

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE

FILIERE : CHIMIE

MÉMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE.

THEME

Extraction et caractérisation de quelques huiles essentielles
(la menthe et le thym) dans la région de la Kabylie.

Présenté par : **Saidani Samira**

Chibane Safia

Soutenu publiquement le 11 / 10 / 2021, devant le Jury composé de :

<i>Mme</i> LOUNI DALILA	<i>MCA</i>	<i>UMMTO</i>	<i>PRESIDENTE</i>
<i>Mme</i> HEDJAL MERIEM	<i>Pr</i>	<i>UMMTO</i>	<i>ENCADREUR</i>
<i>Melle</i> AISSAOUI FATIMA	<i>DOCTORANTE</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Co-ENCADREUR</i>
<i>Mme</i> AIT MOULOUD LILA	<i>MCA</i>	<i>UMMTO</i>	<i>EXAMINATRICE</i>



REMERCIEMENTS

JE TIENS D'ABORD À REMERCIER DIEU LE TOUT PUISSANT DE NOUS AVOIR PERMIS DE MENER À TERME CE TRAVAIL

NOUS EXPRIMONS NOTRE PROFONDE GRATITUDE À NOTRE ENCADREUR, PROFESSEUR MADAME. HEDJEL-CHEBHAB. M, POUR TOUS LES EFFORTS QU'ELLE A CONSENTIS TOUT AU LONG DE L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL, SES ENCOURAGEMENTS, ET SES PRÉCIEUX CONSEILS.

NOS SINCÈRES REMERCIEMENTS À NOTRE CO-ENCADREUR, LA DOCTORANTE MADemoiselle AISSAOUI. F, POUR L'AIDE ET LE SUIVI QU'ELLE NOUS A FOURNIS TOUT AU LONG DE LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE.

NOUS EXPRIMONS TOUTE NOTRE RECONNAISSANCE ENVERS LES MEMBRES DE JURY, MADAME LOUNI. D ET MADAME AIT MOULOUD MAITRES ASSISTANTES CHARGÉ DE COURS DE L'UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI.

NOUS REMERCIONS, ÉGALEMENT, TOUTE PERSONNE QUI A PARTICIPÉ DE PRÈS OU DE LOIN À LA RÉALISATION DE CE TRAVAIL, ET NOUS ESPÉRONS QUE CE TRAVAIL SOIT LA BONNE EXPRESSION DE NOTRE GRATITUDE.



DÉDICACE

À **MES PARENTS**, QUI N'ONT JAMAIS CESSÉ DE ME SOUTENIR ET DE M'ENCOURAGER PAR LEURS PRIÈRES ET LEURS SACRIFICES. QUE DIEU VOUS ACCORDE UNE LONGUE VIE.

À **MES DEUX FRÈRES : MADJID ET AMINE** ET MA SCEUR: **FATMA**. DONT LA PRÉSENCE M'A TOUJOURS DONNÉ LA FORCE D'ALLER DE L'AVANT.

À TOUTES **MA GRANDE FAMILLE**

À TOUS MES AMIS (ES)

À MON AMIE ET MA COLLÈGUE **SAFIA**

À TOUS **MES ENSEIGNANTS**, DEPUIS MES PREMIÈRES ANNÉES D'ÉTUDES

À TOUS CEUX QUI SONT CHÈRES ET QUE JE LES PAS CITER.

SAMIRA





DÉDICACES

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL :

À MES TRÈS CHERS PARENTS **RABAH** ET **HOURLA** QUI M'ONT OFFERT LEUR AMOURS ET LEUR SOUTIEN ET QUI N'ONT CESSÉ DE M'ENCOURAGER ET M'ENSEIGNER DURANT TOUTE MES ANNÉES D'ÉTUDES. QUE DIEU TOUT PUISSANT VOUS GARDE ET LEURS PROCURE LA SANTÉ, LE BONHEUR ET UNE LONGUE VIE.

À MON ONCLE **MOUH** QUE J'AIME ET QUE J'APPRÉCIE, QUI M'A ÉLEVÉ ET M'A FOURNI TOUT CE DONT J'AVAIS BESOIN SANS NÉGLIGENCE, QUE DIEU LE PROTÈGE.

À MES CHERS FRÈRES : **BELAID, ESSAID** ET **RAYANE**

À MES CHÈRES SŒURS : **NAIMA, LYNDIA, NASSIMA, TINHINANE** ET **KAMELIA**

À TOUTES **MA GRANDE FAMILLE**

À TOUS MES AMIES

À MON AMIE ET MA COLLÈGUE **SAMIRA**

À TOUS **LES ENSEIGNANTS**, DEPUIS MES PREMIÈRES ANNÉES D'ÉTUDES

À TOUS CEUX QUI SONT CHÈRES ET QUE JE LES PAS CITER

SAFLA



Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

% : Pourcentage

AFNOR : Agence Française de Normalisation

CE50 : Concentration efficace

CPG :Chromatographie en phase gazeuse

CG/MS :Chromatographie gazeuse couplé à la spectroscopie de masse

d : Densité relative

DL50:Dose létale 50

DMT :Dose toléré maximum

DPPH :2,2- diphényl-1-picrylhydrazyle

DZI : Diamètre des zones d'inhibitions

E. coli :*Escherichia coli*

E+H :Eau+huile

Fig :Figure

g :Gramme

H(%) :Taux d'humidités

HE :Huile essentielle

HEs :Huiles essentielles

I_A :Indice d'Acide

I_E :Indice d'Ester

I_S :Indice de Saponification

IC50 :Concentration inhibitrice 50

IgA : Immunoglobulines A

Kg :Kilogramme

L :Litre

mg :Milligramme

MH :Muller Hinton

ml :Millilitre

mm :millimètre

M. spicata :*Mentha spicata*

M_F : Masse fraîche

M_S : Masse sèche

n_T :Indice de réfraction

pH :Potentiel d'hydrogène

RHE :Rendement

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

T :Température

T. vulgaris : *Thymus vulgaris*

UV : Ultra-violet

V : Volume

ZI : Zones d'inhibition

Liste des tableaux

Tableau 1: Listes des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique	20
Tableau 2: La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des huiles essentielles.	30
Tableau 3: L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne	30
Tableau 4: Caractéristiques organoleptiques des HEs des plantes étudiées et celles d'AFNOR.	33
Tableau 5: Comparaison des caractéristiques physiques des huiles avec les normes AFNOR	34
Tableau 6: Comparaison des caractéristiques chimiques des deux huiles avec la littérature .	36
Tableau 7 : Pourcentage d'inhibition de l'HE de <i>M. spicata</i> et de <i>T. vulgaris</i> par la méthode du DPPH.....	37
Tableau 8 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique	37
Tableau 9 : Valeurs d'IC50 d'HE de <i>M. spicata</i> , d'HE de <i>T. vulgaris</i> et d'acide ascorbique. .	39
Tableau 10 : Estimation de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>M. spicata</i> sur les souches testées.	41
Tableau 11 : Estimation de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>T. vulgaris</i> sur les souches testées	41
Tableau 12: Comparaison entre les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>M. spicata</i> avec d'autre étude.....	42
Tableau 13: Comparaison entre les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>T. vulgaris</i> avec d'autres études.	42

Listes des figures

Figure 1: la menthe.....	3
Figure 2: Le thym.....	5
Figure 3: Structure chimique de certains composés des huiles essentielles.....	8
Figure 4: Schéma de distillation par entrainement à la vapeur	14
Figure 5: Schéma d'un montage d'hydrodistillation simple.	14
Figure 6: Montage de Clevenger	14
Figure 7: Montage d'hydrodiffusion.....	15
Figure 8: Appareil d'expression à froid	15
Figure 9: Schéma de la technique d'extraction par le CO ₂ supercritique	16
Figure 10: Dispositif d'extraction par micro-onde	17
Figure 11: Schéma d'un extracteur soxhlet	17
Figure 12: <i>Mentha spicata</i>	19
Figure 13: <i>Thymus vulgaris</i>	19
Figure 14: Broyage de <i>Mentha spicata</i>	20
Figure 15: Broyage de <i>Thymus vulgaris</i>	20
Figure 16: Montage d'hydrodistillation manipulé (Clevenger).....	21
Figure 17: Le réfractomètre.....	23
Figure 18: Le mélange réactionnel : HE+ Ethanol	24
Figure 19: Pesée de l'HE	25
Figure 20: Le reflux du mélange	25
Figure 21: Titration de l'excès de KOH par du HCl	25
Figure 22: Le pH-papier.....	26
Figure 23: Réaction d'un antioxydant avec le radical	27
Figure 24: Principe de la diffusion sur disque	28

Figure 25: Les disques	29
Figure 26: Préparation des suspensions bactériennes	29
Figure 27: Dépôt d'HE	30
Figure 28: Dépôt des disques	30
Figure 29: Taux d'humidités des deux plantes.	31
Figure 30: Evaluation du rendement d'HEs des deux plantes en fonction de temps.....	32
Figure 31: Estimation de la valeur du pH	36
Figure 32: Les pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de <i>M. spicata</i> et de l'HE de <i>T. vulgaris</i>	37
Figure 33: Les pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique.....	38
Figure 34: Valeurs d'IC50 de l'HE de <i>M. spicata</i> , de l'HE de <i>T. vulgaris</i> et d'acide ascorbique	39
Figure 35: Zones d'inhibitions de l'effet de l'HE de <i>M. spicata</i> sur les souches bactériennes <i>E. coli</i> (fig a) et <i>S. aureus</i> (fig b).	40
Figure 36: Zones d'inhibitions de l'effet d'HE de <i>T. vulgaris</i> sur les souches bactériennes <i>S. aureus</i> (fig c) et <i>E. coli</i> (fig d).	40

Résumé

Cette étude a pour objectif l'extraction et la caractérisation physicochimique et biologique des huiles essentielles des deux plantes prévenant de la région de la Kabylie (*mentha spicata* et *thymus vulgaris*).

L'extraction a été réalisée par la technique d'hydrodistillation de type Clevenger, et fournit des rendements acceptables pour les deux plante. Les propriétés physico-chimiques optées pour le contrôle de la qualité de nos huiles essentielle sont presque en accord avec la littérature et aux normes AFNOR.

L'étude du pouvoir antioxydant a été réalisée par la méthode de réduction du radical DPPH a montré l'existence d'une activité antioxydante de nos huiles essentielles, la plus forte est celle de l'huile essentielle de *M. spicata* suivit de l'huile essentielle de *T. vulgaris*, mais reste d'une efficacité inférieur à celle d'acide ascorbique utilisé comme témoin positif.

L'estimation de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu solide sur deux bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylocoque aureus*), les résultats obtenus varient d'une souche à une autre pour les huiles essentielles des deux plantes, sauf la souche *Escherichia coli* qui résiste à l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

Mots clés : huile essentielles, *M. spicata*, *T. vulgaris* , Hydrodistillation, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

The objective of this study is the extraction and physicochemical and biological characterization of essential oils from two preventive plants from the Kabylia region (*Mentha spicata* and *T. vulgaris*).

The extraction was carried out by the Clevenger type hydrodistillation technique, and provides acceptable yields for both plants. The physicochemical properties chosen for the quality control of our essential oils are almost in agreement with the literature and with AFNOR'S standards.

The study of the antioxidant power was carried out by the method of reduction of the radical DPPH showed the existence of an antioxidant activity of our essential oils, the strongest is that of the essential oil of *M. spicata* followed by essential oil of *T. vulgaris*, but remains less effective than that of ascorbic acid used as a positive control.

The estimate of the antibacterial activity of these essential oils was determined by the method of diffusion in a solid medium on two bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*), the results obtained vary from one strain to another for the essential oils of two plants, except the *Escherichia coli* strain which is resistant to the essential oil of *T. vulgaris*.

Key words : Hydrodistillation, essential oil, *mentha spicata*, *thymus vulgaris*, yield, antioxidant activity, antibacterial activity.

Sommaire

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Listes des figures

Introduction générale..... **Erreur ! Signet non défini.**

PARTIE 1 : Synthèse bibliographique

1. La Menthe	2
1.1. Histoire de la menthe verte	2
1.2. Origine	2
1.3. La taxonomie	2
1.4. Caractéristiques morphologiques.....	3
1.5. Composition chimique.....	3
1.6. Intérêt pharmaceutique et biologique	4
2. Le thym	4
2.1. Histoire du thym	4
2.2. Origine	4
2.3. La taxonomie	5
2.4. Caractéristiques morphologiques.....	5
2.5. Composition chimique.....	6
2.6. Intérêt pharmaceutique et biologique	6
3. Définition des huiles essentielles	7
4. Facteurs de variabilités des huiles essentielles.....	8
4.1. L'origine botanique et le cycle végétatif	8
4.2. L'organe producteur	9
4.3. Les facteurs extrinsèques.....	9
4.4. Le mode d'extraction.....	9
4.5. Les races chimiques.....	9
5. Caractérisation des huiles essentielles.....	9
5.1. Caractérisation organoleptiques.....	9
5.2. Caractérisation physiques	10
5.3. Caractérisation chimiques.....	10
5.4. Caractérisation chromatographique	11

6. Localisation des huiles essentielles	11
7. Toxicité des huiles essentielles.....	12
7.1. Toxicité liée à la durée d'exposition.....	12
7.2. Toxicité liée aux organes	12
8. Méthodes d'extraction des huiles essentielle	13
8.1. Procédés par distillation.....	13
8.2. L'expression	15
8.3. Extraction par CO2 supercritique	16
8.4. Extraction assistée par micro-onde.....	16
8.5. Extraction par solvant.....	17
9. Intérêt des huiles essentielles	17
9.1. En cosmétologie	17
9.2. En parfumerie	18
9.3. En agro-alimentaire	18
9.4. En pharmacie	18

PARTIE 2 : Etude expérimentale

2. Matériel	19
2.1. Matériel végétale :	19
2.2. Matériels de laboratoire	19
3. Méthodes	20
3.1. Récolte des échantillons des espèces végétales	20
3.2. Extractions des huiles essentielles	21
3.2.1. Technique d'Hydrodistillation	21
3.3. Etude de la cinétique d'extraction	21
3.4. Rendement en huile essentielle.....	22
3.5. Le taux d'humidité.....	22
3.6. Caractéristiques organoleptiques	22
3.7. Caractéristiques physico-chimiques.....	22
3.7.1. Densité relative	22
3.7.2. Indice de réfraction	23
3.7.3. Indice d'acide.....	24
3.7.4. Indice de saponification.....	24
3.7.5 . Indice d'ester	26
3.7.6. Ph	Erreur ! Signet non défini.
3.8. L'étude de l'activité biologique.....	26
3.8.1. L'activité antioxydant.....	26

3.8.1.1. Méthode de DPPH :	26
3.8.2. Activité antibactérienne	28
3.8.2.1. Présentation des souches utilisées	28
3.8.2.2. Evaluation qualitative : Aromatogramme.....	28

PARTIE 3 : Résultats et discussions

3.1. Détermination des taux d'humidités :	31
3.2. Cinétique de rendement :	31
3.3. Caractéristiques organoleptiques.....	Erreur ! Signet non défini.
3.4. Caractéristiques physico-chimiques	34
3.4.1. Densité relative	34
3.4.2. Indice de réfraction.....	34
3.4.3. Indices d'acides.....	34
3.4.4. Indice de saponification	35
3.4.5. Indice d'ester	35
3.4.6. Le pH	35
3.5. L'étude de l'activité biologique	36
3.5.1. L'activité antioxydante.....	36
3.5.1.1. Détermination du pourcentage d'inhibition.....	36
3.5.1.2. Détermination d'IC50.....	38
3.5.2. L'activité antibactérienne :	40
Conclusion générales.....	Erreur ! Signet non défini.
Références bibliographiques	
Annexes	



Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer....mais aussi de maintenir son équilibre soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé (**Zeghad, 2009**). Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle économique considérable dans le secteur des industries de l'agroalimentaire, de la parfumerie, des cosmétiques,... et de la pharmacie. En effet, les plantes représentent une source inépuisable de remède traditionnel et efficace grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, phénols, tanins, vitamines, et huiles essentielles (**Khaldi, 2012**).

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés en composés aromatiques (odorant), volatils. Leur utilisation est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, les huiles essentielles représentent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications grâce à leur potentiel thérapeutique et de leurs constituants (**Benini, 2007**).

Quel que soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (agroalimentaire, parfumerie, cosmétique, et industrie pharmaceutique), une parfaite connaissance de leurs propriétés est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité e vue de leur valorisation.

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant (**Bouhdid 2006**).

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont la source de produits à forte valeur ajoutée. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier certaines plantes, poussant à l'état spontané dans la région de Kabylie. Ce travail a pour objet l'extraction et l'analyse chimique des huiles essentielles des espèces appartenant à la famille des lamiacées (thym et menthe).

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première, une étude des généralités sur deux plantes médicinales (la menthe et le thym), des généralités sur des huiles essentielles, dans la seconde partie (pratique), Nous avons décrit en détail le matériel végétal, les méthodes de caractérisation et l'instrument d'analyse ainsi que le protocole opératoire du procédé d'extraction de l'huile essentielle. Et en fin on termine par conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.



PARTIE 1 : Synthèse bibliographique

1 La Menthe

1.1 Histoire de la menthe verte

La plante était déjà connue des égyptiens. Il a été retrouvé des fragments de plante séchée dans des tombeaux remontant aux XIII^e et XV^e siècle av.J-C. Elle était utilisée pour la conservation des momies (**Bourgeois, 2009**). Probablement en raison fort arôme, la menthe était utilisée avec le myrte et le romarin durant les cérémonies funéraires, afin de masquer l'odeur des cadavres.

Les penseurs grecs étaient opposés à Aristote et Hippocrate qui disaient que la menthe tuait le courage tant elle incitait à l'amour et en interdisaient donc l'utilisation par les soldats. Le temps leur a donné raison mais c'est loin d'être sa seule vertu (**Sommerard, 2012**). Discorde et Pline affirmaient qu'elle constituait un facteur de stérilité : « la menthe tue le fœtus et s'oppose à la reproduction en empêchant la coagulation de sperme»(**Staub, 2013**).

A la fin du VIII^e ou au début du IX^esiècle, la thérapeutique du Moyen-Age fait fréquemment appel à ces diverses espèces, le *Sisymbrium* représentant approximativement la menthe verte (**Fournier, 2010**). Elle était utilisée pour traiter les rhumes ou certains troubles digestifs. Le terme menthe apparaît en 1275 dans la littérature française.

1.2 Origine

Les origines de la menthe sont encore bien imprécises, la zone géographique de départ étant un des rares faits où les auteurs se retrouvent. Elle est originaire d'une vaste région englobant le nord de l'Afrique, le bassin méditerranéen, l'Europe et le Proche-Orient. Elle fut introduite en Grande-Bretagne par les romains. Elle s'est ensuite diffusée sur l'ensemble du globe, jusqu'en Amérique du Nord, au Japon et en Australie. Elle pousse naturellement au Maroc.

Elle est aujourd'hui retrouvée partout dans le monde, d'ailleurs elle est parfois considérée comme envahissante. La diversité des sols et les multiplications ont donné de nombreuses espèces, certaines études ont d'ailleurs montré que *mentha spicata* serait le résultat d'une hybridation entre *mentha longifolia* et *mentha suaveolens* (**Bruneton, 1999**).

1.3 La taxonomie

D'après **Iserin et Masson 1997**, la menthe est classée comme suit :

- Règne : plante
- Division : magnoliophyta
- Classe : magnoliopsi
- Ordre : lamiales
- Famille : lamiaceae
- Genre : mentha.

- Espèce : mentha spicata.

Mentha est un genre de la famille des lamiacées. Il comprend 20 espèces répandues dans le monde (**Chalchat, 2000**). L'huile essentielle de la menthe est produite en grande échelle partout dans le monde. Elle peut contenir jusqu'à 200 composants. Le menthol et la menthone sont les constituants majeurs (70%) des huiles essentielles de la majorité des menthes (Lawrence 1972). Ces composés sont exploités comme matière première dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (**Encyclopaedia, 1965**).

1.4 Caractéristiques morphologiques

La menthe est une plante indigène cultivée de la famille des labiées, herbacée à végétation vigoureuse, son odeur pénétrante spéciale et une saveur aromatique, brûlante mais laisse une sensation de fraîcheur (**Hammami, 2005**).

C'est une herbe annuelle, semblant pérenne en se reproduisant à partir de nombreux stolons, traçants, rampant, chevelu, aériens ou souterrains à racine adventives (**Baba Aissa, 1999**). La menthe est caractérisée par des tiges quadrangulaires le plus souvent violacées (**Bruneton, 1999**). Un peu velue de 50 à 80cm de haut dressée ramifiée, se divise en rameaux opposés.



Figure 1: la menthe (**Anonyme 1**)

Les feuilles sont ovales ou lancéolées et crénelées en scie opposées par paires longues de 4 à 8cm courtement pétiolées de couleur vert pâle pas de stipules. Adaptation des feuilles aux climats secs caractérisée par un limbe coriace réduites et des poils sécréteurs.

Les inflorescences de fleurs faiblement bilabées de couleur pourpre sont groupées en épis très serrés. Le calice présente cinq dents la corolle pourpre violacées (parfois blanche) est terminée par quatre lobes, les quatre étamines sont incluses dans la corolle, les graines sont rares et stériles (**Daniel et al, 2002**).

1.5 Composition chimique

Les principales études phytochimiques des feuilles de la menthe. Ont été bien identifiées un large éventail de constituants à savoir : les flavonoïdes (lutéoline, apigénine), les acides phénoliques (eugénol, acidecaféique, acide rosmarinique) (**Arumugam, 2006**).

Plusieurs composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle extraite à partir de parties aériennes de la menthe. Les principaux composants de l'huile incluent le carvone, limonène, cinéole, menthone, menthofurane, isomenthone, acétate de menthyle, menthol, pulégone (**Daniel, 2008**).

1.6 Intérêt pharmaceutique et biologique

- **Troubles digestifs** : la menthe est excellente pour le système digestif, elle stimule la sécrétion des sucs digestifs et de la bile, et décontracte les muscles intestinaux. Elle atténue les nausées, ballonnements et colites. Son action antispasmodique sur le colon est efficace en cas de diarrhée, comme en cas de constipation (**Youcef, 1990**).

- **Douleur** : Elle est utilisée pour soulager les maux de tête, traite les parasites de la peau (démangeaisons cutanées), elle traite l'inflammation des voies respiratoires et de la muqueuse buccale, soulage les symptômes, du rhume et de la toux, les douleurs rhumatismales musculaires, et névralgies (**Hammami et Abdesselem, 2005**).

- **Infection** : l'huile essentielle diluée peut être utilisée en inhalation ou en massage légers sur la poitrine, en cas d'infection bronchiques. La plante entière est efficace en cas de gastro-entérites (**Iserin, 2001**).

- Décontractant musculaire, relaxant et antispasmodique des muscles lisses intestinaux par blocage du canal calcique (**Alam, 2013**), et par effet vraisemblablement parasympholytique (**Moutinho, 2013**).
- Antalgique par l'extrait aqueux et effet anesthésiant au niveau du système nerveux central et périphérique (Youcef 2012).

2 Le thym

2.1 Histoire du thym

Dans l'antiquité, le thym était dédié à Vénus. Selon la légende, il apportait l'énergie vitale.

Galien le citait déjà : « le thym est notoirement incisif et chaud. Il est propre à faire uriner et à provoquer le flux menstruel, à faire avorter et sortir l'enfant du ventre de la mère, et, à nettoyer les parties nobles et intérieures, le prenant en breuvage. Il est propre à faire cracher et jeter hors toutes les superfluités de la poitrine et du poumon ».

Aetius, célèbre médecin grec du Ve siècle, écrivait dans son tetrabiblos, que les patients utilisant du thym « évacueront la colère et les autres humeurs, et même la matière pourrie, piquante et mordante qui cause la douleur ». Il recommande le thym pour « les sciatiques, les douleurs des reins et de la vessie, la colite et les ballonnements, pour les mélancoliques et ceux qui ont l'esprit troublé ».

L'usage du thym se répand dans la pharmacopée au XIe siècle. Hildegarde et Albert le Grand le mentionnent contre « la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses ». Au Moyen Âge, le thym symbolisait la vertu et le courage (**Anonyme 2**).

2.2 Origine

L'origine du mot latin « thymus » n'est pas tout à fait tranchée. Certains auteurs supposent qu'il provient du Grec thyo (parfumer). Une autre interprétation étymologique considère qu'il provient du mot grec « thymos » (courage, force). Cette dernière supposition est la plus rapportée dans la littérature (**Morales, 2002**).

2.3 La taxonomie

D'après **Quezel et Santa 1963**, le Thym est classé comme suit :

- Règne : plantae
- Sous-règne : tracheobionta
- Division : magnoliophyta
- Classe : magnoliopsida
- Sous-classe : asteridae
- Ordre : lamiales
- Famille : lamiaceae
- Genre : thymus
- Espèce : thymus

Thymus est un genre de plantes (couramment appelées thym ou serpolet) de la famille des lamiacées. Ce genre comporte plus de 300 espèces. Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet portant de petites fleurs rose pâle ou blanche.

2.4 Caractéristiques morphologiques

Le thym, communément appelé « zaater » en algérie ou thymus en latin, appartient à la famille des lamiacées, c'est une plante médicinale la plus utilisée en médecine traditionnelle algérienne.



Figure 2: Le thym (Anonyme 3)

Le thym est une plante basse sous-ligneuse, peut atteindre 40 cm de hauteur, caractérisé par des feuilles vertes foncé de petite long qu'est de 4-10 mm, et de forme elliptique a oblongue et a tige courte, qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes), ces derniers contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges (**Kabouche, 2005**).

Le thym a une durée de vie allant de 4 à 7 ans (**Lavergne, 2012**).

La floraison a lieu de avril a septembre, ses petites fleurs zygomorphes, sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par la rose, et sont très appréciées des abeilles (**Kholkhal, 2014**).

2.5 Composition chimique

Les principales études phytochimiques des fleurs, des tiges, des feuilles de Thym. Ont été bien identifiées un large éventail de constituants à savoir : Flavonoïdes (lutéoline, thymonine, hespéridine, quercétine), acides phénoliques (acide caféique, acide rosmarinique).

Plusieurs composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle extraite à partir de parties aériennes de thym. Les principaux composants de l'huile incluent le thymol, le carvacrol, le para-cymène, 1,8 cinéol et le linalol (**Zeghib, 2013**).

2.6 Intérêt pharmaceutique et biologique

Il existe un certain nombre de maladies qui sont presque entièrement tributaires de médicaments d'origine végétale, comme le cas des maladies infectieuses provoquées par des agressions bactériennes ou fongiques, dans les thérapeutiques desquelles les antibiotiques occupent la

première place, des maladies de l'appareil cardiovasculaire, ou les hétérosides cardiotoniques et protecteurs des petits vaisseaux capillaires, sans oublier les maladies de l'appareil respiratoire (**Pelt, 1981**).

De nos jours, le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huile essentielle dont les propriétés sont mises en profit en phytothérapie et en médecine, comme produit vétérinaire (antiparasite, antispasmodique, antiseptique et digestif), et il y a des études qui ont confirmé leur activité antiseptique et spasmolytique. Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections

pulmonaires, calme les toux quinteuses, diminue les sécrétions nasales et soulage les problèmes intestinaux (**Frédérich, 2014**). Immunostimulante par augmentation des IgA, antidiabétique, tonique, utérotonique, neurotonique (**Goetz, 2012**).

En pharmacie, le thymol et le carvacrol sont employés en collutoires, des dentifrices, les savons, les onguents, les lotions, les pastilles pour la gorge et les remèdes antigrippes. Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques telles :

L'activité antispasmodique, antimicrobienne, fongicide, insecticide, antioxydant, anticarcinogène et anti-inflammatoire (**Daoudi, 2016**).

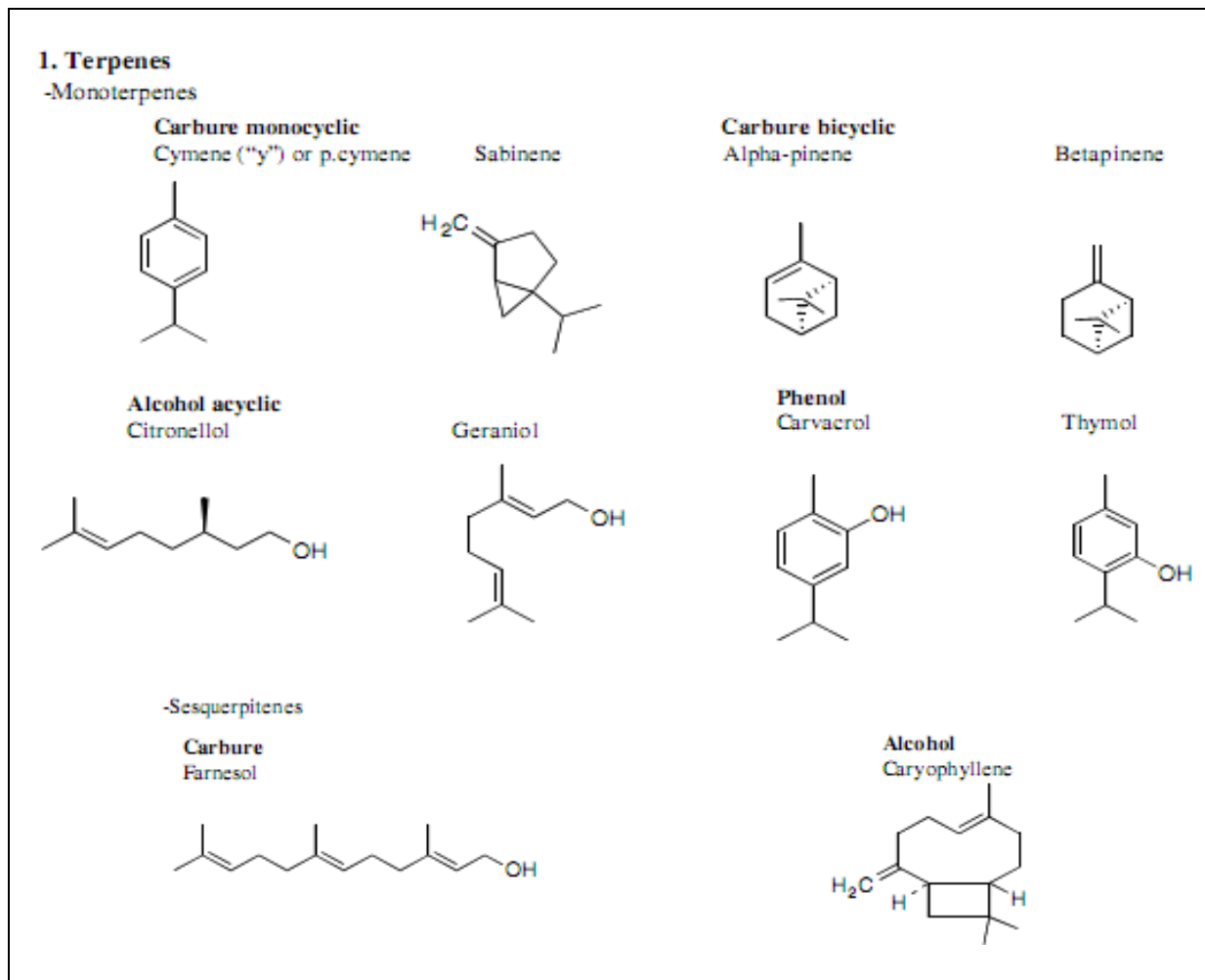
Les extraits de thym ont montré une large activité antibactérienne en inhibant la croissance des bactéries à gram positif et gram négatif (**Qaralleh, 2009**).

3 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certain tissus végétaux spécialisés. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (**Anton, 2004**).

Selon la commission de la pharmacopée Européenne (01-2008 : 2098) : une huile essentielle est un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par procédé mécanique approprié sans chauffage (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**).

Les constituants des huiles essentielles possèdent un squelette hydrocarboné qui peut être linéaire, cyclique ou encore aromatique. Ils peuvent contenir toutes les grandes fonctions de la chimie organiques (les alcools, composés carbonylés (aldéhydes et cétones), esters, phénols) dans une moindre mesure, dérivés azotés et soufrés, Cependant les terpènes (hydrocarbures en C10 ou C15) et terpénoïdes (terpènes fonctionnalisés) sont les plus abondants (**Chemat et Kavier, 2012**).



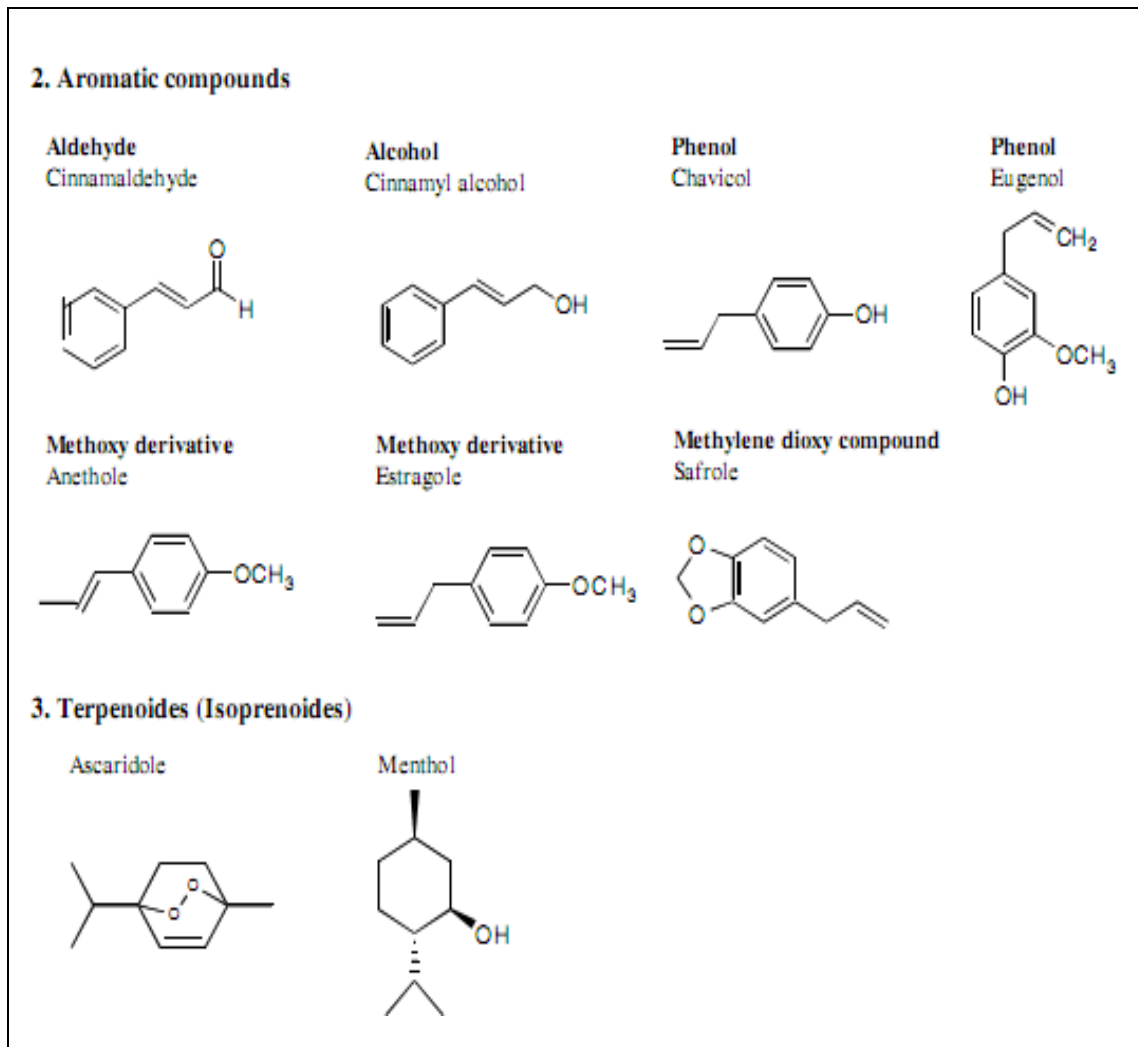


Figure 3: Structure chimique de certains composés des huiles essentielles(Lakhdar, 2015)

4 Facteurs de variabilités des huiles essentielles

De nombreux facteurs influencent sur la composition quantitative et qualitative des plantes aromatiques. Ces facteurs agissent non seulement sur la composition chimique des huiles essentielles mais aussi sur le rendement d'une manière très remarquable(Piochon, 2008).

4.1 L'origine botanique et le cycle végétatif

La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice toute au long de son cycle de développement, Des variations parfois très importantes sont couramment observées dans certaines espèces par exemple le thym (*thymus vulgaris*), son rendement moyen est de 2%. Il est minimum pendant la période végétative de la plante, puis augmente progressivement pendant la phase initiale de floraison, et atteint son maximum à la pleine floraison(Anonyme 3 ; Deschepper, 2017).

4.2 L'organe producteur

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple, la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**).

4.3 Les facteurs extrinsèques

De nombreux facteurs environnementaux sont susceptibles d'influencer, (les facteurs climatiques, la nature du sol les pratiques culturales, la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exerçant une influence directe), surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficiel (poils de lamiaceae) (**Lahrech, 2010**).

4.4 Le mode d'extraction

L'extraction est une autre étape importante du traitement de la matière végétale pouvant entraîner des modifications significatives de l'huile essentielle. L'hydrodistillation expose la plante à des conditions relativement agressives en termes de température, acidité et chaleur, entraînant des réactions d'isomérisation, de racémisation, d'oxydation, de réarrangement, d'hydrolyse, ce qui donne une composition différente entre l'huile essentielle obtenue et celle du mélange initialement présent dans la plante (**Deschepper, 2017**).

4.5 Les races chimiques

Les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes à huile essentielle pour une même espèce botanique.

Ces races chimiques peuvent fournir de parts leurs compositions, différentes huiles essentielles (**Anonyme 4**).

5 Caractérisation des huiles essentielles

5.1 Caractérisation organoleptiques

- Etat liquide en générale à température ambiante abondants (**Chemat et Kavier, 2012**).
- Elles sont incolores ou jaune pâle à quelques exceptions telle que l'HE de à azulènes qui sont bleues (exemple : camomille allemande).
- D'odeur agréable, aromatique. Pour la saveur, elle peut être douce, piquante, caractéristique, fruité, fraîche (**Hessas et Simoud, 2018**).

5.2 Caractérisation physiques

▪ Densité

La densité ou densité relative d'une HE est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'eau distillée à 20 C°. Cette grandeur sans dimension est mesurée à l'aide d'un pycnomètre. La densité des huiles essentielles est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des huiles essentielles de sassafras, de cannelle et de girofle (**Hessas et Simoud, 2018**).

▪ Indice de réfraction :

C'est une grandeur sans dimension, caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci. Il est mesuré couramment par le réfractomètre d'Abbe. La détermination de l'indice de réfraction pour une huile essentielle permet seulement de vérifier si elle est conforme aux normes établies (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**). Les huiles essentielles ont souvent un indice de réfraction élevé (**Courtial, 2005**).

▪ Pouvoir rotatoire

Caractéristique des molécules chirales, exprime la capacité qu'elles ont à dévier la lumière polarisée. Il est mesuré à l'aide d'un polarimètre. Les huiles essentielles sont le plus souvent optiquement actives (**Hessas et Simoud, 2018**).

▪ La volatilité

Les huiles essentielles sont volatiles. C'est ce qui les rend entraînable à la vapeur et particulièrement odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes ». La volatilité étant très liée à la composition chimique, les monoterpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**).

▪ Solubilité

Ils sont soluble dans l'eau, l'ajout de produits dispersants est indispensable pour pouvoir les y dissoudre. Les huiles végétales, l'alcool à titre élevé ou encore les solvants organiques seront au contraire de très bons solvants des huiles essentielles (**Courtial, 2005**).

5.3 Caractérisation chimiques

Les huiles essentielles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie. Elles absorbent le chlore, le brome, l'iode avec un dégagement de chaleur, et peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates. La lipophile des huiles essentielles permet un très bon passage des membranes physiologiques en particulier au niveau de la peau (**Touhami, 2017**).

▪ Indice d'acide (IA)

C'est une mesure importante dans le contrôle des huiles essentielles. Il se définit comme étant le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides contenus dans un gramme des huiles essentielles.

- **Indice d'ester (I_E)**

Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme des huiles essentielles (**Chemat et Kavier, 2012**).

- **Indice de saponification (I_S)**

Il exprime le nombre de milligrammes de l'hydroxyde de potassium nécessaire pour la saponification complète de un gramme d'HEs (**Marcusson, 1929**). La somme de l'indice d'acide et l'indice d'ester correspond à l'indice de saponification (**Pierre, 1939**).

5.4 Caractérisation chromatographique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de composés, principalement volatiles, l'analyse par chromatographie fournit la composition chimique de l'extrait et permet la quantification des composés (**Chemat et Kavier, 2012**).

Deux types d'analyses sont utilisés :

- Chromatographie en phase gazeuse (CPG).
- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/MS).

6 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme secondaire (**Samate, 2002**). L'huile essentielle se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage. Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiacées, Composées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012 ; Samate, 2002**), comme les sommités fleuries (ex: Lavande, Menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: Vétiver, Gingembre), dans les écorces (ex: Cannelles), le bois (ex: Camphrier), les fruits (ex: Citron), les graines (ex: Muscade) (**Bendif, 2017**).

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple, la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**).

7 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation de plus en plus populaire tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie(**Piochon, 2008**).

La toxicité des huiles essentielles dépend en premier lieu de leur composition chimique grâce à la complexité et la multiplicité de leurs molécules(**DGCCRF, 2019**).

7.1 Toxicité liée à la durée d'exposition

- **Toxicité aigüe par voie orale**

Elle se manifeste dans les minutes qui suivent l'administration d'huile essentielle. La DL50 (dose létale 50) permet d'évaluer la toxicité aigüe d'une HE administrée par voie orale. La

DL50 se définit par la dose d'huile essentielle capable de tuer 50% d'une population donnée dans des conditions expérimentales définies. Elle s'exprime en masse de substance active (grammes) par masse d'individu (kilogrammes). Ainsi, plus la DL50 est faible, plus la substance testée (huile essentielle) s'avère toxique(**Muter, 2015**).

- **Toxicité aigüe par voie dermique**

La toxicité cutanée aiguë est l'effet néfaste qui se produit dans un court laps de temps après l'application dermique d'une dose unique d'une substance à tester. La DL50 (dose létale moyenne) dermique est une valeur statistique de la dose unique d'une substance dont l'application sur la peau provoque la mort de 50 % des animaux traités. La valeur de la DL50 s'exprime en poids de substance à tester par unité de poids d'animal d'expérience (mg/kg)(**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012 ; Nowiki, 2019**).

- **Toxicité chronique**

Elle est mesurée par la dose tolérée maximum (DMT) et concerne les effets secondaires survenus sur l'ensemble du corps, quelle que soit la voie d'administration lors de l'utilisation répétée d'HE avec des doses plus faible que pour la toxicité aigüe(**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012 ; Nowiki, 2019**).

7.2 Toxicité liée aux organes

- **Hépatotoxicité**

Les principales molécules à l'origine de l'hépatotoxicité sont les phénols, qui sont susceptibles d'altérer les cellules du foie. La pulégone est également réputée pour sa toxicité hépatique. La dose ingérée et la durée sont des facteurs influençant la survenue d'atteintes hépatiques. Les personnes souffrant de pathologies hépatiques doivent éviter de consommer des huiles essentielles riches en phénols (**DGCCRF, 2019**).

- **Néphrotoxicité**

Les reins peuvent également transformer certains composants des huiles essentielles en métabolites électrophiles. Les carbures de monoterpènes (alpha-pinène notamment) sont susceptibles d'endommager le rein. Ce risque est d'autant plus élevé que l'huile essentielle est consommée pendant une longue période(DGCCRF, 2019).

- **Neuroxicité**

Les huiles essentielles riches en cétones surtout en thuyone, en camphre et en pinocamphone sont neurotoxiques. Les cétones sont des molécules très actives et toxiques, il faut donc les utiliser avec prudence, elles sont à éviter chez les personnes neurologiquement fragiles (personnes âgées par exemple)(Piochon, 2008 ; Nowiki, 2019).

- **Cancérogénicité**

Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers. C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (Sassafras), l'estragole (Artemisiadracunculus), le β -asarone (Acorus calamus) et le méthyl-eugénol(Piochon, 2008).

- **Toxicité dermique**

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde), ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines)(Piochon, 2008).

8 Méthodes d'extraction des huiles essentielle

8.1 Procédés par distillation

La distillation est la méthode la plus utilisée pour l'obtention des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques, car la plus fiable et la plus économique(Segurat, 2016).

Il existe trois méthodes de base pour l'obtention des huiles essentielles : la distillation par l'eau ou "l'hydrodistillation", la distillation à la vapeur d'eau ou "la vapo-hydrodistillation" et la distillation à la vapeur directe produite par un générateur séparé " vapodistillation ".

Ces trois modes reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal(Bendjilali, 2006).

- **Entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique.

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Boukhatem et al, 2019).

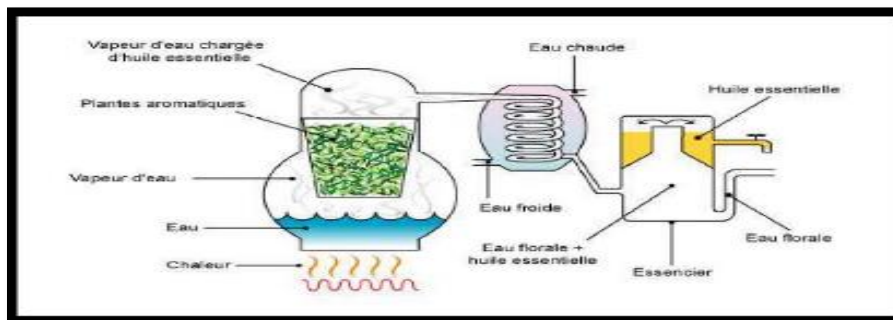


Figure 4: Schéma de distillation par entraînement à la vapeur (Boutamani, 2013).

- **Hydrodistillation**

Il s'agit d'une hydrodistillation simple, qui consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement Broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Fekih, 2015).

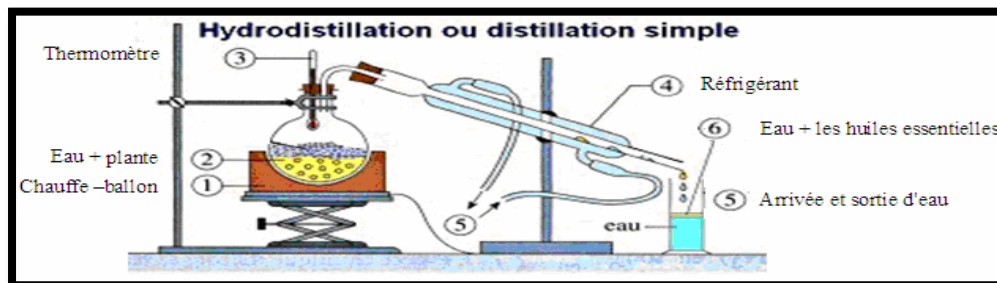


Figure 5: Schéma d'un montage d'hydrodistillation simple (Yaakoub et Tlidjane, 2018).

L'hydrodistillation peut se réaliser sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système créé pour l'opération est appelé Clevenger. Son avantage majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans changer la quantité en eau du ballon (Fekih, 2015).

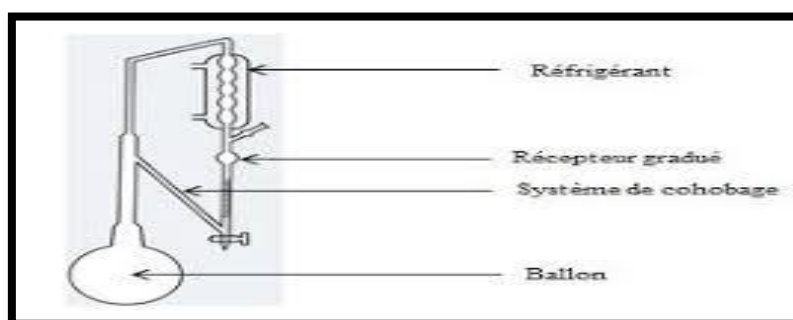


Figure 6: Montage de Clevenger (Murphy et Ndinga, 2015).

- **Hydrodiffusion :**

L'hydrodiffusion est une technique de l'entraînement à la vapeur. Cette méthode relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale(Boutamani, 2013).

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

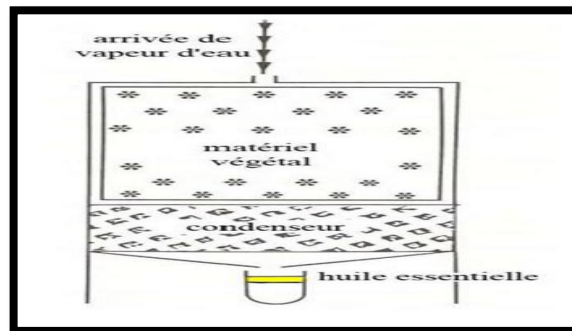


Figure 7: Montage d'hydrodiffusion(Yaakoub et Tlidjane, 2018).

8.2 L'expression

L'expression aussi appelé "pression à froid" ou "grattage" est un procédé d'extraction très simple, il est principalement utiliser pour les écorces d'agrumes (citron, pamplemousse, orange, bergamote, mandarine), qui renferment une quantité importante d'HEs, cette opération vise à casser les molécules qui comportent l'essence dans le zeste des agrumes frais.

Dans ce cas on utilise le terme essence plutôt qu'«huiles essentielles»(Buronzo, 2008).



Figure 8: Appareil d'expression à froid (Hessas et Simoud, 2018).

8.3 Extraction par CO₂ supercritique

Méthode très moderne, très coûteuse qui consiste à faire passer un courant de CO₂ à haute pression qui fait éclater les poches d'essence et entraîne les substances aromatiques (Verbek, 2006).

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Boutamani, 2013).

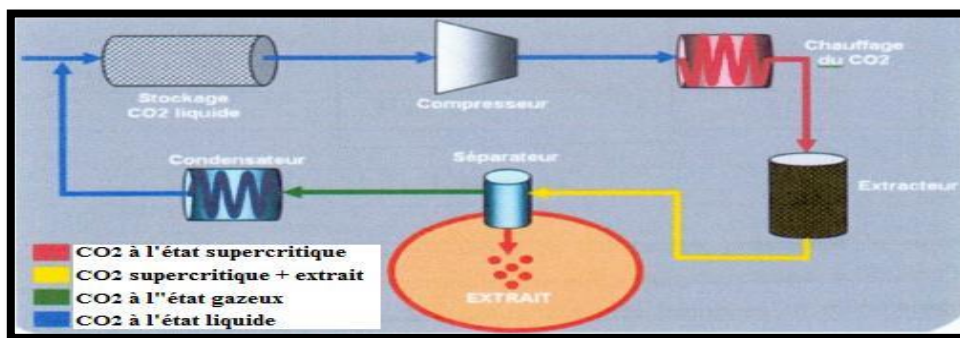


Figure 9: Schéma de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique (Yaakoub et Tlidjane, 2018).

8.4 Extraction assistée par micro-onde

L'utilisation des micro-ondes pour l'obtention des huiles essentielles est une méthode décrite au début des années 1990. Il s'agissait alors d'une hydrodistillation par les micro-ondes, sous vide. La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par les micro-ondes.

Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation (Piochon, 2008).

Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Hellal, 2011).

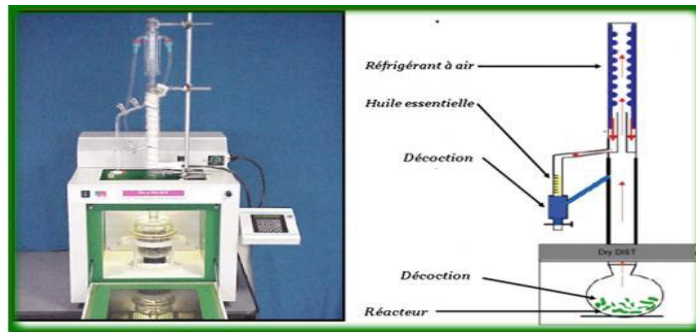


Figure 10: Dispositif d'extraction par micro-onde (Hessas et Simoud, 2018).

8.5 Extraction par solvant

Cette forme d'extraction est couramment employée pour l'industrie des arômes, mais doit obligatoirement être bannie pour un usage thérapeutique, (si le seul solvant est l'alcool Pur)(Hessas et Simoud, 2018).

L'extraction se fait par des solvants non aqueux, comme l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone, le solvant idéal devra contenir une certaine sélectivité on extrait seulement les molécules aromatiques mais pas les molécules indésirables, avoir une température d'ébullition basse, pour faciliter son élimination, inerte, miscible à l'eau, moins couteux, ne pas être inflammable, et une faible toxicité possible(Deschepper, 2017).

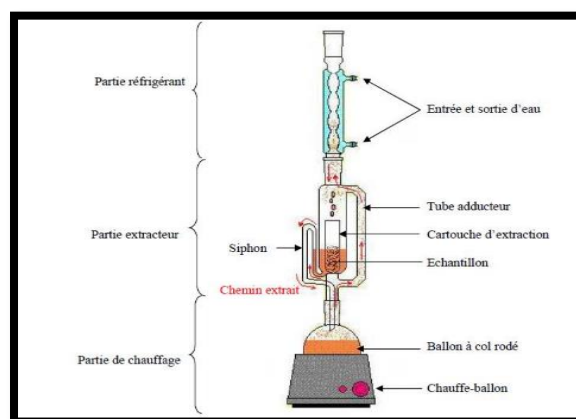


Figure 11: Schéma d'un extracteur soxhlet (Khellaf et al, 2021)

9 Intérêt des huiles essentielles

9.1 En cosmétologie

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau (acné, rides...), les cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, secs,...), et la silhouette (vergetures, cellulites...).

Les principes actifs des huiles essentielles franchissent très rapidement la barrière cutanée et sont absorbés par la peau pour agir en douceur(**Anonyme 5**).

9.2 En parfumerie

Les huiles essentielles à l'état dilué sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes(**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**). L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essence (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine (**Bazizi, 2017**).

9.3 En agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments, et la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé(**Benyoucef et Bessah, 2015**).

9.4 En pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym...) et sous la forme de préparations galéniques (**Bazizi, 2017**). Souvent les huiles essentielles sont rajoutées dans la formulation de spécialité pharmaceutique, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à leur consommation (**Hadji-Minaglou et Kaloustian, 2012**).



DEUXIEME PARTIE : Etude
expérimentale

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie organique, du laboratoire de cinétique, du laboratoire de thermodynamique, du laboratoire de chimie pharmaceutique (département de chimie), et au laboratoire d'entomologie (département de biologie) au sein de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (wilaya de Tizi Ouzou) pendant une durée de 03 mois

2. Matériel

2.1. Matériel végétale

Le matériel végétal au quel nous nous sommes intéressé est constitué de deux espèces de la famille des lamiacées (*Mentha et Thymus*), ce sont des plantes herbacées ou petits arbrisseaux a tige et rameaux plus ou moins carrés. Les feuilles sont opposées ou verticillées à poils glanduleux. Les fleurs sont hermaphrodites, irrégulières a 4 ou 5 divisions. (spichiger et al ; 2004)

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de la menthe et du thym, qui ont été récolté à Tizi ouzou (Alger). Acheté auprès d'un épicier à Tizi Ouzou. (2kg pour chaque plante).



Figure 13:*Mentha spicata*
(Originale, 2021)



Figure 12:*Thymus vulgaris*
(Originale, 2021)

2.2. Matériels au laboratoire

Le matériel (Appareillages et verreries) utilisé dans notre travail pour les différentes analyses physicochimiques ainsi que pour l'activité biologique est listé comme suit :

Clevenger

Balance analytique

Réfractomètre

Polarimètre

Agitateur magnétique

Etuve

Autoclave

Spectrophotomètre UV

Eprouvettes, verres de montre, Erlenmeyer, Fiolesjaugés, Béchers, Burettes, pipettes pasteur.

Les réactifs et les solvants employés sont cités dans le tableau suivant :

Tableau 1: Listes des réactifs et solvants utilisés dans la partie pratique

Réactifs	Solvants
<ul style="list-style-type: none">• Acide chlorhydrique (HCl 0.5N)• (DPPH)1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.• Acide ascorbique• Gélose• Hydroxyde de potassium (KOH 0.1N)• Hydroxyde de potassium ethanolique (0.5N).• Phénolphtaléine.	<ul style="list-style-type: none">• Eau distillé• Ethanol.• Acétone

3. Méthodes

3.1. Récolte des échantillons des espèces végétales

La récolte a été effectuée sur les feuilles de *T.vulgaris* et *M. spicata* dans la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie) en Avril 2021. Les feuilles de deux espèces végétales ont été séchées pendant une semaine à l'abri de la lumière et à la température ambiante du laboratoire d'entomologie, les parties inutiles ont été débarrassées de la matière première, puis nous avons broyé les plantes.



Figure 15: Broyage de *Mentha spicata* (Originale, 2021)



Figure 14: Broyage de *Thymus vulgaris* (Originale, 2021)

3.2.Extractions des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de deux espèces a été réalisé en mois d'Avril 2021, au laboratoire de recherche entomologie appliquée au département de Biologie (UMMTO). La technique utilisée est Hydro distillation par Clevenger.

3.2.1. Technique d'Hydro distillation

Les feuilles des espèces végétales utilisées sont découpées en morceaux (broyer) et les introduire dans un ballon de capacité de 2 L rempli de 2/3 (1L) d'eau distillé.

L'eau en suite chauffé dans le chauffe ballon jusqu'à l'ébullition, ce qui entraine la formation de la vapeur qui va entrainer les constituants volatils (Figure 16). Ces vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant qui est refroidi.

La séparation entre l'huile essentielles se fait en premier lieu dans l'appareil car l'huile surnage l'eau. Cette eau est récupérée en ouvrant le robinet de cet appareil puis mise directement dans l'ampoule à décanter. La durée d'extraction est de 2h.

Finalement l'huile essentielle extraite est conservée dans des flacons en verre opaque fermés hermétiquement au réfrigérateur à une température voisine de 4°C, pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température.



Figure 16: Montage d'hydrodistillation manipulé (Clevenger) (Laboratoire d'entomologie, 2021).

3.3.Etude de la cinétique de rendement

L'étude de la cinétique de rendement a pour but de déterminer le temps nécessaire au bout duquel il n'est plus rentable de poursuivre l'extraction, qualifié par le rendement optimum. Pour cela et afin d'illustrer la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la menthe et de thym par hydro distillation à l'aide du montage du type « Clevenger » décrit précédemment, on a suivi la variation de la masse d'huile essentielle en fonction de temps jusqu'à l'extraction totale d'huile essentielle.

3.4. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue par l'extraction (M) et la masse de la matière végétale utilisée (M_s). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = (M/M_s) * 100$$

3.5. Le taux d'humidité

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenant dans le matériel végétal, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{H}(\%) = M_f \cdot M_s / M_s * 100$$

M_s : la masse sèche (g)

M_F : la masse fraîche (g)

3.6. Caractéristiques organoleptiques

Caractéristiques organoleptiques étaient une fois les seules caractéristiques permettent d'évaluer la qualité de l'huile essentielle et ces extraits dont chaque huile essentielle est caractérisée par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, la couleur et l'aspect. (Hameurlaine, 2009). L'aspect ou l'apparence de l'huile essentielle dépend des produits qui le constituent, lesquels peuvent se présenter sous forme liquide, solide et liquide mobile.

3.7. Caractéristiques physico-chimiques

Tous les caractères physico-chimiques sont réalisés selon les normes **AFNOR 2000**.

3.7.1. Densité relative

La densité relative à 20°C est le rapport d'un certain volume d'une huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égale d'eau distillé à 20°C. L'AFNOR recommande l'utilisation d'un pycnomètre d'une capacité de 5ml.

- **Mode opératoire**

Peser successivement : l'ependorff vide, l'ependorff rempli de volumes égaux d'HE et d'eau distillé. Noter à chaque fois leurs poids exacts ; la pesée a été réalisée à une température de 20°C, à l'aide d'une balance analytique.

Le calcul de la densité de l'huile essentielle à partir de la loi suivante :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

m_0 : masse en gramme de l'éppendorf de 5ml vide.

M_1 : masse en gramme de l'éppendorf remplie de l'eau distillé

M_2 : masse en gramme de l'éppendorf remplie d'HE.

3.7.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux d'onde déterminé.

Le réfractomètre d'Abbe a été utilisé pour mesurer l'indice de réfraction de l'huile essentielle, à une température T indiquée par le thermomètre de l'appareil.



Figure 17: Le réfractomètre(Laboratoire chimie pharmaceutique,2021)

- **Mode opératoire**

Le réfractomètre a été préalablement étalonné à l'aide d'une solution tampon.

Placer une goutte d'HE sur le prisme du réfractomètre ; effectuer le réglage nécessaire grâce à la micro-visse ; puis lire le résultat.

L'indice de réfraction diminue lorsque la température augmente. Lorsque sa mesure est réalisée à une température $T^{\circ}\text{C}$, utiliser la formule suivante pour la ramener la valeur de référence de 20°C :

$$n_{T'} = n_T + 0.00045 * (T - T')$$

$n_{T'}$: indice de réfraction de référence.

n_T : indice de réfraction mesurée de l'HE a une température $T^{\circ}\text{C}$

T : température de mesure de l'indice de réfraction de l'HE

T' : température de référence qui est de 20°C.

3.7.3. Indice d'acide

L'indice d'acide (I_A) est la masse d'hydroxyde de potassium(KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de substance.

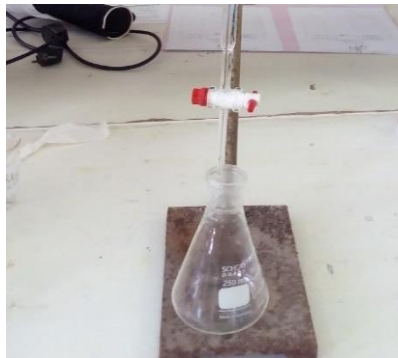


Figure 18: Le mélange réactionnel : HE+ Ethanol(Laboratoire de thermodynamique,2021)

- **Mode opératoire**

Nous avons pesé avec précision 0.5g d'huiles essentielles et on les dissous dans 1.5ml d'éthanol puis on ajoute 3 gouttes de phénol phtaléine, ensuite on neutralise le liquide avec la solution de KOH (0.1N). Contenu dans une burette nous poursuivons l'addition jusqu'à l'obtention du virage persistant de la solution (rose) pendant 30 secondes, nous mettons ensuite le volume de la solution de KOH utilisé.

L'indice d'acide (I_A) est calculé par la formule suivante :

$$I_A = V * C * (56.11/m)$$

V : volume de KOH utilisé en (ml)

C : concentration en moles par litre de la solution de KOH

M : masse de la prise d'essai

3.7.4. Indice de saponification

L'indice de saponification (I_s) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et la saponification des esters présents dans 1 gramme de substance.

- Mode opératoire

Introduction dans un ballon 0.5g d'huile essentielle, ajouter 10ml de KOH ethanolique de (0.5N).

Adapter le réfrigérant et placer le ballon sur un bain marie pendant une heure, refroidir le ballon

L'excès de KOH est neutralisé par l'acide hydrochlorique HCl 0.5N en présence de phénol phtaléine.



Figure 19: Pesée de l'HE(Laboratoire de cinétique ,2021)



Figure 20: Le reflux du mélange(Laboratoire cinétique ,2021)



Figure 21: Titrage de l'excès de KOH par du HCL
(Laboratoire de cinétique,2021)

L'indice de saponification est donné par la formule :

$$I_s = 56.1 * C * (V_0 - V_1) / m$$

C_0 : concentration en mol par litre de la solution de KOH

V_0 : volume de HCl de l'essai blanc en (ml)

V_1 : volume de HCl en (ml)

M : masse de la prise d'essai (g)

3.7.5. Indice d'ester

L'indice d'ester (I_E) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans un gramme de substance. Elle est calculée à partir de l'indice de saponification et l'indice d'acide selon la relation :

$$I_E = I_S - I_A$$

3.7.6. PH

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre.

Puisque on n'a pas une quantité suffisante d'HE on utilise le pH-papier. On introduit une goutte d'HE sur le PH-papier afin d'obtenir la couleur qui indique la valeur de pH.

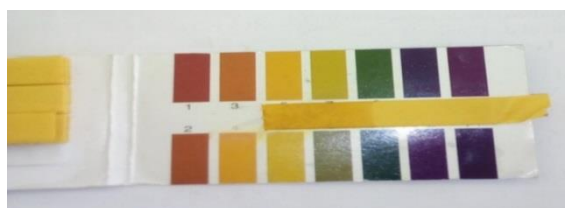


Figure 22: Le pH-papier (Laboratoire de chimie organique, 2021)

3.8. L'étude de l'activité biologique

3.8.1. L'activité antioxydant

3.8.1.1. Méthode de DPPH

L'activité antioxydant des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée photométrable à 517nm. La réduction du radical par un donneur d'atome d'hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Moon et shibamoto, 2009).

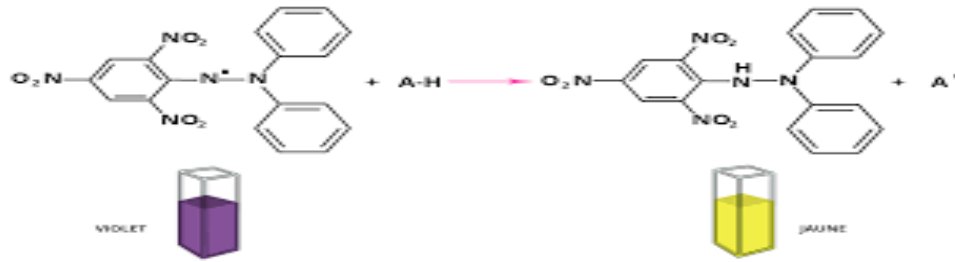


Figure 23: Réaction d'un antioxydant avec le radical (Moon et shibamoto, 2009).

- **Mode opératoire**

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 4g de DPPH dans 100ml d'éthanol. Nous avons pris une solution mère par un volume de 0.5ml des huiles essentielles dans 1ml d'éthanol et prendre différentes concentrations (500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25mg/ml) dans des tubes à essai ;

1^{er} tube : 0.5ml d'huile essentielle et 1ml d'éthanol (solution mère)

2^{ème} tube : 0.5ml de la solution mère et 0.5 d'éthanol

3^{ème} tube : 0.5ml de la 2^{ème} solution et 0.5 d'éthanol

4^{ème} tube : 0.5ml de la 3^{ème} solution et 0.5 d'éthanol

5^{ème} tube : 0.5ml de la 4^{ème} solution et 0.5 d'éthanol

Nous avons pris 40µl de chaque solution et 2ml de DPPH dans des tubes à essai on agite, après, incubation de 30min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le témoin positif (31, 25mg d'acide ascorbique et 1ml d'éthanol).

Pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition du DPPH (%) est calculé de la manière suivante :

$$\text{PI (\%)} : (\text{A blanc} - \text{A échantillon}) / \text{A blanc} * 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition (%)

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

- **Détermination de concentration inhibitrice 50 (IC50)**

Appelé aussi la concentration efficace CE50, c'est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50% des radicaux libre de DPPH dans le milieu réactionnel. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est élevée, et vice versa

Elle est calculée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés : pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'échantillon (Laib et Barkat, 2011).

3.8.2. Activité antibactérienne

3.8.2.1. Présentation des souches utilisées

L'activité antibactérienne des huiles essentielles (menthe et thym) est évaluée sur deux souches bactériennes de milieux de culture gélose qui sont : *Escherichia coli* (ATTC 25922) et *Staphylococcus aureus* (Mu 50). Ces souches proviennent du laboratoire de Microbiologie de faculté de science biologique et Agronomique. La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne est celle décrite par (Lis-Balchin et Hart, 2000).

3.8.2.2. Evaluation qualitative : Aromatogramme

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'HE est réalisée par la méthode de diffusion sur disque, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries. Le principe de la méthode repose sur le pouvoir migratoire du composé testé en milieu solide (MH) dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition.

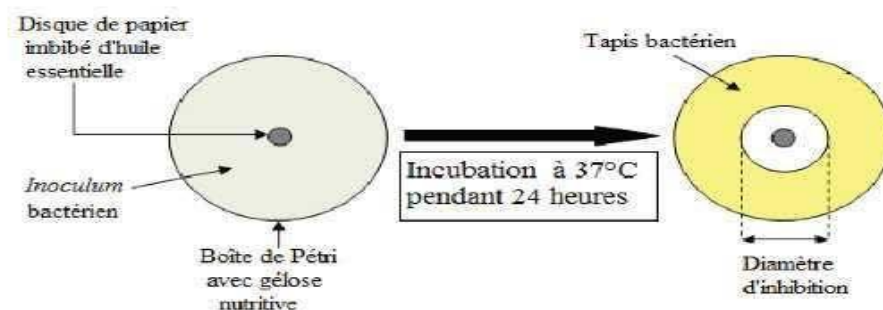


Figure 24: Principe de la diffusion sur disque (Kachetel, 2016).

- **Ré-isolement des souches bactériennes**

Afin d'obtenir des souches bactériennes jeunes et pures, des ré-isolements réguliers ont été effectués selon la méthode des stries.

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Des disques de 6mm de diamètre sont préparés à partir du papier waltman, ensuite ils sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).



Figure 25: Les disques (laboratoire d'entomologie, 2021)

- **Préparation des suspensions bactériennes**

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'un écouvillon scellé, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis décharger la pipette pasteur dans 10ml d'eau physiologique stérile, Bien homogénéiser la suspension bactérienne. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.



Figure 26: Préparation des suspensions bactériennes (Laboratoire d'entomologie)

- **L'ensemencement**

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse), puis l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum et Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Nous avons répété l'opération trois fois, en tournant la boîte de pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- Dépôt des disques d'aromatogramme

Une fois les géloses Muller-Hinton sont ensemencées, les disques préalablement préparés sont disposés sur la surface de la gélose dans des conditions stériles, a raison de quatre disques par boîte de pétrie pour les différentes doses d'huile essentielle pure, à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Puis, ils ont été imbibés par différentes concentrations (4ul, 8ul, 12ul et 16ul) avec les deux huiles essentielles testées (la menthe verte et le thym) (figure 28 et 29). Les boîtes ont été maintenues à température ambiante pendant 24h pour que les composés puissent diffuser.



Figure 27: Dépôt des disques (Originale,2021)



Figure 27: Dépôt des huiles essentielles (Originale,2021)

Le résultat est exprimé par la mesure du diamètre des zones d'inhibition(DZI), et peut être symbolisé par les deux tableaux suivants :

Tableau 2: La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des huiles essentielles (Djeddi et al, 2007).

Diamètre d'inhibition (mm)	Signe	Sensibilités
D < 8	-	Non sensible (Résistante)
Entre 9-14	+	Sensible
Entre 15-19	++	Très sensible
D > 20	+++	Extrêmement sensible

Tableau 3: L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne (Mutai, 2009).

Diamètre d'inhibition (mm)	Inhibition
D ≤ 10 mm	Non inhibitrice
11 mm ≤ D ≤ 16 mm	Légèrement inhibitrice
16 mm ≤ D ≤ 20 mm	Modérément inhibitrice
21 mm ≤ D ≤ 29 mm	Fortement inhibitrice
D ≥ 30 mm	Très fortement inhibitrice



PARTIE 3 : Résultats et discussion

3.1. Détermination des taux d'humidités

D'après les résultats obtenus sur l'humidité de la partie aérienne (feuilles) des plantes *M. spicata* et *T. vulgaris* nous avons enregistré un taux d'humidité de 79% et de 65% respectivement. D'après nos résultats *M. spicata* est plus riche en eau vis à vis *T. vulgaris*. Cela signifie que la grande partie des feuilles de deux plantes ou la partie fraîche de *M. spicata* et *T. vulgaris* est constituée de l'eau, ce qui montre que 21% et 35% représentent respectivement le taux de la matière sèche ayant servi à l'extraction de l'huile essentielle (figure 29).

Le taux d'humidité élevé influe négativement sur la conservation, l'extraction et le rendement en huile essentielle, d'où la nécessité de l'étape de séchage afin d'éliminer au maximum la quantité d'eau contenue dans le matériel végétal.

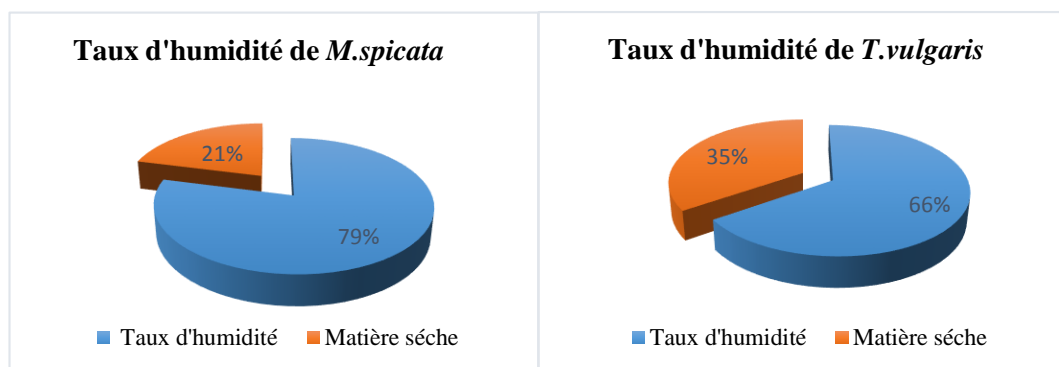


Figure 29 : Taux d'humidités des deux plantes.

Nos résultats obtenus sont presque similaires à ceux trouvés par **Hadj Ahmed et Kouider Mahmoud, (2017)** où le taux d'humidité est de 84%, et inférieur à ceux trouvés par **Taleb-Toudert, (2015)** avec un taux qui est 27% pour l'huile essentielle de *M. spicata*.

Pour le taux d'humidité d'huile essentielle de *T. vulgaris*, il est similaire à celui trouvé par **Benbouali, (2006)** qui est de 67%.

Nous pouvons dire que cette variation de taux d'humidité durant les saisons est due aux fluctuations des températures, la température élevée est responsable de l'évaporation de l'eau dans la partie aérienne de la plante.

3.2. Détermination la Cinétique de rendement

Le suivi de la cinétique de rendement en huile essentielle des deux espèces végétales étudiées *M. spicata* et *T. vulgaris*, par la méthode d'hydro distillation nous a permis de tracer les courbes cinétiques ; celles-ci traduisant le rendement en huiles essentielles de deux espèces en fonction du temps. La cinétique de rendement consiste à déterminer le rendement en fonction de temps d'extraction. Cette étude a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile essentielle. La figure montre que le rendement augmente en fonction du temps où nous avons obtenu un rendement très important pour les deux huiles essentielles (le thym et la menthe verte jusqu'à 120min pour *M. spicata* et *T. vulgaris*).

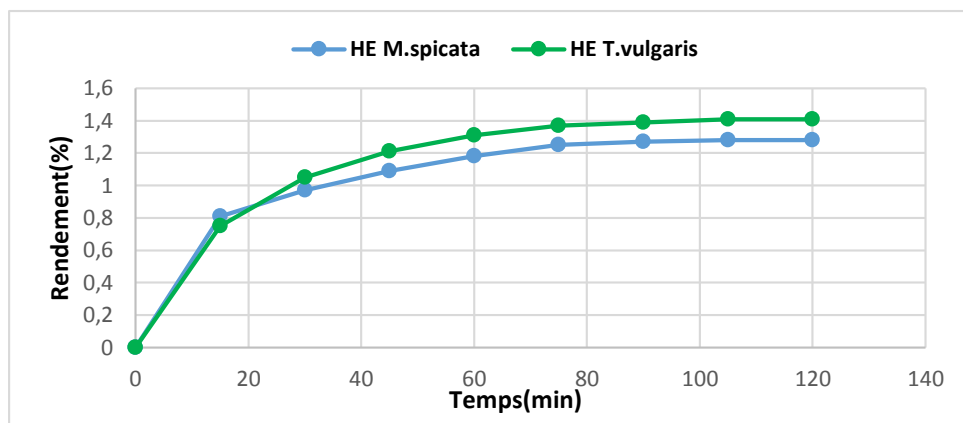


Figure 30: Evaluation du rendement d'HEs des deux plantes en fonction de temps.

Les courbes de rendement en huiles essentielles obtenues par hydro distillation de nos deux échantillons présentent une augmentation progressive ;

La première partie correspond à l'extraction des premières quantités d'huiles essentielles situées à la surface des feuilles. En effet, nous observons une augmentation régulière du rendement entre (0-15) min ce qui correspond à 75% pour le thym et 81% pour la menthe verte de la totalité d'huile stockée dans les tissus des échantillons de nos espèces. Le rendement obtenu est respectivement 0,75% et 0,81%.

Dans la deuxième partie entre (15-90) min, nous remarquons un ralentissement de l'extraction avec une diminution progressive de la quantité d'huile essentielle extraite.

Dans la troisième étape entre (90-120) min, les deux courbes tendent vers un palier qui correspond au rendement maximum qui peut être atteint, ce palier marque la fin du processus d'extraction dans lesquels nous observons plus d'huile dans le distillat, au-delà de cette durée on peut estimer l'épuisement totale de la matière végétale.

Nous remarquons que les rendements en huile essentielle de *T. vulgaris* et *M. spicata* sont importants avec une valeur de 1,41% et 1,28% respectivement.

Nos résultats sont supérieurs à ceux de **Taleb-Toudert, (2015)** où le rendement de *Mentha spicata* est de l'ordre 0,79%, et inférieur à ceux de **Boukhabti et al, (2011)**.

Sidali et al, (2014) ont rapporté un rendement supérieur qui est de 1,94% pour l'huile essentielle de *T. vulgaris*, par contre **Hassani et al, (2017)** ont rapporté un rendement inférieur qui est de 1,18%.

Cette différence pourrait être attribuée à plusieurs facteurs à savoir le choix de la période et le milieu de récolte, la période de séchage, le climat, la zone géographique, la technique d'extraction, les pratiques culturales, et l'âge du matériel végétal.

Putievski et al (1986) ont montré que le rendement en huile essentielle pour certaines espèces des lamiacées est maximal pendant la période de floraison alors que d'autres espèces de la même famille, la floraison a une faible influence sur le rendement en huile essentielle.

3.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites sont présentées dans le tableau 5. Nous remarquons que nos huiles essentielles ont un aspect mobile et liquide. Généralement toutes les huiles essentielles extraites par la méthode d'hydro distillation ont un aspect mobile et liquide.

Les huiles essentielles extraites se caractérisent par des odeurs aromatiques très fortes. Nous remarquons que les deux huiles ont une odeur forte, fraîche, agréable et aromatique. La couleur de l'huile essentielle de *T. vulgaris* est de jaune foncé et celle de *M. spicata* est de jaune claire. En effet la couleur de l'huile essentielle de Thymest plus intense par rapport à celle de la menthe. Toutes les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des deux plantes sont en accord avec les normes AFNOR, comme indique le tableau suivant.

Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles étudiées et celles d'AFNOR.

	Caractéristiques organoleptiques	<i>M. spicata</i>	<i>T. vulgaris</i>
Résultats obtenus	Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile
	Couleur	Jaune claire	Jaune à jaune orangé
	Odeur	Forte odeur mentholé	Odeur douce et agréable caractéristique du thym
AFNOR 2000	Aspect	Liquide mobile, limpide	-
	Couleur	Presque incolore à Jaune pale	-
	Odeur	Caractérisation fraîche, plus ou moins mentholée selon l'origine	-
AFNOR 1985	Aspect	-	Liquide mobile
	Couleur	-	Brun à brun rouge
	Odeur	-	Caractéristique, aromatique, phénolique, agréable avec un fond légèrement épicé

Plusieurs auteurs ont trouvé des similarités entre les caractéristiques organoleptiques de deux huiles essentielles étudiées *M.spicata* et *T.vulgaris*. **Benbouali, (2006)** a trouvé que la couleur l'huile essentielle de *T. vulgaris* se varie entre jaune pâle et jaune rougeâtres avec une odeur aromatique et agréable. **Deschepper, (2017)** a rapporté que l'odeur de l'huile essentielle de *T. vulgaris* est forte et agréable. Tandis que **Taleb-Toudert, (2015)**, **Benazzouz et Hamdane, (2012)** ont trouvés que l'aspect de l'huile essentielle de *M. spicata* est d'un liquide mobile, de couleurjaune claire avec une odeur fraîche agréable caractéristique des feuilles.

3.4. Caractéristiques physico-chimiques

3.4.1. Densité relative

D'après nos résultats la densité relative de deux espèces *M. spicata* et *T. vulgaris* est de 0,923 et 0,9104 respectivement. La densité relative nous renseigne sur la composition chimique des huiles essentielle de *M. spicata* et *T. vulgaris*. Nos résultats montrent que les deux espèces *M. spicata* et *T. vulgaris* sont riches à des composés terpéniques et aliphatique. De plus elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité des produits ainsi que les tentatives de fraudes et d'altération (Hellal, 2011). Les valeurs obtenues des densités de nos huiles essentielles sont comparables aux valeurs des normes AFNOR (Tableau 5).

3.4.2. Indice de réfraction

Les mesures de l'indice de réfraction des huiles ont montré des résultats différents, estimés à 1,4898 pour l'huile essentielle de *M. spicata* et 1,4958 pour l'huile essentielle de *T. vulgaris*. Ces valeurs sont de même ordre de celles d'AFNOR (tableau 5), ce qui indique que nos huiles essentielles sont pures, car selon AFNOR l'indice de réfraction permet de vérifier la pureté d'une huile essentielle, (Sadam, 2017).

De plus un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (Boukhatem et al, 2010), ceci montre la richesse de nos huiles essentielles en composants qui dévient la lumière polarisée et que la teneur en monoterpènes dans ces huiles est forte. Aussi un indice de réfraction élevé indique la grande réfraction de la lumière ce qui pourrait défavoriser leur utilisation dans des produits cosmétiques (Kango et al, 2004).

Tableau 5: Comparaison des caractéristiques physiques des huiles avec les normes AFNOR

Caractères physiques	HE de <i>M. spicata</i>		HE de <i>T. vulgaris</i>	
	Résultats obtenus	AFNOR 2000	Résultats obtenus	AFNOR 1985
densité	0,923	0.917-0.937	0,9104	0,911- 0,931
Indice de réfraction	1,4898	1.484-1.491	1,4958	1,494-1,500

3.4.3. Indice d'acide

Les valeurs d'indices acides obtenus sont et pour les deux huiles essentielles de *M. spicata* et *T. vulgaris* sont respectivement 3,93 et 3,36. Nos résultats montrent que les deux huiles essentielles extraites contiennent plus d'acide libre. Ceci peut être du probablement à la force activité au métaboliques secondaires.

Selon certain auteur (Boukhatem et al, 2010), un indice d'acide inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'huile (faible quantité d'acides libres). Ces indices qui sont un peu élevés prouvent que les huiles essentielles sont instables et provoquent une oxydation

inquiétante. Car, l'huile, en s'oxydant, se dégrade rapidement (hydrolyse des esters) et provoque une augmentation de l'indice d'acide.

Nos résultats rejoignent ceux de **Benbouali, (2006)** sur l'huile essentielle de *T. vulgaris* avec une valeur de 3,330,

La valeur d'indice d'acide est en accord avec celle trouvé par **Taleb-Toudert, (2015)** avec une valeur de 3,366, par ailleurs **Benyoucef et Djediat, (2019)** ont signalé une valeur plus élevée qui est de 6,7332 pour l'huile essentielle de *M. spicata* (Tableau 6).

3.4.4. Indice de saponification

Nos résultats sur l'indice de saponification ont montré que l'huile essentielle testée *M. spicata* présente une valeur plus élevée (72.94) par rapport par celle de *T. vulgaris* avec 42.98.

L'indice de saponification des deux huiles implique qu'elle contienne des quantités d'acide gras et un important poids moléculaire, L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras ; plus le poids moléculaire est élevé plus l'indice de saponification est faible (**Novidzro et al, 2019**).

Le résultat obtenu par **Benbouali, (2006)** est similaire avec une valeur de 42,98 pour l'huile essentielle de *T. vulgaris*, mais supérieur à celle trouvée par **Benyoucef et Djediat, (2019)** pour l'huile essentielle de *M. spicata*. (Tableau 6).

3.4.5. Indice d'ester

Les résultats d'indice d'ester montrent que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a un indice d'ester plus faible par rapport au *M. spicata*, estimé de 69,01

D'après nos résultats, l'huile essentielle de *T. vulgaris* a un indice d'ester plus faible avec une valeur de 38,72. En revanche l'huile essentielle de *M. spicata* a un indice plus élevé avec une valeur de 69,01, ceci est dû à la nature odorante des esters, et que l'huile essentielle de menthe contient une forte teneur en ester par rapport à l'huile essentielle du thym, et il est admis que plus l'indice d'ester est élevé, mieux est la qualité d'une huile essentielle (**Cliff et Harerimana 2013**).

Le résultat obtenu par **Benbouali, (2006)** est similaire, estimé de 38,72 pour l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

Taleb-Toudert, (2014) a trouvé une valeur supérieure qui est de 420,75 pour l'huile essentielle de *M. spicata*, alors que **Benyoucef et Djediat, (2019)** ont trouvés une valeur inférieure qui est 15,7068 (Tableau 6).

3.4.6. LePh

Nos résultats ont montré que les deux huiles essentielles la menthe verte (*M. spicata*) et le thym vulgare (*T. vulgaris*) ont un pH acide de l'ordre de 6 (figure 31).

Cette valeur indique que ces huiles essentielles présentent un caractère acide ce résultats ainsi peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes ce qui permettra donc à ces huiles essentielles de jouer leur rôle de conservation des produits alimentaires et des denrées stockées



Figure 31 : Estimation de la valeur du pH

Tableau 6 : Comparaison des caractéristiques chimiques des deux huiles avec la littérature

Caractères chimiques	HE de <i>M. spicata</i>			HE de <i>T. vulgaris</i>	
	Résultats obtenus	Benyoucef et Djediat, 2019	Taleb-Toudert 2015	Résultats obtenus	Benbouali 2006
Indice d'acide	3,93	6,7332	3, 336	3,36	3,330
Indice d'ester	69,01	15,7068	420,75	38,72	39,65
Indice de saponification	72,94	22,4	-	42,08	42,98
pH	6	6,5	-	6	-

3.5. L'étude de l'activité biologique

3.5.1. L'activité antioxydante

3.5.1.1. Détermination du pourcentage d'inhibition

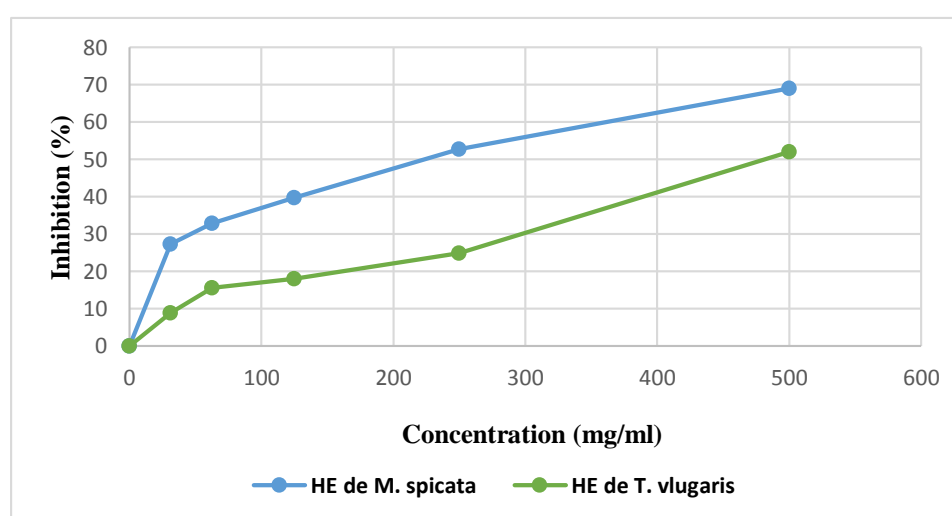
L'activité antioxydante des huiles essentielles de *M. spicata* et de *T. vulgaris* cultivées dans la région de la Kabylie ont été évaluées par la méthode de réduction de DPPH• en le comparant par l'acide ascorbique comme antioxydant synthétique de référence. Cette méthode est simple mais fortement sensible et plus utilisée.

La mesure des absorbances pour les différentes concentrations d'huiles essentielles et d'acide ascorbique dans l'éthanol ont été effectuées par spectrophotométrie à 517 nm, et à partir des résultats obtenus, les pourcentages d'inhibitions ou de réduction du DPPH ont été calculés.

Tableau 7 : Pourcentage d'inhibition de l'HE de *M. spicata* et de *T. vulgaris* par la méthode du DPPH

Concentration (mg/ml)	500	250	125	62,5	31,25
Absorbance d'HE de <i>M. spicata</i>	0,378	0,578	0,737	0,821	0,889
Inhibition(%)	69,09	52,74	39,74	32,87	27,31
Absorbance d'HE de <i>T. vulgaris</i>	0,411	0,644	0,702	0,723	0,780
Inhibition(%)	52,04	24,85	18,09	15,64	8,98

Ces valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *M. spicata* et de *T. vulgaris*.

**Figure 32 :** Les pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de *M. spicata* et de l'HE de *T. vulgaris*.**Tableau 4:** Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique

Concentration (mg/ml)	31,25	15,625	7,813	3,906	1,953	0,977	0,488
Absorbance	0,135	0,138	0,140	0,141	0,146	0,147	0,174
Inhibition (%)	88,96	88,72	88,55	88,47	88,06	87,98	85,77

Ces valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'acide ascorbique.

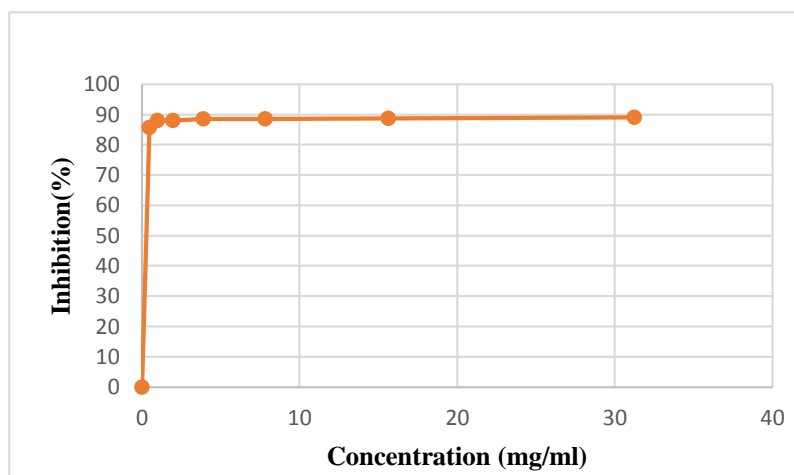


Figure 33: Les pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique, pour l'huile essentielle de *M. spicata* et l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les huiles essentielles des deux plantes est inférieur à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées.

A une concentration de 31,25 mg/ml, un fort pourcentage d'inhibition est obtenu avec l'acide ascorbique avec une valeur de 88,96%, suivi de l'huile essentielle de *M. spicata* avec un pourcentage de 27,31% et enfin de l'huile essentielle de *T. vulgaris* avec 8,98%.

3.5.1.2. Détermination d'IC50

La variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et d'huiles essentielles de *M. spicata* et de *T. vulgaris* nous permet de calculer la concentration inhibitrice IC50 ou la concentration efficace CE50.

Les résultats d'acide ascorbique, d'huile essentielle de *M. spicata*, et d'huile essentielle de *T. vulgaris* ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire : $y = ax + b$ (Annexe 1)

Où $y = 50\%$ (pourcentage de réduction de DPPH)

Les valeurs d'IC50 déterminées graphiquement en mg/ml exprimant la concentration d'inhibition des trois échantillons sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 5: Valeurs d'IC50 d'HE de *M. spicata*, d'HE de *T. vulgaris* et d'acide ascorbique.

Antioxydant	Equation	IC50 (mg/ml)
HE de <i>M. spicata</i>	$Y=0,1122x+18,886$	277,841
HE de <i>T. vulgaris</i>	$Y=0,0931x+4,9011$	484,414
Acide ascorbique	$Y=0,8822x+70,225$	22,926

Y : Pourcentage d'inhibition. x : Concentration d'HE

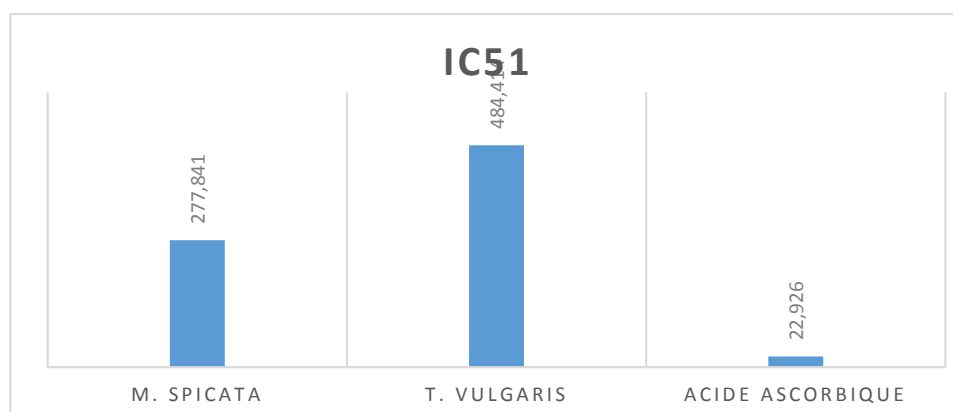


Figure 34 : Valeurs d'IC50 de l'HE de *M. spicata*, de l'HE de *T. vulgaris* et d'acide ascorbique

On remarque que la IC50 la plus faible est celle d'acide ascorbique suivit celle de l'HE de *M. spicata* puis celle de l'HE de *T. vulgaris*.

L'acide ascorbique présente le meilleur pouvoir antioxydant qui correspond à IC50 la plus faible (22,926 mg/ml). Par contre, les huiles essentielles présentent le faible pouvoir antioxydant avec IC50 la plus élevée (277,841 mg/ml) pour l'huile essentielle de *M. spicata* et (484,414 mg/ml) pour l'huile essentielle de *T. vulgaris*. Nous pouvons dire que ces deux huiles essentielles ont une activité antioxydante mais moins efficace que celle de l'acide ascorbique.

Cette activité antioxydante est peut-être due à la présence des composés phénolique dans les deux huiles essentielles qui sont capable de donner l'hydrogène des groupements hydroxyle, et de former un produit finale stable (Milano et al, 2007).

Différent auteurs ont analysé la capacité antioxydante de ces huiles essentielles, et ils ont constatés qu'elles possèdent une activité remarquable.

Le résultat obtenu par Ismaili et al, (2017) est comparable à la valeur trouvée pour l'huile essentielle de *M. spicata* qui est de 201,34 mg/ml, par contre Brahmi et al, (2016), Allali et al, (2013) et Hadj Ahmed et Kouider Mahmoud, (2017) ont trouvés respectivement des valeurs inférieure 9544,6 µg/ml, 10620 µg/ml et 6,2 mg/ml.

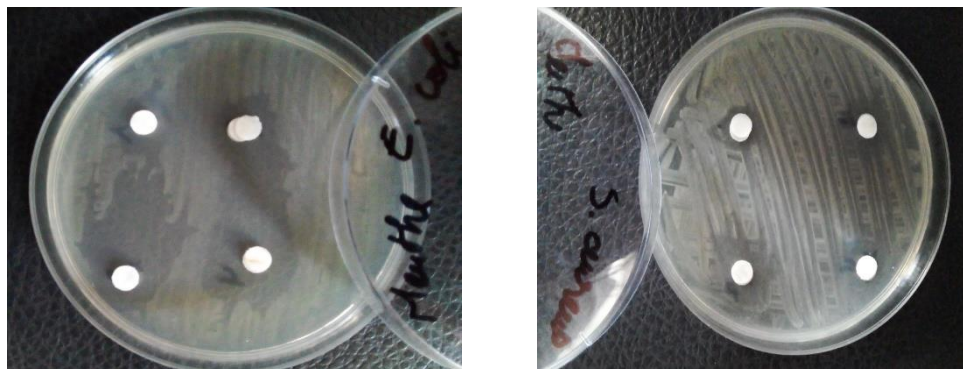
Le résultat obtenu pour l'huile essentielle de *T. vulgaris* est supérieur à ceux de **Tahri et al, (2020)**, et **Ismaili et al (2017)** qui ont trouvés respectivement 1,41 mg/ml, et 4,57 mg/ml.

Cette différence peut être attribuée aux divergences des proportions des composés responsables de l'activité antioxydante.

3.5.2. L'activité antibactérienne

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de nos huiles ont été réalisées sur deux bactéries (*E.coli* et *S.aureus*), par la méthode des aromagrammes (méthode de diffusion en milieu gélosé). Le pouvoir antibactérien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

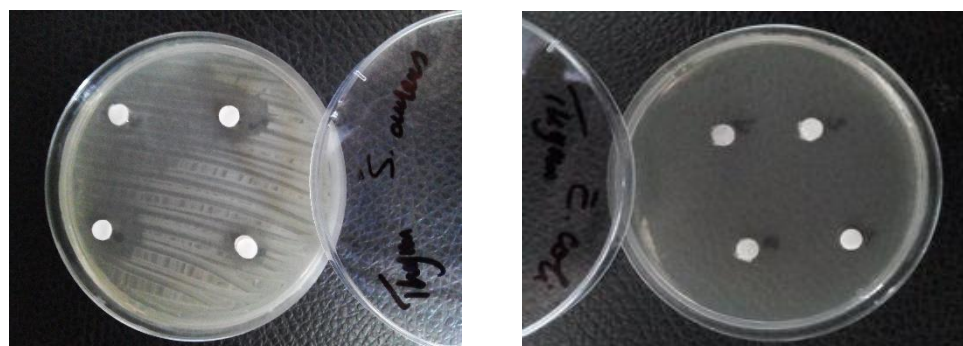
Le diamètre de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés d'HE pur de différentes doses après 24 heures d'incubation à 37°C sont observés dans les figures suivantes :



a

b

Figure 35 : Zones d'inhibitions de l'effet de l'HE de *M. spicata* sur les souches bactériennes *E.coli* (a) et *S. aureus* (b).



c

d

Figure 286 : Zones d'inhibitions de l'effet d'HE de *T. vulgaris* sur les souches bactériennes *S. aureus*(c) et *E. coli* (d).

Les mesures de diamètre des zones d'inhibitions ainsi leurs pourcentages nous permettent d'estimer l'activité antibactérienne des deux extraits comme indiquent les deux tableaux suivants :

Tableau 10: Estimation de l'activité antibactérienne de l'HE de *M. spicata* sur les souches testées.

Souches	Gram	Doses (µl)	ZI (mm)	PI (%)	Sensibilité	Estimation de l'activité
E. coli	-	4	14	15,55	+	Légèrement inhibitrice
		8	17	18,88	++	Modérément inhibitrice
		12	20	22,22	+++	Modérément inhibitrice
		16	33	36,66	+++	Très fortement inhibitrice
S. aureus	+	4	14	15,55	+	Légèrement inhibitrice
		8	15	16,66	++	Légèrement inhibitrice
		12	16	17,77	++	Légèrement inhibitrice
		16	19	21,11	++	Modérément inhibitrice

Tableau 11 : Estimation de l'activité antibactérienne de l'HE de *T. vulgaris* sur les souches testées

Souches	Gram	Doses (µl)	ZI (mm)	PI (%)	Sensibilité	Estimation de l'activité
E. coli	-	4	/	/	-	Non inhibitrice
		8	/	/	-	
		12	/	/	-	
		16	/	/	-	
S. aureus	+	4	13	14,44	+	Légèrement inhibitrice
		8	18	20	++	Modérément inhibitrice
		12	20	22,22	+++	Modérément inhibitrice
		16	35	38,88	+++	Très fortement inhibitrice

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les souches bactériennes testées présentent des diamètres et des pourcentages d'inhibitions différents vis-à-vis des différentes doses pour les deux huiles essentielles étudiées. La souche qui présente le plus grand diamètre est la bactérie *E. coli* qui varie entre 14 et 33 mm pour l'huile essentielle de *M. spicata*, cependant l'huile essentielle de *T. vulgaris* ne présente aucun effet inhibiteur vis-à-vis *E. coli*. Par contre la souche *S. aureus* a révélé un diamètre d'inhibition important qui varie entre 13 et 35 mm.

Tous les souches bactériennes sont sensibles aux huiles essentielles avec de différentes intensités et présente une activité qui varie proportionnellement avec les doses utilisées, sauf la bactérie *E. coli* qui résiste à l'huile essentielle de *T. vulgaris*. Les activités antibactériennes enregistrées sont plus intéressantes contre la *E. coli* par rapport à la *S. aureus*. Les deux huiles essentielles *M. spicata* et *T. vulgaris* ont un effet antibactérien très important vis-à-vis *S.*

aureus. Tandis que l'huile essentielle de thym ne présente aucune activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli*.

Différentes auteurs ont démontré l'efficacité de ces huiles essentielles contre les deux souches bactériennes testées :

Tableau 12 : Comparaison entre les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de *M. spicata* avec d'autre étude.

Doses (µl)	Kizil et al, 2010				Brahmi et al 20116	Ykrelef 2019	Résultats obtenus			
	5	10	15	20	5	20	4	8	12	16
E. coli	11,3	14,6	16	19,6	11	15	14	17	20	33
S. aureus	9,3	12,6	14,6	16	14	15	14	15	16	19

Toutes les études ont démontré l'efficacité de l'huile essentielle de *M. spicata* avec des intensités différentes contre les bactéries utilisées en employant de diverses doses, mais notre étude reste celle qui à donner une plus grande efficacité, c'est la preuve de qualité de notre huile et de sa richesse en un composé responsable de l'activité antibactérienne.

Les auteurs **Selles et al, 2016** et **Kizil et al, 2010** ont jugés que le mono terpène oxygéné (carvone) était chargé de donner cette bioactivité antibactérienne.

Tableau 13: Comparaison entre les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de *T. vulgaris* avec d'autres études.

Doses (µl)	Sidali et al 2014	Boukhatem et al, 2014	Résultats obtenus
	20	20	20
E. coli	30	10	/
S. aureus	60	13	35

/ : Pas d'inhibition

D'après le tableau, une nette différence a été constaté entre les résultats trouvés dans la littérature et les nôtres ;

Les souches bactériennes testés sont tous sensibles à l'huile essentielle de *M. spicata* diffèrent intensité, le diamètre d'inhibition de la souche *S. aureus* obtenu par notre huile malgré l'utilisation d'une dose inférieure est supérieur à celui trouvé par **Sidali et al 2014**, et inférieur à celui de **Boukhatem et al 2014**, cette divergence d'activité pourrait être expliquée par la teneur en composé majoritaire ;

La principale différence entre les résultats de ces études et celle de notre est que la souche *E. coli* est sensible aux huiles essentielles contrairement à notre huile essentielle qui ne révèle aucune inhibition.

Il est très difficile de faire de telle généralisation, que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif car chaque huile essentielle est unique dans sa composition et chaque bactérie diffère considérablement en structure et en fonctionnalité y compris en pouvoir pathogène (Elgayyar et al, 2001).



Conclusion générale

Conclusion générale

De nos jours, les huiles essentielles sont des substances très sollicitées dans divers domaines.

La thérapeutique médicale étant le domaine dont lequel elles sont le plus prometteuses.

Le présent travail a été consacré à l'extraction et caractérisation des huiles essentielles de deux plantes de la famille des lamiacées (*M.spicata* et *T.vulgaris*). Il existe plusieurs méthodes d'extraction, nous avons opté pour l'hydro distillation qui présente la particularité d'être à la fois simple, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre pour une meilleure compréhension des conditions fondamentales nécessaires pour réaliser ce processus.

Les résultats d'extraction montrent un rendement de 1.28% pour *Mentha spicata* et 1.41% pour *Thymus vulgaris*

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur, couleur) de nos huiles présentent un aspect liquide mobile de couleur jaune avec une forte odeur mentholée pour *M.spicata* et aussi liquide mobile de couleur jaune très clair à transparent avec une odeur douce et agréable pour *T.vulgaris*. Mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur nos essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises (la densité, l'indice de réfraction, le pH, l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice d'ester). Ces derniers sont tous proches de ceux donnés par la littérature.

Les résultats de l'activité anti oxydante qui est évaluée par la méthode de réduction de DPPH montrent que nos huiles ont une activité réductrice, mais inférieure à celle de l'acide ascorbique.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* a été réalisée in vitro sur 2 souches bactériennes fournies par le laboratoire

Les résultats de l'aromatogramme ont démontré que l'huile de la menthe verte présente un pouvoir inhibiteur important contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Par contre l'huile de *Thymus vulgaris* présente juste un pouvoir inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*.

Sur ce, on peut dire que nos huiles essentielles peuvent être présentées comme de bons candidats pour explorer de nouveaux agents antioxydants et antibactériens naturels pour lutter contre l'oxydation et les micro-organismes pathogènes. L'incorporation de ces huiles dans les formulations médicamenteuses est recommandée.

Finalement, l'objectif de cette étude a été atteint puisque nous avons contribué à extraire et caractériser les huiles essentielles de deux espèces Algérienne menthe et thym (lamiacées).

Les perspectives de cette thématique initiées récemment dans l'équipe de recherche modélisation et optimisation des procédés chimiques (LOMOP) ouvrent de nombreuses pistes de recherche à travers l'exploration des ressources naturelles par l'identification de substances actives pour une éventuelle utilisation en plusieurs applications comme la caractérisation du mode d'action des huiles essentielles a activité antimicrobienne et anti oxydante, ce défi sera l'objet de plusieurs études dans nos projets de recherches.

Conclusion générale

Aussi, il serait intéressant de faire des campagnes d'informations et de sensibilisation de la population sur la meilleure façon d'utiliser les plantes et leurs huiles essentielles. Car ces derniers peuvent être utilisés par presque toutes les voies d'administration.

Les perspectives proposées afin d'approfondir et élargir notre travail sont comme suite :

- Faire le test d'identification des différents composés chimiques présent dans les deux huiles essentielles par la CG/SM.
- De tester d'autre technique d'extraction et leur influence sur les caractéristiques physico-chimiques et biologiques.
- Déterminer l'activité antioxydante par d'autres méthodes.
- Elargir la gamme des souches tester et déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque huile essentielle étudiée.
- Etude d'autres activités biologiques attribuées à ces plantes : Activité antiinflammatoire, activité antivirale et activité bio insecticides ...



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abdelli, W., 2017. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. (Thèse de doctorat en sciences biologiques).Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis.

AFNOR., 1985. Recueil des normes françaises « les huiles essentielles», Paris

AFNOR., 2000. Recueil de normes françaises « Huiles essentielles » Paris. AFNOR NF T 75-006.

Allali, H., Chikhi, I., Dib, ME., Muselli, A., Fekih, N., Meliani, N., Kamal, MA., Tabti B. and Costa J. 2013.Antioxidant activity and chemical analysis of *Mentha spicata* cultivated from west northern region of Algeria by headspace solid phase micro-extraction and hydro-distillation. *Nat Prod I J.* 9(6) : 258–263

Alam. MS; Roy. PK; Miah. AR; Mollick. SH; Khan.MR; Mahmud.MC; Khatun.S., 2013. Efficacy of Peppermint Oil In diarrhea predominant IBS- a double blind randomized placebo- controlled study. *Mymensingh Med j.* 2013 Jan; 22(1); 27-30.

ANONYME 1 : <http://www.gmenga.fr/aromatiq/Menthe.html>).

ANONYME 2 : www.ponroy.com/plantes/le-thym.

ANONYME 3: www.promenadeaujardin.bio;nordicherbshop.com).

ANONYME 4 : <http://mira.biotéchnologievégétale.blogspot.com>.

ANONYME 5 : <https://box-evidence.com>.

Arumugam P, Ramamurthy p, Santhiya ST, Ramesh A.,(2006). Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn. An analysis by ABTS*+ decolorisation assay . *Asia pac J ClinNutr.* 15(1):119-24.

Baba Aissa. F ; 1999. Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb).Ed Librairie moderne.Rouiba. p 172

Bazizi, M., 2017. Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *salviaofficinalis* L. Par hydrodistillation: caractérisation physicochimiques et modélisation paramétrique. (Mémoire en génie chimique). Annaba: Université Badji Mokhtar.

Benazzouz, A. et Hamdane, A., 2012.Etude et analyse des plantes médicinales Algérienne : *Menthapulegium*, *Mentharotundifolia* et *Mentha spicata* L. (Mémoire de master en chimie pharmaceutique). Tizi-Ouzou :Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Benbouali, M., 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : *Mentha rotundifolia* et *thymus vulgaris*. (Mémoire de magister en génie des procédés). Chlef: Université Hassiba Ben Bouali.

Bendjilali, B., 2006. Extraction des plants aromatiques et médicinales: Cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Rabat: Institut agronomique et vétérinaire Hassan 2. 18-59p.

Références bibliographiques

Bendif, H., 2017.Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae:Ajugaiva (L.) Schreb., Teucriumpolium L., Thymus munbyanussubsp. Coloratus (Boiss. &Reut.) Greuter&Burdet et Rosmarinusericalyx Jord &Fourr (Thèse de doctorat en science biologique). Alger : Ecole normal supérieur de Kouba-Alger.

Benini C., 2007.Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, pp109.

Benyoucef, E. et Bessah, R., 2015. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Revue des Energies Renouvelables.18 (13), 513-528p.

Benyoucef, H. et Djediat, M., 2019. Etude biologique des huiles essentielles du mentha spicata et formulation d'un lave-mains. (Mémoire de master en génie des procédés). BOUIRA: Université A.M. Oulhadj.

BouhdidS, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, SkaliN, SetAbrini J., 2006.Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006

Boukhatem, MN., Ferhat, MA., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H. et Teffahi, D., 2014. Valorisation de l'essence aromatique du Thym (Thymus vulgaris

Boukhatem, MN., Hamaidi, MS., Saidi, S. et Hakimy, Y., 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature et technologie. 2(2), 37-45p.

Boukhebti, H., Chaker, AN., Belhaddji, H. ET Sahli, F., 2011.Chemical composition and antibacterial activity of Mentha pulegium L. and Mentha spicata L. essential oils. Der Pharmacia Lettre.3(4), 267-275p.

Bourgeois, L., 2009.Remèdes et recettes de grand -mère, Rustica Ed, Paris

Boutamani, M., 2013. Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristicafragrans en fonction du temps et de la technique utilisée. [En ligne], Alger. [Consulté le 26 Mai 2021]. Disponible sur <https://www.memoireonline.com>.

Brahmi, F., Adjaoud, A., Marongiu, B., Falconieri, D., Allaoui-Guellal, D., Madani, K. et Chibane, M., 2016.Chemical and biological profiles of essential oils from Mentha spicata L. leaf from Bejaia in Algeria. Journal of Essential Oil Research. 28(3), 211-220p.

Bruneton.J ; 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} Edition. Paris pp 533-536.

Buronzio, A., 2008. Grand guide des huiles essentielles, Hachette pratique : Edition Hachette Pratique. 309p.

Chalchat. J.C ; Gorunovic.M.C ; Maksimovic.Z.A ; Petrovic.S.D. (2000).Essential Oil Of Wild GrowingMenthaPulegium L From Yugoslavia.J.Essent.Oil.Res.12 ; 5.98-600.

Clief, S. et Harerimana, PC., 2013. Extraction d 'huileessentielle complete des fleurs de Canangaodorata de la plaine de l'Imbo : vers la vulgarization d'une nouvelle filière de plantes industrielle au Burundi. Revue de l'Université du Burundi ,Série Sciences Exactes.

Références bibliographiques

Courtial, S., 2005. Précis d'aromathérapie vétérinaire à l'usage des pharmaciens d'officine. (Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie). Nantes : Université de Nantes.

Roux Daniele., 2008. Conseil en aromathérapie, Wolters Kluwer.

Daniel.J, Rodolphe –Edouard.S, Vincent V.S; 2002. Botanique Systématiques des plantes à fleurs (Collection biologique). 2^{ème}Edition .PPUR. 328p.

Daoudi.F; 2016. Analyse chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de *Chiliadenusrupestris* et *Thymus coloratus* (Zaater) de la région de Tlemcen; thèse de master en chimie, Université Abou BekrBelkaid De Tlemcen, p 7-11.

Deschepper, R., 2017. Variabilités de la composition des huiles essentielles et internet de la notion de chémotype en aromathérapie. (Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie). Marseille : Université d' Aix-Marseille.

Dgcre., 2019. Huile essentielle recommandation sanitaire pour l'emploi d'huile essentielle dans les compléments alimentaires, Nutrition et information des consommateurs : secteurs « complément alimentaire.1-19p.

Djeddi, S., BOUCHENAH, N. et SETTAR, I., 2007.Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosmarinusofficinalis* from ALGERIA. Chemistry of Natural Compounds. 43 (4), 487-490p.

Elgayyar, M., Draughoun, FA. ET Mount, JR., 2001. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. Journal of food protection. 64(7), 1019-1024p.

EyclopaeddiaBritanica, 6. (1965).EyclopaeddiaInc.Chicago, III, 564.

Fekih, N., 2015. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinuspoussant* en Algérie. (Thèse de doctorat Es-science en chimie). Tlemcen : Université Abou BekrBelkaid.

Fournier, PV., 2010. Dictionnaire des plantes médicinales et vénéreuses de France, Omnibus, Paris.

Frédérich.M; Janvier 2014. Les plantes qui nous soignent : de la tradition a la médecine moderne, centre interfacultaire de recherche du médicament; chargé de cours a la faculté de médecine, Université de Liège, p 62. [[41]:Benayache.F; 2013. Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicuspoiret*; thèse de magister en chimie organique, université Constantine, p 3-7.

Goetz P, Guedira K., 2012.Phytothérapie anti-infectieuse. Paris: Springer.

Hadj Hmed, S. et Kouider Mahmoud, N., 2017. Etude de l'extraction et de l'activité biologique des huiles essentielles de Menthe dans la région d' Ain Defla. Ain Defla : Université Djilali Bounaama.

Références bibliographiques

Hadji-Minaglou, F. et Kaloustian, J., 2012. La connaissance des huiles essentielles, qualilogie et aromathérapie - entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Paris: Edition Springer. 226p.

Hammami .S Et Abdesselem. M ; 2005. Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région d'Ouargla. ThèseIngUniv Blida p69.

Hassani, A, Sehari, N., Sehari, M., Bouchnafa, N., Labdelli, F. et Kouadria, M., 2017. Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées. Revue Écologie-Environnement. (13), 5-11p.

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

Hessas, T et Simoud, S., 2018. Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp. (Mémoire pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie). Tizi-Ouzou : Université Mouloud MAMMERI.

Hmamouchi, M., 1999. Les plantes médicinales et aromatiques Marocaines : utilisations, biologie, écologie, chimie, pharmacologie, toxicologie-Imprimerie de Fédala Mohammedia (Maroc), 389 pp (1999).

Iserin,P., Masson,M. et Restellini,JP., (1997). « Encyclopédie Des Plantes Médicinales, Identification Préparation, Soins » Ed Larousse-Bordas.

Iserin.P ; 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed ISBN. 70p

Ismaili, R., Houbairi, S., Lanouari, S., Moustaid, K. et Lamiri, A., 2017. Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines. European Scientific Journal. 13(12) : 323-334p

Kabouche.A; 2005. Etude photochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae; thèse de doctorat d'état en chimie ; Université Mentouri Constantine; p 277.

Kango, C., Sawaliho, B., Kone, S., Kounoua, G. et N'guessa, YT., 2004. Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. Comptes renduschimie. 7(10-11), 1039-1042.

Kavier, F. et Chemat, F., 2012. La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation. France : Edition Vuibert. 274p.

Khaldi A, Meddah B, Moussaoui A, Benmehdi H., 2012. Screening phytochimique et l'effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. European Journal of Scientific Research 80(3); 311-321p.

Khellaf, B., Sifouni, M. et Guennifi, N., 2021. L'appareil de Soxhlet. (Exposé en science de la nature et de la vie). Mila: Institut des Sciences et de la Technologie.

Références bibliographiques

Kholkhal.F; 2014. Etude Photochimique et ActivitéAntioxydant des extraits des composés phénoliques de *Thymus Ciliatus*ssp*Coloratus* et *sspeuciliatus* ; thèse de doctorat en biologie ; Université –Abou BakrBelkaid Tlemcen; 139 p.

Kizil, S., Hassimi, N., Tolan, V., Kilinc, E. et Yuksel, U.,2010.Mineral Content, Essential Oil components and Biological Activity of Two *Mentha* Species (*M. Piperita* L., *M. Spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops.* 15(2), 148-153p.

LAhrech, K., 2010. Extraction et analyse des huiles essentielles de *Menthapulegium* L. et de *Saccocalyx*satureioide Tests d'activités antibactériennes et antifongiques. (Mémoire de magister en chimie). Oran: Université d'Oran Es-Sénia.

LAIB, I. et BARKAT, M., 2011. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavondulaofficinalis*. Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agro alimentaires, Université de Constantine Mentouri, Algérie. 89-101p.

Lakhdar, L., 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle Marocaine sur *aggregatibacter*: Etude in vitro. (Thèse de doctorat en science de la vie). Rabat: Université Mohamed V de Rabat.

Lavergne.D; Décembre 2012. Guide technique des plantes à parfum aromatiques et médicinales (PAM) en bio; redaction; AGROBIO 47association de développement de l'agriculture biologique en Lot Garonne; p 4-8.

Lawrence.B.M; Hogg.M; Terhune.S ;(1972).j.Flavorur Industry; 37,467.

Lis-Balchin M. ET Hart S. L, 2000. Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapyresearch*, vol 14, p.p. 623-629.

Marcusson, J., 1929. Manuel de Laboratoire pour l'industrie des huiles et graisses. France: Edition librairie Polytechnique Ch. Béranger 168 p.

Milano, D., Fernandez-Pachon, MS., Moya, ML., Troncoso, AM. Et Gracia-Parilla, MC., 2007.Radical scavenging ability of polyphenoliccompounds towards DPPH free radical. *Talanta.* 71(1), 230-235p.

Morales R, 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *thymus*. In *Thyme: the genus Thymus. Medicinal and Aromatic Plants- Industrial Profiles.*Stahl-Biskup E. ET Saez F, Ed.Taylor& Francis, vol.17. London.

Moon J. K. & Shibamoto T. (2009). Antioxidant Assays for plant and food components. *journal of agricultural food chemistry*, 57: 1655-1666p.

Moutinho, Carla & Matos, Carla &Neves, José & Teixeira, Dora & Cunha, Silvia &Gomes, Ligia. (2013). Antispasmodic activity of aqueous extracts from *mentha x piperita* native from tras-os Montes region (Portugal). *International journal of IndigenouMedicinal Plants* .29.1167

Références bibliographiques

Murphy, A. et Ndinga, E., 2015. Inventaire et analyse chimique des exsudats des plantes d'utilisation courante au Congo-BRAZAVILLE. (Thèse de doctorat en chimie).Paris: Université Paris-Sud.

Mutai, C., BII, C, Vagias., C, Abatis, D. et Roussis, V., 2009.Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupane triterpenes. Journal of ethnopharmacology. 123(1), 143-148p.

MUTER, L., 2015. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant.(Thèse de doctorat en pharmacie).Auvergne: Université d'Auvergne.

Novidzro,KM., Wokpor, K., Amoussou, FB., Koudouvo, K., Dotse, K., Osseyi, E. et Koumaglou, KH., 2019. Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de Griffonia simplicifolia. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 13(4), 2360-2373p.

Nowiki, J., 2019.Les dangers de l'utilisation abusive des huiles essentielles. (Thèse de doctorat en pharmacie).Lille: Université de Lille 2.

Pelt.J.M; 1981. La médecine par les plantes, édition revue et augmentée, 60p.

Pierre, C., 1939. Précis de technologie et de chimie industrielle. Paris: Edition Baillière et .fils. 781p

Piochon, M., 2008. Étude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hémi-Synthèse. (Mémoire). Chicoutimi: Université du Québec.

Putievski, E., Ravid, U. et Dubai, N., (1986).The influence of season and harvest frequency on essential oil and herbal yields from pure clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. Journal. Nat. Prod., 49 (2), 326-329p.

Qaralleh.H.N; Abboud.M.M; Khleifat.KM; Tarawneh.K.A; Et Althunibat.O.Y, 2009. Antibacterial activity in vitro of *Thymus Capitatus* from Jordan, revue de pak J pharm Sci, 22(3), 247-51, 247p.

Quezel.P; Santa.S. (1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. ED. C.N.R.S. Tome2, paris.

Sadam, SM., 2017. Caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielles extraite des feuilles 'Helichrysum ibityense (*Asteraceae*). (Mémoire de mastr en biochimie).Madagascar: Université d'Antananarivo.

Samate, AD., 2002. Compositions chimique d'huile essentielle extraite de la plante aromatique de la zone Soudanienne du Burkina Faso: valorisation.(Thèse de doctorat en science physique).Ouagadougou: Université de Ouagadougou.

Segurat, M., 2016. Huiles Essentielles: Le guide pratique de l'aromathérapie en 12 huiles essentielles, L'aromathérapie: Edition CreateSpace Independent Publishing Platform. 98p.

Références bibliographiques

Selles, SMA., Kouidri, M., Ait amrane, A., Belha, BT., Hammoudi, SM. Et Boukraa, L., 2016. Etude de l'activité biologique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* cultivée dans la région de Tiaret (Algérie).Sipam.

Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, ML. Et Lognay, G., 2014. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. *PhytoChem and BioSub Journal*. 8(3), 156-161p.

Sommerard,JC., 2012. Les eaux florales, presses du chatelet, Paris.

Staub, H., 2013. Bayer Lily Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues, Ed Grancher, Paris.

Tahri, D., Elhouiti, F., Ouinten, M. et Yousfi, M., 2020. Pouvoir antioxydant, effet inhibiteur des huiles essentielles de *thymus vulgaris* et *thymus algeriensis* sur la croissance de cinq souches de *Fusarium*. Tbessa : Université Larbi Tbessi.

Taleb-Toudert, K., 2015.Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae. (Thèse de doctorat en sciences biologiques).Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Teuschier, E., Anton, R. et Lobstein, A., 2004. Plantes aromatiques Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier: Edition Tec &Doc. 544p.

Touhami, A., 2017. Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. (Thèse de doctorat en science). Annaba: Université Badji Mokhtar.

Verbek, N., 2006. L'Aromathérapie comme alternative crédible à l'antibiothérapie. vol. 20.

Yaacoub, R. et Tlidjane, I., 2018. Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminumcyminum* L. et de *Foeniculumvulgare* Mill. Extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique : Etude comparative. (Mémoire en génie chimique). Oum El Bouaghi: Université Larbi Ben M'Hidi.

Ykrelef, R., 2019. Diagnostic bactériologique des infections urinaires et études de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la menthe verte "*Mantha spicata*" sur quelques souches isolées.(Mémoire de master en sciences biologiques). Blida: Université de Blida -1-.

Youssef, AN., 1990. Dictionary of Medicinal Plants, Librairie du Liban 160 p.

Yousef, A., 2012.Antinociceptive activity OfMenthapiperita leaf aqueous extract in mice. *Libyan J Med*. 7.

Zeghad, 2009. Etude de contenu polynolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus Vulgaris*, *Rosamariunsofficinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine.

Zeghib, A., 2013. Etude phytochimique et activité antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huile essentielle de quatre espèces endémiques de genre *thymus*. [Thèse]. Constantine: Université constantine 1.

Annexes

Annexe 1

Courbes d'étalonnage d'HE de *M. spicata* (fig a), d'HE de *T. vulgaris* (fig b) et d'acide ascorbique (fig c), expriment les valeurs de IC50.

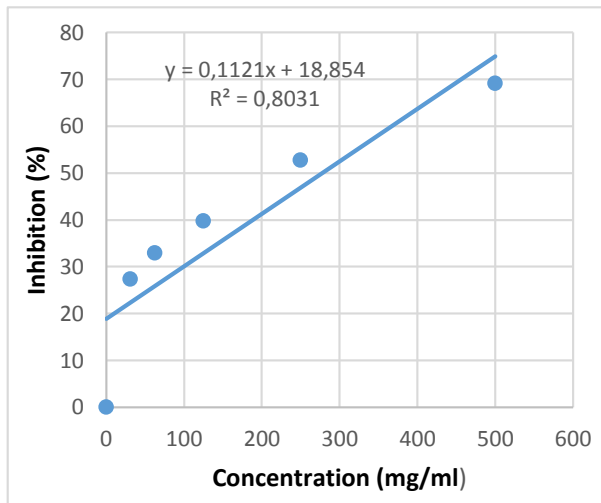


Fig a

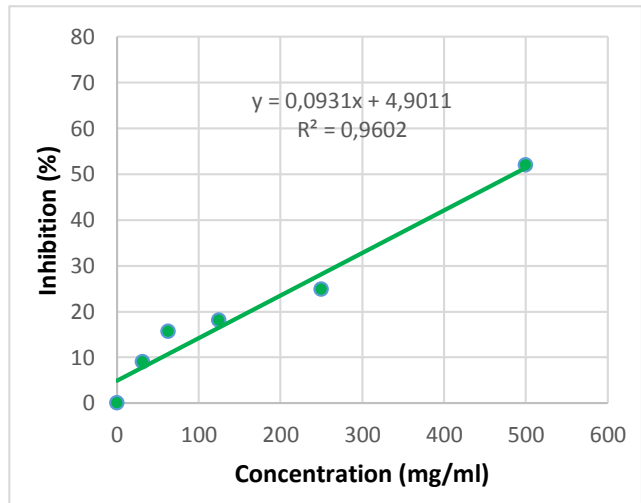


Fig b

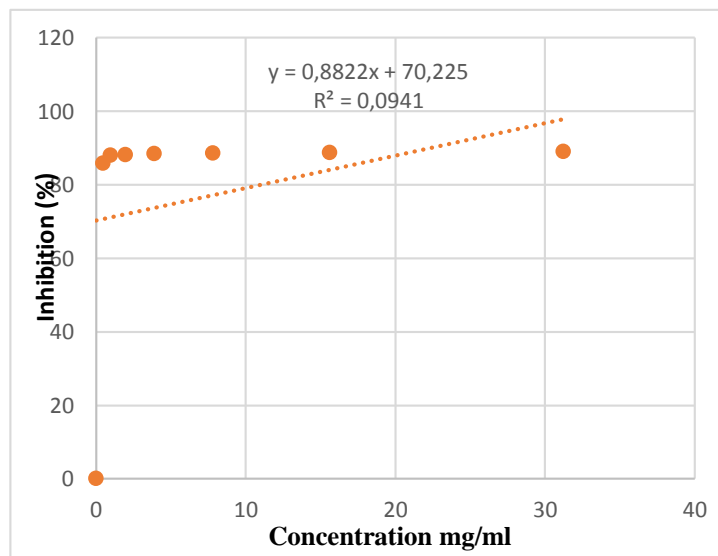


Fig c

Annexe 2 :

1. Les microorganismes utilisés :

- **Escherichia coli**

Est l'espèce type du genre *Escherichia* des entérobactéries. Appelée communément "colibacille" c.-à-d. "bacille à côlon", cette espèce qui a fait l'objet d'un très grand nombre d'études constitue le modèle des bacilles à Gram- aérobies. La plupart des *E. coli* se multiplient rapidement (18 à 24 h) sur les milieux habituels. Les colonies ont en moyenne 2 mm de diamètre, elles sont rondes, plates et à bords réguliers. C'est l'une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine.

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif (présente à raison de 10^7 à 10^9 corps bactériens/g de selle des anaérobies) et pathogène pour l'appareil urinaire et qui se transmet par voie oro-fécale. Certaines souches d'*E. Coli* sont capables de causer des dommages au niveau de la muqueuse digestive se traduisant par un syndrome infectieux.

- **Staphylococcus aureus**

Est un coque à Gram+ de 0,5 à 1 um de diamètre, non sporulé, immobile, aéro-anaérobie facultatif, catalase+, fermentant le glucose. C'est une bactérie ubiquitaire, présente dans tous les milieux naturels (air, poussière, sol, eau, égouts, vêtements) mais également chez les animaux et chez les hommes.

Elle est très fréquente à l'état commensal et pathogène. En effet, très rapidement après la naissance, il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales et des mains.

Mais il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées, et de certaines infections ORL. En milieu hospitalier, il est impliqué dans les infections nosocomiales, pouvant être graves. *Staphylococcus aureus* peut aussi être responsable d'intoxications alimentaires. Pouvant survivre dans le milieu extérieur, il peut être retrouvé sur la literie, dans le matériel médical à l'hôpital, ce qui amplifie les phénomènes de transmission.

2. Le milieu de culture

La gélose Mueller–Hinton : Est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose.

Composition : Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée :

Infusion de viande.....	2,0
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5
Amidon soluble.....	1,5
Agar.....	17,0
pH final à 25°C	7,3 ± 0,1

