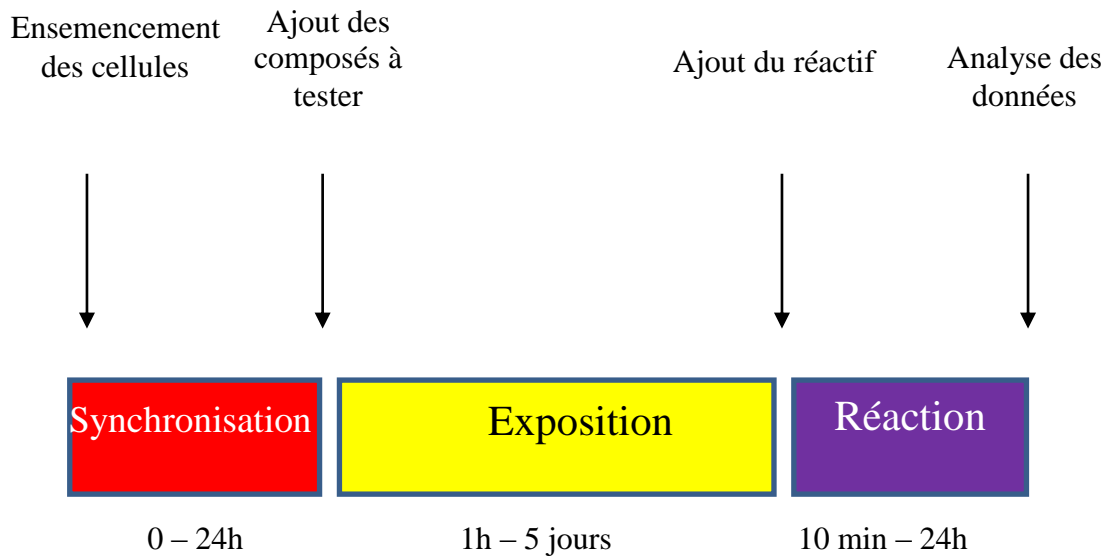


Figure 28 : Organigramme du déroulement d'un test de viabilité cellulaire

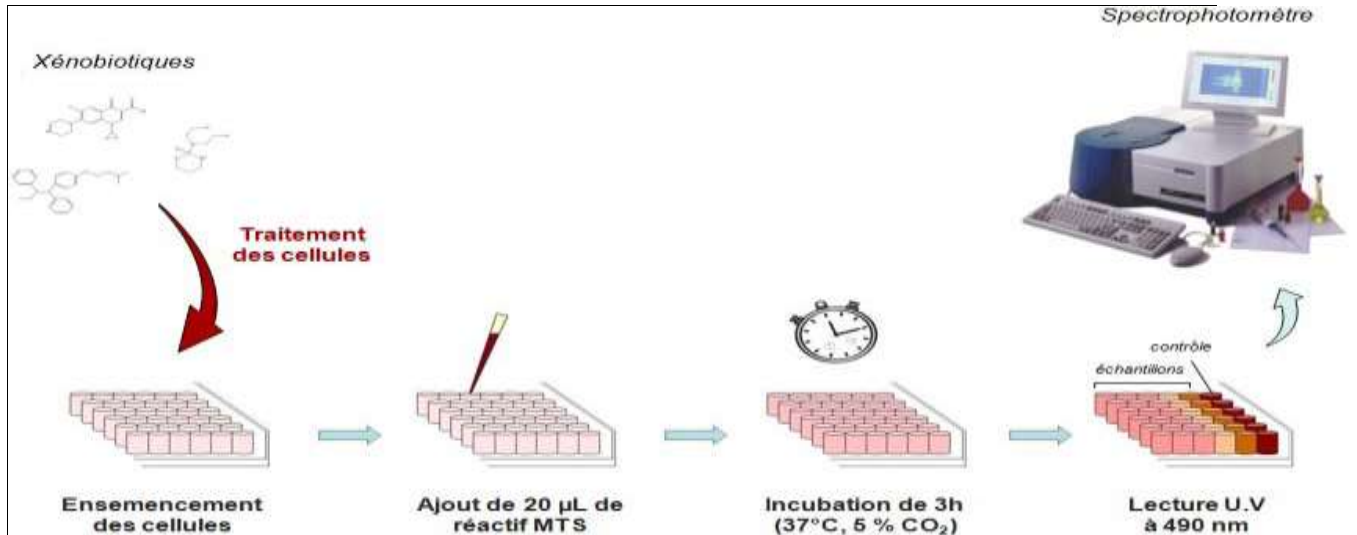


Figure 29 : Etapes du test MTS

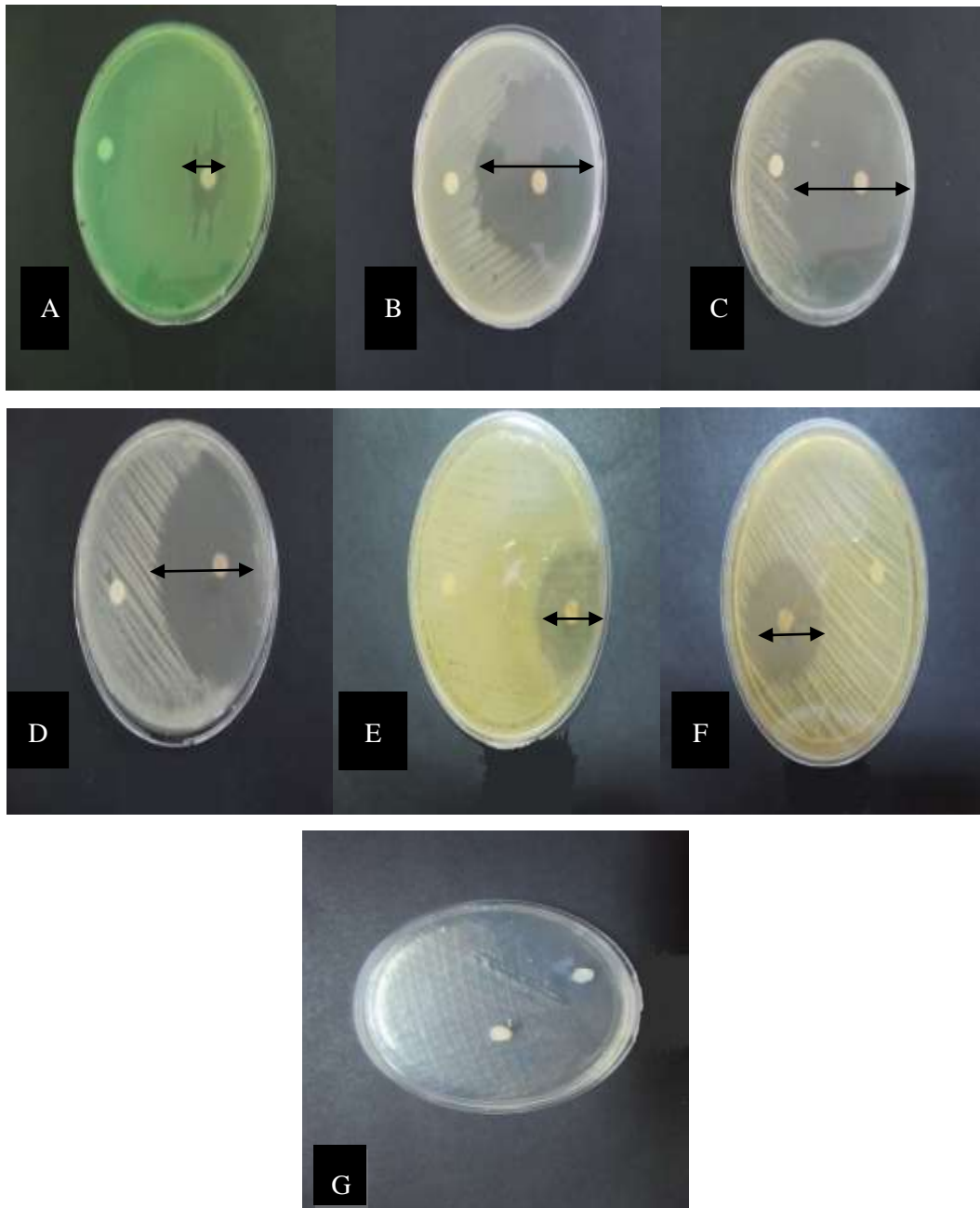


Figure 30 : Zone d'inhibition des différentes souches bactériennes par l'HE de *Thymus numidicus* : A: *Pseudomonas aeruginosa*, B: *Escherichia coli*, C: *Listeria monocytogenes*, D: *Staphylococcus aureus*, E : *Staphylococcus saprophyticus*, F: *Staphylococcus epidermidis*, G : *Candida albicans*.

Tableau 32- Valeurs du diamètre des zones d'inhibition (D en mm) et du taux d'inhibition (I%) des souches bactériennes par l'HE de *Thymus numidicus*

		D (mm)	I%	Sensibilité
Souches Espèces	<i>Listeria monocytogenes</i>	64	71	Extrêmement sensible (+++)
Bactérie Gram(+)	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	33	37	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33	37	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	50	55	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	20	Très sensible (++)
Bactéries Gram(-)	<i>Escherichia coli</i>	56	62	Extrêmement sensible (+++)
Levure	<i>Candida albicans</i>	86	96	Extrêmement sensible (+++)

b- Evaluation de la CMI

Après avoir adopté la technique de micro dilution en milieu liquide, nous avons obtenu les résultats regroupés dans le tableau 33 pour l'huile essentielle de *Thymus numidicus*.

L'analyse des résultats relatifs à la croissance des souches microbiennes soumises à l'action des différentes concentrations en HE de thym montre que les souches *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* (Gram⁺) étaient les plus sensibles, avec une CMI de 0.44 mg/ml, suivi des souches (*Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus saprophyticus*) avec une valeur de CMI de 0.89 mg/ml chacune.

La croissance des bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus epidermidis* est inhibée à partir d'une concentration de 0.78 mg/ml. Alors que *Pseudomonas aeruginosa*, qui s'est avérée plus résistante lors de l'activité antimicrobienne précédente possède une CMI plus importante de l'ordre de 2,67 mg/ml.

Tableau 33 : Résultats de la CMI pour l'huile essentielle de *Thymus numidicus*

Dilutions (%)		1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	T
Souches / C dans l'HEs (mg/ml)		8,91	4,45	2,67	1,78	0,89	0,44	0,27	0,21	0
Bactéries Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Bactéries Gram(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Champignon	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+

(+) : présence de germe ; (-) : absence de germe ; T : témoin

c- Nature de l'activité antimicrobienne

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'une huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'huile est considérée comme bactéricide (Kouamé-Bi., 2012). Les résultats obtenus permettent de constater que l'HE est bactéricide sur toutes les souches bactériennes étudiées et fongicide sur *C. albicans* (Tableau 34).

En comparant nos résultats regroupés dans le tableau 34 à ceux de Hadeff et al., (2004), nous constatons que *T. numidicus* de Tifrit montre une activité fongique 10 fois plus importante que *T. numidicus* de Berrahal, dont la CMI est de 13,6 µl/ml, malgré la forte teneur en thymol de son huile essentielle. Ce constat confirme ce qui a été rapporté par ces auteurs concernant l'huile essentielle de *T. numidicus* de Berrahal: " hormis le thymol d'autres constituants pourraient intervenir dans le pouvoir antifongique".

Ainsi, des études ont démontré que l'ensemble des huiles essentielles sont d'autant plus actives que leurs composés majoritaires sont élevés. Néanmoins, les constituants mineurs jouent un rôle très important sur l'activité antibactérienne (Adrar et al., 2016). Ce qui peut s'expliquer par la synergie qui existe entre les différents constituants.

Par ailleurs, il a été rapporté que les huiles essentielles contenant des terpènes phénoliques (tels que le citral, carvacrol, eugénol, thymol), comme composés majoritaires, expriment une très forte activité antimicrobienne comparativement à celles contenant des terpènes alcool (El-Housseiny et *al.*, 2014).

Rappelons que les huiles essentielles de *T. numidicus* de notre étude montrent une teneur élevée en thymol (45,57%), carvacrol (11,44%), thymol méthyle éthyle (10,97%), suivi de P-cymene (13,90%) et de linalol (6,75%). Ceci peut expliquer le large spectre bactéricide et fongicide observé lors de cette étude.

Tableau 34 : Nature de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Thymus numidicus*

	Souches	CMB/CMI	Interprétation
Bactéries Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	1	Bactéricide
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	Bactéricide
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,25	Bactéricide
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	Bactéricide
Gram(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	Bactéricide
	<i>Escherichia coli</i>	1	Bactéricide
Champignons	<i>Candida albicans</i>	1	Fongicide

IV.3.2 Evaluation du pouvoir antimicrobien de l'HE de l'*Origanum glandulosum*

a- Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*O. glandulosum* a été effectuée sur des échantillons récoltés en Mai 2013 à Tamgout. Les résultats sont présentés sur la figure 31 et le tableau 35.

Ces résultats montrent que l'huile essentielle de l'origanète moigne d'une importante activité antibactérienne contre les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition de 55, 52, 36, 43 et 64 mm respectivement. Ainsi qu'une activité antifongique contre la souche *Candida albicans*, qui présente la plus forte sensibilité avec un

diamètre de 86 mm. Par ailleurs, les résultats révèlent que *Pseudomonas aeruginosa* est moins sensible que les autres, avec un diamètre d'inhibition de 17 mm.

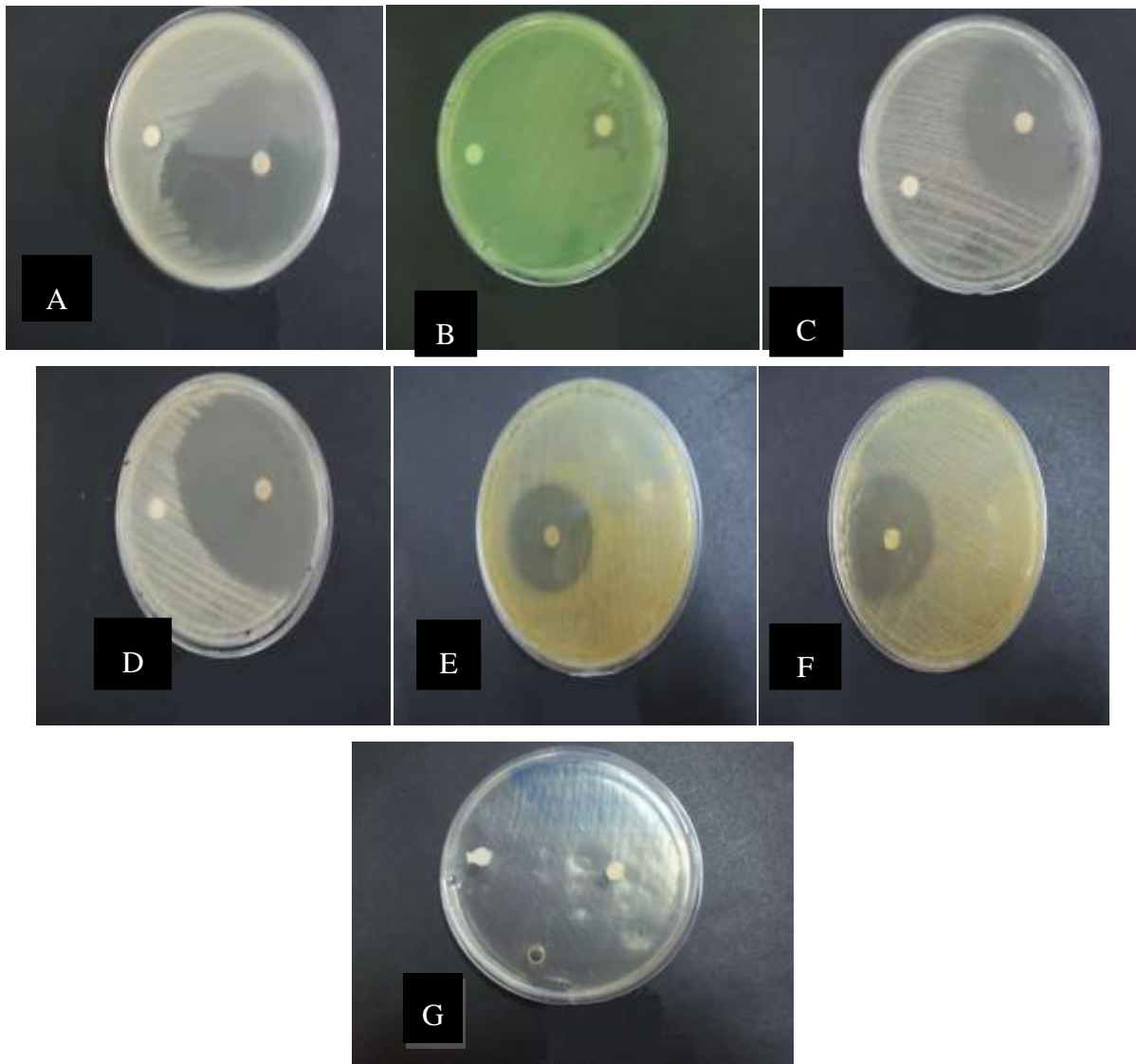


Figure 31- Zone d'inhibition de différentes souches bactériennes par l'HE de l'*Origanum glandulosum*. A: *Escherichia coli*, B: *Pseudomonas aeruginosa*, C: *Listeria monocytogenes*, D: *Staphylococcus aureus*, E : *Staphylococcus saprophyticus*, F: *Staphylococcus epidermidis*

Tableau 35 : Valeur des diamètres de la zone d'inhibition et du taux (%) d'inhibition des souches bactériennes et fongiques (en mm) par l'HE de *O. glandulosum*

	Souches	D (mm)	I%	Sensibilité
Bactéries Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	52	58	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	36	40	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	43	48	Extrêmement sensible (+++)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	55	61	Extrêmement sensible (+++)
Bactéries Gram(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	19	Très sensible (++)
	<i>Escherichia coli</i>	64	71	Extrêmement sensible (+++)
Levure	<i>Candida albicans</i>	88	98	Extrêmement sensible (+++)

a- Evaluation de la CMI

Les résultats de l'évaluation de la CMI sur les différentes souches testées sont regroupés dans le tableau 36.

Tableau 36 : Résultats de la CMI pour l'HE d'*Origanum glandulosum*

Dilution % (ml/ml)	1	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05	0,03	0,02	T	
Souches/ [HE] (mg/ml)	9,1	4,55	2,73	1,81	0,91	0,45	0,273	0,182	0	
Bactéries Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-		+	+	+	+	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Bactéries Gram(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	
Levure	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+

(+) : présence de germe (-) : absence de germe ; T : témoin

L'huile essentielle de l'origan inhibe la croissance de toutes les souches bactériennes et fongiques utilisées dans cette étude. Les concentrations minimales de l'huile essentielle sur les différentes souches testées sont comprises entre 0.45 et 1,81 mg/ml.

Les souches les plus sensibles sont la levure *Candida albicans* et les bactéries à Gram positif (*Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*) avec une CMI de 0.45 mg/ml, suivi de *Staphylococcus epidermidis* (Gram+), avec 0.91 mg/ml. Tandis que la croissance des bactéries *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* est inhibée à une concentration supérieure ou égale à 1.81 mg/ml.

b- Nature de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'étude de la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* montrent une activité bactéricide sur les souches bactériennes et fongicide sur le *C. albicans* (tableau 37).

Tableau 37 : Nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*Origanum glandulosum*

Souches	CMB/CMI	Interprétation	
Bactéries Gram(+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	2	Bactéricide
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,25	Bactéricide
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.49	Bactéricide
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	Bactéricide
Bactéries Gram(-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	Bactéricide
	<i>Escherichia coli</i>	1	Bactéricide
Levure	<i>Candida albicans</i>	1	Fongicide

L'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* a manifesté une meilleure activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées. En effet, la comparaison de nos résultats à ceux des travaux de Bekhechi et al. (2008), a révélé une CMI bien inférieure à nos résultats sur les souches de *Listeria* et *S. aureus*, qui sont respectivement de 1,6 mg/ml et de 0,5 mg/ml, et supérieurs à la CMI trouvée pour les souches de *E. coli* et *P. aeruginosa*. Par ailleurs les résultats des travaux de (Bouhaddouda, 2015) ont révélé une CMI bien inférieure à nos résultats pour *P. aerogenose* et *S. aureus* avec les valeurs respectives de 6,25 mg/ml et 0,78

mg/ml. Par contre *E.coli* est moins résistante à leur huile essentielle avec une valeur de la CMI de 0,78.

Le spectre bactéricide des huiles essentielles de notre étude est largement supérieur à ceux de Bendahlou et *al.* (2008), dont les zones d'inhibitions sont de 23 mm pour *S. aureus*, de 18 mm pour *L. monocytogenes*, de 19-24 mm pour *E. coli*, de 7 mm pour *P. aeruginosa* de 16 à 23 mm et de 34 mm pour *C. albicans*. Cette différence peut être expliquée par la diversité de la composition chimique des huiles essentielles. En effet, notre huile essentielle est plus riche en composés phénoliques, avec des teneurs de 24,67% en carvacrol, 36,34% en thymol et 3,86% en linalol. Ceci diffère de la composition chimique des huiles essentielles étudiées par Bendahlou et *al.* (2008) qui est de 41,6% en thymol, 2,2% en carvacrol et 0,7% en linalol. De même pour la composition des huiles essentielles utilisées par Bouhaddouda, (2015) qui sont de chémotype Para-cymène (25,61%), thymol (23,12%) et carvacrol (20,32%).

Les propriétés antimicrobiennes d'une huile essentielle ont été attribuées à la présence des composés phénoliques, qui rendent la membrane cellulaire perméable et plus active vis-à-vis des bactéries à Gram+ que celles à Gram-. Il s'avère que les bactéries à Gram - sont moins sensibles à l'action des huiles essentielles, car elles possèdent une paroi externe qui limite la diffusion de composés hydrophobes à travers son revêtement de liposaccharide (Sari et *al.*, 2006).

IV.3.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *L. stoechas* a été menée sur les plantes récoltées fin Mai 2016 dans les localités de Tikobaine et Béni Douala. Les résultats de cette étude sont regroupés dans le tableau 38.

Les résultats présentés dans le tableau 38 montrent que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* de la région de Tikobaine est la plus active sur toutes les souches bactériennes utilisées par rapport à celle de Béni Douala. Les souches manifestent des comportements différents avec des diamètres de zone d'inhibition compris entre (26 à 70) et (25 à 40) mm. Notre huile essentielle possède donc un large spectre d'activité antimicrobienne sur les bactéries à Gram+ et Gram-, ainsi que sur le champignon *A. niger* (Figures 32 et 33).

Tableau 38: Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des feuilles de *L. stoechas* recueillies en fin Mai 2016

Souches / Localités		D (mm)		
		Tikobaine	Béni Douala	Sensibilité
Bactérie Gram+	<i>S. aureus</i>	60 mm	40 mm	Très fortement inhibitrice +++
Bactéries Gram -	<i>E. coli</i>	58 mm	38 mm	Très fortement inhibitrice +++
	<i>P. aeruginosa</i>	10 mm	7 mm	Non inhibitrice
Champignon	<i>A. niger</i>	26 mm	25 mm	Modérément inhibitrice

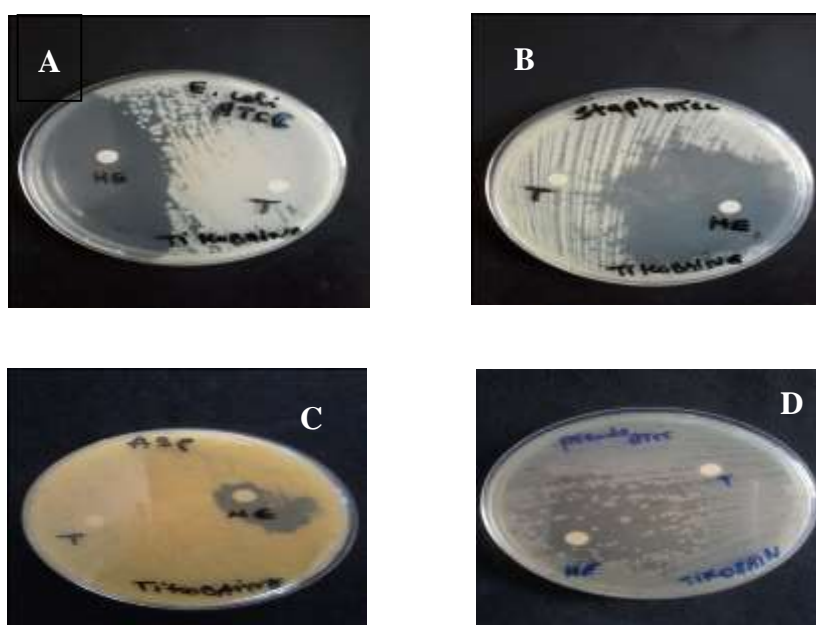


Figure 32- Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Tikobaine sur A : *E. coli*, B : *S. aureus*, C : *A. niger*, D : *P. aeruginosa*

Rappelons que les huiles essentielles de *L. stoechas* extraites des feuilles récoltées à Tikobaine sont plus riches en fenchone et en camphre par rapport à celles de Beni Douala laquelle est plus riche en bornyl acétate et en mertenyl acétate. La corrélation entre les résultats de la composition chimique des huiles essentielles illustrés dans le Chapitre 1 et ceux de leur activité antimicrobienne, permet de conclure que le pouvoir antimicrobien des HES de *L. stoechas* est due à la prédominance des monoterpènes oxygénés, notamment les cétones représentées par le camphre et le fenchone.

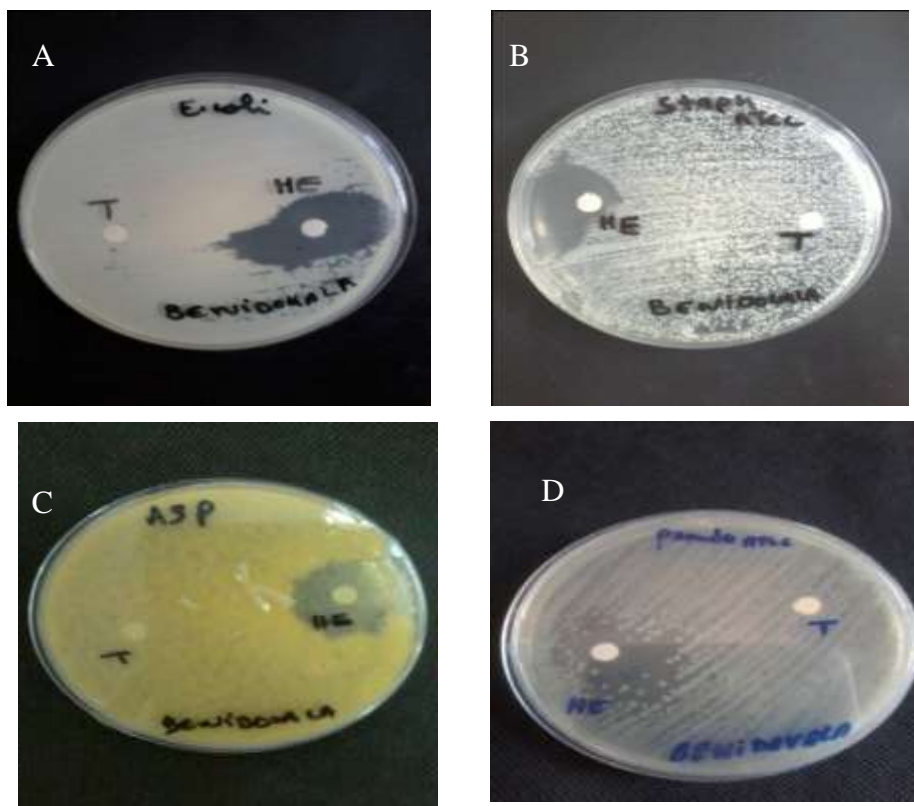


Figure 33 : Activité antibactérienne et antifongique de l'HE de la région de Beni doualaser sur A : *E.coli* , :*S.aureus*, C *A.niger*, D:*P.Aeruginosa*

Par ailleurs, notre huile essentielle présente une forte activité antimicrobienne comparativement à celle de *Lavandula stoechas* récoltée au nord du Maroc en Juin 2009 (Charrat *et al.*, 2014). En effet, les diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* et *E. coli* sont respectivement 28 cm et 16,2 cm, lesquels sont largement au-dessus des diamètres de notre étude pour les mêmes bactéries. La différence est aussi constatée dans la composition de l'huile essentielle, dont les composés majoritaires sont le pulegon (33%) et le terpenyl acétate (24,9%).

Il semble que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est attribuée à la configuration structurale de leurs constituants et leurs groupes fonctionnels et les interactions synergiques entre les composants majoritaires et même mineurs (Charat *et al.*, 2014).

III-2-4 Détermination de la CMI

Les résultats de l'activité antimicrobienne selon la méthode de contact direct sont consignés dans le tableau 39 et présentés sur la figure 34.

Benabdelkader et *al.*, (2011) considèrent comme forte l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *L. stoechas*, lorsque les valeurs de CMI sont comprises entre 0.05 mg/ml et 0.50 mg/ml, modérée entre 0,6 et 1,5 mg/ml, et faible quand elles sont supérieures à 1,5 mg/ml.

Tableau 39 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Tikobaine

Dilution%		1	0.5	0.2	0.1	0.05	0.03	0.02	T
[HE] dans le milieu (mg/ml)		8.74	4.37	1.75	0.87	0.44	0.26	0.17	0
Bactéries Gram +	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
Bactéries Gram -	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
Champignon	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	+	+	+	+

(-): absence de croissance ; (+): présence de croissance

Les résultats de la CMI présentés sur la figure 34 montrent que l'huile essentielles de *L. stoechas* de de Tikobaine s'avère active sur les souches étudiées, même à de très faibles concentrations pour certaines, malgré l'ajout du Tween 80 qui abaisse considérablement l'activité antimicrobienne (Bekhechi et *al.*, 2008). *Escherichia coli* manifeste moins de résistance, car il s'est inhibé à une concentration minimale de 0,05%. Tandis que *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *A. niger* sont plus résistants avec une inhibition à partir de 0.1%.

Les subcultures réalisées suite à l'obtention des CMI ont permis d'observer les concentrations minimales bactéricides (CMB) sur les trois bactéries et les concentrations minimales fongicides (CMF) sur le champignon et calculer le rapport CMB/CMI permettant de savoir si la substance est bactéricide ou fongicide.

Les résultats rassemblés dans le tableau 40 permettent de confirmer que l'huile essentielle de *Lauvandula stoechas* a un pouvoir bactéricide et fongicide sur les bactéries et le champignon étudiés.








			
AAM de l'HE à 0,5% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>	AAM de l'HE à 0,2% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>	AAM de l'HE à 0,1% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>	AAM de l'HE à 0,05% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>
			
AAM de l'HE à 0,03% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>	AAM de l'HE à 0,02% sur <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>E. coli</i>	AAM de l'HE à 0,03% sur <i>A. niger</i>	

Figure 34 : Activité antimicrobienne (AAM) de l'HE de *L.stoechas* de Tikobaine

III-2- 5 Nature de l'activité antimicrobienne

Les subcultures réalisées suite à l'obtention des CMI ont permis d'observer les concentrations minimales bactéricides (CMB) sur les trois bactéries et les concentrations minimales fongicides (CMF) sur le champignon et calculer le rapport CMB/CMI permettant de savoir si la substance est bactéricide ou fongicide.

Les résultats rassemblés dans le tableau 40 permettent de confirmer que l'huile essentielle de *Lauvandula stoechas* a un pouvoir bactéricide et fongicide sur les bactéries et le champignon étudiés

Tableau 40 : Rapport CMB/CMI et CMF/ CMI

Souches	CMB/CMI CMF/CMI	Interprétation
<i>E. coli</i>	1	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i>	1	Bactéricide
<i>S. aureus</i>	1	Bactéricide
<i>A. niger</i>	1	Fongicide

IV.3.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne des tanins extraits de *L. stoechas*

L'évaluation du pouvoir antibactérien des tanins a été effectuée sur *L. stoechas* récoltée en 2016 dans les localités de Tikobaine et Béni Douala.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 41 et représentés sur les figures 35 et 36

Tableau 41- Valeurs des diamètres zone d'inhibition des extraits de tanins à différentes concentrations

Souches		Diamètre (mm)									
		1g/l		5g/l		10g/l		15g/l		20g/l	
		BD	TK	BD	TK	BD	TK	BD	TK	BD	TK
Gram +	<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E. coli</i>	7	7	9	10	11	9	11	10	12	13
Gram -	<i>P. aeruginosa</i>	0	7	0	7	9	8	0	0	0	0
Champignon	<i>A. niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Au regard des résultats rassemblés dans le tableau 41 et présentés sur les figure 35 et 36 nous constatons que les tanins de *L. stoechas* inhibent la croissance d'une seule bactérie à Gram- qui est l'*E. coli*. Le plus grand diamètre obtenu est de 13 mm pour une concentration de 20 g/l. Les tanins extraits de *Lavandula stoechas* des deux régions possèdent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram-, mais pas sur celles à Gram+. De plus, ils ne manifestent aucune activité sur le champignon.

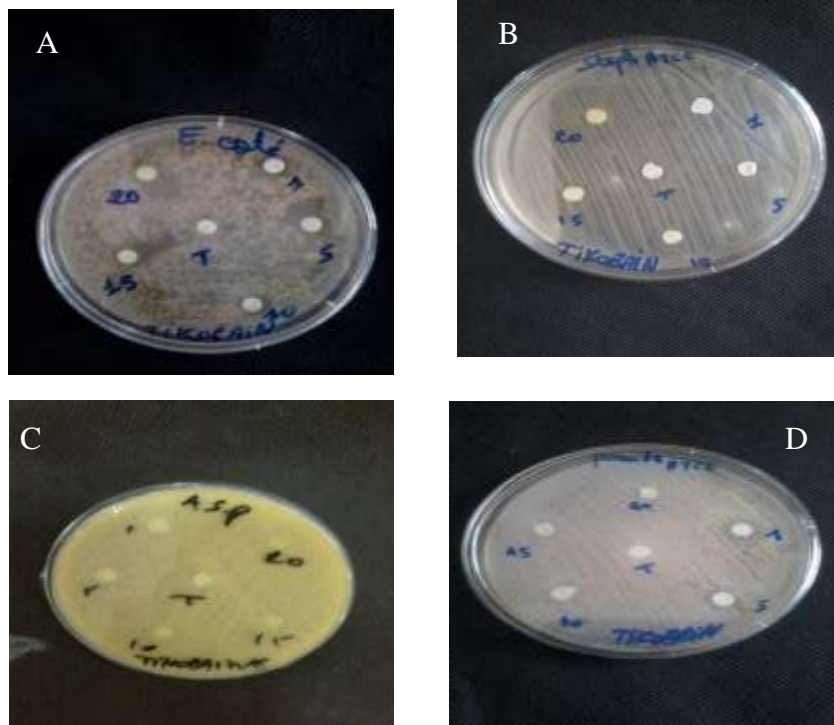


Figure 35 : Activité antibactérienne et antifongique des extraits de tanin de la région de Tikobainesur A : *E. coli*, B : *S. aureus*, C : *A. niger*, D : *P. aeruginosa*

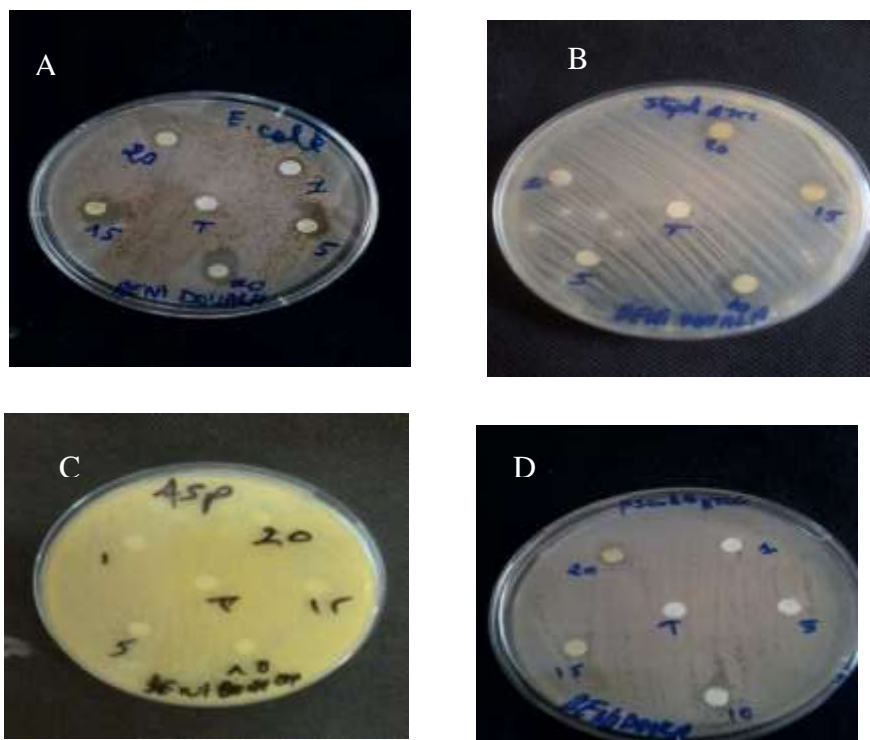


Figure 36 Activité antibactérienne et antifongique des extraits detanins de la région de Beni Doualassur A : *E. coli*, B : *S. aureus*, C : *A. niger*, D : *P. aeruginosa*

Les extraits de tanins présentent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram- que celles à Gram+. Ceci grâce à leurs capacités de fixation sur la membrane des bactéries à Gram- qui sont riches en lipo-polysaccharides. En effet, les tanins peuvent induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane des bactéries à Gram- et y causer ainsi des lésions irréversibles qui joue un rôle fondamental dans la vie des bactéries (Rhayour et *al.*, 2003).

Quant à la forte résistance des bactéries Gram- observée durant nos études, indépendamment de l'agent bactéricide utilisé, elle peut être liée à la nature des membranes externes, qui sont imperméables aux agents bactéricides (Bouزيد et *al.*, 2010).

IV.3.5 Résultats du test MTS

Le test MTS réalisé sur des cellules de type HT29 a été effectué sur les huiles essentielles de *T. numidicus*, *O. glandulosum*, récoltées en Mai 2013, 2014 et 2015 au niveau de Tifrit et de Tamgout, sur les extraits de flavonoïdes et tanins des feuilles de thym, de l'origan, ainsi que des feuilles et des sommités fleuries de lavande récolté à Beni Douala, et Tikobaine début et fin Mai 2016.

Les résultats obtenus pour une concentration des extraits de 25 µg/mL sur la lignée HT29 (3000 cellules/puits) n'ont révélé aucune inhibition. En effet, les extraits à cette concentration ne présentent aucun pouvoir cytotoxique sur les cellules cancéreuses du colon.

Toutefois, ces résultats montrent que nos extraits n'induisent pas de toxicité sur les cellules du colon, lorsqu'ils sont administrés comme antibactériens ou antifongiques.

Nos résultats diffèrent de ceux avancés dans la littérature concernant l'activité antiproliférative des huiles essentielles de l'*Origanum*. Ainsi, Oke Altuntasi et *al.* (2017) ont révélé dans leur étude que les huiles essentielles de l'*O. acutidens* ont une activité antiproliférative contre les cellules HT 29 à une concentration de 50 µg/ml ($2,4 \cdot 10^4$ cellules /puits). Cette activité est due probablement à la composition chimique des huiles essentielles de l'*O. actidens* contenant du carvacrol à 61,69 %.

Par ailleurs, Mehdi et *al.* (2011) ont démontré l'effet anticancéreux du carvacrol avec une IC₅₀ de 50 mg/ml à 48 h en induisant l'inhibition de la viabilité des cellules cervicales humaines en utilisant le test du MTS.

Chapitre V
Impact environnemental

V- Impact environnemental

V.1 Introduction

L'objectif de ce chapitre est la valorisation des résidus de l'extraction des Huiles essentielles des feuilles de Thym et Origan étudiées pour la dépollution de solutions aqueuses contenant un polluant organique.

Ainsi les résidus des feuilles du *Thymus numidicus* et d'*Origanum glandilosum* ont été utilisés pour évaluer leur efficacité dans la dépollution de solutions aqueuses de bleu de méthylène. Ces biosorbants seront utilisés tels quel sans prétraitement chimique préalable.

V.2 Matériels et méthodes

V.2.1 Préparation des biosorbants

Les résidus des poudres de feuilles épuisées ont été lavées abondamment à l'eau distillée jusqu'à stabilisation de la valeur du pH des solutions de lavage. Elles ont été séchées à 105 °C jusqu'à masse constante et tamisées par la suite.

Le tamisage a été effectué sur une série de tamis d'ouvertures successives 315µm ; 500µm et 1000µm.

Pour le cas de nos expériences, nous avons considéré les fractions de poudres retenues entre les tamis d'ouverture 315 – 500µm et 500–1000µm. Notées respectivement fraction 1 et fraction 2.

Fraction 1 : Diamètre moyen équivalent à 407,5 µm

Fraction 2 : Diamètre moyen équivalent à 750,0 µm

V.2.2 Présentation du polluant

Le choix du polluant a porté sur le bleu de méthylène, colorant utilisé dans l'industrie du textile et les laboratoires de contrôle qualité pharmaceutique.

Le bleu de méthylène est un colorant organique cationique de la famille des xanthine de formule brute $C_{16}H_{18}ClN_3S$ et de masse molaire 319,85 g/mol (Bandara et al., 1999). Sa formule développée est présentée sur la figure 40. Sa longueur d'onde maximale d'absorption en UV/Visible est de 665 nm. Le bleu de méthylène utilisé dans nos expériences d'adsorption est produit par Riedel-dehaen®.

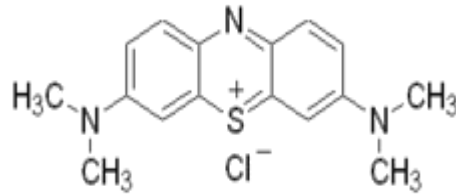


Figure 37 : Formule développée du bleu de méthylène

V.2.3 Expériences d'adsorption

Les expériences d'adsorption sont conduites en mode batch. Le principe de la méthode consiste à mettre en contact une masse de biosorbant avec une solution de concentration connue du polluant dans un bécher sous agitation magnétique constante et pendant une durée déterminée.

A la fin de la durée de contact requise, le mélange est filtré et la solution est dosée par UV/Visible à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre de marque SHIMADZU. Une courbe d'étalonnage a été établie afin d'exprimer les concentrations résiduelles en bleu de méthylène après contact avec les biosorbants. Ainsi une gamme de concentration étalon en bleu de méthylène a été préparée allant de 0,2 à 12 mg/l.

Au préalable une optimisation des paramètres tels que le temps de contact, le pH initial de la solution, la concentration initiale du polluant, l'agitation magnétique (nombre de tours/minute) ainsi que la masse du biosorbant a été effectuée afin d'évaluer sa capacité maximale d'adsorption du bleu de méthylène.

V.2.3.1 Etude de la cinétique d'adsorption

Un gramme de poudre de biosorbant (résidu des feuilles séchées et broyée) a été mis en suspension dans 100 ml de solution de bleu de méthylène de concentration C_0 ; Le pH du mélange est de 6,35. La suspension est agitée pendant des durées t déterminées (0 à 120) sous agitation constante (300 tours/minutes).

Au temps t écoulé, le mélange est filtré et la solution résiduelle est dosée par UV/Visible à 660nm.

La quantité q_t de bleu méthylène retenue au bout du temps t par la masse m de biosorbant est évaluée à l'aide de l'équation suivante :

$$q_t = \frac{(C_0 - C_r)}{m} \cdot V \quad (16)$$

C_0 : Concentration initiale de la solution de bleu de méthylène (mg/l)

C_r : Concentration résiduelle en bleu de méthylène au temps t (mg/l)

m : Masse de biosorbant

V : Volume de la solution de bleu de méthylène

Le tracé de "qt" en fonction du temps "t" détermine la cinétique d'adsorption. La quantité de bleu de méthylène retenue par le biosorbant peut aussi être exprimée par un pourcentage de rétention. Ce pourcentage est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ de rétention} = \frac{C_0 - C_r}{C_0} \times 100\% \quad (17)$$

V.2.3.2 Optimisation du pH de la solution

Le pH de la solution initiale est fixé par ajout d'une solution d'acide ou de base. Les valeurs du pH étudiées varient de 2 à 10 (T=25°C).

V.2.3.3 Effet de la concentration initiale en bleu de méthylène

L'étude de l'influence de la concentration initiale en bleu de méthylène sur la quantité adsorbée par gramme d'adsorbant a été effectuée à 25°C, pour un pH initiale de 6,35 et un rapport adsorbant/adsorbat égal à 10mg/L. La concentration initiale de la solution de bleu de méthylène varie de 5 à 12 mg/L. La vitesse d'agitation est fixée à 200 tr/min.

V.2.3.4 Effet de la quantité en biosorbant

L'étude de l'influence de la quantité du biosorbant sur celle de bleu de méthylène adsorbée a été effectuée en faisant varier la quantité d'adsorbant pour un volume V constant de la solution d'adsorbat présent à raison de 10 ppm. Les rapports adsorbant/adsorbat étudiés variaient ainsi de 2 à 25 g/l.

V.2.3.5 Etablissement des isothermes d'adsorption

Pour l'évaluation de la quantité de bleu de méthylène adsorbée par gramme de biosorbant à l'équilibre q_e nous nous sommes basé sur l'équation (1) du chapitre 1 :

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \cdot V \quad (18)$$

C_0 : Concentration initiale de la solution de bleu de méthylène (mg/l)

C_e : Concentration en bleu de méthylène à l'équilibre (mg/l)

m : Masse de biosorbant (g)

V : Volume de la solution de bleu de méthylène (ml)

Le tracé de q_e en fonction de C_e détermine l'isotherme pour une température donnée.

V.3 Résultats et discussion

Au préalable, nous avons établie des courbes d'étalonnage obtenues à partir des solutions diluées (Annexe 7), et effectué le test de stabilité des solutions de BM dans le temps

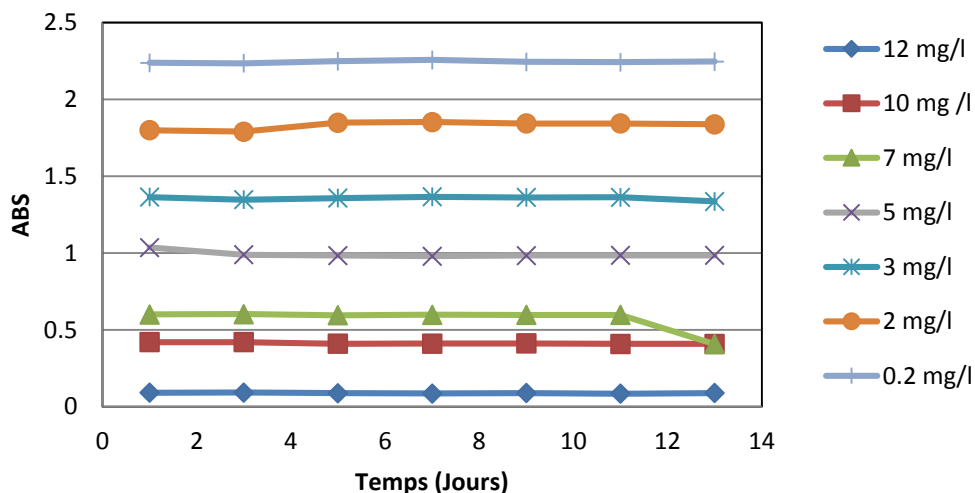


Figure 38 : Tests de stabilité dans le temps des solutions de BM diluées

Les résultats de la figure 38 montrent que les solutions de BM sont bien stables dans le temps. Par ailleurs la courbe d'étalonnage montre que la linéarité de lois de Beer-Lambert est bien vérifiée pour une concentration initiale ne dépassant pas 12 ppm en BM

V.3.1 Modélisation de la cinétique d'adsorption

V.3.1.1 Résultats d'adsorption sur les résidus de *T.numidicus*

Les cinétiques d'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du *Thymus numidicus* sont illustrées sur la figure39

Le temps d'équilibre est estimé à environ 30 min pour les deux granulométries des particules du résidu utilisé. Au delà de ce temps la quantité de colorant adsorbée demeure constante.

Les résultats de la modélisation des données expérimentales de la cinétique d'adsorption du BM sur les résidus des feuilles du *Thymus numidicus* sont présentés sur les figures 40 et 41. Les tracés montrent que le temps d'équilibre est atteint au bout de 20 minutes.

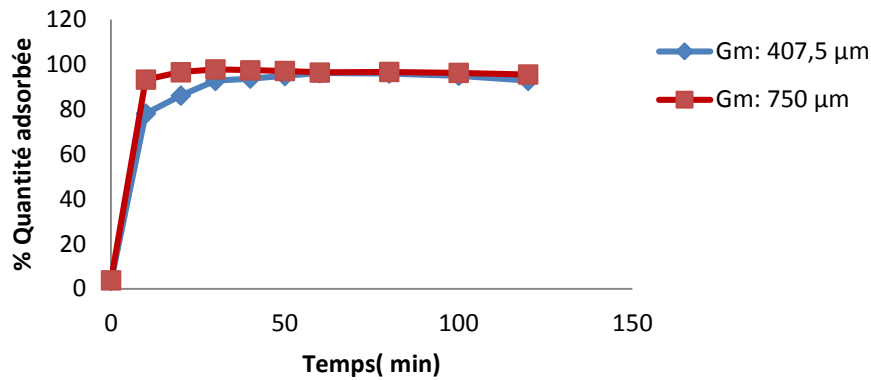


Figure 39 : Cinétique d'adsorption du BM sur les résidus de *Thymus numidicus*

Deux modèles cinétiques ont été testés dans le but de spécifier le mécanisme d'adsorption à savoir le modèle cinétique de pseudo-premier ordre et du pseudo-second ordre.

Les modèles cinétiques de premier et second ordre sont représentés par les équations suivantes :

Modèle cinétique de pseudo-premier ordre : $\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$

Modèle cinétique de pseudo-second ordre : $\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$

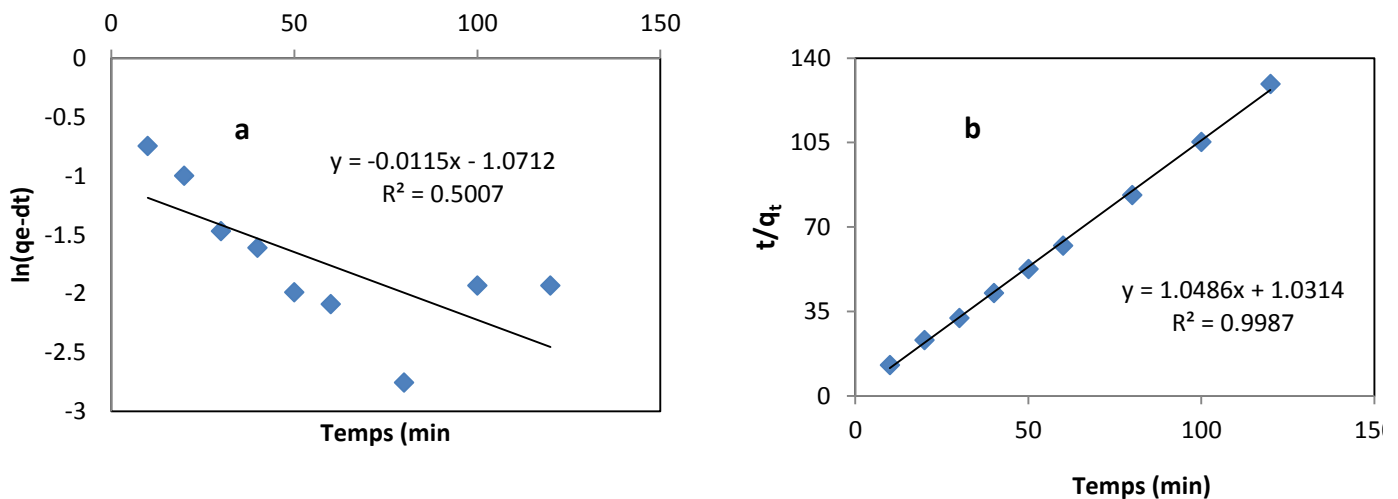


Figure 40: Transformées linéaires des modèles cinétiques pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du *Thymus numidicus* de granulométrie moyenne 407,5µm a) pseudo premier ordre. b) pseudo second ordre

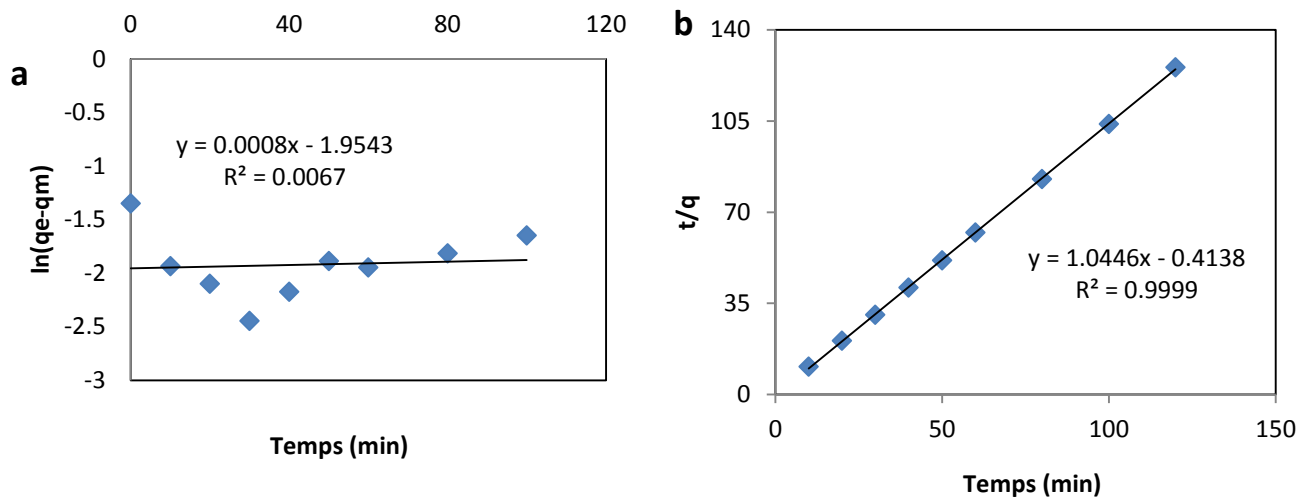


Figure 41 : Représentation des modèles cinétiques pour le as de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du *Thymus numidicus* de granulométrie moyenne 750 μm a) pseudo premier ordre. b) pseudo second ordre

Tableau 42- Paramètres cinétiques d'adsorption du BM par les résidus des feuilles du *Thymus numidicus*

Granulométrie (μm)	Pseudo premier ordre				Pseudo second ordre		
	$q_{e\text{ex}}$ (mg/g)	k_1 (min ⁻¹)	q_e (mg/g)	R^2	k_2 (g/(mg.min))	$q_{e\text{calc}}$ (mg/g)	R^2
407,5	0,96	0,01	0,34	0,9629	1,06	0,96	0,9987
750,0	0,97	0,00	0,14	0,9528	-2,65	0,95	0,9999

$q_{e\text{exp}}$: Capacité expérimentale à l'équilibre, $q_{e\text{calc}}$: Capacité calculée à l'équilibre

Les résultats regroupés dans le tableau 42 montrent que les capacités d'adsorption expérimentales et théoriques obtenues pour les deux granulométries sont proches. Elles sont respectivement de 0,9628 et 0,9573 mg/g pour 407,5 μm et de 0,9789 et 0,9536 pour 750 μm .

Par ailleurs, ces résultats montrent que le modèle cinétique du pseudo second ordre décrit beaucoup mieux l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du *Thymus numidicus*.

V.3.1.2 Résultats d'adsorption sur les résidus d'*O.glandulosum*

Les cinétiques d'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles d'*Origanum glandulosum* sont illustrées par la figure 42.

Le temps d'équilibre est estimé à environ 30 min pour les deux granulométries des particules du résidu utilisé.

Le tracé des modèles cinétiques de premier et de second ordre sont représentés par les figures 43 et 44 respectivement pour les granulométries 407,5 et 750 μm . Les résultats sont regroupés dans le tableau 43. D'après les tracés, le temps d'équilibre est moins de 30 min, Toutefois, l'influence de la granulométrie des particules de biosorbant sur le pourcentage d'adsorption est négligeable. Ceci est dû sans doute aux interférences sur la granulométrie observé à cause du choix des ouvertures des tamis.

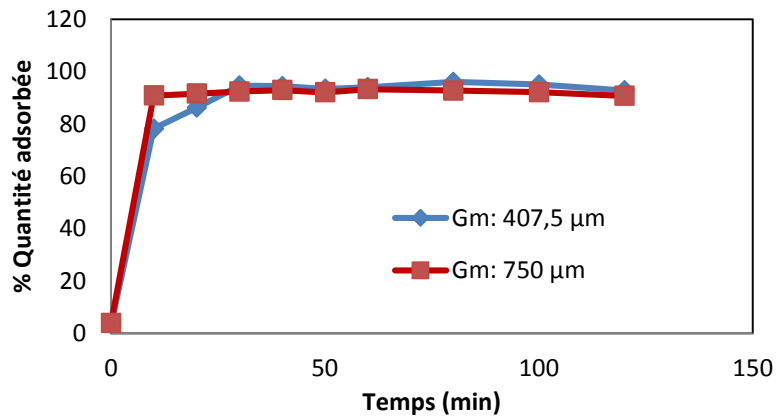


Figure 42 : Cinétique d'adsorption du BM sur les résidus d'*Origanum glandulosum*

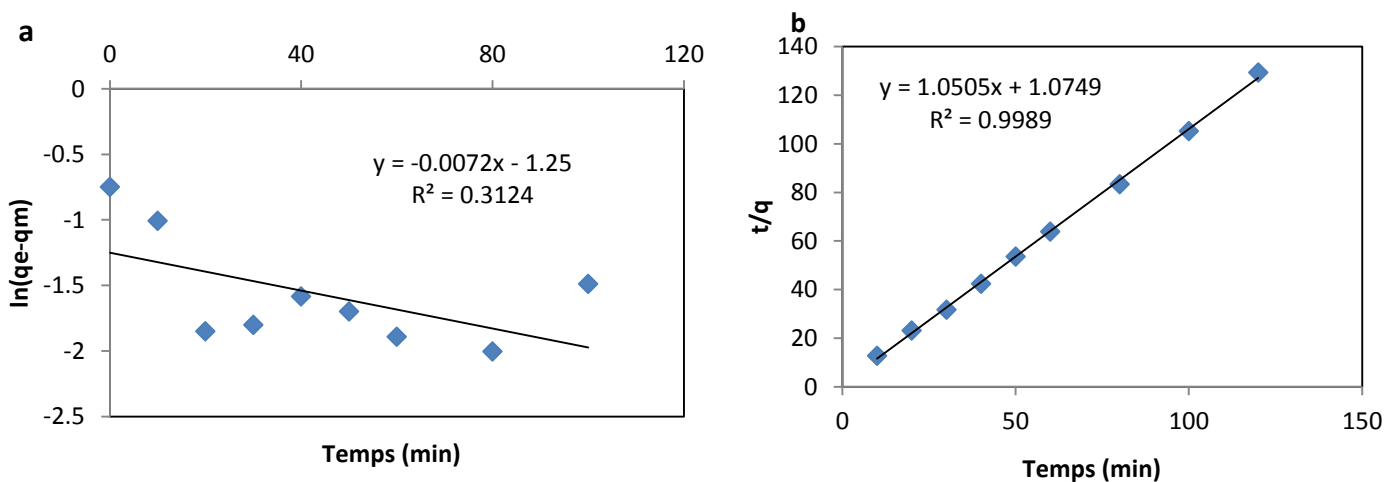


Figure 43 : Représentation du modèle cinétique pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur le résidu des feuilles d'*Origanum glandulosum* de granulométrie moyenne $D > 407,5 \mu\text{m}$. a) modèle pseudo-premier ordre. b) modèle pseudo second ordre

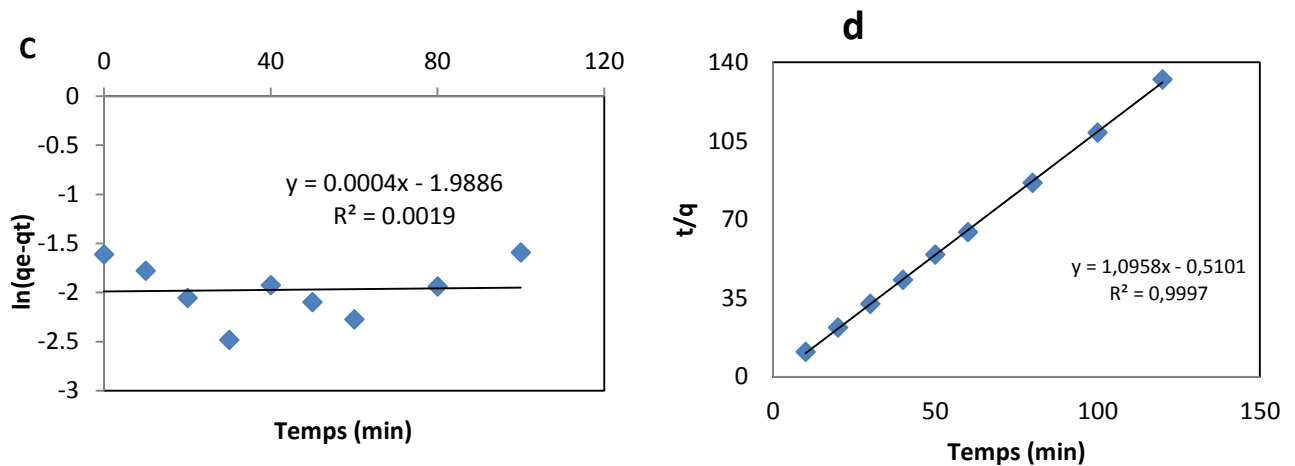


Figure 44 : Représentation des modèles cinétiques pour le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles du *Origanum glandulosum* de granulométrie moyenne 750μm C) pseudo premier ordre. d) pseudo second ordre

Tableau 43 : Paramètres cinétiques des modèles cinétiques de premier et second ordre dans le cas de l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles d'*O.glandulosum*

Granulométrie (μm)	Pseudo premier ordre		Pseudo second ordre				
	$q_{e\text{ex}}$ (mg/g)	k_1 (min ⁻¹)	q_e (mg/g)	R^2	k_2 (g/(mg.min))	$q_{e\text{calc}}$ (mg/g)	R^2
407,5	0,96	0.01	0,29	0,7183	1,03	0,95	0,9989
750	0,94	0,08	0,17	0,6114	-4,07	0,94	0,9997

Similairement au cas des résidus des feuilles du *Thymus numidicus*, nous concluons, que le modèle du pseudo second ordre décrit mieux l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles d'*Origanum glandulosum*.

V.3.2 Effet du pH sur l'adsorption du BM sur les résidus de Thym et Origan

L'effet du pH sur la capacité d'adsorption du bleu de méthylène a été évalué sur une gamme de pH initial de la solution compris entre 2 et 10. Les résultats sont représentés sur la figure 48 pour le *Thymus numidicus* et la figure 49 pour l'*Origanum glandulosum*.

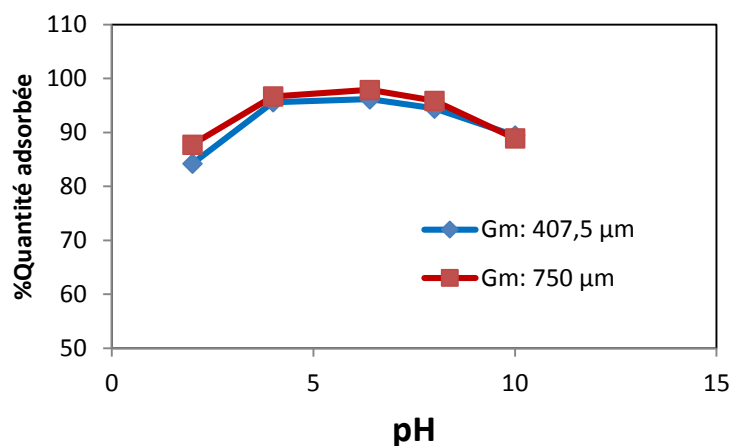


Figure 45- Influence du pH de la solution initiale sur le rendement d'adsorption du BM par les résidus des feuilles du *Thymus numidicus*

Les résultats de la figure 45, montrent une influence significative du pH initial sur l'adsorption du bleu de méthylène par les résidus des feuilles du *Thymus numidicus*. En effet, le pourcentage d'adsorption avoisine les 100% pour les valeurs de pH comprises entre 4 et 7. Ainsi la quantité maximale adsorbée a été enregistrée autour de pH = 6,4.

La faible capacité d'adsorption du BM au pH 2 (acide) est due au fait qu'à ce pH, la charge de surface du résidu de *T.numidicus* est probablement chargée positivement en présence d'excédent en ion H^+ . Ces derniers rentrent en compétition avec le BM qui est chargé positivement (colorant cationique) (Bulut et al., 2006).

Des résultats similaires ont été observés dans la littérature. Benaissa, (2007) ont montré que la quantité maximale d'adsorption du bleu de méthylène par les pelures d'amande augmente avec l'augmentation du pH, environ 39 mg/g pour pH 2 et 114 mg/g pour pH 6 et diminue pour des valeurs de pH comprises entre 8 et 9. Bentahar, (2016), Deoraj et al., (1981) avaient rapporté que la capacité d'adsorption des cations organiques par la bentonite est indépendante du pH dans l'intervalle 4,5 à 8,5.

Par ailleurs, Bilgiç, (2005) a constaté que le pH montre une influence insignifiante sur l'adsorption du BM par la bentonite et la sépiolite. A pH élevé (> 9) (Al-Futaisi et al., 2007), ont observé une augmentation de la capacité d'adsorption de la palygorskite avec l'augmentation du pH. Ce qui ne correspond pas à notre résultat. Dans notre étude la capacité d'adsorption diminue à partir de pH=6,4.

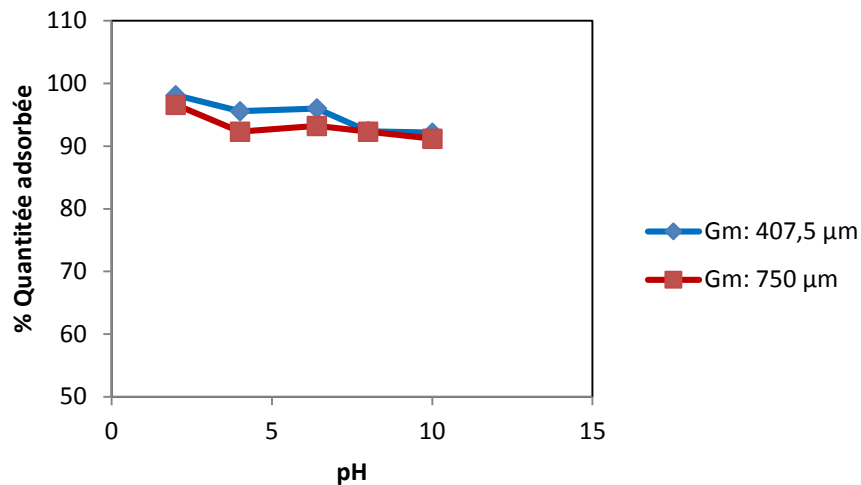


Figure 46 : Effet du pH sur le rendement d'adsorption du BM par les résidus des feuilles d'*Origanum Glandulosum*

Les résultats de la figure 46 montrent une légère influence du pH sur la capacité d'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus de l'*O.glandulosum*. En effet, le pourcentage d'adsorption maximal enregistré se produit à pH acide (pH=2) avec une valeur de 98,12% et tend à diminuer quand pH augmente.

Le pourcentage d'adsorption enregistré à pH=10 est équivalent 92,15%. Ces résultats sont différents de ceux enregistrés pour le cas des résidus des feuilles de *T.numidicus* ainsi que ceux présentés dans la littérature (Bentahar, 2016), (Deoraj et al., 1981). Il est donc clair que l'effet du pH sur les phénomènes d'adsorption est étroitement lié à la nature et à la particularité de chaque biosorbant.

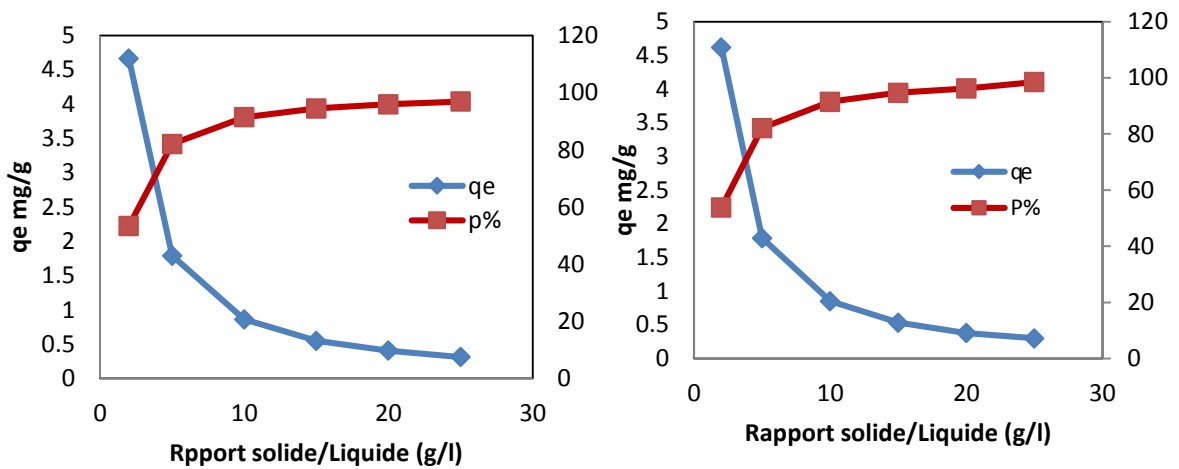
V.3.3 Effet du rapport solide/liquide

Les résultats de l'étude de l'influence de la masse de résidu des feuilles de *T. numidicus* et d'*O.glandulosum* sur la quantité (q) et le pourcentage d'adsorption en bleu de méthylène sont représentés sur la figure 47.

Les résultats présentés sur cette figure montrent que le pourcentage de rétention du BM par les résidus des feuilles augmente avec l'accroissement de la quantité de biosorbant en solution jusqu'à atteindre un palier constant à partir d'un rapport solide/liquide autour de 10g/L.

En effet, ce pourcentage de rétention passe de 53,16 à 98,37 %, pour les résidus d'origan, et de 53,89 % à 96,72% pour les résidus de Thym lorsque le rapport solide/liquide

passé de 2 à 25 g/l. Cette évolution est due probablement à l'accroissement des sites actifs par augmentation de la quantité de biosorbants en solution.



**Figure 47 : Effet du rapport solide /liquide de l'adsorption du BM sur les résidus
A : *T.numidicus*, B : *O.glandulosum***

V.3.4 Isothermes d'adsorption

L'observation des isothermes d'adsorption présentés sur les figures 48 montre qu'elles sont de type I. Ce type d'isotherme s'obtient lorsque les molécules d'adsorbant se fixent sur la surface de l'adsorbant sans qu'il y ait compétition entre les molécules

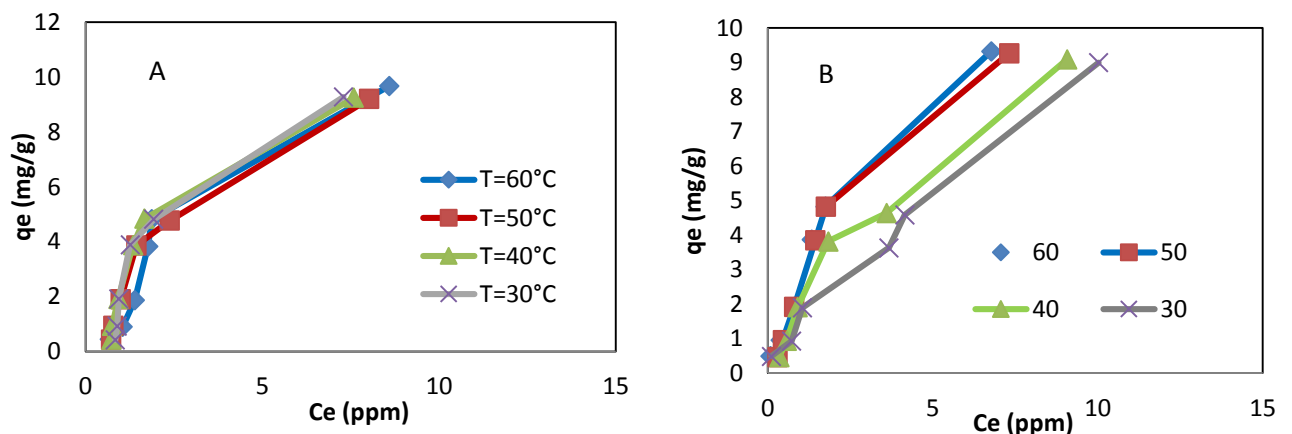


Figure 48 : Isothermes de l'adsorption du bleu de méthylène. sur les résidus A : de *T.numidicus*, B : de l'*O.glandulosum*

Afin de modéliser les résultats des figures 48, nous avons testé les modèles de Langmuir et Freundlich. Ces modèles permettent d'obtenir des informations sur l'affinité adsorbant/ adsorbat et sur l'énergie de liaison entre ces deux derniers.

Les transformées linéaires des modèles de Langmuir et Freundlich sont représentées sur les figures 49 et 50 respectivement pour les résidus des feuilles de l'*Origanum glandulosum* et *Thymus numidicus*.

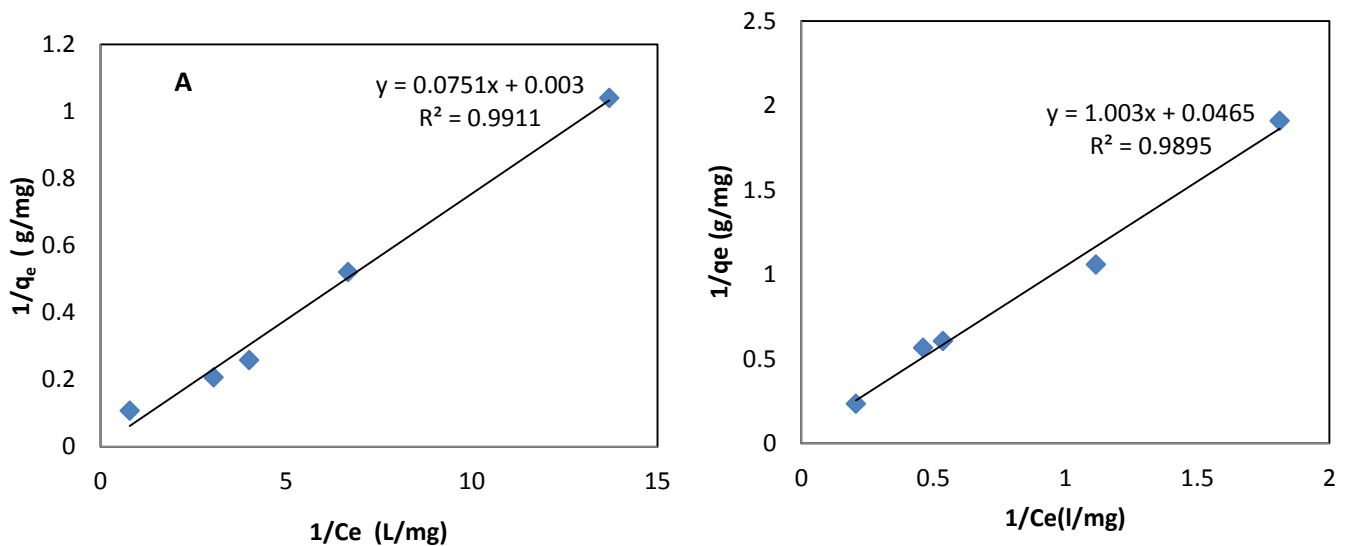


Figure 49 : Modélisation linéaire de l'équation de Langmuir – A : résidus de l'Origan, B : résidus de Thym

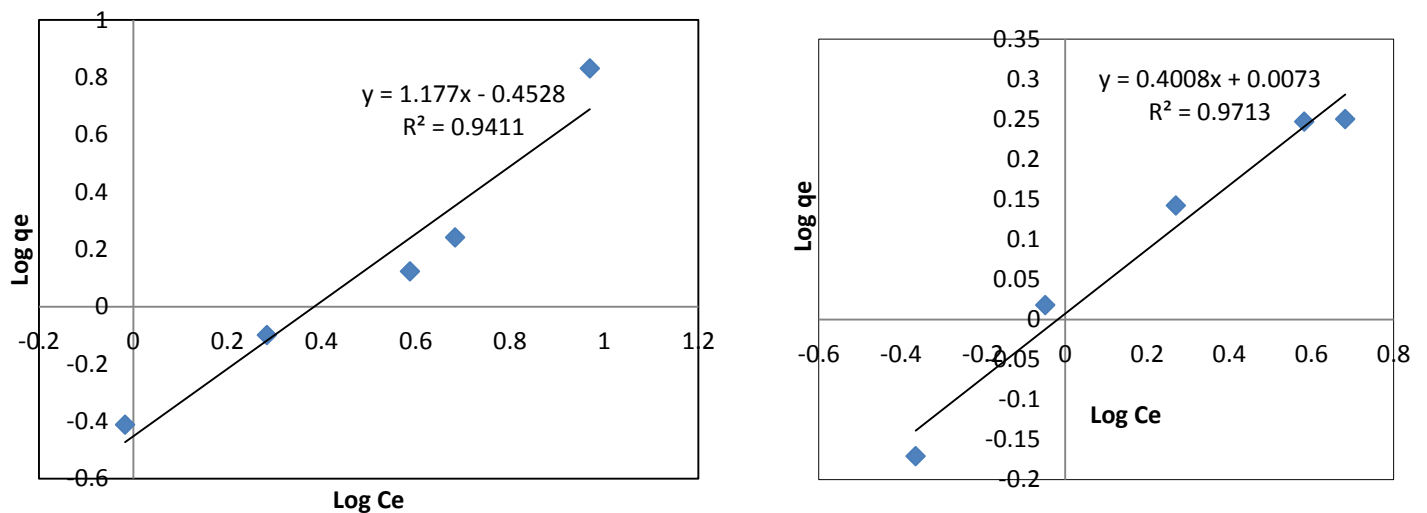


Figure 50 : Modélisation linéaire de l'équation de Freundlich. A :résidus des feuilles de l'Origan, B : résidus des feuillesde Thym

Les droites des figures 49 et 50 nous permettent d'évaluer les constantes des transformées linéaires des modèles de Langmuir et de Freundlich. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 44.

Tableau 44 : Valeurs des constantes du modèle de Langmuir et celles de Freundlich pour l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles d'Origan et Thym

Adsorbants	Isotherme de Langmuir			Isotherme de Freundlich		
	K_L (L/mg)	Q_{max} (mg/g)	R^2	K_F	$1/n$	R^2
Origan	0,039	333,33	0,991	0,273	1,347	0,941
Thym	0,046	21,730	0,989	10,070	0,010	0,971

Les résultats de la modélisation des isothermes d'adsorption nous permettent de constater que le modèle de Langmuir est plus adapté pour décrire l'adsorption du bleu de méthylène sur les résidus d'origan et de thym.

En effet, avec le modèle de Langmuir, nous avons une meilleure corrélation pour l'adsorption du bleu de méthylène par les résidus de Thym et d'Origan (98% et 99 % respectivement). Ce qui signifie que les sites, d'adsorption présents à la surface, sont énergétiquement homogènes et que l'adsorption se fait en monocouche.

La capacité maximale d'adsorption du bleu de méthylène est très importante pour le cas des résidus des feuilles d'*Origanum glandulum* dont la valeur de 333 mg/g a été enregistrée. Par contre, dans le cas des feuilles du *Thymus numidicus* elle est de 21,73 mg/g.. La capacité maximale d'adsorption de l'origan est plus élevée comparée à d'autres biosorbants décrits dans la littérature. Les valeurs de q_{max} de quelques biosorbants sont listées dans le tableau 45

Tableau 45 : Capacités d'adsorptions du bleu de méthylène par certains biomatériaux décrits dans la littérature

Biosorbant	q_{\max} (mg/g)	références
Résidus <i>O.glandulosum</i>	333,3	Notre étude
Résidus <i>T. numidicus</i>	21,73	Notre étude
Paille naturelle	20,3	(Han et al., 2006)
Sciure modifiée	32,3	(De et al., 1998)
Cosse de riz	40,6	(Vadivelan et al., 2005)
Lentille géante	119	(Waranusantigul et al., 2003)
Raquette du figuier de Barbarie	185	(Low et al., 1995)

V.3.5 Evaluation des paramètres thermodynamiques

Les résultats de l'influence de la température sur l'adsorption du bleu de méthylène par les résidus des plantes étudiées sont représentés sur les figures 51 (A et B).

L'examen des données de cette figure nous permet de constater que la température n'a pas d'effet notable sur la capacité d'adsorption du bleu de méthylène par les résidus des feuilles de thym et d'origan. Ces tracés nous permettent de calculer les paramètres thermodynamiques de l'adsorption à savoir le ΔG° , ΔH° et ΔS° .

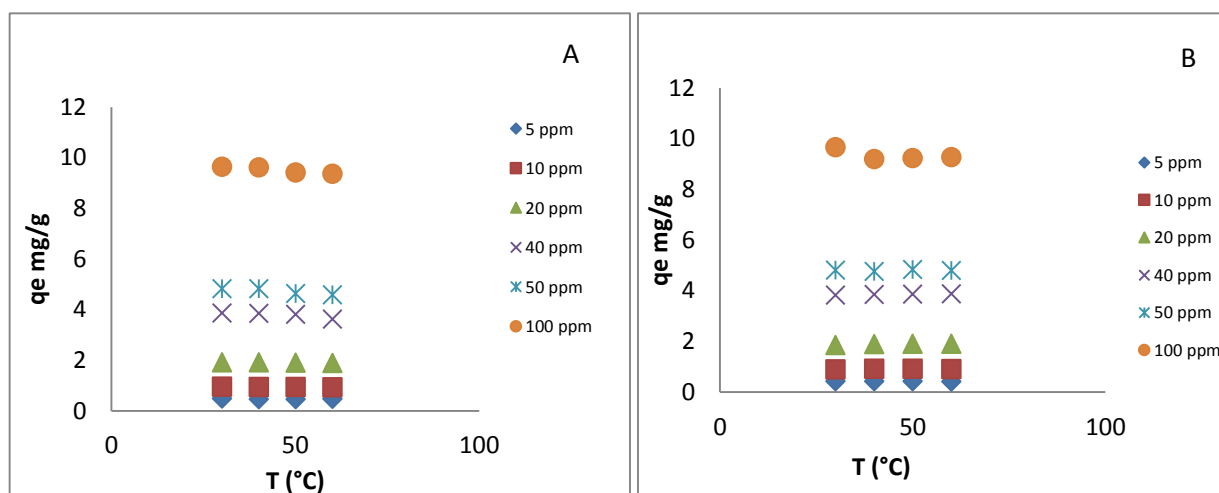


Figure 51 : Influence de la température sur la rétention du bleu de méthylène sur les résidus des plantes A : résidus de *T.numidicus*, B : Résidus de l'*O. glandulosum*, pour différentes concentrations initiales des solutions du bleu de méthylène

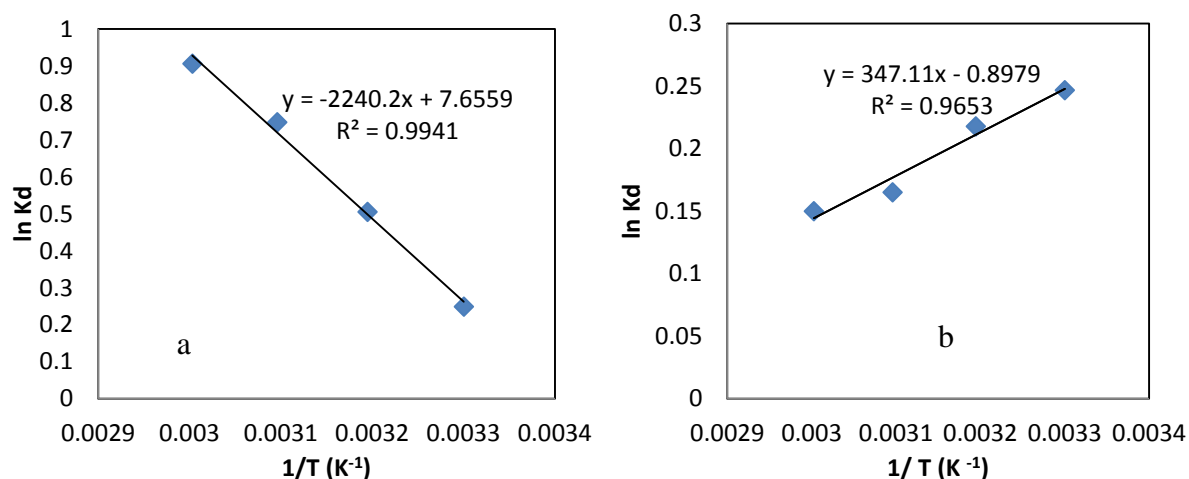


Figure 52 : Tracés de K_C en fonction de $1/T$ Résidus. a : *T.numidicus*, b : *O.glandulosum*

La représentation de $\ln(K_C)$ pour l'adsorption du BM sur les résidus de *T. numidicus* ainsi que sur les résidus de l'*O.glandulosum* en fonction de $1/T$ (figure 52) respectivement sont des droites dont la pente et l'ordonnée à l'origine permettent de calculer respectivement la variation de l'enthalpie standard ΔH° , l'entropie ΔS° et de l'énergie libre ΔG° (relations 10 et 11, chapitre I). Les paramètres thermodynamiques obtenus à partir de la courbe de la figure 55 sont consignés dans le tableau 45

Tableau 46 : Paramètres thermodynamiques du processus d'adsorption du BM par les résidus des plantes

Résidus	ΔS° (J/mol.K)	ΔH° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)			
			333	323	313	303
Thym	-7,3	2,88	5,32	5,24	5,17	5,09
Origan	63,62	-18,61	-39,81	-39,16	-38,53	-37,89

Les données du tableau 46, nous permettent de constater qu'aux températures étudiées, les valeurs de l'enthalpie standard pour l'adsorption du bleu de méthylène sont positives pour les résidus de des feuilles de thym mais négatives pour ceux de l'origan.

Ceci nous permet de conclure que le processus d'adsorption est endothermique pour les résidus des feuilles de *T.numidicus* et exothermique pour ceux de l'*O.glandulosum*.

Il a été admis que les énergies de liaison lors d'un processus de chimisorption sont de l'ordre de 80 à 420 kJ/mol mais inférieures à 80 kJ/mol pour une physisorption (Bentahar, 2016).

Ainsi, nous constatons que pour les températures étudiées, l'adsorption du BM sur les résidus des feuilles de Thym et d'Origan est de nature physique car ΔH° est de 2.88 kJ/mol pour le thym et de -18.61 kJ/mol pour l'origan. Quant à l'enthalpie $\Delta G^\circ_{\text{origon}}$ est compris entre -37.89 et -39,16 kJ/mol. Les valeurs négatives de $\Delta G^\circ_{\text{origon}}$, signifie que la réaction est thermodynamiquement possible et que le processus est spontané. Une valeur négative de ΔS° a été trouvée pour le Thym, Ce qui signifie que les molécules sont plus organisées à l'interface solide/liquide durant l'adsorption (Han et *al.*, 2006). Ce qui n'est pas le cas pour les résidus de l'Origan avec une valeur de ΔS° positif

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les objectifs de notre étude étaient d'évaluer les activités thérapeutiques, environnementales et biologiques de trois plantes aromatiques et médicinales de Kabylie.

Notre étude a porté sur *Lavandula stoechas*, *Origanum glandulosum* et le *Thymus numidicus*. Ces deux dernières sont endémiques de la région est Algérienne-Tunisienne.

Les résultats de la caractérisation par GC/MS des huiles essentielles extraites des parties aériennes des trois plantes montrent que la variation de la composition chimique est affectée par l'espèce de la plante, la localité de récolte ainsi que les conditions géographiques et météorologiques.

En effet, le chémotype des huiles essentielles du *Thymus numidicus* est de type thymol (45,12 à 47,52 %) et carvacrol (11,44 à 22,18 %). Celui des huiles essentielles de *Lavandulas stoechas* est de type fenchone avec une teneur variable de 61,21 à 73,91%. Le chémotype des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* est de type thymol carvacrol pour les récoltes de Tifrit 2013 (24,67 à 36,24%) et p-cymène pour celles de 2014 et 2015 (44,07 à 51,88 %).

L'analyse LC/MS des extraits alcooliques (des différents métabolites secondaires) a révélé la présence majoritaire de neuf composés pour les extraits méthanoliques obtenus sur l'*Origanum glandulosum* et *Thymus numidicus*; un composé pour ceux de *Lavandulas Stoechas* et trois composés pour la fraction n-butanol (flavonoïdes) extraite du *Thymus numidicus* et *Origanum glandulosum*. Deux composés ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la littérature. Ces composés sont l'acide rosmarinique et le Myricétine-3,7,3',4',5'-penta O-méthyle.

Les résultats de l'étude de l'activité biologique des huiles essentielles des plantes étudiées nous ont révélé un large spectre d'activité antimicrobienne et antifongique vis à vis des souches bactériennes testées. Ainsi, les huiles essentielles de l'*Origanum glandulosum* et le *Thymus numidicus* révèlent une forte activité bactéricide sur les bactéries à Gram – et fongicide sur *Candida albicans*.

Quant aux huiles essentielles de *Lavandulas stoechas*, l'étude a révélée une forte activité bactéricide sur *Escherichia coli* et modérée sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi qu'une activité fongicide sur *Aspergillus niger*.

Les tanins extraits des feuilles de *Lavandula stoechas* récoltées en 2016 au niveau de Tikobaine et Béni Douala possèdent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram– mais pas sur celles à Gram+. De plus, ils ne manifestent aucune activité sur le champignon.

Les résultats du test MTS réalisé sur des cellules de type HT29 effectué sur les extraits des plantes étudiées (huiles essentielles et métabolites secondaires) n'ont révélé aucune inhibition et aucun pouvoir cytotoxique.

Les résultats de l'étude de la biosorption du bleu de méthylène sur les résidus des feuilles des plantes étudiées ont révélé l'effet notable des paramètres pH, température, temps de contact et concentration du colorant sur la capacité d'adsorption.

Les résultats de l'étude cinétique ont révélé que l'équilibre est atteint au bout de trente minutes de contact entre les différents biosorbants et les solutions aqueuses de bleu de méthylène. La cinétique de biosorption est conforme au modèle du pseudo second ordre. Ceci qui permet de conclure que l'adsorption du bleu de méthylène par ces biosorbants se produit à la surface des poudres de résidus.

Les résultats de l'étude de l'effet du pH sur la capacité d'adsorption du bleu de méthylène par ces biosorbants ont montré que celui-ci affecte considérablement la capacité d'adsorption. Ainsi sur les résidus d'*Origanum glandulosum*, nous avons enregistré une diminution du taux d'adsorption avec l'augmentation du pH. Quant aux résidus du *Thymus numidicus*, nous avons enregistré une augmentation du taux d'adsorption pour des valeurs de pH comprises entre 5 et 7.

Les paramètres thermodynamiques évalués à partir des isothermes d'adsorption révèlent que l'adsorption du bleu de méthylène est un processus endothermique pour les résidus d'*Origanum glandulosum* et exothermique pour ceux du *Thymus numidicus*.

Les résultats enregistrés pour l'adsorption du bleu de méthylène sur les deux résidus sont décrits par le modèle de Langmuir. Il a été déduit que la capacité maximale d'adsorption du bleu de méthylène par les résidus des feuilles d'*Origanum glandulosum* est plus grande que celle enregistrée pour le *Thymus numidicus*. En effet les capacités enregistrées sont de 333,33mg/g et 40,98 mg/g respectivement pour les résidus d'*Origanum glandulosum* et *Thymus numidicus*.

L'ensemble des résultats obtenus à travers les différentes parties de ce travail ne constituent qu'un aspect de la valorisation des plantes étudiées. En effet, les résultats obtenus peuvent être approfondi et exploité pour d'autres recherches à venir.

Pour enrichir le volet valorisation des activités biologiques et thérapeutiques des trois espèces, nous envisageons de compléter nos résultats à l'aide des techniques chimiométriques pour corrélérer l'impact des différents facteurs environnementaux, le stade de développement et la localité de récolte sur la composition des huiles essentielles et sur leurs activités biologiques et pharmaceutiques. Une caractérisation et une élucidation des structures chimiques des composés polyphénoliques seront envisagées à l'aide de techniques analytiques plus performantes telles que la LC-MS/MS et la RMN.

Pour le volet valorisation de l'activité environnementale des trois plantes choisies, nous envisageons de procéder à la caractérisation des résidus en utilisant des méthodes physicochimiques tel que : la mesure de la surface spécifique à l'aide de la méthode de la BET, la mesure du potentiel Zeta pour nous informer sur la charge de surface du biosorbant, la caractérisation par le MEB (microscope électronique à balayage) qui permet de visualiser la surface du biosorbant et aussi la caractérisation par IR, pour étudier la chimie de surface du biosorbant. Ces techniques nous permettront d'établir une meilleure interprétation des résultats obtenus lors de la biosorption du bleu de methylene en milieu aqueux. Ainsi, nous permettre d'étudier la rétention d'autres polluants des eaux tels que les colorants anioniques et les métaux lourds.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abidini A. (2014). *Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes.* Université de Lille : Thèse de doctorat.
- Adrar N., Oukil N., Bedjou F. (2016). Antioxidant and antibacteria activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products* , 112-119.
- Akrout A. (2001). Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales. *Zaragoza : CIHEAM* , 289-292.
- Aksu Z., Ertu S., Dommez G. (2010). biosorption by *Rhizopus arrhizus* : Effect of SDS (sodium dodecylsulfate) surfactant on biosorption properties. *Chem. Eng. J.* , 474-481.
- Albano S. M., Miguel M. G. (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products* , 338-343.
- Al-Futaisi A., Jamrah A., Al-Hanai R. (2007). Aspects of cationic dye molecule adsorption to palygorskite. *Desalination* , 327-342. .
- Allali H., Benmehdi h., Dib M. A. Tabti B., Ghalem S. Benabadji N. (2008). Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian Journal of Chemistry* , 2701-2710.
- Andrade-Neto V. F., Brandao M. G. L., Stehmann J.R., Oliveira L. A., Krettli A. A. (2003). Antimalarial activity of Cinchona-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. *Journal of ethnopharmacology* , 253-256.
- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi A., Cabras P. (2006). Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. *J. Agric. Food Che* , 4364-4370.
- Attou A. (2017). *Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles.* Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.
- Baba Aissa F. (1991). *Les plantes médicinales en Algérie.* Alger: Bouchène and Diwan.
- Badia H. N., Yazdani D., Mohammadali B., Nazarib F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products* , 231-236.
- Baharun T. (1995). les polyphenols de *Crataegus monogyna* Jacq. in vivo et in vitro : analysef et activités antioxydantes .*thèse de doctorat. Université de Lille 2* , 59.

- Bakkali F., Averbeck S., Idaomar M. . (2008). Biological effects of essential oils . *Food and Chemical Toxicology* , 446-475.
- Balchim L.M. (2002). *Lavander (The genus Lavandula)*. London: New Fetter Laoe, Taylor and Francis.
- Bandyukova V. A. et Shinkareako A. (1973). The thin layer chromatography of flavonoids. *Chemistry of natural compounds* , 17-21.
- Barragan B.E., Costa C., Carmen Marquez M. (2007). Biodegradation of azo dyes by bacteria inoculated on solid media. *Dye. Pigment* , 73-81.
- Baser K.H.C., Ozek T., Tumen G. (1992). Essential oils of *Thymus cariensis* and *Thymus haussknechtii*, tow endemic species in Turkey. *J. Essent. Oil* , 659-61.
- Behra P. (2-3 mai 1996). Sorption aux interfaces solide-liquide' dans 'Mécanisme de sorption aux interfaces solide-liquide'. *Rapport des Journées scientifiques du GDR PRACTIS 1115, Nancy* .
- Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouahid D. E. (2008). Composition et activite ´ antibacte ´rienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum d'Alge ´rie. *Pharmacognosie* , 156-159.
- Belmont. (2013). *Lavandula angustifolia M., Lavandula latifolia M., Lavandula x intermedia E. : études botaniques, chimiques et thérapeutiques*.Grenoble: Thèse. Université Joseph Fourier.
- Belttmania Z., Zrid R., Reani A., Tahiri S., Eddaoui A., Louklil H. (2015). Phycoremediation of hexavalent chromium in simulated wastewater by *Halopteris scoparia* (Linnaeus) Sauvageau (Ochrophyta, Phaeophyceae). *J. Mater. Environ. Sci.* , 2229-2238.
- Ben El Hadj Ali I., Bahri R., Chaouchi M., Boussaid M. (2014). Phenolic content, antioxidant and allelopathic activiyies of various sxxtraxts of *Thymus numidicus* Poir. organd. *Industrial Crops an Products* , 188-195.
- Benabdelkader T., Zitouni A., Guitton A., Julien F., Maitre D., Casabianca H., Legendre L., Kameli A. (2011). Essential Oils from Wild Populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: Composition, Chemical Variability, and in vitro Biological Properties. *Chemestry and biodiversity* , 937-953.
- Benaissa H. (s.d.). Equilibrium study of methylene blue sorption from aqueous solutions by a low-cost waste material: almond peel. *leventh International Water Technology Conference, IWTC11 2007 Sharm El-Sheikh, Egypt* , 895-909.

- Benayache F., Bouraghda S., Ameddah S., Marchioni E., Benayache F., benayache s. (2014). Flavonoids from *Thymus numidicus* Poiret. *Scholars Research Library* , 50-54.
- Bendahou M., Muselli A., Grignon dubois M., Benyoucef M., Desjobert J. M., Bernardini A; F., Costa J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparaison with hydrodistillation. *Food Chemistry* , 132-139.
- Bentahar Y. (2016). Caractérisation physico-chimique des argiles marocaines : application à l'adsorption de l'arsenic et des colorants cationiques en solution aqueuse . *Université de Nice-Sophia Antipolis. Thèse* .
- Bentahar Y. (2016). *Caractérisation physico-chimique des argiles marocaines: application à l'adsorption de l'arsenic et des colorants cationiques en solution aqueuse*. Thèse de doctorat. Université de Nice-sophia Antipolis-UFR Sciences.
- Bilgiç C. (2005). Investigation of the factors affecting organic cation adsorption on some silicate minerals. *Journal of Colloid and Interface Science* , 33-38.
- Blumenthal C.Z. (2004). Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* , 214-228.
- Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A., Ziyat A. (2002). Ethnopharmacology Forum. *Int J Diabetes & Metabolism* , 33-50.
- Bouhaddouda N. (2015). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. *Thèse de doctora, Université de Annaba* , 112-113.
- Bousbia N. (2013). *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires* . Thèse de doctorat. Ecole nationale Supérieure Agronomique.
- Bouterfas K., Mehdadi Z., Elaoufi M. M., Latreche M., Benchicha w. (2016). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variation of leaves extracts of white Hrehound (*Marrabium vulgare* Linnae) from three geographical origins . *Annales Pharmaceutiques Françaises* , 453-462.
- Bouterfas K., Mehdadi Z., Elaoufi M. M., Latreche M., Benchicha w. (2016). La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïde des Marrubin vulgare vis-à-vis d'*aspergillus niger* et *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale* , 201-211.

- Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., Dakka N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie* , 379-383.
- Bouزيد M., Tyler K., Christen R., Chalmers R., Elwin K., Hunte. (2010). Multi-locus analysis of human infective *Cryptosporidium* species and subtypes using ten novel genetic loci. *BMC Microbiology* , 10.
- Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J. (1996). L'analyse des mélanges complexes par RMN Carbone-13-Partie 2. *Journal of applied Spectroscopy* , 41-50.
- Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance . *Nutrition Revieww* , 317-33.
- Bruneton J. (2008). *Acides phénols*. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Paris.: Tec & Doc. Lavoisier. 198-260.
- Bulut y., Aydin H. (2006). A kinetics and thermodynamics study of methylene blue adsorption on wheat shells, Desalination. *Desalination* , 259-267.
- Catherine Zollman, R. L. (1993). Herbalmedicine. *ABC of Complementary Medicine* , 1050-1053.
- Chalchat J. C., Garry R. P., Muhayimama A. . (1995). Essential oil of *Tagetes minuta* from Rwanda and France: Chemical composition according to harvesting location, growth stage and plant of plant extracted. *Journal of science essential oil Ressearch* , 375-38.
- Charratv L., Espina L., Bakkali M., Pagan R., Lagaoui A. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes . *Innovative Food Science and Emerging Technologies* , 221-229.
- Chiasson H., Bélanger A., Bostanian N., Vincent C., Poliquin A. (2001). Acaricidal Properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) Essential Oils Obtained by Three Methods of Extraction. *Journal of Economic Entomology* , 167-171.
- Climate-Data.Org.* (s.d.). Consulté le 12 24, 2017, sur <https://fr.climate-data.org/location/520661/>
- Cowan M. M. (1998). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* , 727-3231.
- Crocoll C. (2010). *Biosynthesis of the phenolic monoterpenes*, Thèse de doctorat. Université Friedrich-Schiller- Jena.

- Crozier A., Clifford M.N., Achihara H. . (2003). *Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In Plants " Diet and Health"*. UK: Goldberg. 27- 48. .
- Dai J., Mumper R.J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *molecules* , 7313-7352.
- Daniel, R. (2009). *Conseil en aromathérapie*. Groupe Liaison.
- Dardiotti A., Karousou R., Lanaras T., Kokkini S. (2012). Diversity of *Satureja pilosa* subsp. *origanita* essential oils: A new oregano from East Mediterranean. *Biochemical Systematics and Ecology* , 178-183.
- Das B.K., Al-Amin M.M., Russel S.M., Kabir S., Hannan J.M.A. (2014). Phytochemical Screening and Evaluation of Analgesic Activity of *Oroxylum indicum*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 571-575.
- Das D., Gaur V., Verma . (2004). Removal of volatile organic compound by activated carbon fiber. *Carbon* , 2949-2962.
- Dasgupta N., De B. (2007). Antioxidant activity of some leafy vegetables of India . *Food chemistry* , 471-474.
- De D.S., Bassu J.K. (1998). Adsorption of methylene blue on to a low cost adsorbent from sawdust. *Indian J. Environ. Prot.* , 416-421.
- DEORAJ R. N. ROBERT D.G. . (1981). interactions of some large organic cations with bentonite in dilute aqueous systems . *Clays and Clay Mineral* , 205-212.
- Deridj A., Ghemouri G., Meddour R., Meddour S. O. (2010). Approche ethnobotanique des plantes médicinales en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou, Algérie). *Acta horticulturae* , 425-433.
- Derradji Y. (2014, 05 13). *Galette Kabyle au oignons et aux herbes*. Consulté le 06 01, 2018, sur Les délices de deryami, Cuisine facile et gourmande: <http://deryami.over-blog.com/2014/05/galette-kabyle-aux-oignons-et-herbes.html>
- Deutch C.E. (2017). Limited effectiveness of over-the-counter plant preparations used for the treatment of urinary tract infections as inhibitors of the urease activity from *Staphylococcus saprophyticus*. *Journal of Applied Microbiology* , 1380-1388.
- Djahra A.B., Bordjiba O., Benkherara S. (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne de stansins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Pharmacognosie* , 348-352.
- Dob T., Dahmane D., Agli M., Chelghoum C. (2006). Essential Oil Composition of *Lavandula stoechas*. from Algeria. *Pharmaceutical Biology* , 1744-5116.

- El amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S., Alaoui T.I. (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* , 7481-7492.
- El Gendy A. N., Leonardi M., Mugnaini L., Bertelloni F., Ebani V. V., Nardoni S., Mancianti F., Hendawy S., Omer E., Pistellib L. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated *Origanum syriacum* plants grown in Sinai, Egypt. *Industrial Crops and Products* , 201-207.
- El-Housseiny L., El-Shenawy M., Haroun M., Abdullah F. (2014). Comparative Evaluation of the Inhibitory Effect of Some Essential Oils with Antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antibiotics* , 1-5.
- Feknous S., Saidi F., mohamed Said R. (2013). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) . *Nature & Technology* , 7-13.
- Figueredo G. (2007). *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne*. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal.France.
- Fouche G, Horak MR, Wadiwala E and Maharaj VJ. (2009). Investigation of the commercial potential of *Lippia javanica*. *Poster presented at the 36th Convention of the South African* , Port Elizabeth.
- Freundlich H. (1906). Adsorption in solutions. *Z phys Chem.(Germany)* , 385-470.
- Gámez M. J., Jiménez J., Risco S., Zarzuelo A. (1987). Hypoglycemic activity in various species of the genus *Lavandula*. Part 1: *Lavandula stoechas* L. and *Lavandula multifida* L. *Pharmazie* , 706-7.
- Gayoso L., Roxo M., Cavero R.Y, Calvo M.I., Ansorena D. (2018). Bioaccessibility and biological activity of *Melissa officinalis*, *Lavandula latifolia* and *Origanum vulgare* extracts: Influence of an in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Food* , 146-154.
- Giacinti G., Carfora V., Caprioli A., Sagrafoli D., Marri N., Giangolini G., Amoroso R. (2017). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *Journal Dairy of Science* , 7857-7863.
- Gilani A. H., Aziz N., Khan M. A., Shaheen F., Jabeen Q., Siddiqui B. S., Herzig J. W. (2000). Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of *Lavandula stoechas* L. *Journal of Ethnopharmacology* , 161-167.

Gillian R., Thomas F. (2000). In the arms of Morpheus: the development of morphine for postoperative pain relief. *Canadian journal on Anesthesia* , 367-374.

Giordani R., Hadeff y., Kaloustian J. (2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* , 79, 199-203.

Goetz P., Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Paris: Springer.

Guillen M. D., Manzanos M.J. (1998). Composition of extract in dichloromethane of aerial parts of a Spanish wild growing plant *Thymus vulgaris*. *Flav. Frag. J.* , 259-62.

Gülçina I., Huyut Z., Elmastaş M., Aboul-Enein Y., H. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry* , 43-53.

Hadeff Y., Hadeff Y., Kaloustian J., Giordani R., Regli P., Chefrour A., Abou L., Mikail C., Portugal. (2004). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L et *Thymus numidius* (Poiret) de l'Algérie. *6ème symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France* , 5.

Halliwell B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine* , 14-22.

Han R., Wang Y., Han P., Shi J., Yang J., Lu Y. (2006). Removal of methylene blue from aqueous solution by chaff in batch mode. *Journal of Hazardous Materials* , 550-557.

Han R., Zhang H.J., Zou J., Shi J. (2005). Equilibrium biosorption isotherm for lead ion on chaff. *J. Hazard. Mater.* , 266-271.

Harborne J. B., Williams A. C. (2000). Advanced in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* , 481-504.

Haslam E. (1996). Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *Journal of Natural Product* , 205-215.

Hassiotis C. N. (2010). Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lvandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology* , 493-501.

Hazzit M., Baaliouamer A., Veríssimod A. R., Faleiro M. L., Miguele M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry* , 714-721.

Hector R. Juliani J., Fernando B., Adolfini R.K , Oliva M.M. , Mirta S., Victorio S., Julio A. (2002). Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Lantana xenica*. *Planta Med* , 762-764.

- Herrmann K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in food. *Crit. rev. food Sci. Nutri.* , 315-347.
- Hirschman S.Z. (1972). Inactivation of DNA polymerases of murine leukaemia viruses by calcium elenolate. *Nat New Biol* , 238-277.
- Hsu C.K., Chang C. T., Lu H. Y., Chung Y. C. (2007). Inhibitory effects of the water extracts of *Lavendula* sp. *Food Chemistry* , 1099-1105.
- Hussain A.I., Anwar F., Sheraz T. H., Przybylski R. . (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum Basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry* , 986-995.
- Ietswaart JH. (1980). *A taxonomic revision of the genus Origanum (Labiatae) In chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian Origanum glandulosum Desf.* la Haye: Leiden Botanical series 4 Leiden University Press.
- Jassem G.M. (2010). Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery. *Journal of Saudi Chemical Society* , 317-322.
- Jee Y. Chung, Huang C., Meng X., Dong Z., Chung S.Y. (1999). Inhibition of Activator Protein 1 Activity and Cell Growth by Purified Green Tea and Black Tea Polyphenols in H-ras-transformed Cells: Structure-Activity Relationship and Mechanisms Involved. *Cancer research* , 4610-4617.
- Kabran G.R, Akhanovna J., Pirat J. L., Bekro Y.A., Sommerer N., Verbaere A., Meudec E. (2014). Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim* , 57-63.
- Kampa M., Alexaki V. I., Notas G., Nifli A. P., Nistikaki A., Hatzoglou A., Bakogeorgou A., Kouimtoglou A., Blekas G., Boskou D., Gravanis A., Castanascorrespo E. (2004). Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res* , 63-74.
- Khanbabaee K., Ree T.v. (2001). Tanins: Classification and Definition. *Natural Product Reports* , 641-649.
- Kholkhal F., Lazouni H. A., Bendahou M., Boublenza I., Chabane S. D. and Chaouch T. (2013). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *coloratus*. *Afrique Science* , 151-158.
- King S.R., tempesta M.S. (1994). From shaman to human clinical trials: the role of industry in ethnobotany, conservation and community reciprocity. *Ciba Found Symp* , 197-206.

- Kirkeby S., Hammer A.S., Hoiby N., Salomonsen C.M. (2017). Experimental *Pseudomonas aeruginosa* mediated rhino sinusitis in mink. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* , 156-163.
- Kouamé-Bi K.F.P. (2012). Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes : étude phytochimique. Thèse de doctorat, chimie organique. *Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan.* , 180p.
- Kurat R., Adachi M., Yamakawa O. (2007). Growth suppression of human cancer cells by polyphenolics from Sweetpotato *Ipomoea batatas* L. Leaves. *J. Agric. Food Chem.* , 185-190.
- Lagergren S;. (1898). Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens . Handlingar* , 1-39.
- Lahlou M. (2004). Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Phytotherapy research* , 435-448.
- Langmuir I. (1918). The adsorption of gases on planesurface glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society* , 1361-1403.
- Latifou L. . (2005). *Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées*. Strasbourg: Thèse de doctorat de l 'université Louis Pasteur .
- Le Guérer A. (2017). *Evolution du parfum au cours des siècles*. Université de Bourgogne, Dijon.
- Lemhadri A., Zeggwagh N. A., Maghrani m., Jouad H., Eddouks M. (2004). Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region. *Journal Of Ethnopharmacology* , 251-256.
- Li M., Lieu J., Xu Y., Qian G. (2016). Phosphate adsorption on metal oxides and metal hydroxides A comparative review. *Environ. Rev.* , 319-332.
- Licina B. Z., Olgica D.S., Vasic S. M;, Radojevic I.D., Dekic M.S., Comic R. L. (2013). Biological activities of extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food control* , 498-504.
- Low K.S., Lee C.K., Tan K.K. (1995). Biosorption of basic dyes by water hyacinth roots. *Bioresour. Technol.* , 79-83.
- Lozien K., Venskutonisb P. (2005). Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematic and Ecology* , 517–525.
- Luo S., Dasaru P., Reiher N., Hartmann A., Jacksch S., Wende E., Barz D., Niemiec M.J., Jacobsen I. (2018). The secreted *Candida albicans* protein Pra1 disrupts host defense by

broadly targeting and blocking complement C3 and C3 activation fragments. *Molecular Immunology* , 266-277.

Malekbala M.R., Soltani S.M., Yazdi S.K. and Hosseini S. (2012). Equilibrium and Kinetic Studies of Safranine Adsorption on Alkali-Treated Mango Seed Integuments. *Int. J. Chem. Eng. App* , 3.

Mansi G., Ajay S., Harish C. J. (2015). Berberis Lycium multipotential medicinal application: An overview. *International journal of Chimical Studies* , 10-13.

Marotti M., Piccaglia R., Giovanelli E. (1994). Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculumvulgare* Mill.). *Journal of Essential Oil Research* , 57-62.

Martos I., Consentini M., Ferreres F., Barberan T.F.A. (1997). Flavonoid Composition of Tunisian Honeys and Propolis. *Journal Agricultural Food Chemistry* , 2824-2829.

Matkowski A., Piotrowska M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia* , 346-53.

Matos F., Miguel M. G., Duarte J. (2009). Antioxidant Capacity of the Essential Oils From *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* Grown in Algarve (Portugal). *Journal of Essential Oil Research* , 327-336.

Mechergui K., Jaoudi W., Coelho J. P., Khoudja L. M. . (2016). Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* (DESF.) Ietswaart) growing in North Africa. *Industrial Crops and Products* , 32-37.

Meddour R., Meddour O. S. (2015). Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Tizi Ouzou, Algéria). *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants* , 137-151.

Meddour R., Mellal H., Meddour O., Derridj A. (2009). La flore médicinale et ses usages actuels en Kabylie (Wlaya de Tizi Ouzou), quelques résultats d'une études ethnobotanique. *Séminaire international Les Plantes Aromatiques et Médicinales SIPAM* , 181-201.

Meddour R., Mellal H., Meddour O., Derridj A. (2009). La flore médicinale et ses usages actuels en Kabylie (wilaya de Tizi Ouzou), quelques résultats d'une étude ethnobotanique. *Revue des régions , séminaire internationna SIPAM* , 181-201.

Meddour-Sahar O., M. R. (2009). Analyse Ethnobotanique des Plantes Vasculaires Médicinales dans la Région kabyle (daïras de Makouda et Ouaguenoun, wilaya de Tizi Ouzou, Algérie). *Revue des Région Aride* , 169-179.

Mehdi SJ., Ahmed A., IrshadM., Manzoor N., Rizvi M.M.A. (2011). Cytotoxic effect of Carvacrol on human cervical cancer cells. *Biology and Medicine* , 307-312.

Mico V., Caturla N., Fons L. P., Mas V., Pérez L., Estepa A. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral research* , 129-136.

Miguel G., Simoes M., Figueiredo A. c., Barroso J. G., Pedro L. G., Carvalho L. (2004). Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chemistry* , 183-188.

Millot G. (2011). *Comprendre et réaliser les tests statistiques à l'aide de R. Manuel de Biostatistiques*. Paris: De Boeck.

Mohammedi Z., Atik F. (2011). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature et Technologie* , 34-39.

Moussa. (2013, 04 05). *Couscous aux chardons d'Esoagne (taghediwth)*. Consulté le 06 01, 2018, sur Une débutante en cuisine: <http://miamana.over-blog.com/article-couscous-aux-chardons-taghediwth-66183568.html>

Nickavar B., Mojab F., Dolat-Abadic R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry* , 609-611.

Oke Altuntasi F., Demirtas I. (2017). Real-Time Cell Analysis of the Cytotoxicity of *Origanum acutidens* Essential Oil on HT-29 and HeLa Cell Lines. *Turk. J. Pharm. Sci.* , 29-33.

Okuda T., Hantano T., Yoshida T., Nakashima H., Murakani T., Yamamoto N. (1992). Inhibition of human immunodeficiency virus replication by tannins and related compounds . *Antiviral Research* , 91-103.

Orhan E., Belhatteb R., Senol F.S., Gulpinar A.R., Hosbas S., Kartal M. (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products* , 566-571.

Ouraïni D., Agoumi A., Ismaïli-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Belabbas M. A. (2000). Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques . *Phytothérapie* , 6-14.

- Özbek H., Güvenalp Z., Özek T., Sevindik H. G., Yuca H., Yerdelen O. K., Demirezer O. L. (2017). Chemical Composition, Antioxidant and Anticholinesterase Activities of the Essential oil of *Origanum rotundifolium* Boiss. from Turkey. *Records of natural products* , 485-490.
- Papageorgio V. (1980). GLC-MS Computer analysis of the essential of *Thymus capitatus*. . *Plant Med Supplement* , 29-33.
- Patrick P., Kalidas S. (2004). Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine. *Asia Pacific J Clin Nutr* , 101-106.
- Petrovska Biljana Bauer . (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev* , 1-5.
- Proestos C., Varzakas T. (2017). Aromatic Plants: Antioxidant Capacity and Polyphenol Characterisation. *Foods* , 1-7.
- Q.Y. Yue Q. Y., Gao B.Y., Wang Y., Zhang H., Sun X., Wang S.G. . (2008). Synthesis of polyamine flocculants and their potential use in treating dye wastewater . *J. Hazard. Mater. Mater* , 221-227.
- Quézel P. (1979). La région méditerranéenne française et ses essences forestières. *Forêt médit.* , 7-18.
- Quézel P. et Santa S. . (1962-1963). *Nouvelle flore de l 'Algérie et des régions désertique méridionales*. Paris: Vol., 1-2 CNRS.
- Rhayour K., Bouchikhi T., Elaraki T.A., Sendide K., Remmal A. (2003). The Mechanism of Bactericidal Action of Oregano and Clove Essential Oils and of Their Phenolic Major Components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential oil Research* , 356-362.
- Rivero-Cruz B., Rivero-Cruz I., Rodriguez J. M., Cerda-Garcia-Rojas C. M., Mata R. (2008). Qualitative and Quantitative Analysis of the Active Components of the Essential Oil from *Brickellia Weronicaefolia* by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy* , 1172-1176.
- Rizk A.M. (1982). Constituents of plants growing in Qata. *Fitoterapia* , 35-42.
- Rocha L. D., M. C. (2012). Anticancer proprieties of hydroxycinnamic acids- A review. *Cancer and clinical oncology* , 109-121.
- Roger R.C., Ribodeau M., Hamraoui A., Bareau I., Blanchard P., Munoz G.M.I., Barberan F.T. (2004). Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Stored Products Research* , 395-408.

Rota M.C., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J. (2018). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus heyemali* essential oil. *Food Controll* , 681-687.

Saija A., Uccella N. (2001). Olive biophenols: functional effects on human wellbeing. *Trends in Food Science & Technology* , 357-363.

Salgueiro V.C., Iorio P.L.N., Ferreira M.C., Chamon R.C. (2017). Methicillin resistance and virulence genes in invasive and nasal *Staphylococcus epidermidis* isolates from neonates. *BMC Microbiology* , 1-10.

Sari M., Biondi D.M., Kaabeche M., Mandalari G., D'Arigo M., Bisignano G., Saija A., Daquino C., Ruberto G. (2006). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal* , 890-898.

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* , 3875-3883.

Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* , 3875-3883.

Serafini M., Ghiselli A., Ferro-Luzzi A. (1994). Red wine, tea and anti-oxidants. *Lancet* , 344-626.

Silou T., Malanda M., Loubaki L. (2004). Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* grâce à un plan factoriel complet 23. *Journal of Food Engineering* , 65, 219-223.

Siti N.A.A., Mohd H.S.I., Shamsul I. (2013). Adsorption Process of Heavy Metals by Low-Cost Adsorbent: A Review. *World Applied Sciences Journal* , 1518-1530.

Skoula M., Abidi C., Kokkalou E. . (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochem Syst Ecol* , 255-260.

Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G., Johnson C. B. (1999). A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). *Phytochemistry* , 649-657.

Smach M. S., Hafsa J., Charfeddine B., Dridi H., Limen K. (2015). Effects of sage extract on memory performance in mice and acetylcholinesterase activity. *Annales Pharmaceutiques Françaises* , 281-288.

Stahl-Biskup E., (1990). The chemical composition of *Thymus* oils: A review of literature 1960-1689. *Journal of Essential Oil Research* , 61-82.

Stalikas C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Jss-Journal* , 3268-3295.

- Sun L., Meunier F. (2005). Adsorption . *Technique de l'ingénieur* .
- Takeda H., Tsujia M., Inazu M., Egashira B. (2002). Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice. *European Journal of Pharmacology* , 261-267.
- Takeuchi H., Lu Z. G., Fujita T. (2004). New Monoterpene Glucoside from the Aerial Parts of Thyme. *Biosci. Biotechnol. Biochem* , 1131-1134.
- Taleb-Toudert. (2015). *Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien) : évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera : Bruchidae)*. Thèse de doctorat, UMMTO.
- Telci L., Demertesb L., Bayramic E., Arabacid O., Karare O. (2008). Environmental variation on aroma components of pulegone/ piperiton erichs pearmint. *Industrial Crops and products* , 588-592.
- Tomescu A., Rus C., Pop G., Alexa E., Sumatian R., Copolovici D., Negrea M. (2015). Chemical composition of Lavandula angustiolia and Rosmarinus officinalis L. essential oils cultivated in west Romania. *Resarch Journal of Agriculyural Science* , 246-253.
- Trease G.E., Evans W.C. (1989). *Text Book Of pharmacognosy*. Londre : 13 e édition, ED., Bailliere Tindall.
- Urs N.V.R.R. (1975). Enhancement of the bactericidal activity of a peroxidase system by phenolic compounds (Xanthomonas phaseoli var. sojensis, soybeans). *Phytopathology* , 686-690.
- vadivelan V., Vasanth K. (2005). Equilibrium, Kenetics, mechanism, and process design for the sorption of methylen blue onto rice husk,. *J. Colloid Interface* , 90-100.
- Van Wyk B-E., A. C. (2008). A review of the taxonomy, ethnobotany, chemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* , 620-629.
- Vauzour D. (2014). Polyphénol et neuroprotection: où en sommes -nous aujourd'hui? *Cahier de nutrition et de diététique* , 181-187.
- Véla E., Benhouhou S. (2007). Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C. R. Biologies* , 589-605.
- Wang S.A. (2008). Comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater . *Dye. Pigment* , 714-720.

- Waranusantigul P., Pokethitiyook P., Kruatrachue M., . (2003). Kinetics of basic dye (methylene blue) biosorption by giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Environ. Pollut* , 385-392.
- Weng C. (2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastatic: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treatment Reviews* , 76-87.
- WHO. (2008).
- Wichtl M., Anton R. (2003). *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Paris: Tee et Doc-EM Inter.
- Wu C.S., Chen M.F., LEE I.L., Tung S.Y. (2007). Predictive role of nuclear factor-KB activity in gastric cancer a promising adjuvant approach with caffeic acid phenethyl ester. *J. Clin. Gastroenterol* , 894-900.
- Yang D., Wu X., Yu X., He I., Sha N.P., Xu F. (2017). Mutual growth-promoting effect between *Bifidobacterium bifidum* WBB103 and *Listeria monocytogenes* CMCC 54001. *American Dairy Science Association* , 3448-3462.
- Yeddou M.N. (2010). Kinetics and mechanism of dye biosorption onto an untreated antibiotic waste. *Desalination* , 251-259.
- Zaabat N;, Darbour N., Bayet C., Michalet S;, Doleans J. A., Chekir G.L., Akkal S. (2010). Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique algérienne. *Pharmacognosie* , 353-358.
- Zeghib A. (2013). *Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antiviral d'extraits et d'huile essentielles de quatre espèces endémiques du genre Rhymus*. Thèse de doctorat; Université de Consantine.
- Zhang D., Hamazu Y. (2003). Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of green, red and yellow bell peppers. *Food Agriculture & Environment* , 22-27.
- Zhao J., Davis L.C., Verpoorte R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances* , 283-333.
- Zhao Q.Y., Yuan F.W., Liang T, Liang X.C., Luo Y.R., Jiang M., Qing S.Z., Zhang W.M. . (2018). Baicalin inhibits *Escherichia coli* isolates in bovine mastitic milk and reduces antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science* , 2415-2422.

Annexe 1

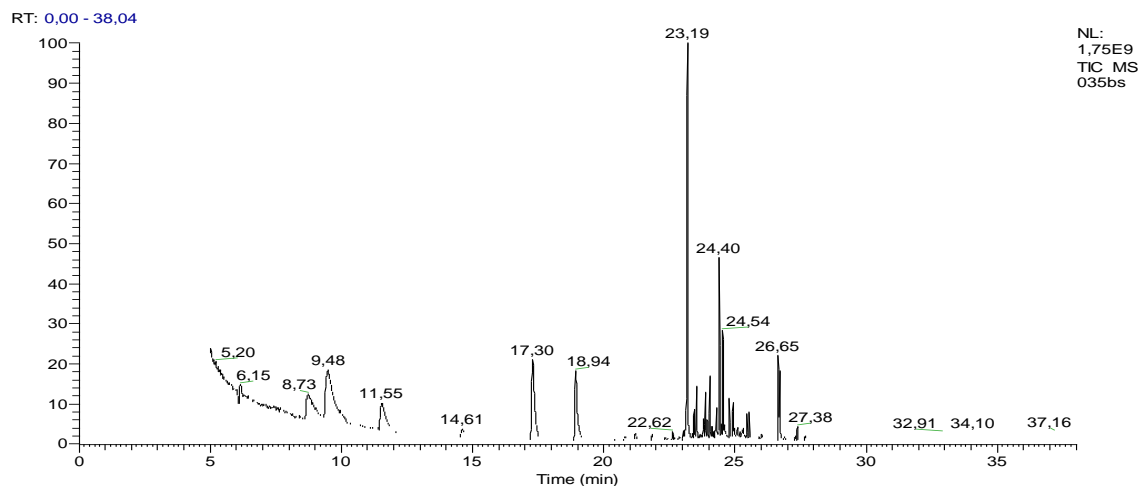


Figure 53 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de *L.stoechas* récoltée à Benidouala début mai 2016

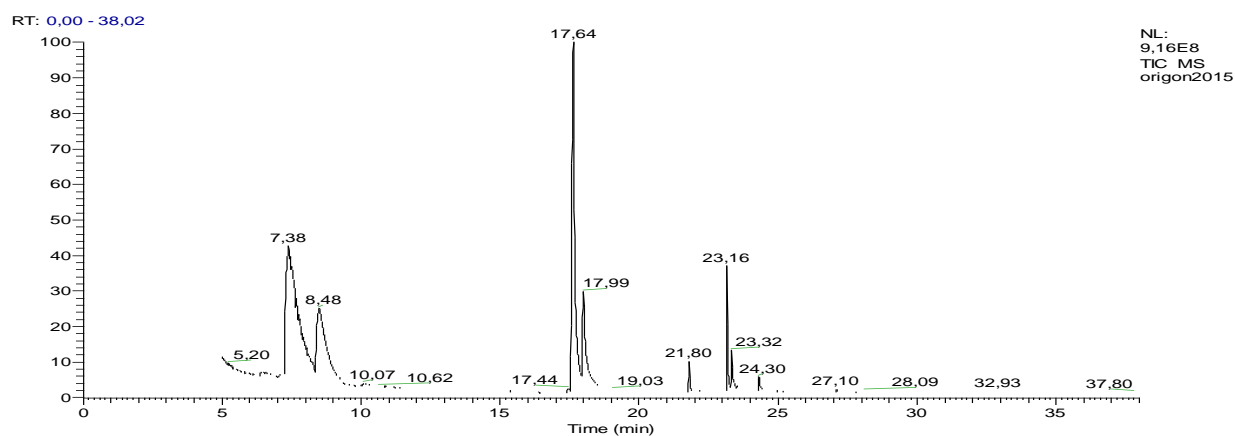


Figure 54 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de *O.glandulosum* récoltée à Tamgout la fin mai 2015

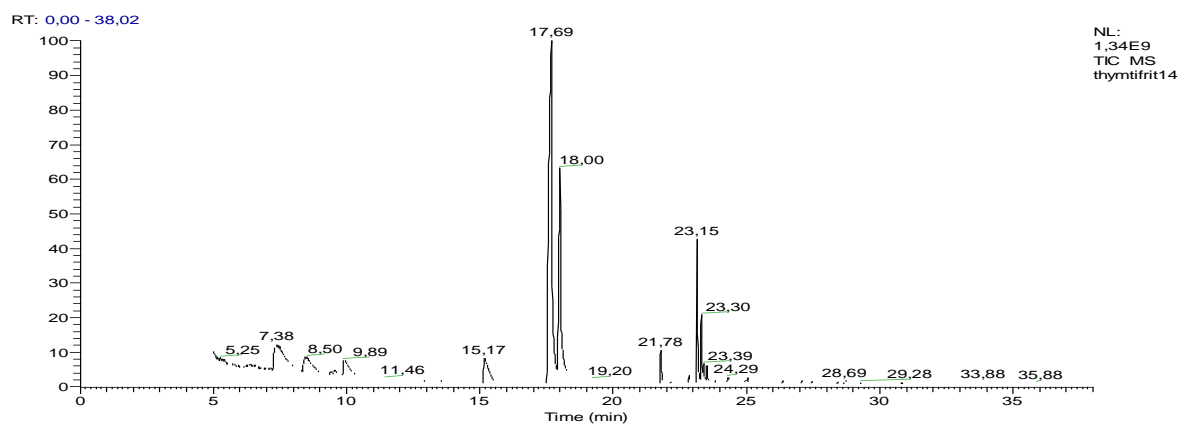


Figure 55 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de l'huile essentielle de *T.numidicus* récoltée à Tifrit la fin mai 2014

Annexe 2

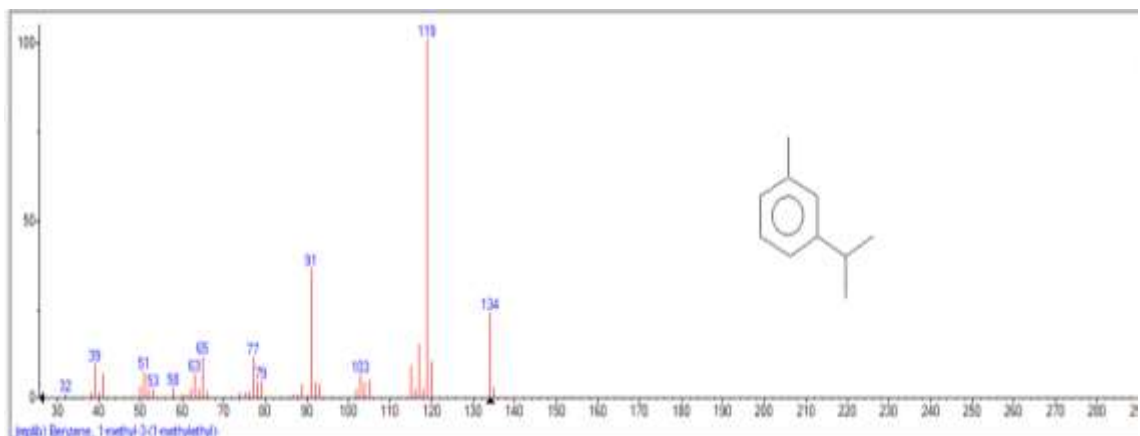


Figure 56 : Spectre de masse du p-Cymène

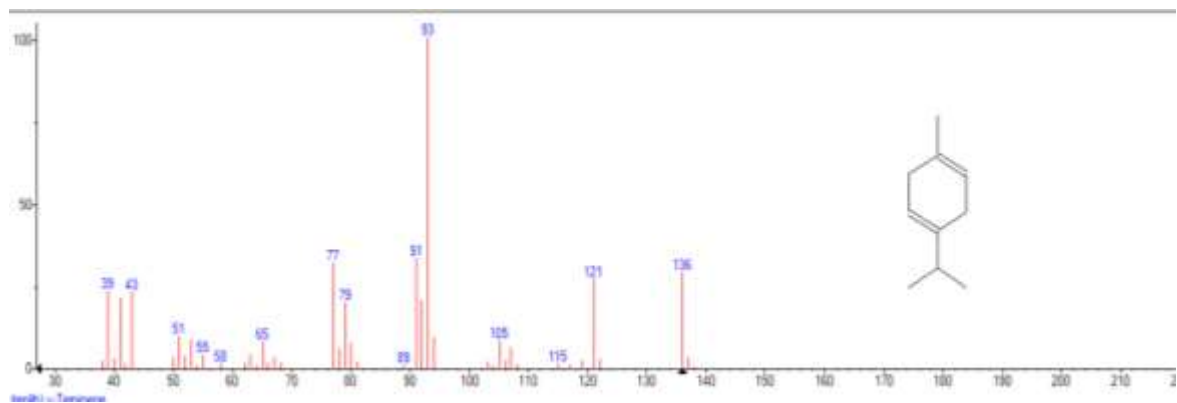


Figure 57 : Spectre de masse du γ -terpinène

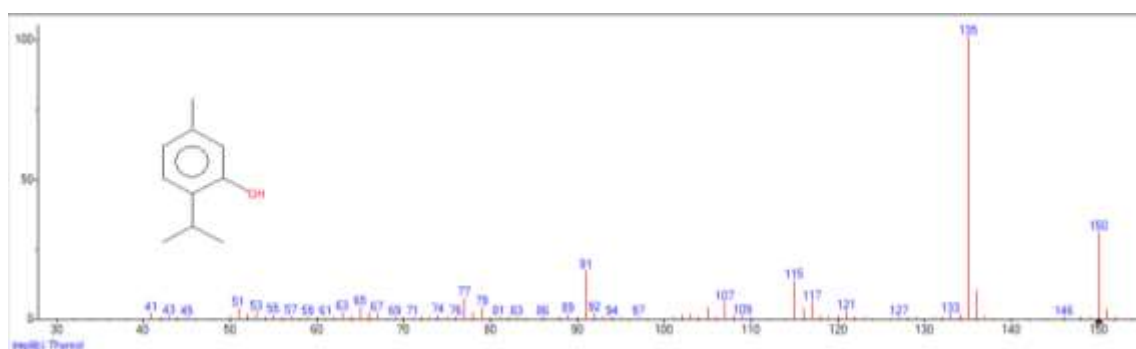


Figure 58 : Spectre de masse du Thymol

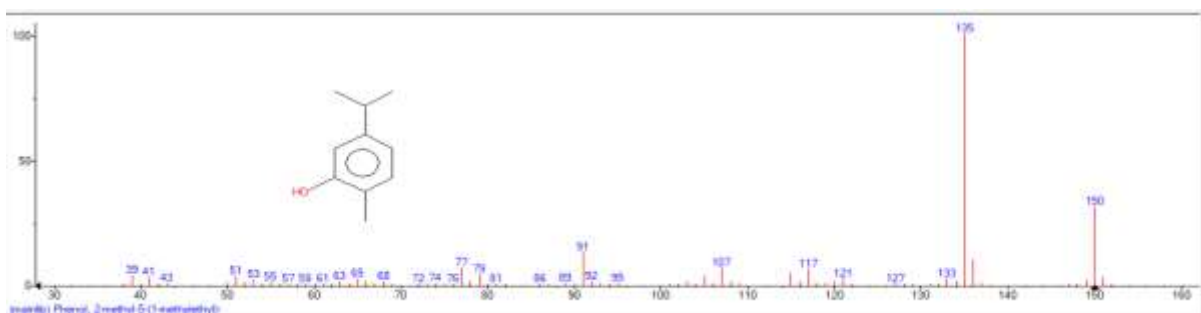


Figure 59 : Spectre de masse du Carvacrol

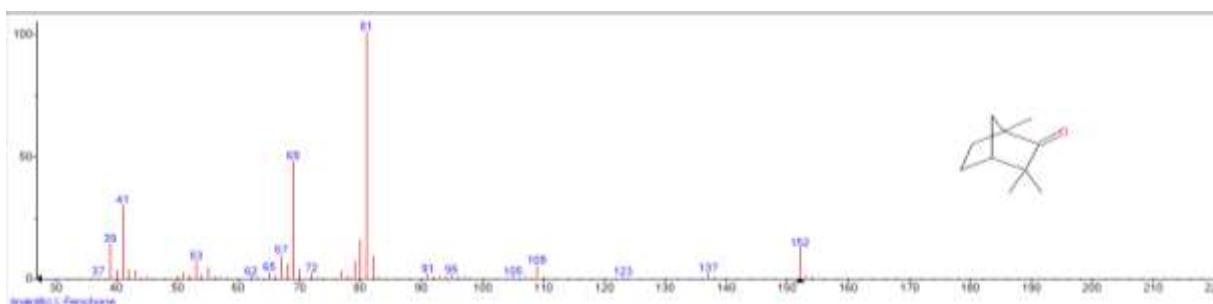


Figure 60 : Spectre de masse du Fenchone

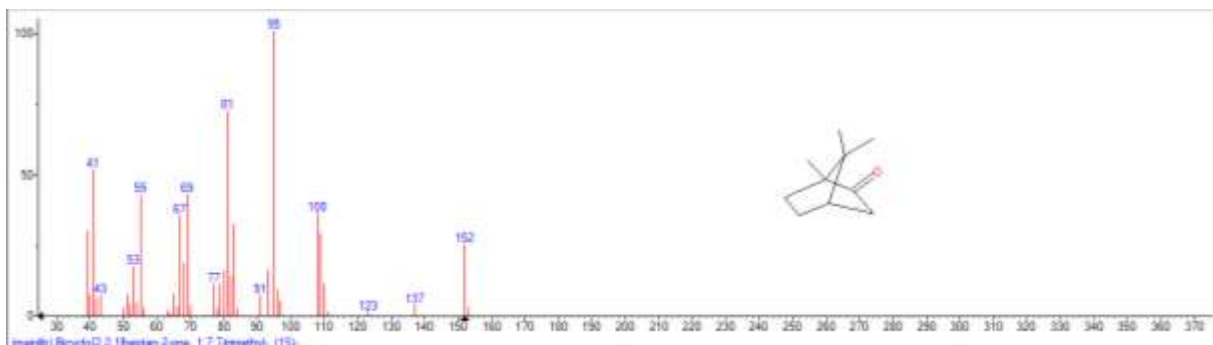


Figure 61 : Spectre de masse du Camphre

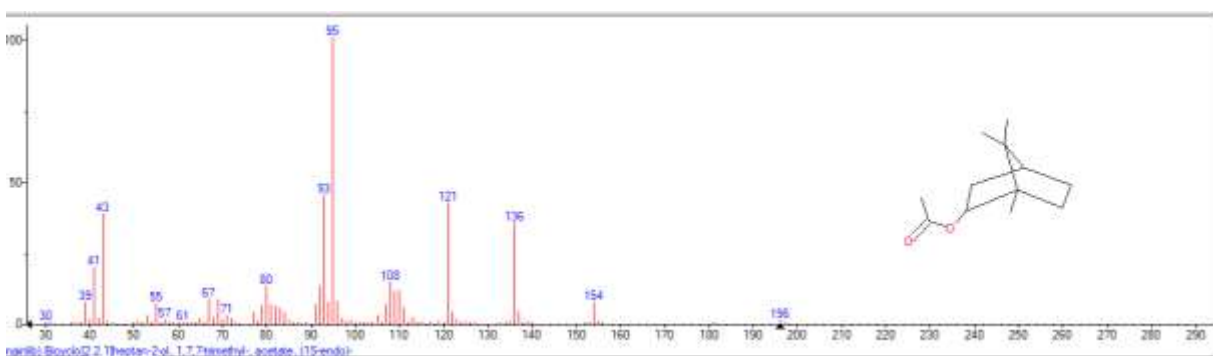


Figure 62 : Spectre de masse du Borbeol acetate

Annexe 3

Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

1) Extraction par infusion

Feuilles séchées à l'air libre des trois plantes : Origan, Lavande et Thym

Mode opératoire

- Pour chacune des trois plantes, peser 5 g de feuilles sèches et les placer dans un bécher de 250ml. Puis y ajouter 100ml d'eau distillée bouillante.
- Agiter puis laisser le mélange refroidir. Après 2 heures de contact, filtrer le mélange et transvaser le filtrat dans un flacon en verre.

2) Extraction par décoction

Feuilles séchées à l'air libre des trois plantes : Origan ; Lavande et Thym

Mode opératoire

- Pour chacune des trois plantes, peser 5 g de feuilles sèches et les placer dans un bécher de 250ml. Puis y ajouter 100ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition dans bain marie pendant 1 heure. Ensuite filtrer le mélange et transvaser le filtrat dans un flacon en verre.

3) Extraction par macération

a. Macération en milieu aqueux

- Peser 5g des feuilles sèches de chacune des trois plantes
- Placer les feuilles dans un erlenmeyer et ajouter 100ml d'eau distillée
- Laisser le mélange à température ambiante pendant 24 heures.
- Filtrer et récupérer l'extrait dans un flacon en verre.

b. Macération en milieu organique (éthanol)

- Peser 5g des feuilles sèches de chacune des trois plantes
- Placer les feuilles dans un erlenmeyer et ajouter 100ml d'éthanol à 10%
- Fermer et laisser le mélange à température ambiante pendant 24 heures.
- Filtrer et récupérer l'extrait dans un flacon en verre.

Annexe 4



Figure 63 : Mise en évidence de la présence des tanins extraits des feuilles et des sommités de la *lavandula stoechas* récoltée le 28 mai et 03 avril 2016 à Tikouvain. Système de solvant : toluène/ acétone/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec AlCl_3 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation AlCl_3 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation AlCl_3 sous UV à 365 nm.

- Tanins extraits du Thym et origan

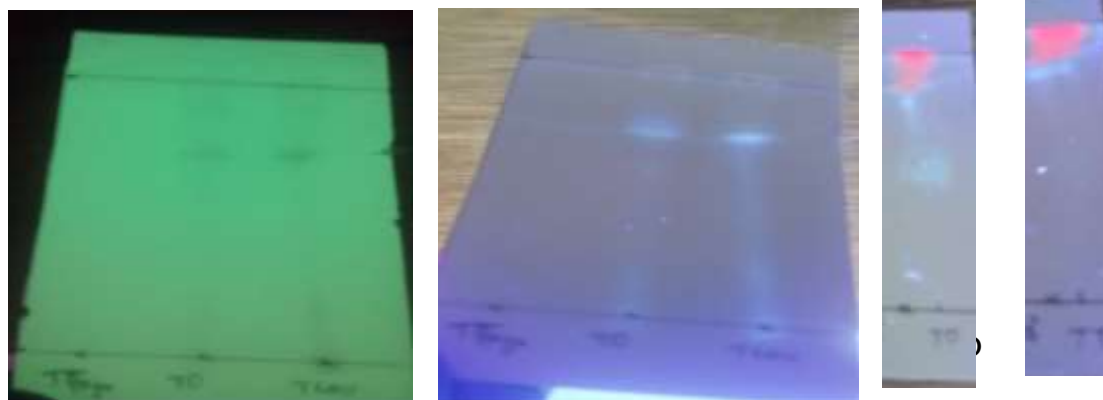


Figure 64 Mise en évidence des tanins extraits des feuilles du *Thymus numidicus*, et *O.glandulosum* récoltées fin Mai 2015 au niveau de Tifrit et de Tamgout. Système de solvant : acétone/ toluène/ acide formique (3V :3V :1V). A : révélation avec AlCl_3 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : révélation AlCl_3 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (3V :4V :2V), Révélation AlCl_3 sous UV à 365 nm.

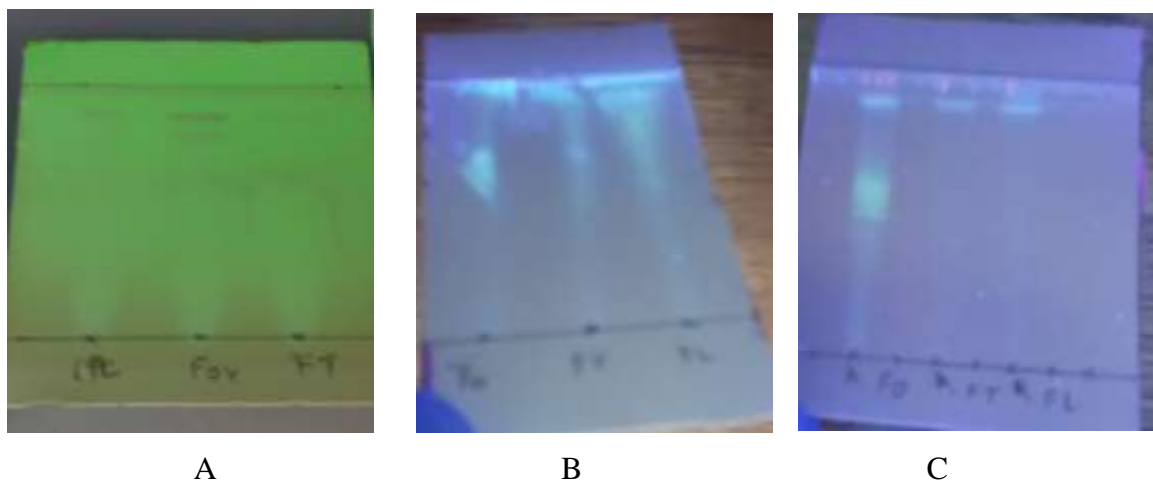


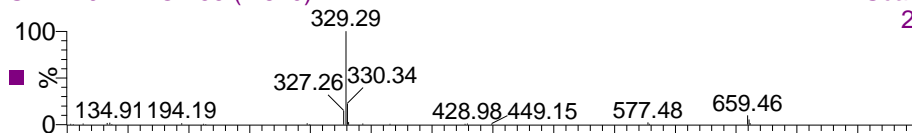
Figure 65/ Analyse CCM des flavonoïdes extraits des feuilles de *Thymus numidicus*, *O.glandulosum* récoltées fin Mai 2015 dans les localités de Tifrit et de Tamgout respectivement. A : Système de solvant : acétate d'éthyle/acide formique/eau (8V :1V :1V). Révélation avec AlCl_3 2% MeOH sous UV à 254 nm. B : Système de solvant : acétate d'éthyle/ méthanol/eau (16V :12V : 1V). Révélation AlCl_3 2% MeOH sous UV à 365nm. C : système de solvant (10 V :8V :2V), Révélation AlCl_3 sous UV à 365 nm.

Annexe 5

220518

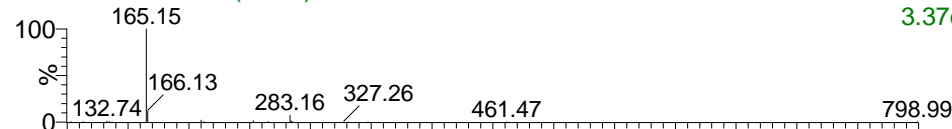
SYMA-JEB-TO 155 (2.870)

2: Scan ES-
2.28e5



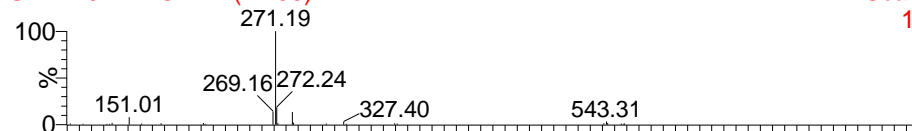
SYMA-JEB-TO 145 (2.685)

2: Scan ES-
3.37e5



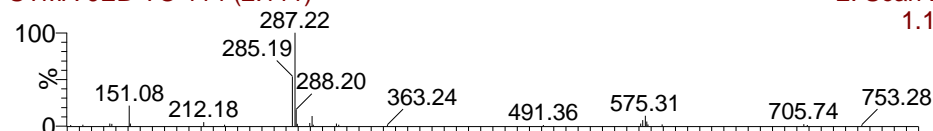
SYMA-JEB-TO 124 (2.296)

2: Scan ES-
1.69e5



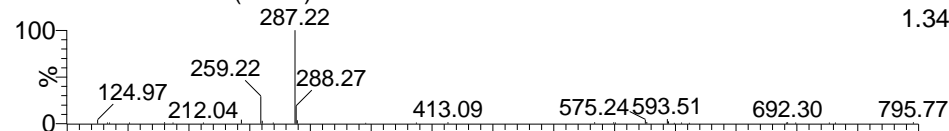
SYMA-JEB-TO 114 (2.111)

2: Scan ES-
1.19e5



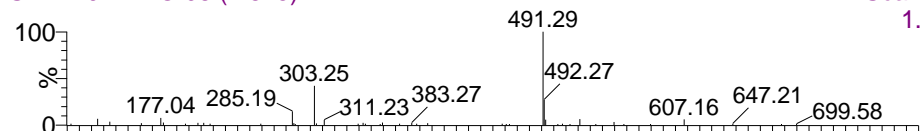
SYMA-JEB-TO 106 (1.963)

2: Scan ES-
1.34e5



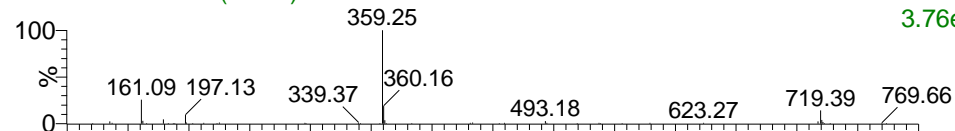
SYMA-JEB-TO 98 (1.815)

2: Scan ES-
1.21e5



SYMA-JEB-TO 91 (1.685)

2: Scan ES-
3.76e5



SYMA-JEB-TO 83 (1.537)

2: Scan ES-
1.00e5

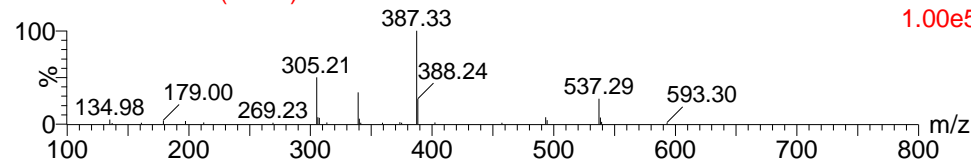
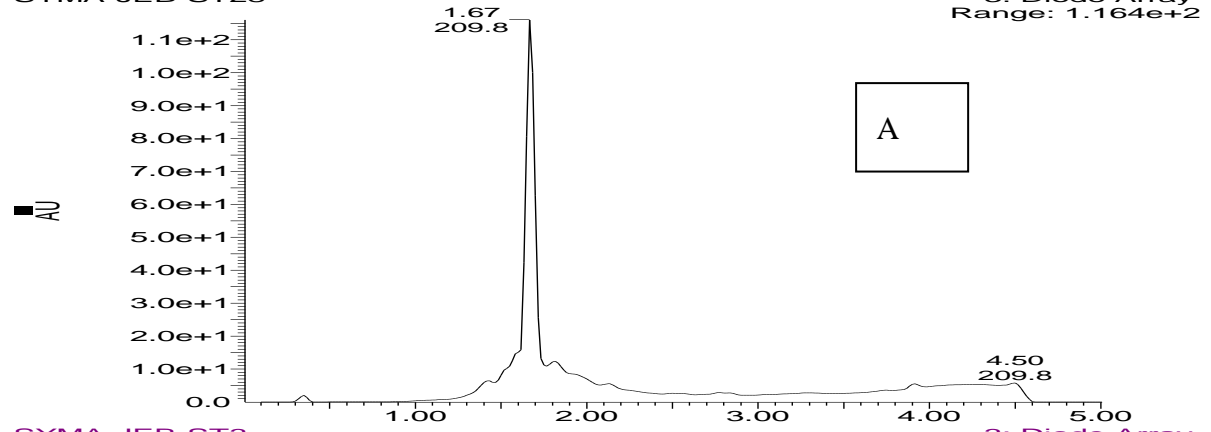


Figure 66 : Spectre de masse en mode négatif des tanins extraits de l'*O.glandulosum*

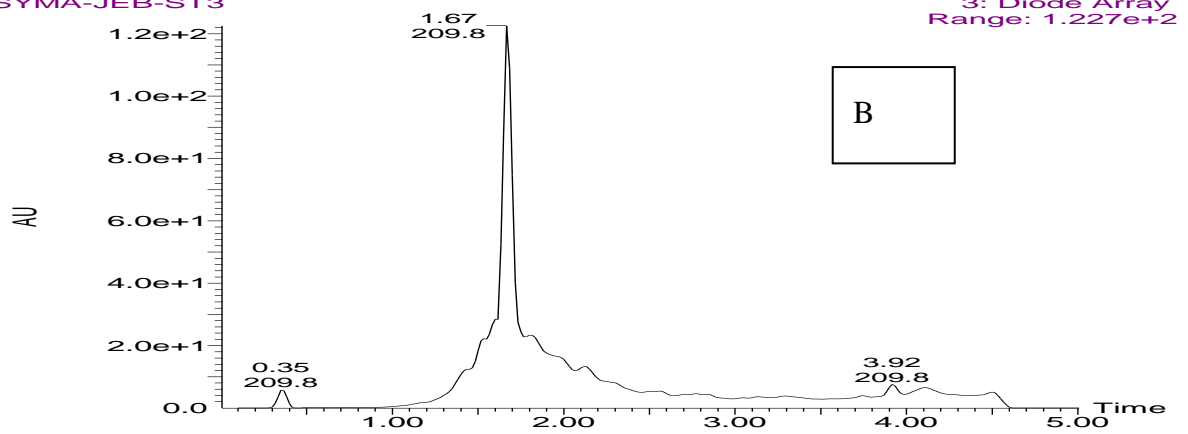
Annexe 6

Annexe 6

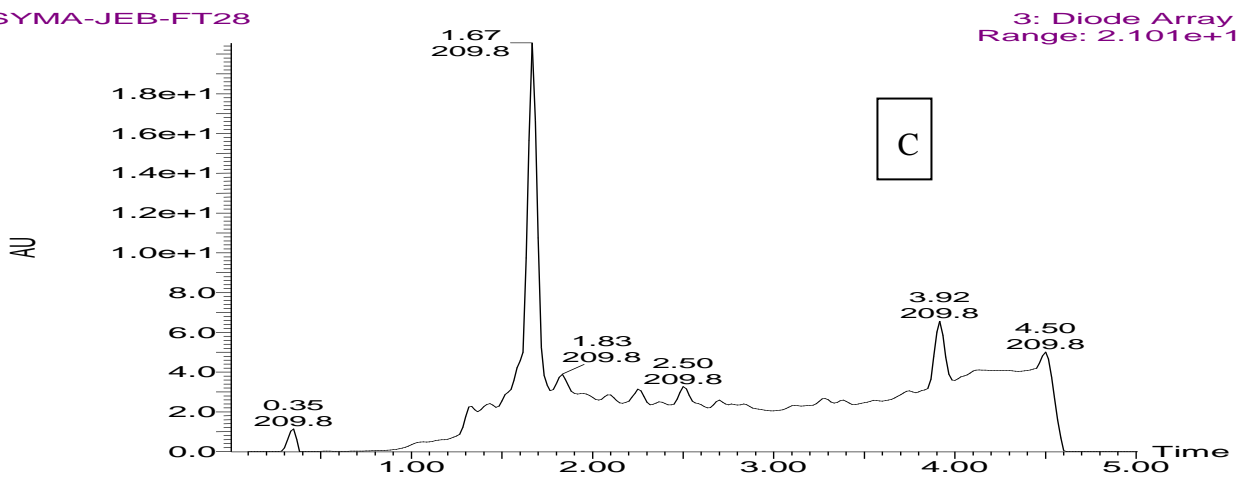
220518
SYMA-JEB-ST28



SYMA-JEB-ST3



SYMA-JEB-FT28



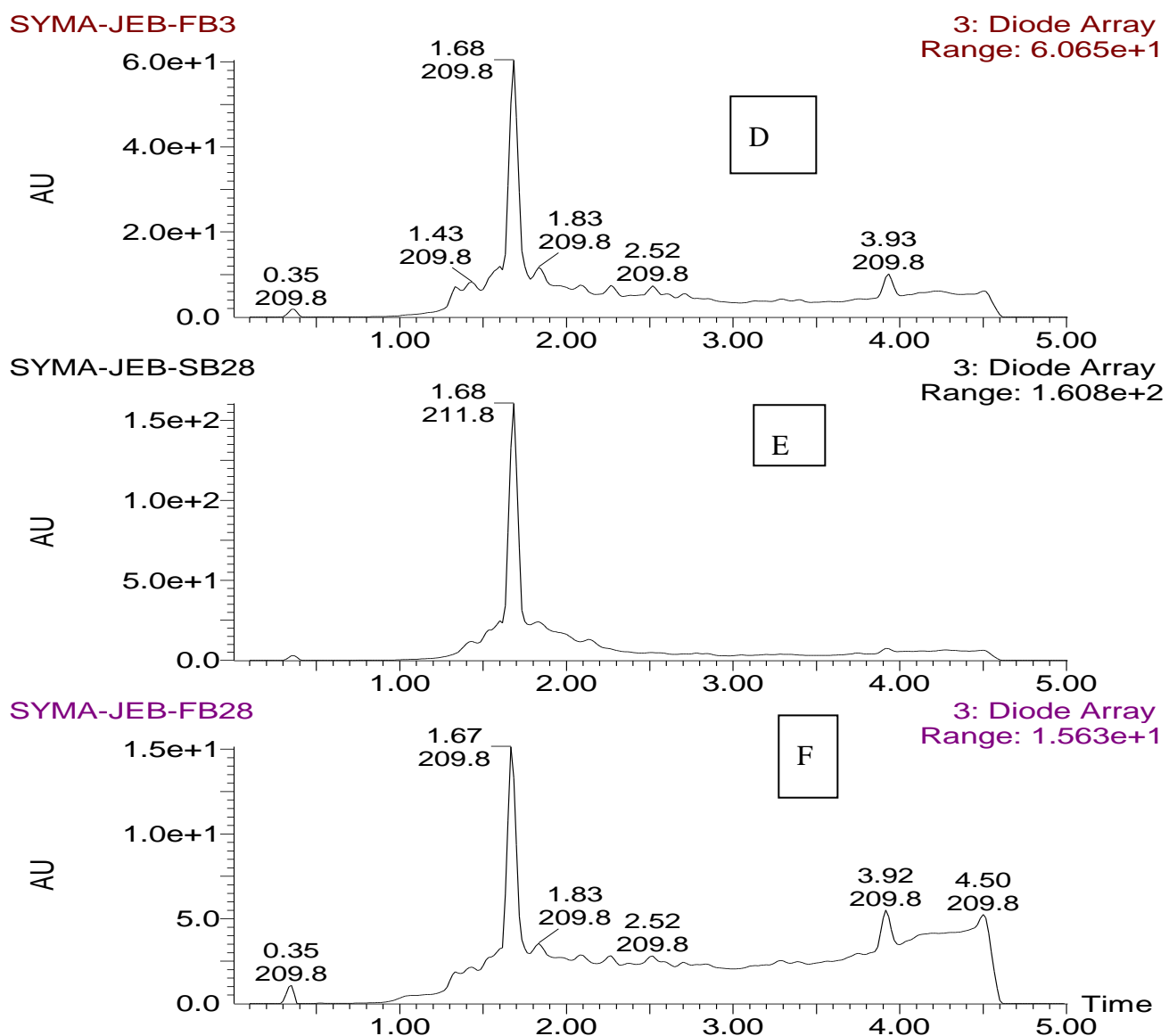


Figure 67 : Profils chromatographiques des extraits de Tanins de *L.stoechas* issus de différentes récoltes.

- A : Sommités fleuries récoltées à Tikobaine le 28 Mai 2016,
- B: Sommités fleuries récoltées à Tikobaine le 3 Mai 2016,
- C: Feuilles récoltées à Tikobaine le 28 Mai 2016,
- D : Sommités fleuries récoltées à Béni douala le 28 Mai 2016,
- E: Feuilles récoltées à Béni douala le 3 Mai 2016,
- F : Feuilles récoltées à Béni douala le 28 Mai 2016

Annexe 7

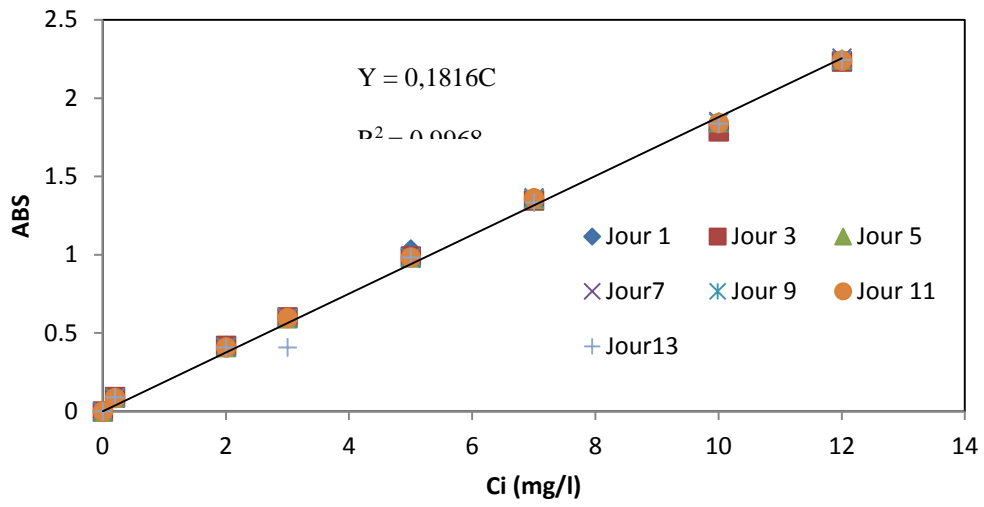


Figure 68 : Courbe d'étalonnage UV visible des solutions du bleu de méthylène effectuée à 660nm

Résumé

Une évaluation de l'activité biologique, thérapeutique et environnementale a été menée sur des extraits des parties aériennes de trois espèces de la famille des Labiées à savoir *Origanum glandilosum*, le *Thymus numidicus* et la *Lavandula stoéchas*. Ces plantes ont été récoltées dans différentes localités de la wilaya de Tizi Ouzou. En premier lieu, nous avons effectué des extractions des huiles essentielles et des différents composés polyphénoliques contenus dans les feuilles et sommités de ces plantes. Par la suite une étude analytique a été menée sur ces différents extraits afin d'identifier les principaux composés à l'origine des activités biologiques enregistrées. Par la suite des corrélations entre la variation de la composition chimique, de la période, du lieu de récolte, ainsi que de l'activité biologique des différents extraits ont été établies. Enfin les résidus des feuilles de *Thymus numidicus* et d'*Origanum glandilosum* ont été utilisés pour évaluer leur efficacité dans la dépollution de solutions aqueuses contenant du bleu de méthylène.

Abstract

An evaluation of the biological, therapeutic and environmental activity was conducted on extracts of the aerial parts of three species of the family Labiées namely *Origanum glandilosum*, *Thymus numidicus* and *Lavandula stoéchas*. The plants were harvested in different places in the department (Wilaya) of Tizi Ouzou. First of all, we carried out extractions of the essential oils and of various polyphenolic compounds contained in the leaves and luminous heads of the plants. Second, an analytical study was conducted on the different extracts in order to identify the main compounds at the origin of the biological activities. Finally, the leaves residues of *Thymus numidicus* and *Origanum glandilosum* were used to evaluate their effectiveness in the depollution of aqueous solutions containing methylene blue.