

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REpubLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
جامعة محمد بوقرة بومرداس

UNIVERSITE M'HAMED BOUGUERA BOUMERDES
FACULTE DES SCIENCES
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de master académique

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Caractérisation phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne
et antioxydante des huiles essentielles de *thymus willdenowii* et de
*l'origanum floribundum***

Présenté et soutenu par : M^{elle} ABBAS LYNDA YASMINE

M^{elle} MESSALIT SABRINA

Devant le jury :

M ^{me} AIT KAKI A.	MCA	UMBB	Présidente
M ^{me} AIT KACI K.	MCB	UMBB	Examinatrice
M ^{me} FAZOUANE F.	Professeure	UMBB	Promotrice

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons de dire « El-Hamdouli'Allah », merci Allah de nous avoir donné la santé, le courage, la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail.

*Nous exprimons nos respectueux remerciements à notre encadrant **M^{me} Fazouane F.** «Professeure à l'Université M'Hamed Bougara Boumerdes » pour avoir accepté de nous encadrer et diriger ce travail par excellence. Merci pour, votre disponibilité, conseils, aides et surtout pour votre patience pendant la rédaction de ce mémoire. Soyez assuré Madame, de notre estime et de nos profonds respects.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury, **M^{me} Ait Kaki A.** De nous avoir fait l'honneur de présider le jury et pour **M^{me} Ait Kaci K,** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*C'est un grand merci que nous adressons à **M^r Boussalem A.** d'avoir nous fournir l'échantillon frais d'origan afin de réaliser cette recherche.*

*Un remerciement spécial s'adresse à **M^{lle} Toudji Kamila** pour son orientation et aide lors des manipulations au niveau de laboratoire de biochimie.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du laboratoire de biologie, génie alimentaire et de CRD pour leurs aides et leurs encouragements en particulier : **M^{me} Bouldjennet S, Kfiari O, M^{me}Farida** et **M^{lle} Amrani S** et sans oublier **M^{me} Bouraoui N** qui nous a permet d'avoir l'accès au CRD.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à toute **l'équipe fonctionnelles de Jardin d'essai** et plus spécifiquement ceux de la bibliothèque pour leurs accueil et leurs gentillesse et d'avoir nous fournir un accès gratuit et de consulter les livres pendant trois mois.*

*Nous tenons également à remercier **M^{me} Dehak,** les doctorants **Merrad S, Bennacer A, Hocini S, Zermout A** et nos collègues **Madoun A, Akkouché A** et **Haddad T** pour leurs conseils, remarques précieuses qui nous ont été bénéfiques pour la réalisation de ce travail.*

Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidées, de près ou de loin, à l'achèvement de ce travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.

Merci à tous...

Dédicace

C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce mémoire aux êtres qui me sont très chers dans cette vie :

A ma mère qui représente le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Sa prière et sa bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon père qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien et ainsi que la confiance et le courage qu'il m'a accordé.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je viens d'aboutir au grade de Master en biochimie appliquée et de devenir la personne que je suis. Qu'Allah le tout puissant, vous préserve, vous accorde santé, longue vie et bonheur.

*A mes chères frères : **Abdelkrim et Abdelhaq** et ma chère sœur **Nesrine** et son mari **Samir** sans oublier mes adorables nièces **Hiba, Malak et Amira**. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Merci pour votre présence de tous les instants et surtout dans les moments difficiles, pour votre soutien et vos encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Un spéciale dédicace à mon fiancé **Boussalem Aziz** et **sa famille**, aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements.*

*A mon binôme **Sabrina** pour sa patience et sa ténacité durant les bons et parfois durs moments qu'on a passés ensemble*

*Mes remerciements s'adressent aussi à mes chères et meilleures copines : **Mélila et Hanane**, en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.*

A mes collègues d'études au cours de mon cursus à l'université, pour tous les moments qu'on a partagés et pour l'ambiance qu'on a vécue pendant ces cinq dernières années, Je n'oublierai jamais l'expérience que j'ai vécue avec eux.

A toute personne qui m'a aidée d'un geste si petit soit-il je dis «Merci».

Lynda Yasmine

Dédicace

Je dédie ce travail

*A celle qui m'a tout donné, qui a tend sacrifié pour ses enfants, à l'être le plus cher de ma vie : **MA MÈRE**, quoi que je fasse ou que je dise, je ne pourrai pas te remercier comme il se doit . ta présence à mes côtés est ma source de force et la lumière du bonheur.*

*A celui qui a sacrifié pour m'offrir la volonté et le courage d'aller jusqu'au bout **MON PÈRE**, que dieu préserve ta santé et te garde pour nous.*

Que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Allah, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

*A mes très chères frères et sœurs : **Idir, Samira, Kahina, Saïd et Bouchera**, En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse, amour et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout-puissant, vous protège et vous garde.*

*A mon adorable neveu **Mohamed Amine**.*

Merci pour l'importance et l'aide que vous avez consacré pour moi.

*Une spéciale dédicace à cette personne qui compte énormément pour moi : amie, copine et même sœur A toi **Anissa** merci pour tout ce que tu fais pour moi. A mes meilleures amies : **Samia et Thaninna** En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. A mon binôme **Linda**, ce fut un plaisir de travailler avec toi tout au long de cette année et je te souhaite du bonheur et de la réussite. Sans oublier tes parents et ta famille que Dieu te les protège.*

A tous mes enseignants, je vous remercie très ardemment. Retrouvez ici à travers ma modeste personne toute la satisfaction du service rendu.

Merci à toutes personnes qui a contribué à l'élaboration de ce travail

Sabrina

Liste des figures

Figure 1 : <i>Thymus wilddenowii</i> Boiss avant et après floraison	4
Figure 2: Répartition géographique du <i>Thymus wilddenowii</i> Boiss en Afrique	6
Figure 3 : <i>Origanum floribundum</i>	7
Figure 4: Quelques constituants des huiles essentielles	10
Figure 5: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	12
Figure 6: Schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur	12
Figure 7: Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion.....	13
Figure 8: Schéma du principe d'extraction assistée par micro-ondes	13
Figure 9: Schéma du principe d'extraction par ultrasons.....	14
Figure 10: Mécanisme réactionnel intervenant entre le radical DPPH• et un antioxydant (AH)	16
Figure 11: situation géographique de plantes récoltées (Montagne de lemghasel et Hammam Melouane).....	19
Figure 12: <i>Thymus wilddenowii</i> et <i>Origanum floribundum</i> à l'état frais et sec	20
Figure 13: La poudre végétale.....	20
Figure 14: Montage d'hydrodistillation.....	23
Figure 15: Réfractomètre.....	25
Figure 16: Echelle de lecture de l'indice de réfraction.....	25
Figure 17: Méthode de détermination du ph des HE	26
Figure 18: La plaque CCM pendant la migration de la phase mobile	28
Figure 19: Ecoulement des milieux de la culture.....	30
Figure 20 : Repiquage des souches microbiennes	31
Figure 21: La solution de DPPH	33
Figure 22: Taux d'humidité des deux plantes étudiées.....	35
Figure 23: Rendement d'extraction en huiles essentielles des deux plantes étudiées	38
Figure 24: Couleurs des extraits des huiles essentielles	40
Figure 25: Chromatogrammes de CCM des HE de <i>T. wilddenowii</i> et <i>O.floribundum</i> après révélation aux UV à 365nm.....	42
Figure 26: Chromatogrammes des CCM des HE de <i>T. wilddenowii</i> et <i>O.floribundum</i> sous UV 254 et 365nm.....	43

Figure 27 : Chromatogrammes des CCM des HE de <i>T. willdenowii</i> et <i>O.floribundum</i> après révélation par la vanilline sulfurique	46
Figure 28: Chromatogrammes des CCM des HE de <i>T. willdenowii</i> et <i>O.floribundum</i> après révélation par la vanilline sulfurique	47
Figure 29 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>T.willdenowii</i>	49
Figure 30: Profil chromatographique de l'huile essentielle de l' <i>O.floribundum</i>	49
Figure 31 : Les structures des composés majoritaires de l'HE de <i>T.willdenowii</i>	53
Figure 32: Les structures des composés majoritaires de l'HE de l' <i>O.floribundum</i>	54
Figure 33: Diamètres des zones d'inhibitions des souches microbiennes testées vis-à-vis les HE et les antibiotiques	55
Figure 34: Résultats de l'activité antimicrobienne	56
Figure 35 : Courbe d'étalonnage de l'Acide ascorbique	58
Figure 36: L'activité antioxydante de l'huile essentielle de l' <i>Origanum floribundum</i>	58
Figure 37: L'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Thymus willdenowii</i>	58
Figure 38 :IC ₅₀ de l'A.ascorbique, <i>O.floribundum</i> et <i>T.willdenowii</i>	59
Figure 39: Représentation graphique des résultats de l'enquête ethnobotanique de thym.....	61
Figure 40 : Représentation graphique des résultats de l'enquête ethnobotanique de l'origan .	62

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes espèces de <i>Thymus</i> localisés en Algérie.....	2
Tableau 2 : Systématique de <i>Thymus willdenowii</i> selon Cronquist.	5
Tableau 3 : Systématique d' <i>Origanum Floribundum</i>	7
Tableau 4: Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.	18
Tableau 5 : Résultats de screening phytochimique du <i>Thymus willdenowii</i> et <i>Origanum floribundum</i>	35
Tableau 6 : Caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles de <i>T.willdenowii</i> et d' <i>O.floribundum</i>	39
Tableau 7 : Les propriétés physiques des HE des deux plantes.	40
Tableau 8 : Les propriétés chimiques des HE des deux plantes.....	41
Tableau 9 : Valeurs des rapports frontaux R_f et les couleurs des tâches obtenus par CCM des HEs de <i>Thymus willdenowii</i>	43
Tableau 10 : Valeurs des rapports frontaux R_f et les couleurs des taches obtenus par CCM des HE d' <i>Origanum floribundum</i>	44
Tableau 11 : Composition chimique (%) de l'HE du <i>T.willdenowii</i>	51
Tableau 12 : Composition chimique (%) de l'HE de l' <i>O.floribundum</i>	52
Tableau 13: Diamètre (mm) des zones d'inhibition (DZI) de l'HE du <i>T.willdenowii</i> et <i>O.floribundum</i>	55

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

AFSSAPS : Agence national de sécurité du médicament et des produits de santé

ATCC : American Type Collection Culture

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CG/SM : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CRD : Centre de Recherche et de Développement

DO : Densité optique

DPPH : 2,2- Diphényl-2-picryl-hydrazyle

HE : Huile Essentielle

KI : Indice de rétention de Kovats

I% : Pourcentage d'inhibition ou activité antioxydante

IA : Indice d'acide

IC50 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux

IR : Indice de réfraction

O. : *Origanum*

O.f : *Origanum floribundum*

pH : Potentiel d'hydrogène

R_f : Rapport frontal

T. : *Thymus*

T.w : *Thymus willdenowii*

t_R : Temps de rétention

UFC : Unité formant les colonies

UV : Ultra-Violet

v/v : volume / volume

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes étudiées	2
I.1.1. La famille des lamiaceae.....	2
I.1.2. Genre thymus.....	2
I.1.2.1. Composition chimique de l'huile essentielle.....	3
I.1.2.2. Usages	3
I.1.3. Thymus willdenowii Boiss	4
I.1.3.1. Description botanique	4
I.1.3.2. Classification botanique.....	5
I.1.3.3. Dénomination	5
I.1.3.4. Répartition géographique.....	5
I.1.4. Genre Origanum.....	6
I.1.4.1. Composition chimique de l'huile essentielle.....	6
I.1.4.2. Usage.....	6
I.1.5. Origanum floribundum Munby	6
I.1.5.1. Description botanique	6
I.1.5.2. Classification botanique.....	7
I.1.5.3. Dénomination	7
I.2. Huiles essentielles	8
I.2.1. Propriétés physico-chimiques.....	8
I.2.2. Composition chimique	8
I.2.3. Domaines d'utilisation	10
I.2.4. Toxicité	11
I.3. Procédés d'extraction	11
I.3.1. Hydrodistillation.....	11
I.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau	12
I.3.3. Hydrodiffusion	12
I.3.4. Extraction assistée par micro-ondes.....	13
I.3.5. Extraction par ultrasons	13
I.3.6. Extraction par solvants.....	14
I.4. Activités biologiques.....	14
I.4.1. Activité antimicrobienne.....	14
I.4.2. Activité antioxydante	15

ChapitreII: Matériels et Méthodes

II.1. Matériels	18
II.1.1. Matériel biologique.....	18
II.1.2. Matériel non biologique	18
II.2. Méthodes	18
II.2.1. Récolte et situation géographique.....	18
II.2.2. Séchage.....	20
II.2.3. Broyage.....	20
II.2.4. Conservation de poudre végétale	21
II.2.5. Screening phytochimique	21

II.2.6. Détermination du taux d'humidité.....	23
II.2.7. Extraction par Hydrodistillation	23
II.2.7.1. Calcul du Rendement	23
II.2.8. Détermination des propriétés physico- chimique	24
II.2.8.1. Détermination des propriétés physiques.....	24
II.2.8.2. Détermination des propriétés chimiques	25
II.2.9. Analyses de la composition chimique	26
II.2.9.1. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	26
II.2.9.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). 28	
II.2.10. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE	29
II.2.11. Evaluation de l'activité antioxydante	32
II.2.12. Etude ethnobotanique	34

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Taux d'humidité.....	35
III.2. Rendement des huiles essentielles.....	38
III.3. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	39
III.4. Résultats des propriétés physico-chimiques	40
III.5. Analyses chromatographiques	42
III.5.1. Analyse chromatographique sur couche mince CCM.....	42
III.5.2. Analyses Chromatographique CG-SM	48
III.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne	54
III.7. Evaluation de l'activité antioxydante	57
III.8. L'étude ethnobotanique.....	60

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

INTRODUCTION

De nos jours, le recours aux traitements à base de plantes médicinales aromatiques connaît un énorme gain d'intérêt du fait que l'efficacité de certains médicaments synthétisés chimiquement soit contestée. Dans ce sens, beaucoup de gens font appel à la phytothérapie qui propose des remèdes naturels à base des huiles essentielles. Ces derniers possèdent des propriétés pharmacologiques efficaces dans le soin de nombreuses maladies notamment contre les bactéries, champignons, l'oxydation et l'inflammation (**Laib et al., 2021**).

En Afrique, les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales, ou plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer leurs soins de santé (**Benlamdini et al., 2014**).

Au regard de la superficie et la diversité bioclimatique, l'Algérie est connue par son abondance en plantes médicinales aromatiques dont la plupart sont endémiques telles que certaines espèces du genre *Thymus* et *Origanum* qui sont riches en huiles essentielles et utilisées en médecine populaire pour leurs propriétés antiseptiques, antidiarrhéiques et antibronchiques (**Chikhouné, 2007**).

L'objectif de notre travail est l'extraction des huiles essentielles de *Thymus Willdenowii* et de *Origanum Floribundum* afin de renforcer la connaissance de leurs compositions chimiques et l'évaluation de leurs activités antimicrobiennes et antioxydante.

Ce manuscrit est réparti en 3 chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique relative aux généralités sur les plantes étudiées, huiles essentielles, leurs procédés d'extraction, leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes.

Le deuxième chapitre présente le matériel utilisé et les méthodes adoptées dans les différentes expérimentations.

Le troisième chapitre représente les résultats obtenus suivis d'une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes étudiées

Plus de 10000 espèces de plantes différentes sont utilisées par les scientifiques, et de nombreux médicaments sont élaborés à partir de leurs principes actifs. L'organisation mondiale de la santé (O.M.S) considère que dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remède (Lucienne, 2010).

I.1.1. La famille des *Lamiaceae*

Les *Lamiaceae* ou *Labiatae* est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones. Ce sont des arbustes, sous arbrisseaux ou plantes herbacées comprennent dans le monde 258 genres et 6970 espèces (Hennebelle, 2006), parmi les espèces les plus citées sont : *Origanum Vulgare*, *Rosmarinus Officinalis* et *Thym Vulgaris* (Dimitrijevic et al., 2007). Cette famille se répartit sur tout le globe, mais principalement du bassin méditerranéen à l'Asie centrale (Naghbi et al., 2005). Dans la flore de l'Algérie, les *Lamiaceae* sont représentées par 28 genres et 146 espèces, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (Quezel et Santa, 1962).

I.1.2. Genre *Thymus*

Le nom thym provient de mot grec « *thymos* » qui veut dire odeur et à ce titre le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique (Ritchard et al., 1985).

Le thym est une plante aromatique qui a toujours accompagné la vie quotidienne des humains, tant pour ses usages médicaux et cosmétiques que culinaires. (Boukhatem et al., 2014). Ce genre inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie. (Kabouche et al., 2005).

Tableau 1 : Les différentes espèces de *Thymus* localisés en Algérie. (Quezel et Santa, 1963 ; Hazzit, 2008).

Espèce	Localisation et caractéristique
<i>Thymus pallescens</i> de Noé (<i>Thymus Fantanesii</i> Boiss et Reuter.)	-Commun dans le tell. -Endémique Algérien.
<i>Thymus broussonetii</i> Boiss. Subsp. Broussonetii	-Endémique algéro-marocaine.
<i>Thymus dreatensis</i> Batt.	-Très rare dans le sous-secteur du tell constantinois et de la petite et grande Kabylie. -Endémique Algérien.
<i>Thymus numidicus</i> Poiret.	-Assez rare dans le sous-secteur de l'atlas tellien, le secteur du tell constantinois et de la petite et grande Kabylie. -Endémique Algérien.

Suite :

<i>Thymus guyonii</i> De Noé.	-Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux Algérois, Oranais et constantinois. -Endémique Algérien.
<i>Thymus lanceolatus</i> Desf.	Rare dans : - Le sous-secteur de l'atlas tellien (Terni) et de l'atlas tellien (Média, Benchicao). -Le sous-secteur des haute plateaux Algéroise, Oranaise(Tiaret) et constantinoise. - Endémique Algérien.
<i>Thymus bleicherianus</i> Pomel.	-Endémique algéro-marocaine. -Nord-Est 400-450m d'altitude.
<i>Thymus heymalis</i> Lange Subsp. <i>Fumanifolius</i> (Pau) R.Morales	- Endémique Algérien. -Côtes du Nord-Est jusqu'à une altitude de 100m.
<i>Thymus willdenowii</i> Boiss	-Espagne (Gibraltar), Maroc, Algérie-Commune sur les montagnes du nord jusqu'à une altitude de 1200-2400m.
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss et Reuter.	-Très commun dans toutes les régions montagneuses et rares ailleurs. -Espèces Nord-Africaine (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye).
<i>Thymus munbyanus</i> subsp. <i>Munbyanus</i> Desf.	-Commune dans les montagnes du nord. -Endémique algéro-marocaine.

I.1.2.1. Composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats des analyses publiées sur la composition chimique des HE de différentes espèces du thym représentent des terpènes, de thymol et de carvacrol qui viennent au premier rang, les rangs occupés par les hydrocarbures monoterpéniques, p-cymène et gamma-terpinène ne peuvent pas être considérés indépendamment de la présence du thymol et du carvacrol. Le sesquiterpènes ne sont souvent pas très importants, le bêta-caryophyllène est le plus fréquemment représenté, les hydrocarbures non terpéniques sont présentes dans plusieurs espèces du thym à faible concentration.

D'autre études rapportes des nouveaux chémotypes pour le genre thymus l'un des espèces étudier caractériser par la myrcène, le limonène, le bêta-caryophyllène et le gamma-muuroène comme composés majoritaires (**Hazzit, 2008**).

I.1.2.2. Usages

Cette plante médicinale est conseillée dans le traitement des bronchites, de la coqueluche et des catarrhes des voies respiratoires supérieures. Ses propriétés expectorantes et antispasmodiques peuvent fortement accélérer la guérison. Son effet désinfectant agit en cas d'infection. Le thym aurait un effet positif sur les ballonnements et les sensations de lourdeur d'estomac ainsi que sur les autres troubles digestifs. Les gargarismes faits avec une décoction

de la farigoule soulageraient en cas d'inflammation de la bouche ou de la gorge. Les massages, les compresses et les bains sont recommandés en cas de rhumatismes, d'ulcères, d'entorses ou de maladies de peau.

En usage culinaire, cette herbe aromatique apporte un plus à la préparation des repas en rendre ces plats gras et difficiles à digérer plus digestes et de les parfumer délicieusement. (Lecanu, 2011).

1.1.3. Thymus willdenowii Boiss

1.1.3.1. Description botanique

C'est un sous arbrisseau nain ligneux et très ramifié, fortement aromatique, mesure jusqu'à 30cm de long, s'étendant généralement et poussant à plat contre les surfaces rocheuses ; les feuilles peuvent atteindre jusqu'à 1cm, sont densément poilues et lancéolées à bords enroulés ; les fleurs sont petites, blanches à violet pâle, en verticilles formant des capitules denses, arrondis ou allongés de 1,5 à 2cm de long (Anonyme 1).



Figure 1 : *Thymus willdenowii Boiss* avant et après floraison (Originale)

I.1.3.2. Classification botanique

Tableau 2 : Systématique de *Thymus willdenowii* selon Cronquist (Anonyme 2).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous Règne	<i>Viridiplantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Sous famille	<i>Nepetoideae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus willdenowii</i>

I.1.3.3. Dénomination

- **Synonymes** : *Hirtus willd* (Zeghib et al., 2019).
- **Nom vernaculaire arabe** : Djertil, Hamria, Hamzoucha, Khieta, Mezouqach. (Beloued, 2005) et Zaaitra (Miaract al., 2013).
- **Nom targui ou berbère** : Azoukni, Rebba, Djouchchen et Touchna. (Beloued, 2005)

I.1.3.4. Répartition géographique

L'espèce *Thymus willdenowii* Boiss. & Reut. (Syn. *Thymus hirtus willd.*) L'un des onze espèces de *Thymus* poussant en Algérie, est endémique de la péninsule ibérique, de l'Espagne (Gibraltar), de l'Algérie et du Maroc. Commun sur les montagnes du Nord jusqu'à une altitude de 1200-2400m (Zeghib et al., 2019).



Figure 2: Répartition géographique du *Thymus willdenowii* Boiss en Afrique (Anonyme 3)

I.1.4. Le Genre Origanum

Le nom de l'origan est dérivé des mots grecs Oros Ganos qui veulent dire «ornement des montagnes » ou « joie des montagnes ». L'origan était autrefois également appelé herbe porte bonheur (**Brigitte, 2008**).

En Algérie, ce genre est représenté par deux espèces qui poussent à l'état spontané : l'espèce commune algéro-tunisienne *Origanum Vulgare L. subsp. Glandulosum (Desf) Letswaart*, et l'espèce endémique algérienne rare *Origanum Floribundum Munby* (**Daoudi-Merbah et al., 2016**).

I.1.4.1. Composition chimique de l'huile essentielle

Les huiles volatiles d'origan sont riches en monoterpènes phénoliques comme le carvacrol qui est le principal composé (35 à 74%), et dans certains cas le thymol, de plus autres composés en quantité moins importante comme les monoterpènes acycliques tel que lilanool, β -myrcène, géraniol, acétate linalylique... ect, et des composés bornanes comme le camphène, camphre et bornéol. En plus, quelques sesquiterpènes sont présents tels que : caryophyllene, γ -cadinène, bisabolène, caryophyllene oxide...etc (**Sari, 2011**).

I.1.4.2. Usage

L'origan est un tonique de l'estomac qui combat l'aérophagie. C'est un expectorant et un calmant. Il est utile pour les rhumatismes et soulagement de la toux. Il est utilisé de nos jours pour ses propriétés stomachiques et antiseptiques. Antispasmodique (voies respiratoires et digestives, douleurs menstruelles), expectorant, carminatif, fluidifiant des sécrétions bronchiques, diurétique, diaphorétique, sédatif, antalgique, stimulant général en cas de fatigue, de même, il calme les piqures d'insectes (**Moussaoui, 2010**). Le respirer idéal pour la céphalée froide et celle provoquée par la pituite, la bille, le rhume, les gaz lourds, il ouvre les occlusions de la tête et des narines et il dissipe la plupart des gonflements froids. Si on le supporte, il peut provoquer un flux menstruel et aider à la grossesse. Si ses feuilles séchées sont broyées et transformées en pansements, il peut dissiper les cernes (**Ibn Al-Qayyim, 2010**).

I.1.5. Origanum floribundum Munby

I.1.5.1. Description botanique

L'Origanum floribundum Munby est une plante à tige prostée à la base. Les jeunes tiges sont décombantes. Elles présentent des épis lâches à fleurs disjointes après la floraison. Les fleurs sont de couleurs roses, la Corolle présente des pétales à lèvres sensiblement égales. Le

calice bilabié possède 5 dents courtes. La plante peut atteindre ou dépasser un mètre de haut (Boulaghmen, 2012).



Figure 3 : *Origanum floribundum* (Originale)

I.1.5.2. Classification botanique

Tableau 3 : Systématique d'*Origanum Floribundum* (Simpson, 2006)

Règne	<i>Plantae</i> (végétal)
Sous règne	<i>Tracheobionta</i> (plantes vasculaires)
Embrenchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous embrenchement	<i>Angiospermae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (<i>Dicotyledones</i>)
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i> (<i>labiatae</i>)
Sous famille	<i>Nepeitodeae</i>
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum floribundum</i>

I.1.5.3. Dénomination

- **Nom vernaculaire arabe :** Zaâter (Mouas et al., 2021)
- **Nom français :** Origan, origan commun, marjolaine sauvage, marjolaine bâtarde, marjolaine vivace et thym de berger (Anonyme 4).

I.2. Huiles essentielles

Selon **Smadja (2009)**, le nom « Huile » est dû à sa viscosité et son hydrophobicité, et «Essentielle » est due à la caractéristique principale typique du parfum. Les huiles essentielles sont des extraits végétaux odorants appelés également substances organiques aromatiques, liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (**Yahyaoui, 2005**).

I.2.1. Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont liquides à une température ambiante mais aussi volatile, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau **AFSSAPS (2008)**. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclérée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

I.2.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes, les composés aromatiques dérivés du phénylpropane et les composés d'origines diverses (**Brenton, 1993**).

- **Les terpenoïdes**

Présents dans les HE, les terpènes sont les plus volatils qui n'ont pas une masse moléculaire trop élevée, ce sont les mono et sesquiterpènes.

- **Les monoterpènes**

Les carbures monoterpéniques sont presque toujours présents, ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène...), monocycliques (alpha et gamma-terpinène, p-cymène...) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène...).

En plus de ces carbures, plusieurs molécules fonctionnalisées sont rencontrées telles que :

-Les alcools : acyclique (géraniol, linalool...), monocycliques (menthol, alpha-terpinène-4-ol...), bicycliques (bornéol, fenchol...).

- Les aldéhydes : le plus souvent sont acycliques (géralial, néral, citronellal...).
- Les cétones : acycliques (tagetone), monocycliques (menthone, carvone).
- Les esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate citronellyle) ; monocycliques (acétate de menthyle...), bicycliques (acétate d'isobornyle).
- Les éthers : cinéole (appelé également eucalyotol).
- Les peroxydes : ascaridole
- Les phénols : thymol, carvacrol

➤ **Les sesquiterpènes**

Les mêmes familles chimiques rencontrées dans la série des monoterpènes se trouvent dans cette série : les carbures (Béta -bisabolène, béta -caryophyllène), les alcools (farnésol, carotol,..), les cétones (nootkatone, béta- vétivone...), les aldéhydes (sinensals...), les esters (acétate de cédryle...).

- **Composés aromatiques**

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes en citant anéthole, méthylechavicol, eugénol, cinnamaldéhyde...etc

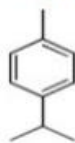
- **Composés d'origines diverses**

Les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras.

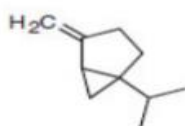
1. Terpenes

-Monoterpenes

Carbure monocyclic
Cymene ("y") or p.cymene



Sabinene



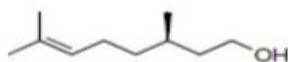
Carbure bicyclic
Alpha-pinene



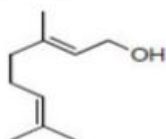
Betapinene



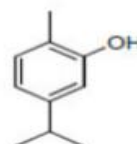
Alcohol acyclic
Citronellol



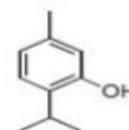
Geraniol



Phenol
Carvacrol

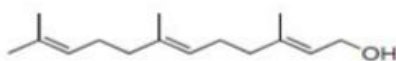


Thymol

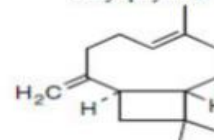


-Sesquiterpenes

Carbure
Farnesol

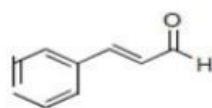


Alcohol
Caryophyllene

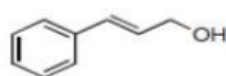


2. Aromatic compounds

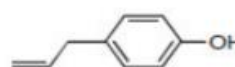
Aldehyde
Cinnamaldehyde



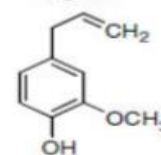
Alcohol
Cinnamyl alcohol



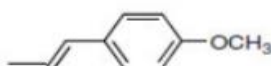
Phenol
Chavicol



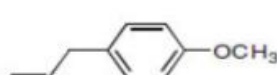
Phenol
Eugenol



Methoxy derivative
Anethole



Methoxy derivative
Estragole



Methylene dioxy compound
Safrole

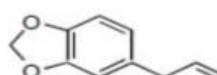


Figure 4 : Quelques constituants des huiles essentielles (Toure, 2015)

I.2.3. Domaines d'utilisation

➤ Industrie pharmaceutique

Les HE sont utilisés pour l'aromatization des formes médicamenteuses destinées à être administrées par voie orale et aussi pour parfumer des préparations dermo-pharmaceutiques (Boulaghmen, 2012).

➤ Aromathérapie

Les HE sont utilisés en milieu clinique pour soigner les maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies, ou l'arthrite et ainsi pour traiter certaines maladies internes et

externes : infection d'origine bactérienne ou virale, trouble humorale ou nerveuse et actuellement leurs constituants volatils font l'objet d'études dans la recherche des nouveaux produits naturels anticancéreux (**Boulaghmen, 2012**).

➤ **Parfumerie et cosmétique**

Les propriétés odoriférante, antiseptique et antioxydante des HE confèrent une consommation importante dans ce domaine car elles permettent de préserver les produits (comme les pommades, crèmes et gels) en assurant leur odeur agréable (**Boulaghmen, 2012**).

➤ **Industrie agroalimentaire**

Elles sont ajoutées comme ingrédients, arômes et agents de conservation alimentaire pour réduire la prolifération des micro-organismes résident dans l'utilisation des huiles essentielles (**Boulaghmen, 2012**).

I.2.4. Toxicité

Les propriétés d'une huile essentielle correspondent à celles de la plante dont elle a été extraite. Du fait de sa forte concentration, sa toxicité est plus importante et pour cela la posologie et l'usage interne ou externe doivent être notés avant utilisation (**Willem, 2004**).

I.3. Procédés d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles), du rendement en huile et la fragilité de certains constituants aux températures élevées (**Hellal, 2011**). Il existe plusieurs méthodes d'extraction :

I.3.1. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant. Cependant, l'hydrodistillation possède des limites, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005**).



1-Chauffe ballon; 2- Ballon; 3-Thermomètre; 4-Réfrigérant; 5-Entrée et sortie d'eau; 6-Erlenmeyer; 7- Matière à extraire l'essence; 8- couche d'HE.

Figure 5 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005)

I.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette technique, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (Lucchesi, 2005). L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative, en minimisant les altérations hydrolytiques et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (Bruneton, 1999 ; Hellal, 2011).

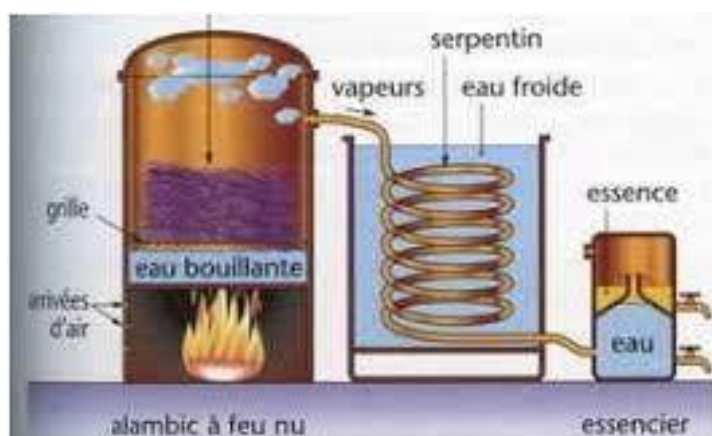


Figure 6 : Schéma du principe de la technique d'entraînement à la vapeur (Lucchesi, 2005)

I.3.3. Hydrodiffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette

technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (Bassereau *et al.*, 2007).

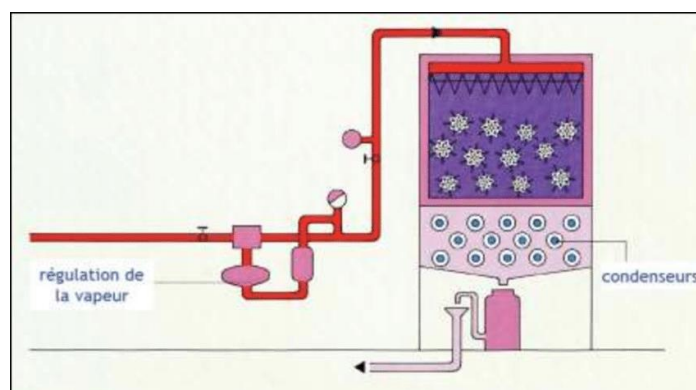


Figure 7 : Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion (Goudjil, 2016)

I.3.4. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement et décantation (Hemwimon *et al.*, 2007).

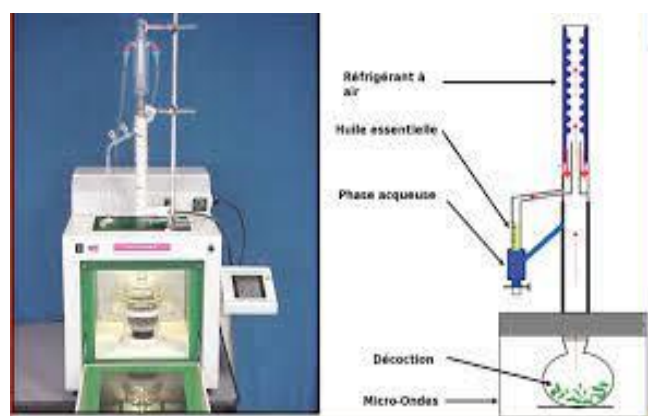


Figure 8 : Schéma du principe d'extraction assistée par micro-ondes (Goudjil, 2016)

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple

par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie (Chemat et al., 2008). En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique (Luque de Castro et Priego-Capote, 2007).

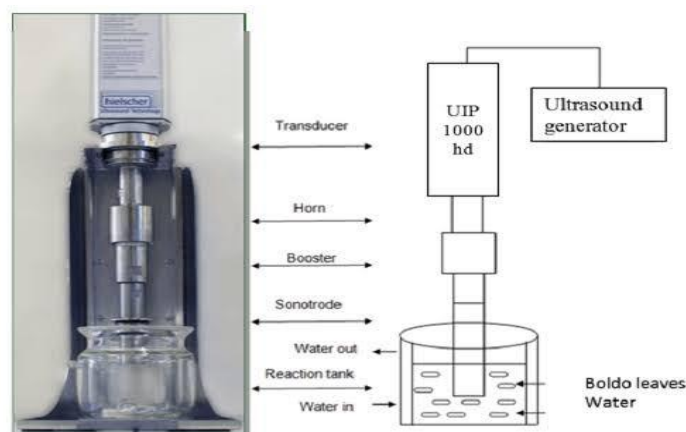


Figure 9 : Schéma du principe d'extraction par ultrasons (Petigny et al., 2013)

I.3.6. Extraction par solvants

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Bruneton, 1999).

I.4. Activités biologiques

I.4.1. Activité antimicrobienne

Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries, la seule alternative faible à l'usage des antibiotiques semble être celle des huiles essentielles.

Les HE d'origan et du thym ont des propriétés antibactériennes et antifongiques et ont une particularité d'être riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Ces trois composés cités (eugénol, thymol et carvacrol) ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritica*, *Clostridium*

jejuni, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori*). Ils sont aussi de très bons agents antifongiques contre une large gamme de champignons parmi eux : *Candida albican*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum* et bien d'autres (Boulaghmen, 2012).

I.4.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante peut être définie comme une capacité de protection contre l'oxydation. Cette notion est souvent assimilée à la défense antiradicalaire. La prévention de l'oxydation peut se renforcer par les antioxydants de synthèse, ces derniers se sont révélés carcinogène d'où la nécessité de recourir aux molécules naturelles (Han et al., 2007).

- **Les antioxydants**

Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs, ce qui retarde ou empêche l'oxydation des substrats biologiques. Ils vont intervenir comme « capteurs » de radicaux libres (Mohammedi, 2006). Il existe différents types d'antioxydants parmi eux les antioxydants naturels qui sont présents dans toutes les parties de plantes supérieures.

- **Les composés phénoliques**

Ils regroupent les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins qui agissent comme des antioxydants par piégeage des radicaux libres (Braga et al., 2006).

- **Les huiles essentielles**

Les HE des plantes aromatiques comme celles du thym et d'origan possèdent de puissants composés antioxydants tels que le thymol et le carvacrol qui sont les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique qui ont des propriétés oxydo-réductrices et donc ils neutralisent les radicaux libres et décomposent les peroxydes (Braga et al., 2006).

- **Acide ascorbique (vitamine C)**

La vitamine C forme un couple redox avec une forme intermédiaire radicalaire capable de capter l'oxygène singulier et certaines espèces radicalaires (Pokorny, 2001).

- **Alpha-tocophérol (vitamine E)**

Cette molécule liposoluble protège les graisses circulantes contre l'oxydation, ce qui constitue la première défense contre l'athérosclérose et en fait un protecteur cardiovasculaire (Cohen, 2002).

• Méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante des extraits naturels est évalué par de nombreuses méthodes citons notamment la méthode de TEAC, FRAP, TRAP, OPAC, DPPH...

La méthode de DPPH

Le radical libre synthétique DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle) est le procédé le plus utilisé dans l'évaluation de l'activité antioxydante. Le DPPH est caractérisé par coloration violette en cas d'absence de l'antioxydant. En contact d'antioxydants, la couche électronique de ce radical est saturée d'où la disparition de sa coloration violette. Cette décoloration représente l'aptitude de l'extrait de la plante à piéger ce radical (Mighri et al., 2009). Cette méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH•. La réduction de ce radical par un donneur d'atome H venant de l'antioxydant à tester AH conduit à la formation de la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine incolore DPPH-H et radical A• (Sanchez- Moreno et al., 1998).

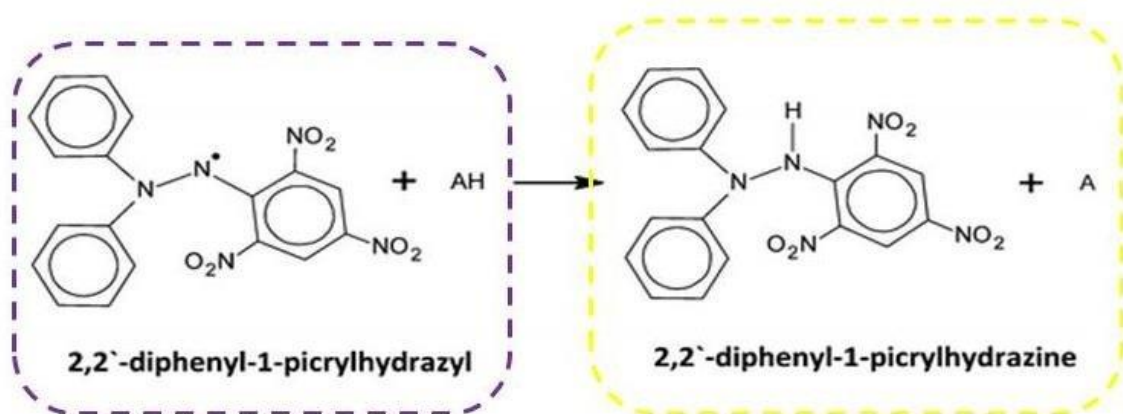


Figure 10 : Mécanisme réactionnel intervenant entre le radical DPPH• et un antioxydant (AH) (Anonyme 5)

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.1. Matériels

Notre travail a été réalisé au département de biologie de la faculté des sciences de l'université de M'hamed Bouguara Boumerdes au niveau de laboratoire de biochimie appliquée.

II.1.1. Matériel biologique

➤ Plantes

L'identification des plantes a été confirmée au niveau de l'Ecole National Supérieure d'Agronomie d'El Harrach par l'équipe botanique de l'herbier (ENSA ex INA).

On a utilisé deux espèces de la famille des *Lamiaceae* *Thymus willdenowii* Boiss et *Origanum floribundum* Munby.

➤ Microorganismes

Les souches utilisées dans ce travail sont trois bactéries et une levure.

Tableau 4: Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

Noms de la souche	Famille	Gram	N°ATCC	Provenance
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	+	6538	Laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences UMBB
<i>Escherichia coli</i>	<i>enterobactérobacteriaceae</i>	-	8739	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	+	25923	Institut Pasteur d'Alger
<i>Condida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>		27/4	Institut Pasteur d'Alger

II.1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel et équipements utilisés au niveau du laboratoire tels que la verrerie, les appareils, réactifs.....etc., (**Annexe I**)

II.2. Méthodes

II.2.1. Récolte et situation géographique

Nous avons utilisé dans notre étude les parties aériennes des plantes médicinales aromatiques suivantes :

-*Thymus willdenowii* Boiss a été acheté fraîche chez un marchand de la wilaya de Boumerdes. Il a été récolté le 15 mars 2022 à l'état floraison à Hammam Melouane (wilaya de Blida).

-*Origanum floribundum* Munby a été récolté le 23 avril 2022 à l'état sauvage avant la floraison dans la montagne de lemghasel à la proximité de village Iglef Daira de Makouda (Wilaya de Tizi Ouzou).

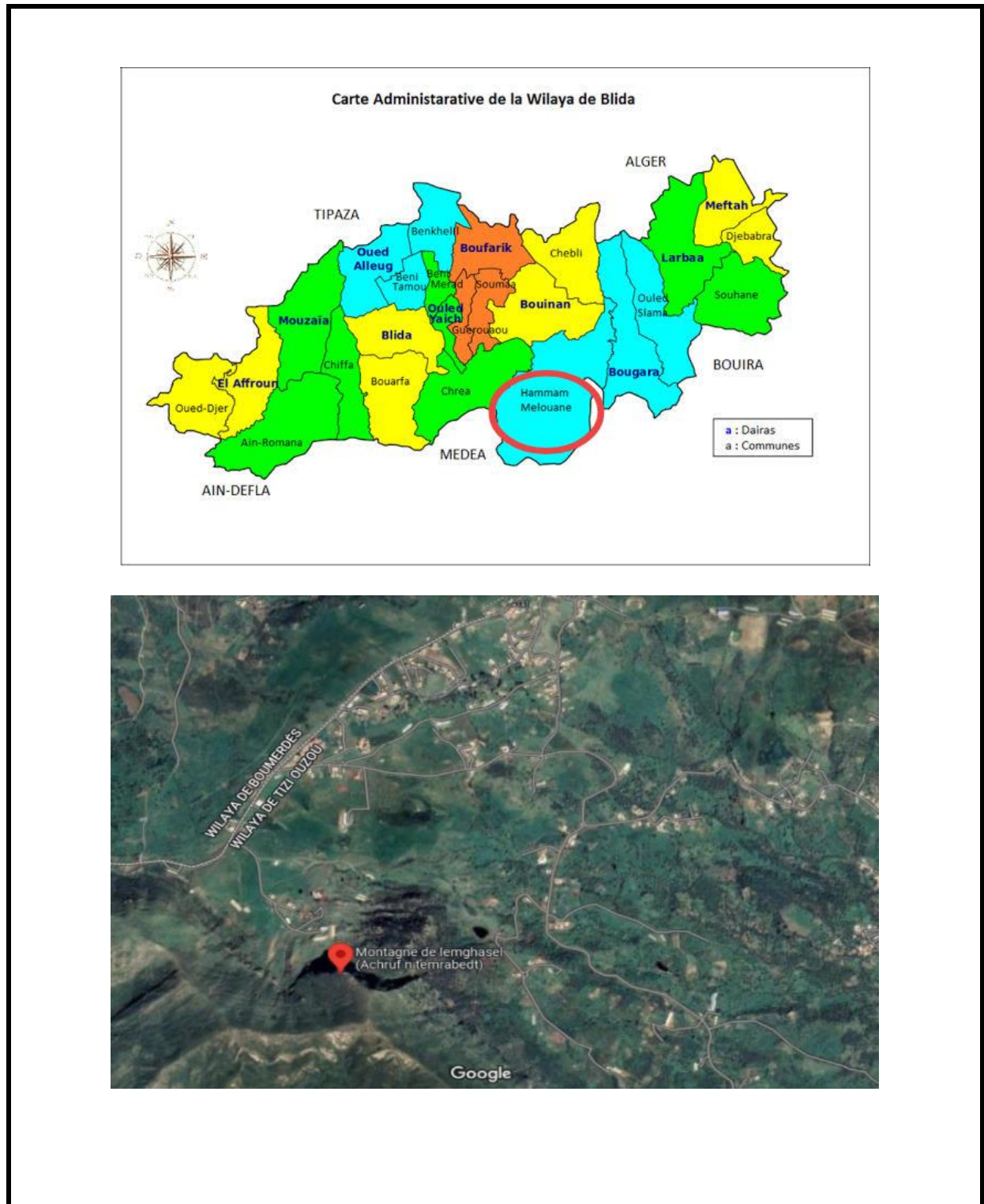


Figure 11 : Localisation géographique des plantes récoltées (Hammam Melouane et Montagne de lemghasel) (Google image)

II.2.2. Séchage

Les plantes récoltées sont pesées puis nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autres impuretés, ensuite elles sont étalées sur de papier et séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et à une température ambiante pendant 15 jours après cette période-là on les met dans l'étuve de type Memmert pendant 24 heures à une température de 40°C dans le but d'enlever l'eau qu'il renferme.

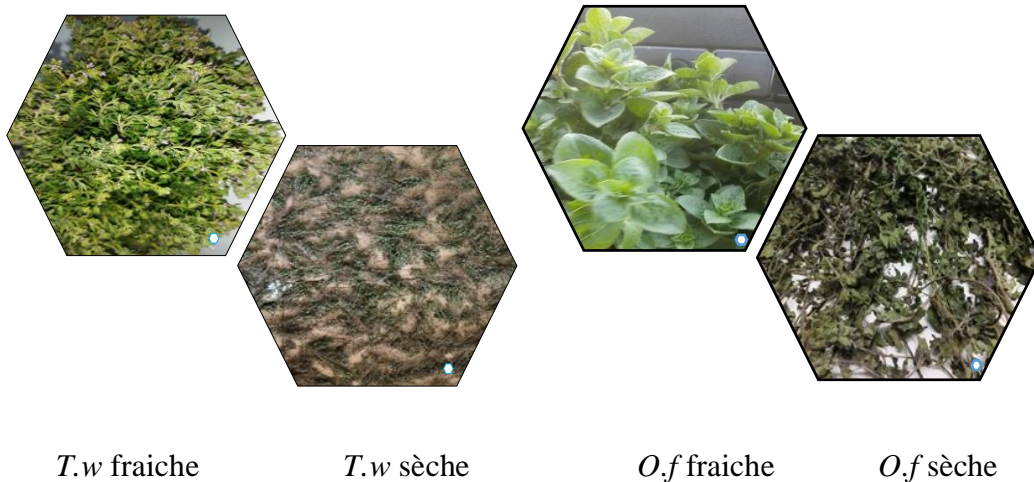


Figure 12 : *Thymus willdenowii* et *Origanum floribundum* à l'état frais et sec (Originale)

II.2.3. Broyage

Les parties aériennes des plantes ont été broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique de type SONASHI France.

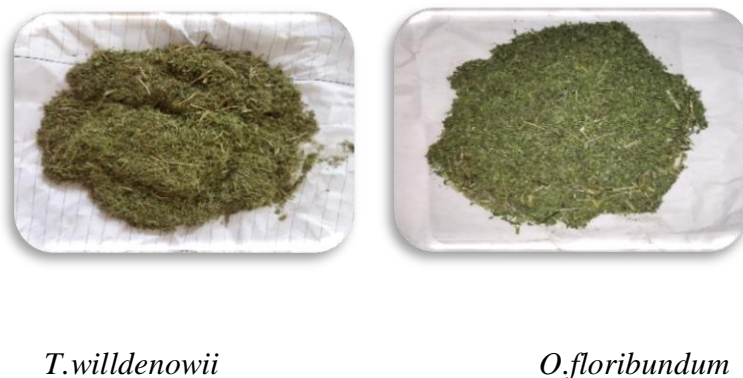


Figure 13 : La poudre végétale (Originale)

II.2.4. Conservation de poudre végétale

La poudre végétale obtenue a été conservé à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des sacs en papier fermés.

II.2.5. Screening phytochimique

L'étude phytochimique consiste à détecter les familles de métabolites secondaires existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette (Hagerman *et al.*, 2000).

- **Préparation de macération** : Consiste à laisser séjourner 0.5g de la poudre végétale dans un solvant qui est l'éther de pétrole (10ml) à froid pendant 24h, la macération doit se faire dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière. Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un papier filtre (Schauenburg et Paris, 2010).
- **Préparation de décocté** : la décoction est préparée par l'addition de 5g de la poudre végétale à 100ml d'eau distillée de température ambiante et chauffer pendant 15 à 30min, laisser reposer puis filtrer avec papier filtre (Schauenberg et Paris, 2010).
- **Préparation de l'infusé** : Repose sur environ 10g de la poudre végétale étant infusée dans 100ml d'eau bouillante et gardé en repose pendant 30min, puis sont filtré pour l'obtention de l'infuse à 10% (Schauenberg et Paris, 2010).
- **Détection des flavonoïdes** : 5 ml d'infusé placé dans un tube à essai puis 1ml de l'acide chlorhydrique(HCl) et quelques copeaux de magnésium (Mg) sont ajoutés. L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes (Elbidi, 2016).
- **Détection des tanins** : 1 ml d'infusé placé dans un tube à essai dans lequel est ajouté un volume de 1ml de l'eau distillée puis quelques gouttes de FeCl₃ (2%).L'apparition d'une coloration verte ou bleu vert indique la présence des tanins (Elbidi, 2016). 1 ml d'infusé placé dans un tube à essai dans lequel est ajouté un volume de 1ml de l'eau distillée puis quelques gouttes de FeCl₃ (2%).L'apparition d'une coloration verte ou bleu vert indique la présence des tanins (Elbidi, 2016).
- **Détection des tanins gallique** : A 5ml d'infusé on rajoute 2g d'acétate de sodium puis quelques gouttes de chlorure de fer FeCl₃ qui provoquerait l'apparition d'une

coloration bleu-noir intense, signe la présence des tanins gallique (N'Guessan *et al.*, 2009).

- **Détection des tanins catéchiques** : A 5ml d'infusé (5%) rajouter 1ml d'HCL, après chauffage pendant 15min, L'apparition d'une précipite rouge indique la présence des tanins catéchique (Mamadou, 2012).
- **Détection des quinones libre** : 2g de la poudre végétale humecté avec HCL, sont mise-en avec 20ml de chloroforme pendant 3heures. Agiter le filtrat avec 5ml d'ammoniaque. Une coloration rouge apparait en présence des quinones libres (Dohou *et al.*, 2003).
- **Détection des alcaloïdes** : 1 ml d'infusé placé dans un tube à essai dans lequel est ajouté un volume de 1ml d'eau distillée puis 3 gouttes de Dragendorff réagent ; L'apparition d'une coloration marron indique la présence des alcaloïdes (Elbidi, 2016).
- **Détection des anthocyanes** : Quelques gouttes d'ammoniaque (NH₄OH) sont ajoutées à 5ml de l'infusé (20%). La réaction donne une coloration bleue verdâtre en présence des anthocyanes. (Mamadou, 2012).
- **Détection des oses et holosides** : 1ml de décocté on l'ajoute 5ml d'éthanol donnent un aspect floconneux en présences des mucilages (Bruneton, 1999).
- **Détection des composés réducteurs** : 1ml d'infusé avec 2ml H₂O et ajouté 20gouttes de réactif de Fehling puis chauffé, la formation d'une précipité rouge brique indique la présence des composé réducteur (Evans *et al.*, 2009)
- **Détection des saponosides** : Pour les saponines, 2 ml d'extrait est introduite dans un tube à essai et ajouter 2ml d'eau distillée chaude puis le tube est agité fortement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Elbidi, 2016).
- **Détection des stérols-Triterpènes** : On a macéré 0.5g de la poudre plus 10ml d'éther de pétrole ; après la filtration ; on le met en contact avec0.5ml d'anhydre acétate plus 0.5ml de chloroforme puis on le dépose au fond d'une autre béccher contenant l'acide sulfurique, les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violette ou vert ou une couleur rouge marron de la couche d'interface indiquant la présence des saponosides et triterpènes (Trease et Evans, 1978).

II.2.6. Détermination du taux d'humidité :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans le végétal frais (Taleb-Toudert, 2015), il est exprimé en (%) et calculé par la formule suivante :

$$H\% = (P_1 - P_2 / P_1) \times 100$$

Ou :

- + H%: Taux d'humidité en % ;
- + P₁ : Poids de la plante fraîche (g) ;
- + P₂ : Poids de la plante après séchage (g).

II.2.7. Extraction par Hydrodistillation

- **Mode opératoire :**

100g de la poudre végétale a été préparé et introduit dans un volume de 2/3 du ballon d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition, une fois l'ébullition atteinte, les cellules éclatent et commencent à dégager leurs contenus en huiles essentielles, qui par la suite sont transportées avec la vapeur d'eau jusqu'au réfrigérant ; les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile essentielle sera par la suite récupérée et pesée pour le calcul du rendement. (Taleb-Toudert, 2015)



Figure 14 : Montage d'hydrodistillation (Originale)

II.2.7.1. Calcul du Rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile extraite et le poids de la plante utilisée, exprimé en pourcentage (Toure, 2015). Il est estimé en fonction de la matière végétale sèche selon la formule suivante :

$$\text{Rdt}(\%) = (m_{\text{HE}} / m_{\text{MVS}}) \times 100$$

Où :

- ✚ Rdt : Rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage % ;
- ✚ m_{HE} : Masse de l'huile essentielle en gramme ;
- ✚ m_{MVS} : Masse de la matière végétale sèche en gramme.

II.2.8. Détermination des propriétés physico- chimique

La connaissance des indices physico-chimiques des HE est importante puisqu'elle permet la caractérisation et l'identification de cette huile extraite.

II.2.8.1. Détermination des propriétés physiques

➤ **Détermination de la densité relative (AFNOR, NF-T 75- 111) :**

La mesure de la densité selon la norme NF T 75-111 est effectuée à l'aide d'un pycnomètre des volumes égaux d'HE et d'eau sont pesés successives, à la température de 20°C. La densité est donnée par la formule suivante :

$$D_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Où :

- ✚ m_0 : masse, en grammes, du pycnomètre vide ;
- ✚ m_1 : masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau distillée ;
- ✚ m_2 : masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'HE.

- **Mode opératoire :**

La mesure de la densité a été effectuée à l'aide d'une micropipette, un certain volume d'HE a été retiré et pesé à l'aide d'une balance analytique de haute précision par la suite la densité a été calculée par la formule suivante :

$$d_{\text{HE}} = m_{\text{HE}} / V_{\text{HE}}$$

Où :

- ✚ d_{HE} : densité de l'HE ;
- ✚ m_{HE} : masse de l'HE ;
- ✚ V_{HE} : volume de l'HE.

➤ **Détermination de l'indice de réfraction (AFNOR, NF-T 75-112) :**

L'indice de réfraction est une valeur sans grandeur qui caractérise la vitesse de la lumière dans une solution dans le cas des HE est généralement élevé, il est supérieur à ceux

de l'eau à 20°C égal à 1.3355 ; ceci montre leur richesse en composants qui dérivent la lumière polarisée. L'appareil employé pour mesurer l'indice de réfraction est le réfractomètre. Il s'exprime par la formule suivante :

$$ID_{20} = I + 0,0004 (T - 20 \text{ } ^\circ\text{C})$$

Où :

- + ID₂₀ : La valeur d'indice de réfraction à la température 20°C ;
- + I : est la valeur de lecture, obtenue par réfractomètre à la température 20°C ;
- + T : température de la salle au moment de la mesure (22°C).

- **Mode opératoire :**

Le réfractomètre a été réglé en mesurant les indices de réfraction des produits étalons (eau distillée a un indice de réfraction de 1,332980 à 20 °C), quelques gouttes d'HE sont déposées sur le prisme de l'appareil. Après le dépôt, l'appareil est refermé, la ligne de séparation est ramenée verticalement et enfin, l'indice de réfraction est lu dans l'oculaire du réfractomètre.



Figure 15 : Réfractomètre (Originale)

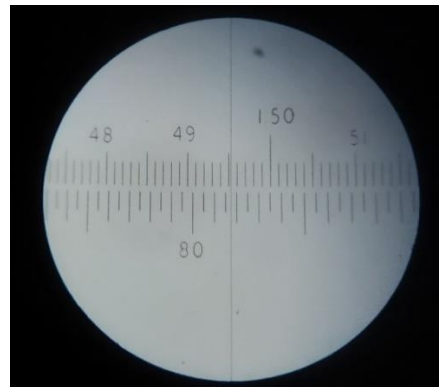


Figure 16 : Echelle de lecture de l'indice de réfraction (Originale)

II.2.8.2. Détermination des propriétés chimiques :

- **Détermination de l'indice d'acide (ISO, 1999)**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides contenus dans un gramme d'HE. Cet indice est déterminé selon les indications de la norme AFNOR. Il est donné par la formule suivante :

$$IA = (56,11 \times T \setminus m) \times V$$

Où :

- ✚ IA : indice d'acide ;
- ✚ V : volume de KOH utilisé (ml) ;
- ✚ T : Titre exact de la solution de KOH (N) ;
- ✚ m : masse de la prise d'essai (g) ;
- ✚ 56,11 : masse molaire du KOH.

- **Mode opératoire :**

Un gramme d'HE et 2,5ml d'éthanol 95% à 20°C sont mélangés dans un erlenmeyer, trois gouttes de phénolphthaléine (2g/l) ou le rouge de phénol (0,4g/l) sont ensuite introduit. Le mélange est dosé avec une solution de KOH de concentration 0,1M. La titration est achevée si une coloration rose persistance apparait pendant quelques secondes.

- **Mesure du pH**

pH est l'abréviation du potentiel d'hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) en solution.

- **Mode opératoire**

Quelques gouttes des HE de chaque plante a été mis sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier il a été comparé avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.



Figure 17 : Méthode de détermination du pH des HE (Originale)

II.2.9. Analyses de la composition chimique

II.2.9.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Principe :

La chromatographie sur couche mince est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse utilisée pour la séparation et purification des métabolites. Cela dépend principalement du phénomène d'adsorption avec une couche absorbante en phase stationnaire

(gel de silice ou autres) et une phase mobile qui est l'éluant. Il se compose d'un solvant ou d'un mélange de solvants qui se migrent lentement le long de la plaque, ce qui conduit à l'entrée des composants de l'échantillon déposé. Une fois le chromatogramme développé, la plaque est créée et séchée à température ambiante puis les taches sont révélées sous UV ou par des réactifs chimiques (longueurs d'onde=254nm et 365nm) (Caude et Jardy, 1996).

- **Mode opératoire (Gavrilovic et al., 1996) :**

- ❖ **La phase mobile choisie :**

Un mélange de solvants, « toluène-acétate d'éthyle » est utilisé comme phase mobile à deux proportions différentes dans le rapport respectif est 93/7 et 70/30.

- ❖ **Préparation de l'éluant :**

Sous une hotte ventilée, un mélange des solvants a été préparé dans les proportions souhaitées.

- ❖ **Préparation de la cuve :**

La cuve a été saturée avec la phase mobile pendant 30 minutes.

- ❖ **Préparation des plaques :**

- Les plaques de gel de silice ont été laissées séjourner 15 minutes à l'étuve réglée à 105°C pour les réactiver.

- Une ligne a été tracée finement avec un crayon au bord inférieur de la plaque à une distance de 1.5 cm, qui indique la ligne de base et en prenant soin de ne pas entamer la couche.

- ❖ **Le dépôt :**

- Les points de dépôt sont indiqués et espacés d'environ 1cm en laissant 2 cm aux extrémités pour éviter les effets de bords.

- La solution est solubilisée ensuite déposée au moyen de capillaire très fins, par petites quantités successives pour permettre au solvant de s'évaporer.

- ❖ **Développement :**

- La plaque a été introduite dans la cuve saturée de vapeurs de solvants en la faisant plonger de 1cm dans la phase mobile.

- La cuve a été refermée en contrôlant l'étanchéité.

- La phase mobile est migrée jusqu'à 1cm de haut de la plaque.

- La plaque a été sortie et repérée au crayon la position du front du solvant.



Figure 18 : La plaque CCM pendant la migration de la phase mobile (**Originale**)

❖ Révélation après séchage de la plaque :

- Soit directement par observation en lumière ultraviolette.
- Soit après pulvérisation d'un réactif adéquat qui entraîne la formation d'un dérivé coloré.
- Entourer chaque spot par un léger trait de crayon pour avoir calculer le rapport frontal.

Le rapport frontal (R_f) est calculé par la formule suivante :

$$R_f = d/D$$

Ou :

- + d : désigne la distance parcourue par la substance (en utilisant le haut de la tache) ;
- + D : désigne la distance parcourue par le front de l'éluant (à partir de la ligne des dépôts).

II.2.9.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

➤ Le couplage CG/SM :

Principe :

Le couplage CG/SM est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de connaître dans la grande majorité des cas la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (**Longevialle, 1981 et Constantin, 1996**).

Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le « piège à ion » ou « ion trap » (**Sari, 2011**).

- **Mode opératoire :**

L'analyse a été effectuée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse d'une colonne capillaire Agilent 7890B de 30 m de longueur, 0.25 mm de diamètre interne et de 0.25 µm d'épaisseur de film. La température initiale est programmée 40C° (pendant 0.5 min), la température finale 280C° (pendant 20min), la température est de l'injecteur 200C°.

La chromatographie en phase gazeuse est couplée à un spectromètre de masse Agilent 5977 MSD, le gaz vecteur est l'hélium avec un débit 1 ml/min en mode Splitte, l'énergie d'ionisation est 70 eV.

II.2.10. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est réalisée par la méthode des disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries (**Bouhekrit, 2018**) et des levures.

- **Méthode de diffusion en milieu gélosé :**

Principe :

L'aromatogramme ou méthode par diffusion dans un milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité de microorganismes à une substance connue comme antibactérienne. Ce test se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. Il consiste à déposer un disque stérile en cellulose imprégné de l'HE à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de pétri etensemencée avec le micro-organisme testé. Après incubation, les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle sur la cible est évaluée en mesurant la zone d'inhibition (diamètre d'inhibition). Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique ; plus il est petit et plus la bactérie est résistante (**Pance et al., 2003**).

- **Mode opératoire :**

- ❖ **Les souches microbiennes testées : (tableau 4)**

- ❖ **Stérilisation du matériel :**

L'ensemble du matériel (des tubes à essai contiennent 10ml de l'eau physiologique, des disques préparés à partir de papier d'wattman à un diamètre de 6 mm qui sont mis dans un tube à essai, un bécher contient des embouts qui est enrobé par du papier aluminium et un

pince mis dans un tube à essai) est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes et les conserver jusqu'à l'utilisation.

❖ **Ecoulement des milieux de culture :**

Les milieux de culture stériles : gélose nutritive, gélose Muller Hinton et Sabouraud sont fondus dans un bain marie à 95°C pendant environ 30 minutes ensuite sont coulées aseptiquement dans des boîtes de Pétri à raison d'environ 15ml par boîte, après ont été laissées refroidir et solidifier sur la paillasse et puis sont renversées pour éviter la contamination des milieux.



**Figure 19 : Ecoulement des milieux de la culture
(Originale)**

❖ **Repiquage des souches microbiennes :**

Les souches microbiennes ont été revivifiées en stries sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive pour la croissance des bactéries et sabouraud pour la croissance des champignons, puis les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24h alors que les levures sont incubées à 28°C pendant 48h afin d'obtenir une culture jeune des colonies bien isolées qui serviront à la préparation de l'inoculum (Cherrat, 2013).



Figure 20 : Repiquage des souches microbiennes (Originale)

❖ Préparation du l'inoculum :

Après l'incubation, des colonies bien isolées et identiques de chaque souche microbienne ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur stérile et déchargées dans 10 ml d'eau physiologique stérile (0.9% de sel NaCl) ensuite la suspension microbienne est bien homogénéisée. La standardisation est effectuée à une longueur d'onde de 620 nm, la densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 à 0,1 nm, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml pour les bactéries et de 10^7 à 10^8 germes/ml pour les levures. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte (Abi-Ayad, 2009). Il doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation (Athamena et al., 2010).

❖ Ensemencement :

Dans la zone stérile près du bec benzène, un coton-tige est trempé dans la suspension et étalé sur toute la surface de la gélose Muller- Hinton (MHA) pour les bactéries ou sabouraud pour les champignons.

❖ Dépôt des disques :

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques stériles de papier wattman (de diamètre 6 mm) sont déposés sur la gélose précédemment inoculée avec le microorganisme choisi, puis les imbibés par 15 μ l d'HE et d'autres disques vierges sont utilisés comme témoins négatifs (Hussain, 2009).

Les disques d'antibiotiques Kanamycin et levofloxacin sont utilisés comme témoins positifs

❖ Incubation des cultures microbiennes :

Les boîtes de Pétri sont mis à 4 °C pendant 1h pour assurer la diffusion des extrait testés dans les milieux ensemencés avant la multiplication des bactéries puis les retirées du

réfrigérateur et incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24h pour les bactéries et 30°C pendant 48h pour les champignons (**Hussain, 2009**).

❖ Lecture des résultats :

L'activité antimicrobienne est évaluée après l'incubation en mesurant la zone d'inhibition de la croissance autour des disques. L'action inhibitrice est classée en fonction de la zone d'inhibition (ZI) (**Ponce et al., 2003**).

- Forte action inhibitrice (++++), $ZI \geq 22$ mm ;
- Action inhibitrice complète (+++), $ZI = 18-21$ mm ;
- Action inhibitrice partielle (++) , $ZI = 14-17$ mm ;
- Légère action inhibitrice (+), $ZI \leq 13$ mm ou pas d'action inhibitrice (-), $ZI = 0$.

II.2.11. Evaluation de l'activité antioxydante :

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de l'HE de *Thymus willdenowii* et *Origanum floribundum* est réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Principe :

A température ambiante, le radical DPPH présent, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Moon & Shibamoto, 2009**).

- Mode opératoire (**Burits et Bucar, 2000 ; Cuended et al., 1997**) :

❖ Solution de DPPH :

Dans une fiole 2,24 mg du 2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été dissous dans quelque volume d'éthanol puis la solution a été agitée manuellement ensuite remplie la fiole jusqu'au trait de Jauge.



Figure 21 : La solution de DPPH (Originale)

❖ **Acide ascorbique :**

10 mg d'acide ascorbique a été dissous dans 10 ml d'éthanol, après une forte agitation la solution a été mise à l'obscurité.

❖ **Solution mère :**

Les échantillons d'huile essentielle ont été préparés par dissolution dans l'éthanol à raison de (1 mg/ml). Cette solution, dite **solution mère**, a subi ensuite des dilutions pour avoir les concentrations suivantes : 100, 200, 400, 600, 800 µg/ml. Dans des tubes on a introduit 50 µl de chaque concentration et 1950 µl de la solution éthanolique au DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Ces mêmes concentrations ont été préparées avec l'Acide Ascorbique pour servir en tant que témoin positif.

La lecture d'un blanc avec l'éthanol absolu seul est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

L'absorbance lue est ensuite transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin.

Le pouvoir d'inhibition est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I\% = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Sachant que :

Abs contrôle : représente l'absorbance du blanc (éthanol).

Abs échantillon : absorbance de DPPH en présence de l'extrait.

➤ Calcul des IC50 :

L'IC50 ou concentration inhibitrice est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. L'IC50 est calculée graphiquement par la régression linéaire du graphe tracé : pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés. Ainsi, la valeur IC50 est liée négativement à l'activité antioxydante ; plus la valeur IC50 est faible, plus l'activité antioxydante de l'échantillon testé est élevée (Bouhekrit, 2018).

II.2.12. Etude ethnobotanique :

Dans différentes wilaya d'Algérie une enquête ethnobotanique (**Annexe V**) a été destinée vers les personnes qui préfèrent la médecine traditionnelle et qu'ils n'utilisent pas trop les médicaments et les produits chimiques, parce qu'ils ont l'habitude d'utiliser les plantes naturelles dans divers domaines, donc ils ont l'expérience et les connaissances dont nous avons besoin.

Aussi ce questionnaire est destiné à certains étudiants en biologie, en médecine et en chimie qui préfèrent les produits bios à base des plantes naturelles pour se protéger contre les effets indésirables des médicaments.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Taux d'humidité

Les résultats ont révélé un taux d'humidité de 30% pour le *Thymus willdenowii* et de 23% pour l'*Origanum floribundum*.

Le taux d'humidité pour le *T.willdenowii* est comparé avec le *Thymus vulgaris*, le taux obtenu est élevé par rapport à celui trouvé par (Yakhlef, 2010) qui est de 9.40% et inférieur à celui rapporté par (Abdelli, 2017) qui présente 46%.

Pour l'*O.floribundum* possède un taux d'humidité supérieur à celui trouvé par (Hazzit, 2008) qui est de 11,98%.

Ces variations de la teneur en eau peuvent être dues à des paramètres extrinsèques tels que le climat et la répartition géographique.

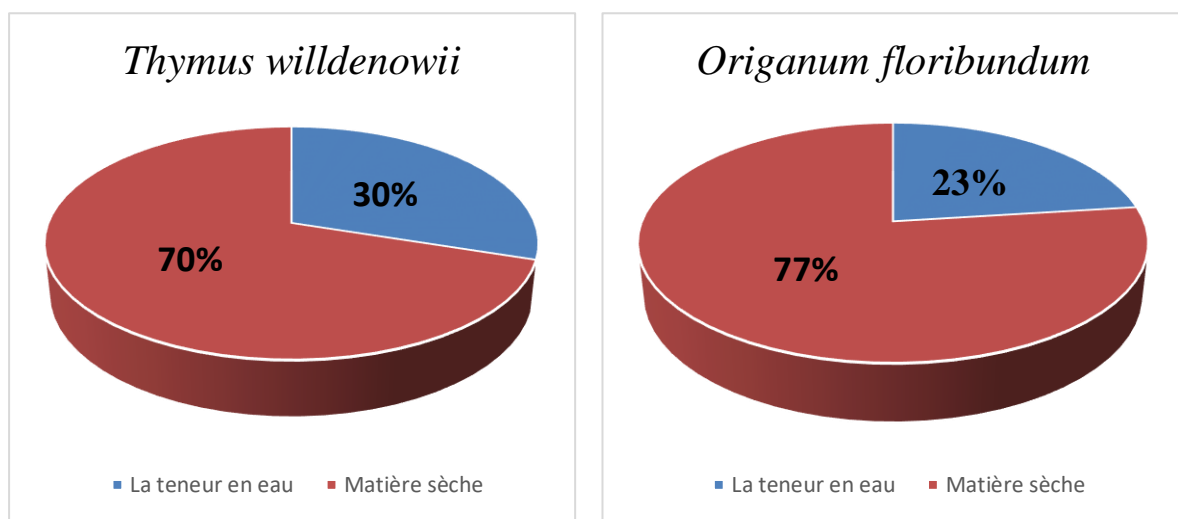













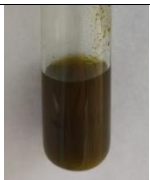

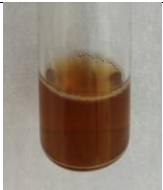
Figure 22 : Taux d'humidité des deux plantes

Screening phytochimique :





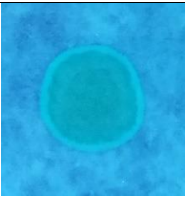
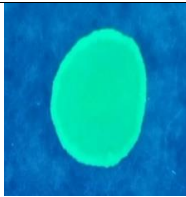
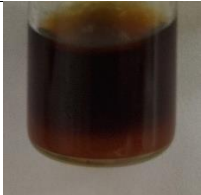





Les résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne des deux plantes sont représentés par la présence ou l'absence des différents groupes chimiques dont lesquels sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Résultats de screening phytochimique du *Thymus willdenowii* et *Origanum floribundum*

Chapitre III : Résultats et discussions

Métabolites secondaires	<i>Thymus willdenowii</i>	<i>Origanum floribundum</i>
Tanins totaux	 +++	 +++
Tanins catéchiques	 -	 -
Tanins galliques	 +++	 +++
Flavonoïdes libres	 +	 +
Anthocyanes	 +	 +
Leucoanthocyanes	 +	 -
Saponines	 -	 -

Suite :

Alcaloïdes	 +++	 +++
Quinones	 -	 -
Coumarines	 +	 +++
Composés réducteurs	 +	 ++
Oses et holosides	 ++	 +++
Stérols et triterpènes	 +	 ++

+++ : Réaction fortement positive ; ++ : Réaction moyennement positive ; + : Réaction faiblement positive ; - : Réaction négative.

Les tests phytochimiques réalisés sur le *Thymus willdenowii* et sur l'*Origanum floribundum* ont montré des réactions les plus franches en tanins totaux, galliques et en alcaloïdes. Cependant, les oses et holosides ainsi que les coumarines ont montré une présence importante dans l'origan et une présence moyenne dans le thym. Ces tests ont révélé aussi la présence moyenne des composés réducteurs, des stérols et triterpènes pour l'origan et avec une faible existence pour le thym par contre les flavonoïdes totaux et les anthocyanes sont détecté faiblement dans les deux plantes. Ainsi, nous avons constaté une absence totale des tanins catéchiques, saponines et des quinones dans le thym et dans l'origan.

III.2. Rendement des huiles essentielles

A partir de l'hydrodistillation des plantes sèches, par une simple décantation et élimination de l'hydrolat, nous avons récupéré une quantité de 0.68 % d'HE du *Thymus willdenowii* et 1.23% d'HE d'*Origanum floribundum* pour 100g de la poudre végétale (figure24) :

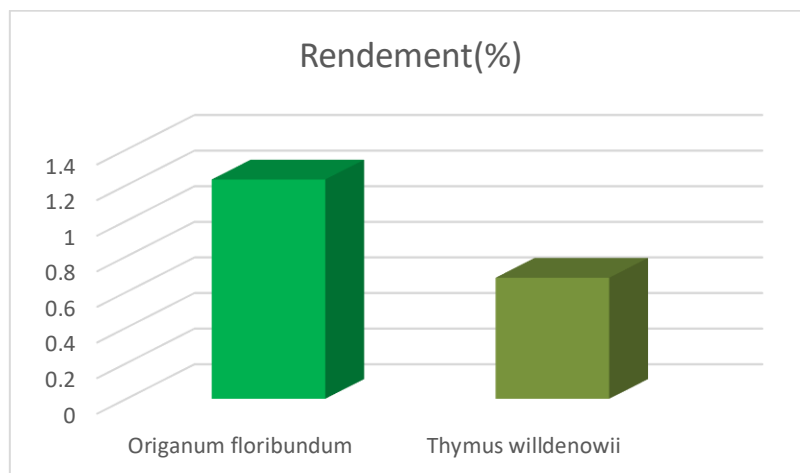


Figure 23 : Rendement d'extraction en huiles essentielles des deux plantes étudiées

Selon les rendements obtenus à partir de 100g de la matière végétale, nous avons constaté que le rendement le plus élevé est celui de l'*O.floribundum* à l'état non floraison avec 1,23% par rapport à celui du *T.willdenowii* à l'état floraison qui possède un rendement faible avec 0,68%.

Nous avons comparé le rendement du *T.willdenowii* avec la même espèce récoltée au Maroc, dont le rendement obtenu est supérieur à celui rapporté par (El Idrissi et Idrissi, 2014) qui est de 0.28%, par ailleurs il est inférieur à celui mentionné par (Radi et al., 2022) qui de 3%.

Concernant l'*O.floribundum*, le rendement que nous avons obtenu représente une valeur supérieure à celui de Park National Chrea qui est de 0,66% (Baser et al., 2002) et inférieure à celui de Kadiria avec 2,8% (Hazzit, 2008).

En effet, dans notre étude le rendement obtenu est influencé par la nature de la plante : le thym a été cultivé et non pas à l'état sauvage, par la période de récolte : l'origan a été récolté avant la floraison et aussi par l'équipement d'extraction, comme ils peuvent varier selon les facteurs abiotiques : température, humidité relatives, le vent et la durée totale d'ensoleillement (Hazzit, 2008).

III.3. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles :

La première étape après l'extraction nous avons déterminé les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles obtenues pour les deux plantes étudiées qui sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles de *T.willdenowii* et d'*O.floribundum*

Qualités organoleptiques	HE de <i>T.willdenowii</i>	HE d' <i>O.floribundum</i>	Normes (AFNOR)
Aspect	Liquide limpide	Liquide limpide	Liquide limpide pour les deux plantes
Couleur	Jaune pâle	Jaune foncé	-Jaune foncé (origan) -Jaune brun (thym)
Odeur	Fortement aromatisé	Fortement aromatisé	Caractéristique aromatique pour les deux plantes

Les huiles essentielles obtenues ont un aspect liquide, limpide et une odeur fortement aromatisée pour les deux plantes étudiées sauf la couleur qui diffère pour le thym elle est jaune pâle et pour l'origan elle est jaune foncée (Figure 25). Ces paramètres organoleptiques de nos échantillons sont comparables à la même espèce d'origan étudiée et pour le thym nous n'avons pas pu les comparer avec la même espèce d'autres travaux car les études effectuées sur le *T.willdenowii* sont rares et pour cela nous avons comparé avec le *Thymus mastichina L*

qui est cité par les normes **AFNOR (2000)** alors que les caractéristiques organoleptiques des deux huiles que nous avons étudié sont identiques avec celles répertoriés par cette association française.

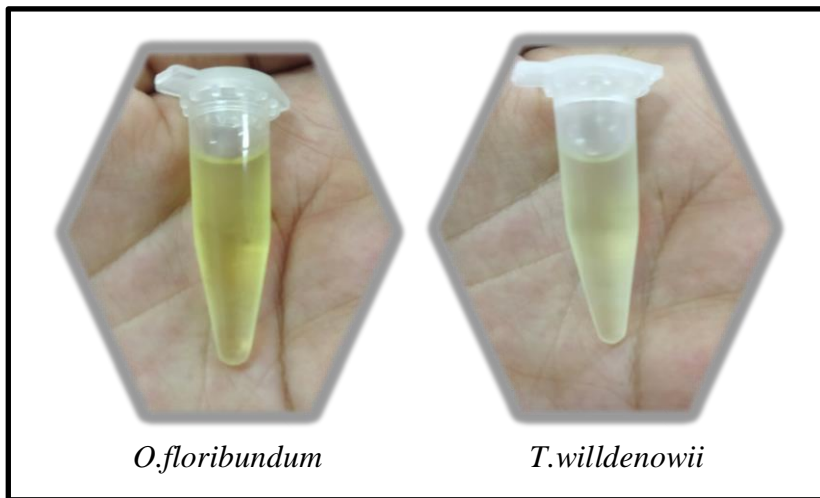


Figure 24 : Couleurs des extraits des huiles essentielles (Originale)

III.4. Résultats des propriétés physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques donnent une idée sur la pureté et la qualité des HE.

➤ Propriétés physiques :

Dans les méthodes physiques pour l'analyse des huiles essentielles nous avons déterminé la densité et l'indice de réfraction les résultats de ces paramètres sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Les propriétés physiques des HE des deux plantes.

L'analyse	<i>Thymus Willdenowii</i>	<i>Origanum Floribundum</i>
Indice de réfraction (IR)	1,465	1,495
Densité	0,881	0,991

➤ Indice de réfraction :

L'indice de réfraction (IR) dépend de la composition chimique de l'HE et de la température. D'après les résultats obtenus, l'IR de l'HE d'*O.floribundum* est très proche de celui énoncé par (**AFNOR, 2000**) qui est de (1,50-1,51). En revanche l'IR de l'HE de *T.willdenowii* est

élevé par rapport à la même espèce provenant du Maroc décrite par (Radi et al., 2022) qui est de (1.33 ± 0.04) .

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Boukhatem et al., 2010).

➤ **La densité :**

D'après les résultats obtenus, la densité de l'HE d'*O.floribundum* dont la valeur est 0,991 représente une légère diminution par rapport aux normes (AFNOR, 2000) qui est de (0,93-0,95). Cependant la densité de *T.willdenowii* est égale à celui de même espèce décrite par (Radi et al., 2022) qui est de (0.91 ± 0.05) .

➤ **Propriétés chimique :**

Pour obtenir des données sur la composition et le degré de pureté des huiles essentielles, il est nécessaire d'étudier plusieurs paramètres chimiques, (AFNOR, 2000). Nous avons mesuré le pH et l'indice d'acide qui sont mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Les propriétés chimiques des HE des deux plantes

L'analyse	<i>Thymus willdenowii</i>	<i>Origanum floribundum</i>
Indice d'acide (IA)	2,9	5,58
pH	5	5

➤ **L'indice d'acide :**

L'IA élevée indique une dégradation d'HE durant sa conservation. Inversement, un IA inférieure à 2 est un indice de bonne conservation de l'HE (Kpoviessi et al., 2004).

D'après les résultats obtenues dans notre étude nous pouvons dire que l'HE d'*O.floribundum* est dégradée lors de sa conservation et provoque une oxydation irritante contrairement l'HE du *T.willdenowii* est stable et ne provoque pas d'oxydation inquiétante (bonne conservation d'HE extraite).

Plus l'indice d'acide est bas, plus la qualité de l'huile est excellente donc une bonne stabilité de cette dernière (De Clif et Harerimana, 2013).

➤ **Mesure de pH :**

Le pH obtenu est de 5 pour les deux HE donc sont acides.

A cet effet, elles permettent d'acidifier un terrain biologique alcalin. D'autre part, étant donné que ces HE sont plus ou moins antioxydantes, elles luttent contre l'oxydation des cellules et contre les radicaux libres (Anonyme 7).

III.5. Analyses chromatographiques

III.5.1. Analyse chromatographique sur couche mince CCM :

Dans l'analyse CCM, nous avons utilisé un système de solvant « Toluène /acétate d'éthyle » comme phase mobile et une plaque de gel de silice F₂₅₄ comme phase stationnaire ce qui a permis d'obtenir une migration des huiles essentielles de Thym et Origan. Afin de visualiser les différents spots nous avons révélé les plaques CCM par UV aux longueurs d'onde 254 nm et 365nm et aussi par pulvérisation par la vanilline sulfurique. Après révélation différentes tâches sont observées et leurs rapports frontaux sont calculés et résumés dans les tableaux 10 et 11.

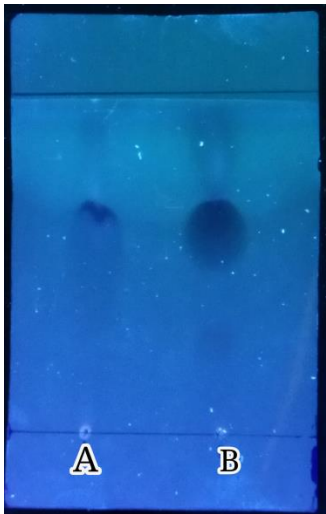


		
<p>CCM 1 A : Thym B : Origan -Proportion de l'éluant : 93/7 -Dilution des HE : 50µLHexane/50µl HE</p>	<p>CCM 2 C : Thym D : Origan -Proportion de l'éluant : 93/7 -Dilution des HE : 100µlToluène/5µl HE</p>	<p>CCM 3 E : Thym F : Origan -Proportion de l'éluant : 70/30 -Dilution des HE : 50µl d'acétate d'éthyle/50µl HE</p>

Figure 25 : Chromatogrammes de CCM des HE de *T. willdenowii* et *O.floribundum* après révélation aux UV à 365nm (Originale)

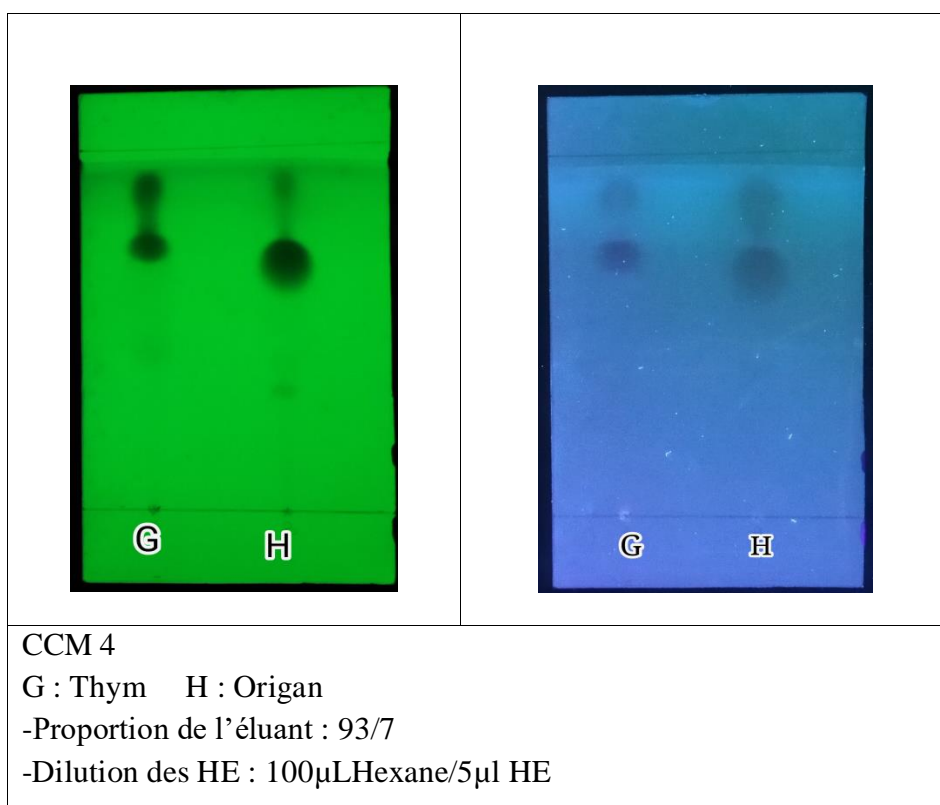


Figure 26 : Chromatogrammes des CCM des HE de *T. willdenowii* et *O.floribundum* sous UV 254 et 365nm (**Originale**)

Des spots sont visualisées par la lumière UV sous une longueur d'onde de 254 nm et 365 nm, qui a permet d'avoir des fluorescences (tâches) de différents formes (**figures 26 et 27**), étroites qui pourraient correspondre à des composés purs et des fluorescences de grands diamètres qui peuvent être une seule molécule ou un ensemble des composés.

Tableau 9 : Valeurs des rapports frontaux R_f et les couleurs des tâches obtenus par CCM des HES de *Thymus willdenowii*.

N °de plaque (CCM)	Proportion de l'éluant	Dilution des HEs	Nombre de taches	Couleur de taches	Rf
CCM 1 (A)	Toluène /acétate d'éthyle 93/7	50µLHexane/50µl HE	1	Grise	0,26
			2	Rouge violette	0,57
			3	Mauve	0,83
CCM 2 (C)		100µl	1	Brune	0,20
		Toluène/5µl HE	2	Rouge violette	0,57
CCM 3 (E)	Toluène /acétate d'éthyle 70/30	50µl d'acétate d'éthyle/50µl HE	1	Rouge violette	0,58
CCM 4 (G)	Toluène /acétate d'éthyle 93/7	100µl Hexane/ 5µl HE	1	Bleu claire	0,38
			2	Verte	0,67
			3	Orange	0,80
			4	Bleu	0,94

Tableau 10 : Valeurs des rapports frontaux R_f et les couleurs des taches obtenus par CCM des HE d'*Origanum floribundum*.

Chapitre III : Résultats et discussions

N °de plaque (CCM)	Proportion de l'éluant	Volume de dilution des HE	Nombre de taches	Couleur de taches	Rf
CCM 1 (B)	Toluène /acétate d'éthyle 93/7	50µl Hexane/50µl HE	1	Grise	0,05
			2		0,11
			3		0,18
			4	Rose claire	0,28
			5	Grise	0,37
			6	Rose foncé	0,63
			7	Mauve foncé	0,90
CCM 2 (D)		100 µl Toluène/5µl HE	1	Gris	0,05
			2		0,22
			3	Rose claire	0,31
			4		0,42
			5	Rose foncé	0,64
			6	Mauve foncé	0,90
CCM 3 (F)	Toluène /acétate d'éthyle 70/30	50µl d'acétate d'éthyle/50µl HE	1	Mauve claire	0,55
			2	Rose foncé	0,69
			3	Mauve foncé	0,91

Suite :

CCM 4 (H)	Toluène /acétate d'éthyle 93/7	100µl Hexane/ 5µl HE	1	Grise claire	0,04
			2		0,09
			3	Grise foncée	0,26
			4	Grise claire	0,45
			5	Rose claire	0,57
			6	Marron	0,75
			7	Mauve	0,95

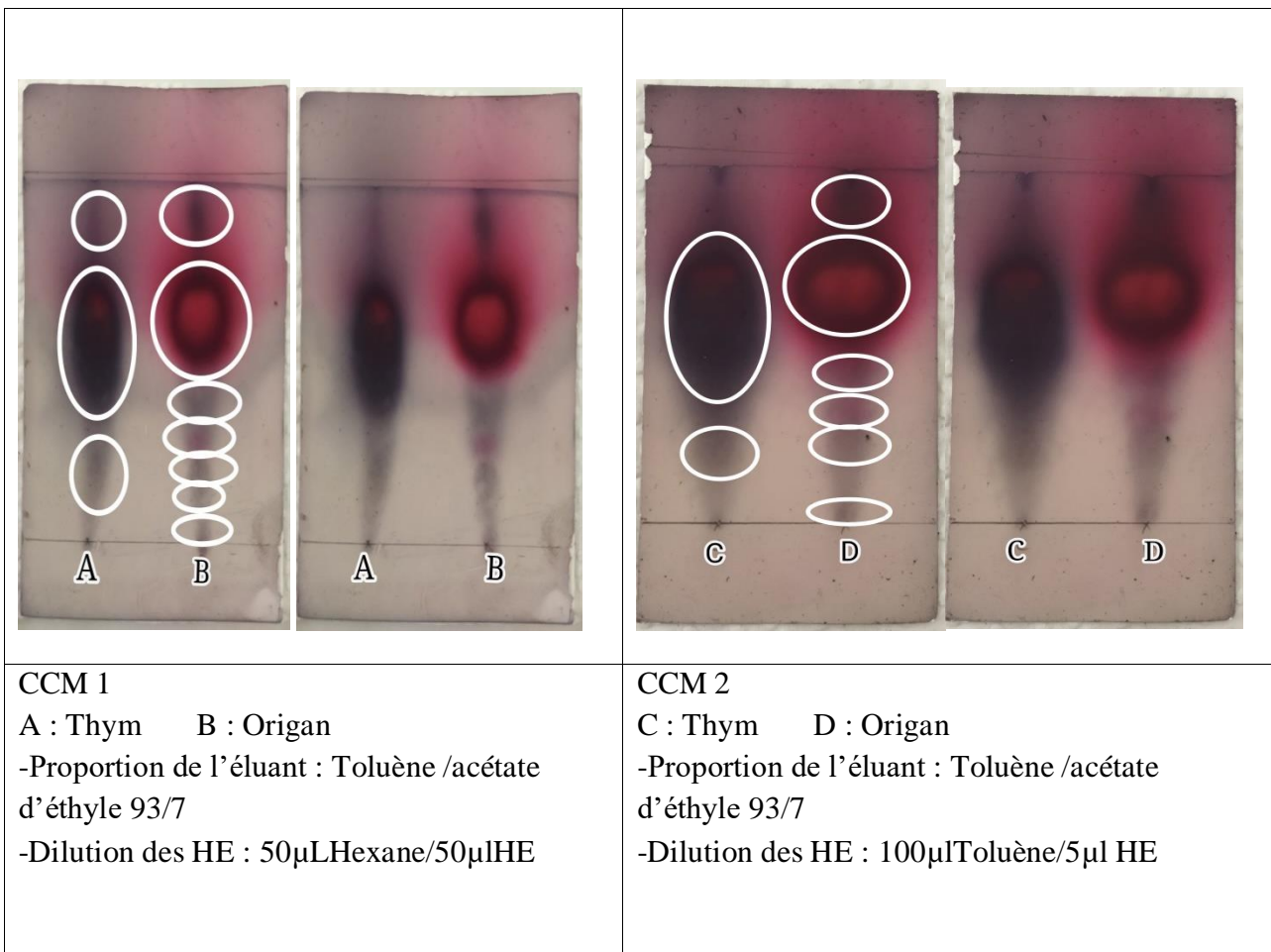


Figure 27 : Chromatogrammes des CCM des HE de *T. willdenowii* et *O.floribundum* après révélation par la vanilline sulfurique

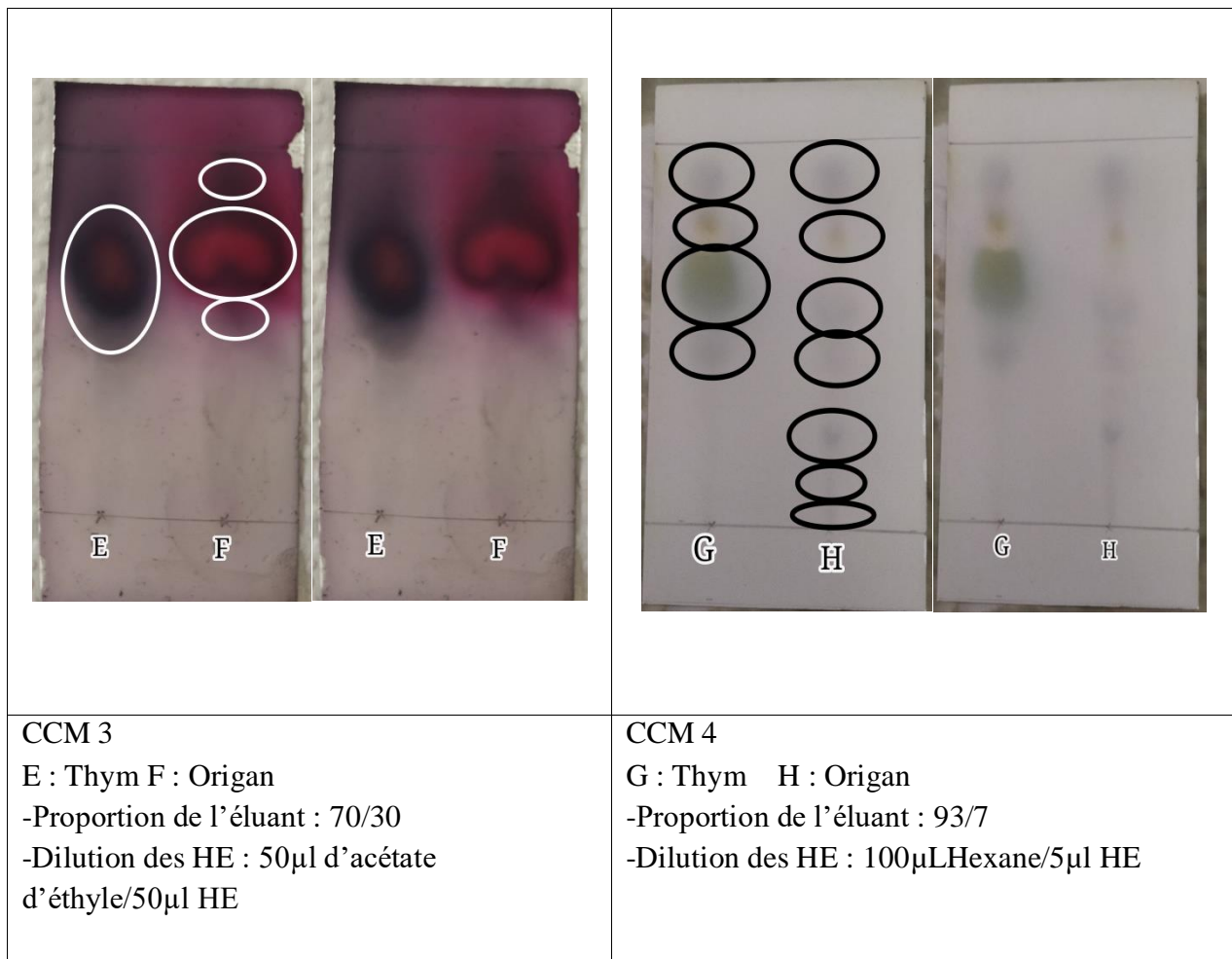


Figure 28 : Chromatogrammes des CCM des HE de *T. Willdenowii* et *O.floribundum* après révélation par la vanilline sulfurique

D'après les résultats des rapports frontaux obtenus, pour pouvoir identifier les molécules correspondantes aux taches dans les CCM après révélation par la vanilline sulfurique nous avons comparé les rapports frontaux des tâches obtenues et leurs couleurs avec ceux rapportés par (Wagner et Bladt, 1996) ; (Grigore et al., 2010) ; (Pensel et al., 2014) et selon le principe de la chromatographie sur couche mince les molécules migrent par capillarité selon le coefficient de partage en fonction de la polarité du solvant Les résultats de CCM du *T.willdenowii* représentés dans le tableau 10 montre que :

- Les CCM 1 et 4 dans les dépôts (A) et (A') : les tâches de couleur grise et bleue ayant des R_f de l'ordre de 0,25 et 0,38 peut être le linalool.
- Les CCM 1, 2 et 3 dans les dépôts (A), (C) et (E) : les tâches qui ont une couleur rouge violette ayant des R_f de l'ordre de 0,57 ; 0,57 ; 0,58 peut être le thymol.
- La CCM 2 dans le dépôt (C) : la tâche de couleur brune à un R_f de 0,20 peut être le terpeneol.

Les résultats de CCM du l'*O.floribundum* présentés dans le tableau 11 montre que :

-La CCM 1 dans le dépôt (B) : trois tâches ont une couleur grise et des R_f dans l'ordre de 0,11 ; 0,18 et 0,33 et aussi pour la CCM 4 dans le dépôt (B') : une tâche grise et un R_f égale à 0,26 ; ces taches peuvent être linalool, géranol ou bornéol.

-La CCM 2 dans le dépôt (D) : une tâche de couleur grise a un R_f égal à 0,22 peut être légéranol ; une autre tâche apparue avec une couleur bleu violette a un R_f de 0,42 peut être le citrale.

-Les CCM 1, 2 et 3 dans les dépôts(B), (D) et (F) : les tâches de couleur rose foncé ayant des R_f de l'ordre de 0,63 ; 0,64 ; 0,69 peuvent être un mélange de thymol et carvacrol.

Nous n'avons pas pu identifier toutes les tâches apparentes dans les plaques car leurs R_f et leurs couleurs ne correspondent pas à ceux rapporté par la littérature et les tâches obtenues sont très condensées donc l'augmentation du volume du solvant polaire (acétate d'éthyle) dans la fraction toluène/acétate d'éthyle (93/7) pourrait permettre une meilleure séparation. Cependant parmi les tâches les plus significatives que nous avons identifié sont celles ayant un grand diamètre et de couleur intense (rose foncé et rouge violette) qui correspond au thymol, carvacrol qui sont les composés majoritaires de nos essences.

III.5.2. Analyses Chromatographique CG-SM

L'appareille CG-SM « Agilent Technologies 5977 MSD » nous a permet d'avoir deux chromatogrammes (**figure 30 et 31**) correspondent à la composition chimiques des deux HE.

Les pics du chromatogramme de chaque HE sont comparés à ceux des composés de référence présents dans une bibliothèque de spectre avec une banque de donnée informatisée afin d'identifier les composants de nos échantillons analysé. (**Hazzit, 2008**)

Nous avons obtenus comme résultats des pics de masse, des indices et temps de rétention et les structures des composés des HE.

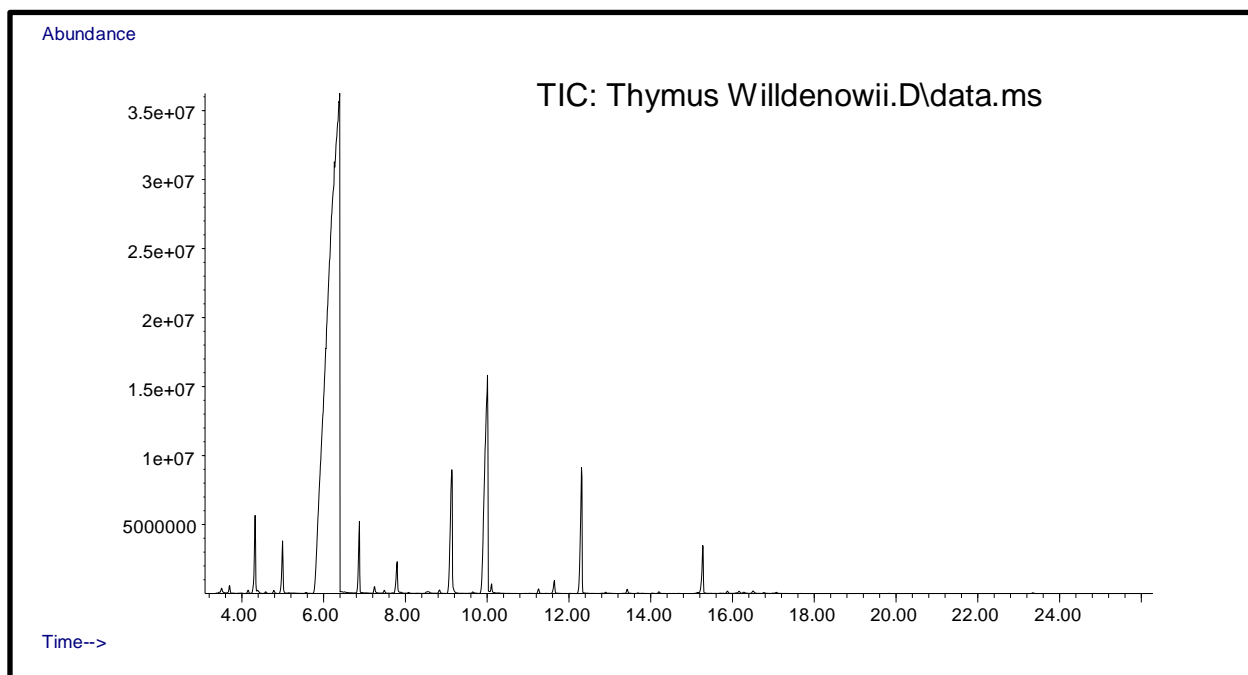


Figure 29 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *T.willdenowii*

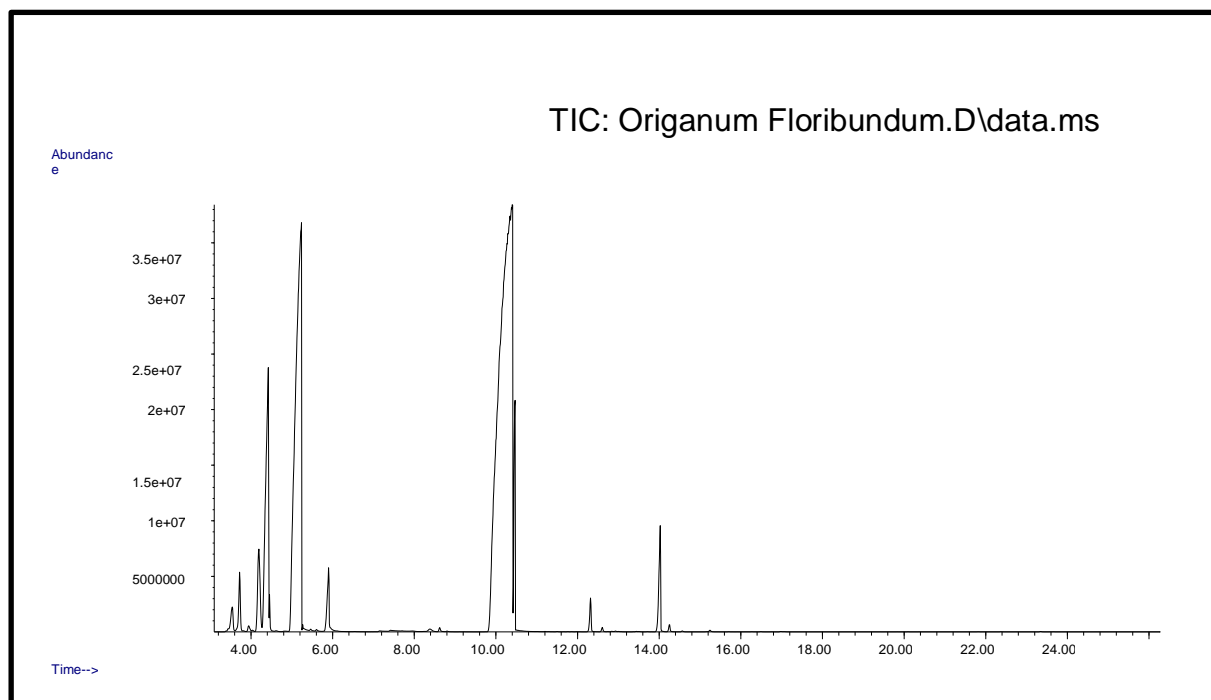


Figure 30 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *O.floribundum*

Pour identifier les constituants de nos HE, nous avons interprété les chromatogrammes obtenus comme suit :

En cliquant sur chaque pic, nous obtenons son spectre de masse qui lui correspond, puis nous le soumettons à la recherche dans la base de données, puis le logiciel nous donnera un spectre de masse similaire à ce que nous avons obtenu, et donnera également des propositions moléculaires pouvant correspondre à notre spectre de masse avec un pourcentage de similitude correspondant à chaque proposition moléculaire, nous verrons donc la proportion des molécules avec un pourcentage de similarité plus élevé. Le même processus a donc été répété pour déterminer l'ordre des composants de notre échantillon.

Selon cette méthode nous avons obtenus comme résultats les compositions chimiques des HEs étudiées et chaque molécule est accompagnée de sa formule, sa structure chimique, son indice et son temps de rétention ; ce dernier nous a permis de confirmer l'identification des composés qui appartiennent à chaque pic.

Tableau 11 : Composition chimique (%) de l'HE du *T. willdenowii*

N°	Composés	KI	tR	Formules
1	Sabinene	974	3.388	C ₁₀ H ₁₆
2	β-Pinene	979	3.418	C ₁₀ H ₁₆
3	Linalyl propionate	1336	3.438	C ₁₃ H ₂₂ O ₂
4	1-Octen-3-ol	980	3.499	C ₈ H ₁₆ O
5	β-Myrcene	991	3.659	C ₁₀ H ₁₆
6	3-Octanol	994	3.790	C ₈ H ₁₈ O
7	Terpinolene	1088	4.151	C ₁₀ H ₁₆
8	o-Cymene	1022	4.322	C ₁₀ H ₁₄
9	Hexane, 1-chloro-5-methyl	-	4.382	C ₇ H ₁₅ Cl
10	γ-Terpinene	1060	4.995	C ₁₀ H ₁₆
11	Linalool	1099	6.331	C ₁₀ H ₁₈ O
12	L-camphor	1142	6.873	C ₁₀ H ₁₆ O
13	Camphol	1167	7.245	C ₁₀ H ₁₈ O
14	Terpinen-4-ol	1177	7.486	C ₁₀ H ₁₈ O
15	Terpineol	-	7.797	C ₁₀ H ₁₈ O
16	Decanal	1206	8.068	C ₁₀ H ₂₀ O
17	cis-geraniol	1228	8.550	C ₁₀ H ₁₈ O
18	Methyl carvacrol	1244	8.832	C ₁₁ H ₁₆ O
19	Linalyl acetate	1257	9.133	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
20	Bornyl acetate	1285	9.655	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
21	Thymol	1291	10.007	C ₁₀ H ₁₄ O
22	Carvacrol	1299	10.097	C ₁₀ H ₁₄ O
23	Nerol acetate	1364	11.262	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
24	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	-	11.644	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
25	Caryophyllene	1419	12.307	C ₁₅ H ₂₄
26	Humulene	1454	12.897	C ₁₅ H ₂₄
27	δ-Cadinene	1524	14.195	C ₁₅ H ₂₄
28	Caryophyllene oxide	1581	15.269	C ₁₅ H ₂₄ O
29	γ-Eudesmol	1631	15.892	C ₁₅ H ₂₆ O
30	α-Cadinol	1653	16.522	C ₁₅ H ₂₆ O
31	Shyobunol	1701	17.057	C ₁₅ H ₂₆ O

KI : Indice de rétention de Kovats.

tR : Temps de rétention.

Tableau 12 : Composition chimique (%) de l'HE de l'*O.floribundum* :

N°	Composés	KI	tR	Formules
1	Sabinene	974	3,378	C ₁₀ H ₁₆
2	β-Pinene	979	3,438	C ₁₀ H ₁₆
3	1-Octen-3-ol	980	3,479	C ₈ H ₁₆ O
4	β-Myrcene	991	3,720	C ₁₀ H ₁₆
5	3-Octanol	994	3,810	C ₈ H ₁₈ O
6	α-Phellandrene	1005	3,941	C ₁₀ H ₁₆
7	α-Pinene	937	4,041	C ₁₀ H ₁₆
8	α-Terpinene	1017	4,192	C ₁₀ H ₁₆
9	p-Cymene	1025	4,423	C ₁₀ H ₁₄
10	β-Terpinyl-acetate	1317	4,453	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
11	4-Carene, (1S, 3R, 6R)	-	4,634	C ₁₀ H ₁₆
12	γ-Terpinene	1060	5,226	C ₁₀ H ₁₆
13	cis-4-Thujanol	1070	5,266	C ₁₀ H ₁₈ O
14	Tricyclene	925	5,457	C ₁₀ H ₁₆
15	α-Terpinolene	1088	5,628	C ₁₀ H ₁₆
16	Linalool	1099	5,899	C ₁₆ H ₁₈ O
17	Borneol	1166	7,215	C ₁₆ H ₁₈ O
18	Terpinen-4-ol	1177	7,426	C ₁₆ H ₁₈ O
19	Terpineol	-	8,390	C ₁₆ H ₁₈ O
20	Thymol methyl	1235	8,631	C ₁₁ H ₁₆ O
21	Methyl carvacrol	1244	8,802	C ₁₁ H ₁₆ O
22	Thymol	1291	10,338	C ₁₀ H ₁₄ O
23	Carvacrol	1299	10,469	C ₁₀ H ₁₄ O
24	Caryophyllene	1419	12,317	C ₁₅ H ₂₄
25	Humulene	1454	12,929	C ₁₅ H ₂₄
26	β-Bisabolene	1509	14,014	C ₁₅ H ₂₄
27	cis-α-Bisabolene	1504	14,576	C ₁₅ H ₂₄

KI : Indice de rétention de Kovats.

tR : Temps de rétention.

La figure 1 et 2 et le tableau 1 et 2 représentent les chromatogrammes et le détail de la composition des deux HE. Au total, 31 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *T.willdenowii* tandis que 27 composés ont été identifiés dans celui de l'*O.floribundum*.

La composition chimique de l'HE du *T.willdenowii* se compose principalement de linalool, thymol, caryophyllene et le linalyl acetate comme composés majeurs (Figure3), accompagné

d'autres composés à des taux relativement faibles (o-Cymène, terpinolène, L-camphor, Terpèneol et le caryophyllène oxide...). En comparant les résultats à l'HE de la même espèce aux autres régions de l'Algérie et du Maroc, des différences de composition chimique peuvent être observées. En effet, en Algérie, l'HE du *T. willdenowii* récolté à Bekira (Constantine) est dominée majoritairement par le 1,8 cineole, camphor, α -pinène et le camphène (Zeghib et al. 2019). Au Maroc, les molécules prédominantes de cette essence sont le carvacrol, acétate de géranyl, caryophyllène oxide et le camphre. (Radi et al., 2021).

Concernant l'HE de l'*O. floribundum*, la composition chimique est riche en thymol, γ -terpinène, p-cymène et le carvacrol (figure 4), en plus d'autres composés à faible teneur, tels que le β -bisabolène, l' α -terpinène, le linalol, le β -myrcène et le β -terpinyl-acétate. En comparant nos résultats avec la même espèce d'autres régions d'Algérie, nous avons constaté que l'HE d'origan de la région de Lakhdaria (Bouira) était marqué par une dominance de thymol, p-cymène, γ -terpinène et carvacrol, (Kerbouche et al. 2021) tandis que celui de Djebel Haouara (Guelma) était constitué majoritairement de thymol, carvacrol, γ -terpinène et p-cymène. (Ksouri et al., 2017).

D'après les résultats obtenus, on conclut que le chémotype de l'HE de *T. willdenowii* est le linalool et celui de l'HE de l'*O. floribundum* est le thymol.

La composition chimique des HE est influencée par des facteurs géologiques et écologiques ainsi que la période de récolte. (Radi et al., 2022)

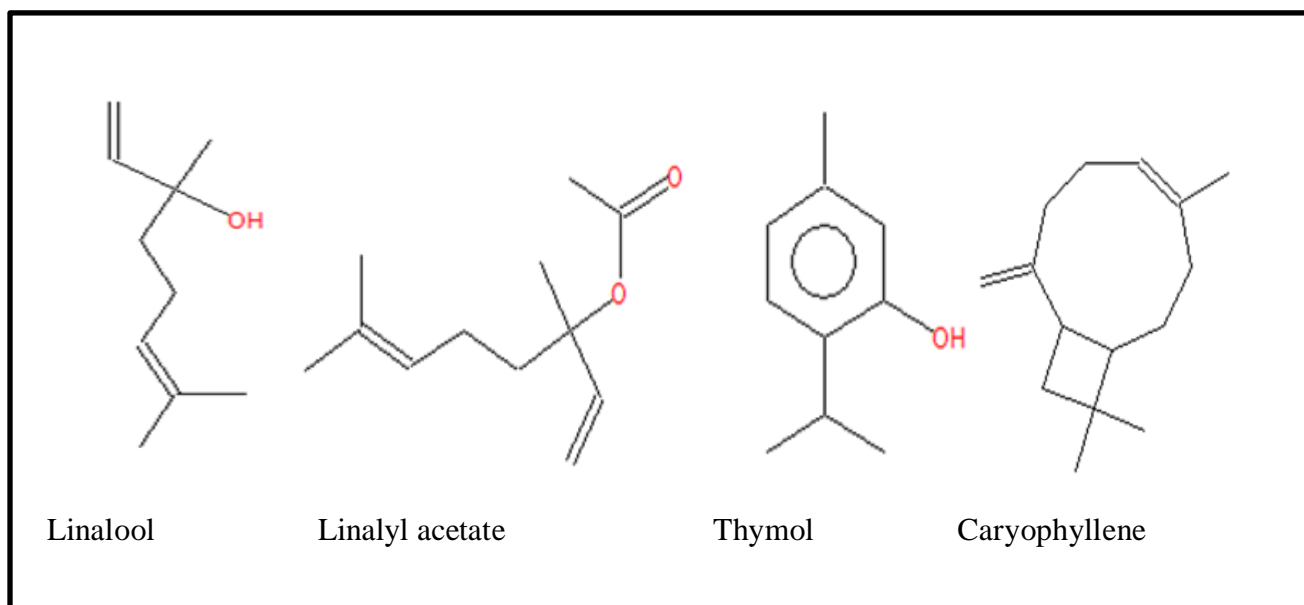


Figure 31 : Les structures des composés majoritaires de l'HE de *T. willdenowii*

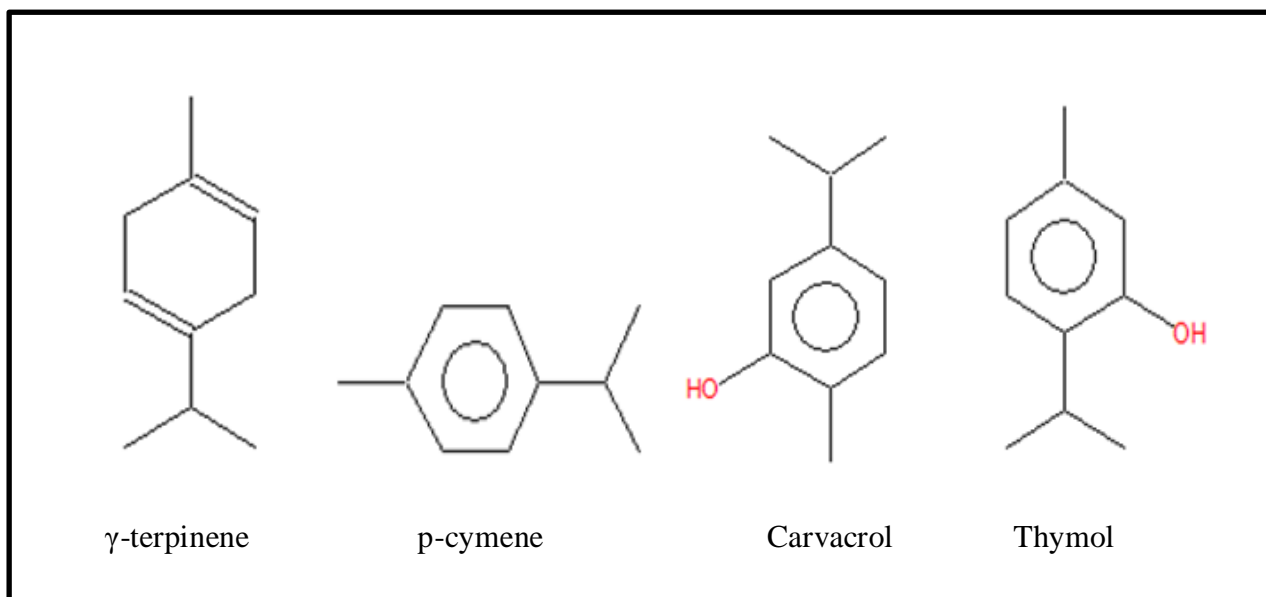


Figure 32 : Les structures des composés majoritaires de l'HE de l'*O.floribundum*

III.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des HE de *T.willdenowii* et *O.floribundum* a été évaluée par la méthode de diffusion des disques et comme test de standard (témoins positif) nous avons utilisé des antibiotiques afin de contrôler l'activité des souches testées en mesurant les diamètres des zones d'inhibition (DZI) de la croissance microbienne à l'aide d'un pied de coulisse. Les résultats sont représentés dans le tableau et illustrés par les (**Figure 34 et 35**).

Tableau 13 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition (DZI) de l'HE du *T.willdenowii* et *O.floribundum*.

DZI (mm) Souches Microbiennes testées	<i>T.willdenowii</i>	<i>O.floribundum</i>	Antibiotique Kanamycin (témoin positif)	Antibiotique Levofloxacin (témoin positif)
<i>Escherichia coli</i>	14mm (+)	32mm (+++)	22mm (+++)	34mm (+++)
<i>Staphylococcus aureus</i> sensible	11mm (+)	39mm (+++)	32mm (+++)	40mm (+++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	10mm(+)	24mm (+++)	26mm (+++)	35mm (+++)
<i>Candida albicans</i>	9mm(+)	30mm (+++)	21mm (+++)	27mm (+++)

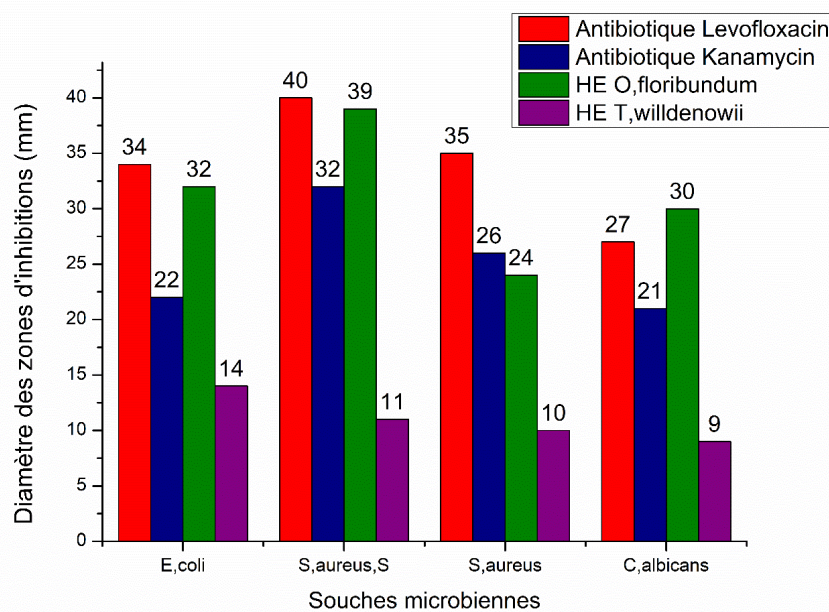
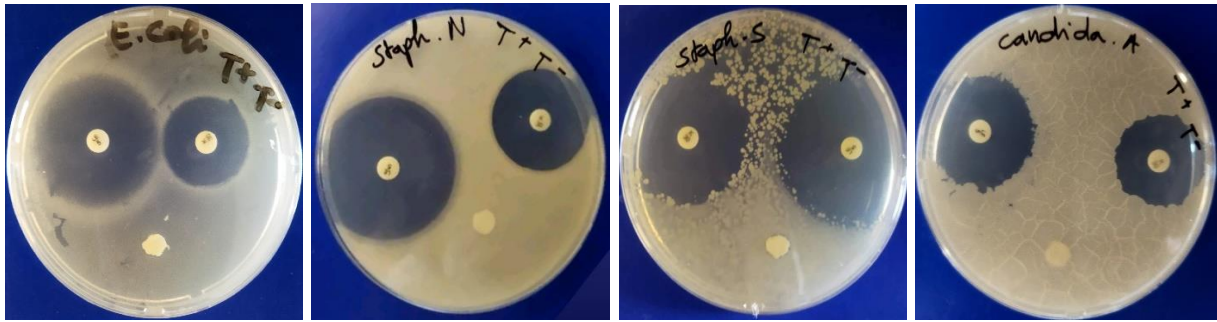
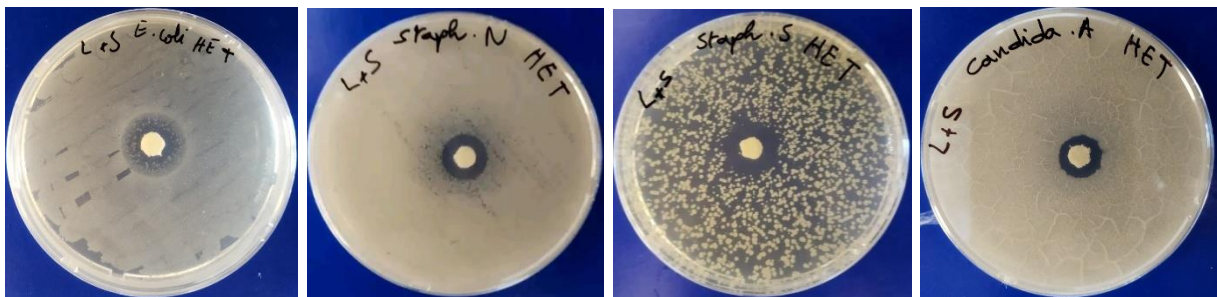


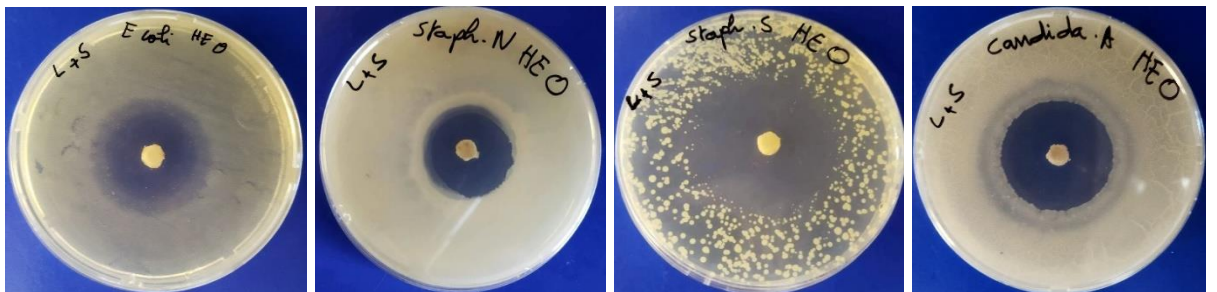
Figure 33 : Diamètres des zones d'inhibitions des souches microbiennes testées vis-à-vis les HE et les antibiotiques



Sensibilité des souches microbienne vis-à-vis les antibiotiques testés : Levoflaxine (LE) et Kanamycin (K) (témoin positive) et disque sec (témoin négative).



Zones d'inhibitions de l'huile essentielle de *T. willdenowii* sur les quatre souches testées.



Zones d'inhibitions de l'huile essentielle d'*O. floribundum* sur les quatre souches testées.

Figure 34 : Résultats de l'activité antimicrobienne

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que toutes les souches microbiennes étudiées (trois bactéries et une levure) sont sensibles vis-à-vis à l'HE de *T. willdenowii* avec une faible inhibition de croissance par un diamètre d'inhibition qui varie entre 9 et 14mm

contrairement à l'HE d'*O. floribundum* qui possède une forte activité antimicrobienne avec un diamètre d'inhibition qui est supérieur à 20mm pour toutes les souches.

En comparant l'effet des deux HE avec celui des deux antibiotiques (levofloxacin et kanamycine) par rapport aux diamètres d'inhibitions des souches microbiennes testées. Ces dernières sont extrêmement sensibles à l'effet des antibiotiques et de l'HE d'origan et sensibles à l'HE du thym. Donc nous pouvons dire que l'HE de l'*O. floribundum* possède le même effet que celui des antibiotiques.

Selon (Zeghib et al., 2019), l'HE de *T. willdenowii* a été testé sur des souches bactériennes parmi eux trois espèces d'*Escherichia coli* (*E. coli* entéroinvasive, *E. coli* enteroaggrégative et *E. coli* enteropathogène) dont lesquelles se présente un diamètre de zone d'inhibition qui varie entre 11 et 14 mm et ce dernier est en accord avec ce que nous avons obtenu dans *E. coli* avec un DZI de 14mm.

Concernant l'activité antimicrobienne de l'HE de l'*O. floribundum*, (Hazzit, 2008) montre que le DZI d'*E. coli* est de 23mm qui est inférieur à celui obtenu dans notre HE testée avec 32mm, par ailleurs le DZI de *staphylococcus aureus* est de 42mm qui est supérieur à celui obtenu dans notre résultats avec 39mm pour *staphylococcus aureus* sensible et avec 24mm pour *staphylococcus aureus*. Dans le cas de *Candida albicans* un diamètre de zone d'inhibition est marqué avec 31mm qui est proche à celui que nous avons obtenu (30mm).

Les deux huiles essentielles ont montré une activité inhibitrice sur l'ensemble des bactéries testées. Dans ce test, l'HE de l'*O. floribundum* est la plus active que celle de *T. willdenowii*.

La différence des résultats avec ceux rapportés dans la littérature est dû à la nature du matériel végétal (l'espèce, l'HE, saison de cueillette, origine géographique...) et à la nature des souches testées ...etc. (Guinard, 2000).

III.7. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des deux huiles essentielles a été évaluée à la moyenne du test DPPH, la mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm et à partir des résultats obtenus, les pourcentages d'inhibition ont été calculés. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (Figure 36), l'HE de l'*O. floribundum* (Figure 37) et de l'HE du *T. willdenowii* (Figure 38) :

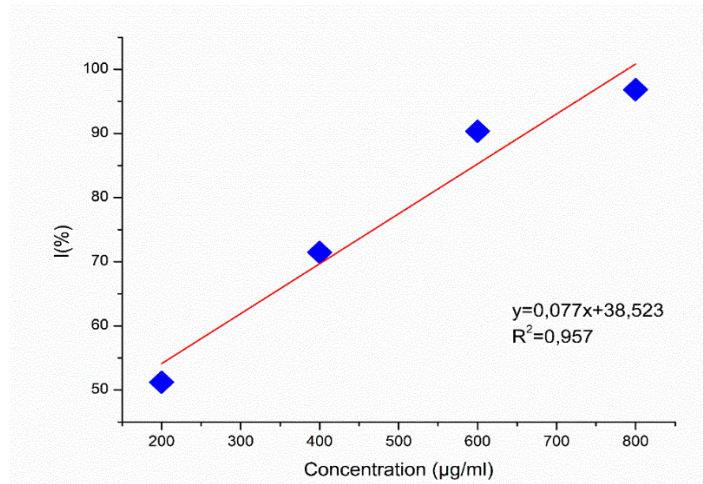


Figure 35 : Courbe d'étalonnage de l'Acide ascorbique

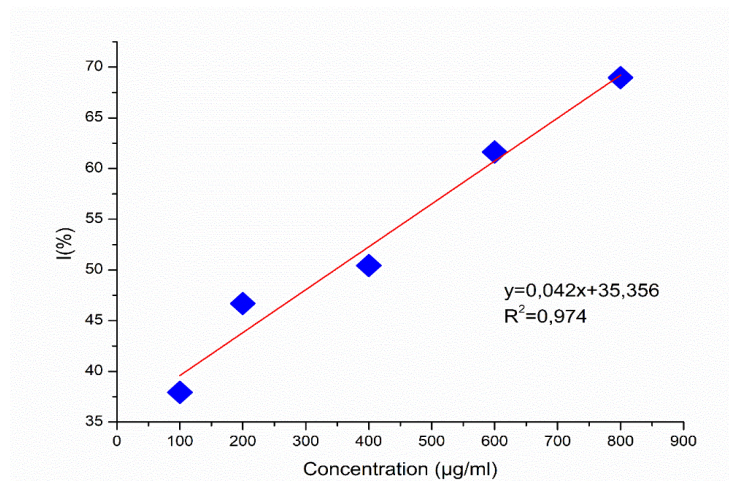


Figure 36 : Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *l'Origanum floribundum* évalué par DPPH

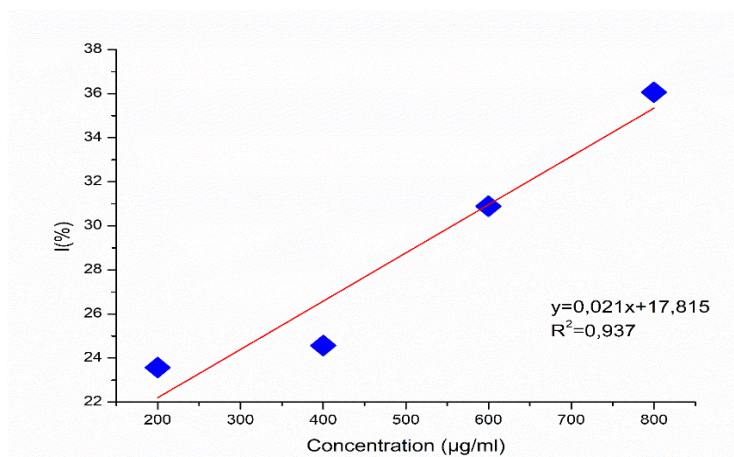


Figure 37 : Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus willdenowii* évalué par DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour les HE testées. Pour une concentration de 800 µg/ml, l'acide ascorbique a révélé un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 96%, tandis que pour les concentrations d'HE du *T.willdenowii* et de l'*O.floribundum* (800 µg/ml) les pourcentages d'inhibition obtenus sont respectivement 36% et 68%.

- **Concentration d'inhibition 50% (IC₅₀) :**

L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. Cette valeur est calculée à partir des courbes précédentes et présentées dans la figure suivante.

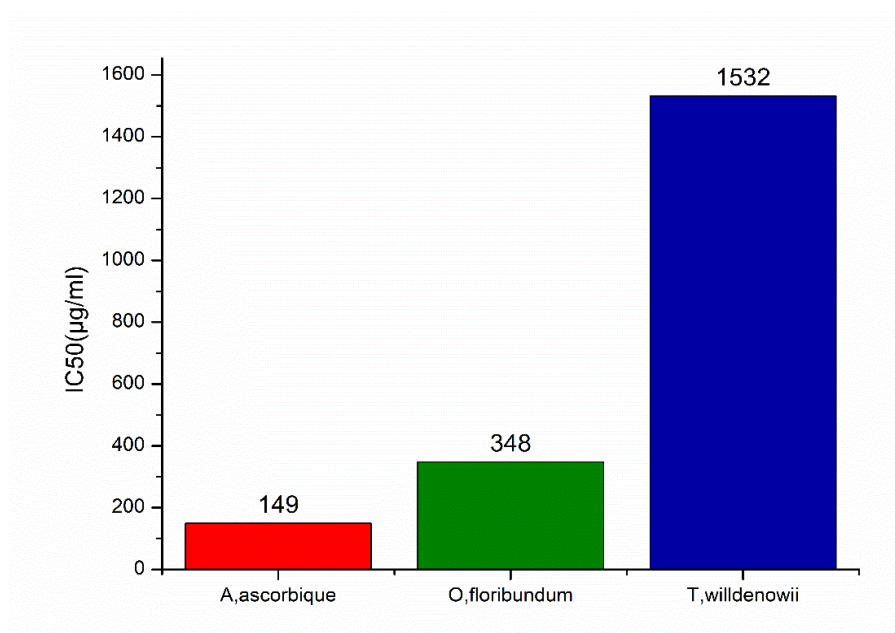


Figure 38 : IC₅₀ de l'A.ascorbique, *O.floribundum* et *T.willdenowii*.

D'après ces résultats, le pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique est supérieur à celui des deux essences étudiées. En revanche, parmi ces dernières l'HE de l'*O.floribundum* possède une activité antioxydante la plus élevée avec 50% de concentration d'inhibition de l'ordre de 348,452 µg/ml ; cette forte activité a été signalée par (Hazzit , 2008) avec deux échantillons de la même espèce de Hammam Melouane et Chrea qui ont atteint IC₅₀ de 521,1 et 477,3µg/ml respectivement, ainsi que (Kerbouche et al., 2015) ont prouvé cette activité par un échantillon provenant de Boussaâda avec un IC₅₀ égale à 250 µg/ml.

Concernant l'HE de *T. willdenowii*, l'IC₅₀ est de l'ordre de 1532,571 µg/ml ce qui témoigne d'une très faible activité antioxydante on comparant avec la même espèce provenant de Maroc qui possède IC₅₀ égale à 6,78 µg/ml (**Radi et al., 2021**) et à un autre espèce différent *T. algeriensis* qui présente un l'IC₅₀ de 745 µg/ml (**Amrati et al., 2011**).

D'après la littérature, il est rapporté que l'activité antioxydante dépend étroitement de la composition chimique de l'huile essentielle telle que les composés phénoliques (thymol et carvacrol) étaient souvent les plus actives dans la majorité des tests de l'activité antioxydante. (**Hazzit, 2008**) et donc c'est le cas de notre HE d'origan qui possède un fort pouvoir antioxydant grâce à sa richesse en thymol et carvacrol.

III.8. L'étude ethnobotanique :

Notre enquête ethnobotanique sur le thym et l'origan a été réalisée suite à la confection d'une fiche technique. Parmi les 68 personnes interrogées, majoritairement sont des femmes (84%), dont l'âge varie entre 22 et 60 ans avec des niveaux d'études différents (9% sont des analphabètes, 3% ont un niveau d'étude primaire, 4% un niveau secondaire et 83% universitaire).

➤ Le thym :

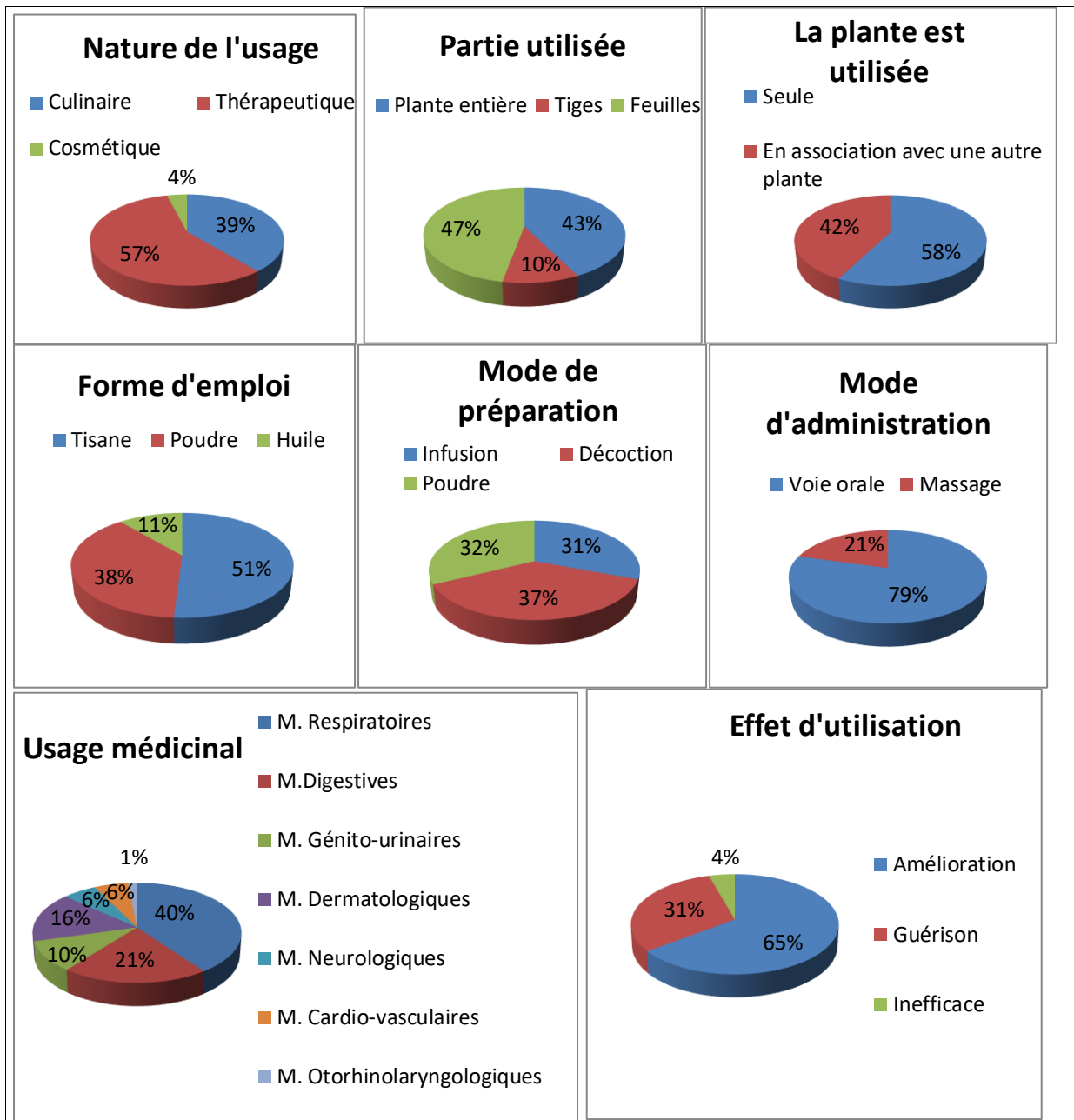


Figure 39 : Représentation graphique des résultats de l'enquête ethnobotanique de thym

➤ L'origan :

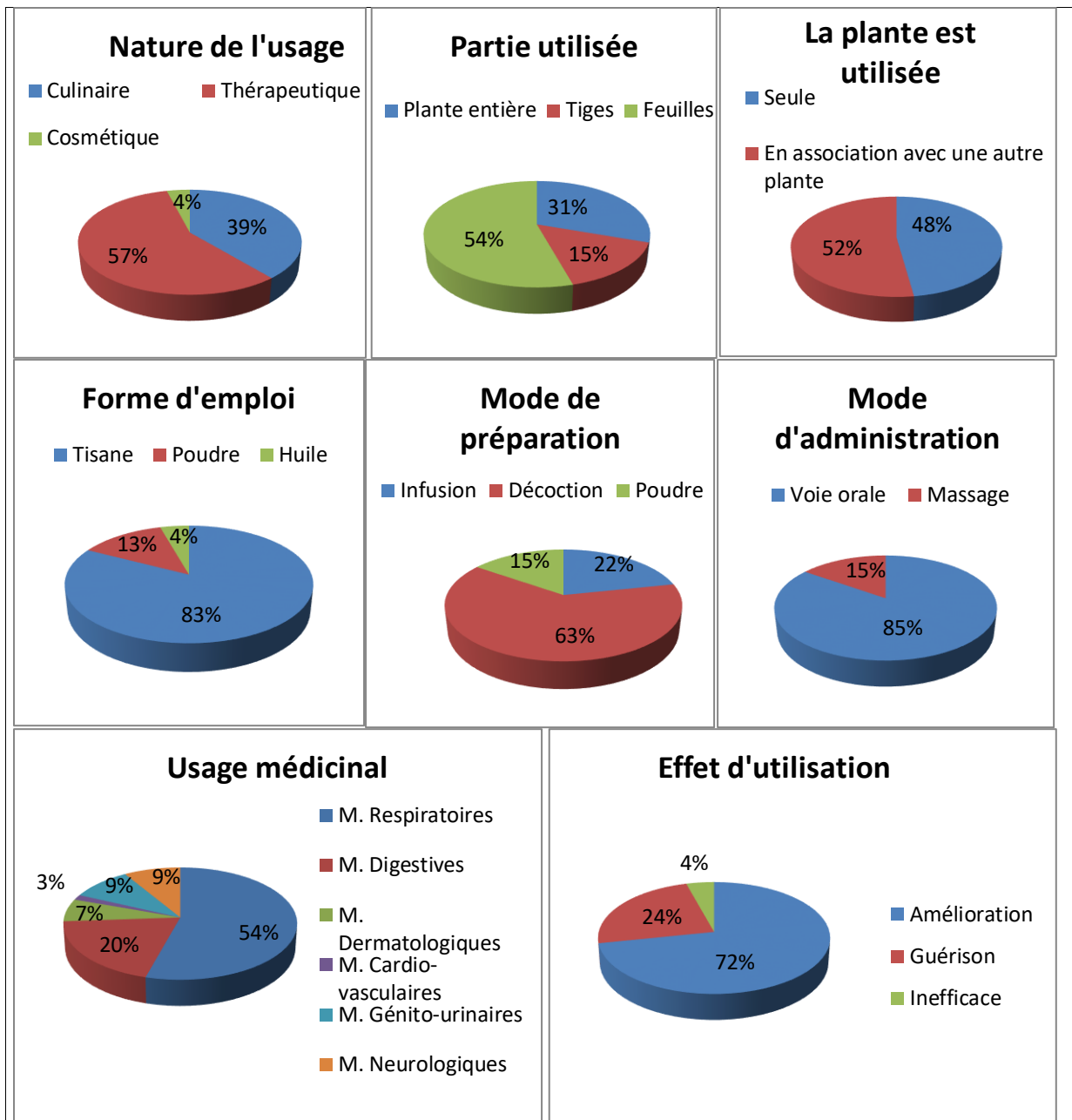


Figure 40 : Représentation graphique des résultats de l'enquête ethnobotanique de l'origan

D'après les résultats obtenus au cours de ce questionnaire, nous avons constaté que le thym est employé beaucoup plus en cuisine(62%) qu'en phytothérapie(31%) contrairement à l'origan qui est plus utilisé en phytothérapie(57%) qu'en cuisine(39%) et avec un faible pourcentage en cosmétique pour les deux plantes.

La plupart de la population étudiée utilise les deux plantes entières ainsi que leurs feuilles, ces plantes sont employées seules et en association avec une autre plante (menthe) et aussi avec l'huile d'olive et le miel.

En ce qui concerne la forme d'emploi et le mode de préparation elles sont préférablement utilisées comme tisanes par décoction mais pour le thym est aussi utilisé au tant que poudre (32%) comme épice.

A propos de mode d'administration se fait majoritairement par voie orale et en minorité par massage qui se fait par les HE des deux plantes et aussi par un mélange de leurs poudres avec l'huile d'olive.

Le thym et l'origan sont très proches par rapport à l'usage médicinal, ces herbes sont utilisées principalement pour le traitement des maladies respiratoires avec 40% pour le thym et 54% pour l'origan (tel que le COVID-19 et la bronchite). Ainsi qu'elles sont employées dans les maladies de tube digestive avec 20 à 21%(problèmes d'estomac, diarrhée) et dans les soins dermatologiques, cardio-vasculaires, neurologiques (relaxons), génito-urinaires (contractions menstruelles) et oto-rhino-laryngologiques avec des faibles proportions.

Quel que soit la maladie soignée cette enquête ethnobotanique a révélé l'efficacité du traitement de ces deux plantes par des effets améliorants (avec un pourcentage plus élevé), et même que de guérison. Par ailleurs certains usagers ont indiqué des effets secondaires suite à l'utilisation de l'origan dont lequel si il est sur dose il provoque des réactions allergiques, des complications pour les femmes enceintes et des troubles thyroïdiennes.

Et donc ces résultats confirment la capacité d'utilisation de thym et d'origan comme un remède contre plusieurs maladies.

Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales possèdent des vertus thérapeutiques et restent toujours la source fiable des principes actifs, dont lesquelles les huiles essentielles sont les plus importants en raison de leurs diverses applications.

Les résultats obtenus montrent que le *T.willdenowii* et *O.floribundum* possèdent un taux d'humidité qui est de l'ordre de 30% et 23%. Le screening phytochimique réalisé sur le broyat des plantes ont prouvé leur richesse en substances bioactives telles que les tanins galliques, les alcaloïdes, les oses, les holosides, les coumarines, les composés réducteurs, les stérols et les triterpènes et une absence de tanins catéchiques, de saponines et de quinones.

Le rendement d'extraction des huiles essentielles des deux espèces obtenu par hydrodistillation est de 0,68% et 1,23% respectivement.

Dans les caractéristiques organoleptiques, les HE ont une odeur fortement aromatisée, un aspect liquide, limpide et une couleur jaune pâle pour le thym est jaune foncée pour l'origan.

Les propriétés physico-chimiques ont montré un pH égale à 5 pour les deux plantes ; un indice de réfraction de 1,46 pour le thym et de 1,49 pour l'origan ; une densité de l'ordre de 0,88 et 0,99 et un indice d'acidité de 2,9 et 5,57.

La chromatographie sur couche mince des huiles essentielles des deux plantes a permis de révéler plusieurs tâches dont les plus importantes sont ceux qui ont un R_f de 0,57 et de 0,69 qui correspondent au thymol et au carvacrol.

Les résultats de CG-SM nous a permis d'identifier la composition chimique des HE des deux plantes. L'HE du *T.willdenowii* comporte 31 composés dont les molécules majoritaires représentées par les pics du chromatogramme sont le linalool, le thymol, le Caryophyllene et le linalylacetate et pour l'HE de l'*O.floribundum* contient 27 composés dans les principaux sont thymol, γ -terpinene, p-cymen et carvacrol.

L'activité antimicrobienne des HE étudiées montre que toutes les microorganismes testés *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* sensible et *Candida albicans* sont extrêmement sensibles vis-à-vis à l'HE de l'origan et sensibles pour celui du thym.

Le pouvoir antioxydant de nos HE a révélé que l'*O.floribundum* une importante activité antioxydante et une faible pour celui du *T.willdenowii* avec un pourcentages d'inhibition de l'ordre de 36% et 68% pour une concentration de 800 $\mu\text{g/ml}$ et un IC_{50} de 348,45 $\mu\text{g/ml}$ et 1532,57 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

En perspectives, notre travail doit être complété par d'autres études touchant l'aspect pratiques des molécules actives des deux plantes :

- Purification et caractérisation des composés actifs par des méthodes plus spécifiques tels que HPLC-DAD, GC-FID et RMN.
- Extraire d'autres molécules à activité thérapeutique telles que les polyphénols et les alcaloïdes.
- Faire une étude visant l'effet de variation de la région et de la période de la récolte des plantes, ainsi que divers méthodes d'extraction sur les huiles essentielles de ces plantes.
- Etude des activités antiseptiques, anti-inflammatoires, insecticides et antimicrobiennes plus poussée avec d'autres souches.
- Applications thérapeutiques au tant que agents antibiotiques et antioxydants et en industrie cosmétique et agroalimentaire.

Références bibliographiques

- Abdelli W. (2017).**Caractérisation Chimique et Etude De Quelques Activités Biologiques Des Huiles Essentielles De *Juniperus Phoenica* Et De *Thymus Vulgaris*. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badais-Mostaganème.
- Abi-Ayad F.Z. (2009).** Analyse de l'huile essentielle du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) de la région de Tlemcen et de son activité antimicrobienne. Mémoire de magister. Université Abou-Bakr Belkaïd. Tlemcen, Algérie.p104.
- Aboun A., Ammari H., Belazouz T., Benslimani A., Rahal K. et Tali M.H. (2008).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale. Selon les recommandations de l'OMS. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. 4ème Ed. Algérie.p98.
- AFNOR NF ISO280 (T75-112). (1999).**Huiles essentielles. Détermination de l'indice de réfraction (homologue le 5 septembre 1994). Journal officiel du 23 février199.Num. 147 : Avis relatifs à l'homologation et à l'annulation de normes. NOR : ECOI9910009V.
- AFNOR, NF ISO 279, (T 75-111). (1999).** Essential oils determination of relative density at 20 degree C. References methodes.
- AFNOR. (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2 Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, 661-663p.
- AFNOR. Norme NF ISO 1242. (1999).** Huiles essentielles- Détermination de l'indice d'acide.
- AFSSAPS. (2008).** Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L et al. (2011).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc, Acta Botanica Gallica, 158(4) : 513-523.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Kherbi S. (2010).** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum I*. Lebanese Science Journal. 11 (1) :69-81.
- Baser K.H.C., Kurkçuoğlu M., Haumani Z and Abed L., (2002).** Composition of the essential oil of *origanum floribundum Munby* from Algeria. Journal Of Essential Oil Research, 12 : 753-756.
- Bassereau M., Chaintreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijts H., Loesing G., Owen N., Sherlock A., Schippa C., Thorel P.J., Vey M. (2007).** GC-MS Quantification of suspected

volatile allergens in fragrances. 2. Data treatment strategies and method performances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(1) : 25-31.

Beloued A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie.

Benlamdini N., Elhafia M., Rochdi A et Zidane L. (2014). Etude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du haut Atlas oriental (Haute Moulouya. *Journal of Applied Bioscience* 78 :6771-6787.

Bouhekrit M. (2018). Étude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux *Apiaceae elaeoselinum asclepium (L.) Bertol. Et Margotia gummifera (Desf.) Lange*. Thèse de doctorat en Sciences. Université Ferhat ABBAS - Sétif 1.

Boukhatem M.N., Hamdani M.S., Saidi F et Hakim 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). Article de L'Unité de recherche en biotechnologies Végétales, Département de Biologie Université Saad Dahleb de Blida. Algérie. vol 03 : 37-45.

Boukhatem M.N., Kameli A., Ferhat M.A., Saidi F., Tayebi H et Teffahi D. (2014). Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris L.*) en aromathérapie anti-infectieuse. [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(4) :1418.

Boulaghmen Faiza. (2012). Extraction des huiles essentielles d'origan. Mémoire de magister. Université Saad Dahlab Blida, Algérie. 10-81p.

Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., Gasastri L., Marceca M.X. & Guffanti F.F. (2006). Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems ». *Pharmacology*, 76(2), 61-68. In Boulaghmen, Faiza. (2012). Extraction des huiles essentielles d'origan. Mémoire de magister. Université Saad Dahlab Blida, Algérie. p21-22.

Brigitte S., Fotsch U.C. et Waker S. (2008). « Connaissance des herbes », EGK, Caisse de santé, Newsletter Lausanne. p4.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2 éditions, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris. In Sadji, F. Extraction des essences du thymus numedicus kabyllia. 2007. Thèse de doctorat. Université de Boumerdes-M'hamed Bougara. p15-16.

- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème Ed. Technique et Documentation Lavoisier et éditions médicales internationales. Paris, France, p :101-1292.
- Burits M & Bucar F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*. 14 : 323-328.
- Caude M et Jardy A. (1996).** Méthodes chromatographiques. Base documentaire : Techniques d'analyse. Références : P1445.
- Chemat F., Tomao V & Viot M. (2008).** Ultrasound-assisted extraction in food analysis. *Handbook of food analysis instruments*. p : 85-103.
- Cherrat L. (2013).** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Mémoire de doctorat .Université d'Abdelmalek essaadi, p 194.
- Chikhoun A. (2007).** Huiles essentielles de thym et d'origan étude de composition, de l'activité antioxydant antimicrobienne. Mémoire de magister. Institut national agronomique, El Harrach- Alger.p31.
- Cohen M. (2002).** Stress oxydant, glycation protéique, vieillissement et maladies liées à l'âge. *La phytothérapie Européenne* vol 6 :18-26 in Boulaghmen Faiza. (2012). Extraction des huiles essentielles d'origan. Mémoire de magister. Université Saad Dahlab Blida, Algérie.p21.
- Constantine. (1996).**Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec et Doc, Paris. p : 1-14 in **Sari, M. (2011).** Etude biologique et phytochimique de l'origan (*Origanum vulgare L. ssp glandulosum Desf.* Lestwaart) espèce endémique d'Algérie-tunisie. Thèse de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas, Setif.p22.
- Couic-Marinier et Lobstein A. (2013).**Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques* ; 52(525) : 18-25p.
- Cuended M., Hostettmann K., and Potterat O. (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *fagraea blumei*. *Helvetica chimica acta*. 80 : 1144-1152.
- Daoudi-Merbah F., Hazzit M et Dahmani- Mergrerouche M. (2016).** Influence of morphological variability and habitat on the chemical composition of essential oils of an Algerian endemic *Origanum* Species (*Origanum floribundum Munby*). *Chemistry & Biodiversity*, 13(3) : 1088-1094.
- De Clif S et Harerimana P. C. (2013).** Extraction des huiles essentielles compété des fleurs de gananga odorata de la plaine de l'imbo : vers la vulgarisation d'une nouvelle filière de

plante industrielle au burundi. Revue de l'université de burundi, série science exacte vol 28 : 1-17.

Dimitrijevic S.I., Mihajlovski K.R., Antonovi D .G., Milanovicstevanovic M.R & Mijin D.Z. (2007). A study of the synergistic antilisterial effects of a sub – lethal dose of lactic acid and essential oils from *thymus vulgaris L.*, *Rosmarinus officinalis L.* and *Origanum vulgare L* – Food chemistry ; vol 104 :774-782.

Dohou R., Yamni K., Tahrouch A S et al. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*. Bullztin-Société de Pharmacie de Bordeaux, vol 142 : 61-78.

Edris A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents : à review. Phytotherapy Research : An International Journal Devoted to Pharmalogical and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2(4), 308-323.

El Idrissi M et Idrissi E.L. (2014). Caractérisation Chimique de Certaines Espèces de Thym Marocain Du Moyen Atlas (Région de Khenifra). Sci. Lib, 6 : 140906.

Elbidi A. (2016). Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artemisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire Master professionnel Université Ziane Achoue de Djelfa.

Evans W.C., Evans D., et Trease G.E. (2009). Treas and Evans Pharmacognosy Edinburgh ; New York : Saunders /Elseivedr in Hassani Rania Asma, (2021) Screening phytochimique et activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *l'Artemisia Herba Alba*.Mémoire de master, Université Mohamed Bougara Boumerdes.p19.

Gavrilovic M., Maginot M.J., Schartz- Gavrilovic C et Wallach J. (1996). Manipulations d'analyses biochimiques. Ed. Doin. Paris.

Goudjil M.B. (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouragla.p173.

Grigore A., Paraschiv I.N.A., Colceru-Mihul S., Bubueanu C., Draghici E et Ichim M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris L.* volatile oil obtained by two different methods. Romanian Biotechnological Letters, 15(14) : 5436-5443.

Guinard J.L. (2008). Biochimie végétal.Edition Masson, Paris, (2000) ,254p. In Hazzit Mohamed. Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de Doctorat université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger.p157.

- Hagerman AE., Muller-Harvey I et Makkar H.P.S. (2000).** Quantification of tanins in tree foliage.FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture.Vienna.p26.
- Han X., Shen T., and Lou H. (2007).** Dietary polyphénols and their biological significance international. Molecule. Science, 8(9) : 950-988.
- Hazzit, M. (2008).** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de Doctorat université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger.p29-157.
- Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. p78.
- Hemwimon S., Pavasant P et Shotipruk A. (2007).** Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Separation and Purification Technology, 54 (1) : 44-50.
- Hennebelle T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Th7se de Doctorat. Université des sciences et technologies de Lille 1, Lille, pp 304.
- Hussain A.I. (2009).** Characterization and biological activites of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse du doctorat. Université of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.p66.
- Ibn Al- Qayyim. (2010).** La médecine prophétique. Edition Tabah, 2ème édition.p290.
- Kabouche A., Kabouche Z., et Bruneau C. (2005).** Analysis of essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. Flavour and Fragrance Journal, 20 :235-236.
- Kerbouche I., Hazzit M., Ferhat M.A., Baaliouamer A., & Miguel M.G. (2015)** Biological Activities of Essential Oils and Ethanol Extracts of *Teucrium polium subsp. Capitatum* (L.) Briq. And *Origanum floribundum* Munby, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(5) :1197-1208.
- Kerbouche L., Hazzit M., Baaliouamer A., & Akretche S. (2021).** Distillation time effecting on the composition of *Origanum floribundum* essential oils and their antioxidant and antimicrobial activities. Zeitschrift für Naturforschung C, 76(3-4), 153-160.
- Kpoviessi D.S.S., Accrombessi G.C., Kossouh C., Soumanou M.M et Moudachirou M. (2004).** Propriétés physico-chimiques et composition de l'huile non conventionnelle de poughère (*Jatropha curcas*) de différentes régions du Bénin. Comptes Rendus Chimie, 7 : 1007-1012.

- Ksouri S., Djebir S., Bentorki A. A., Gouri A., Hadeif Y & Benakhla A. (2017).** Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. Against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. Journal de mycologie médicale, 27(2) : 245-249.
- Laïb I., Kehal F., Aris M et al. (2021).** Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur les composés phénoliques et l'activité antioxydante du thé vert *Camelia sinensis* L. issu de l'agriculture biologique. Nutrition Clinique et Métabolisme, 35(3) :212-221.
- Lecanu F. (2011).** Encyclopédie essentielle des plantes médicinales. In Texte Edition Toulous.p225.
- Longevialle P. (1981).** Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris.p222 in Sari M. (2011). Etude biologique et phytochimique de l'origan (*Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* Desf. Lestwaart) espèce endémique d'Algérie-tunisie. Thèse de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas, Setif.p22.
- Lucchesi M.E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la Réunion. Saint-Denis, France.p16-17.
- Lucienne A.D. (2010).** Les Plantes Médicinales D'Algérie.2^{ème} Ed.p11.
- Luque de Gastro M.D et Priego-Capote F. (2007).** Ultrason assistance to liquid-liquid extraction : à debatable analytical tool. Analytica Chimica Acta, 583(1) : p2-9.
- Mamadou Baliaga. (2012).** Etude entobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali .Thèse de doctorat. Université de Bamako.
- Miara M.d., Ait Hammou M., Hadjadj Aoul S. (2013).** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret, 11, 206-218 :p210.
- Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H et Neffati M. (2010).** Antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia herba-alba* essenial oil cultivated in Tunisian arid zone. Comptes Rendus Chimie, 13(3) : p380-386.
- Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen .Thèse de magistère en biologie option produits naturels, activités biologiques et synthèse. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, p155.
- Moon J. K. and Shibamoto T. (2009).** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. Journal of Agricultural Food Chemistry. 57: p1655–1666.

- Mouas Y., Bouamra A., Boussad F., Benrebiha F.Z et Chaoula C. (2021).** Effet aphicides de l'extrait méthanolique d'*Origanum floribundum* Munby (Lamiaceae) vis-à-vis du puceron des céréales sitobion avenane. (Fabricius, 1794)(Insecta : Aphididae). 11(02) : p 2706-2714.
- Moussaoui M. (2010).** Huiles et Plantes Médicinales, édition SABIL 2^{ème} édition.p110.
- N'Guessan Koffi et al. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Cote-d'Ivoire). Science & Nature, vol. 6 :1.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M and Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2 : 63-79.
- Pensel P.E., Maggiore M.A., Gende L.B., Eguaras M.J., Denegri M.G & Elissondo M.C. (2014).** Efficace of Essential Oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases.
- Petigny L., Périno-Issartier S., Wajsman J et Chemat F. (2013).** Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (*Peumus boldus* Mol.). International Journal of Molecular Sciences, 14(3) : 5750-5764.
- Pokorny J., Ynishlieva N and Gordon M. H. (2001).** Antioxydant in food : practical applications. CRC press. 388P in Boulaghmen Faiza., (2012). Extraction des huiles essentielles d'origan. Mémoire de magister. Université Saad Dahlab Blida, Algérie.p21.
- Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C et Roura S.I. (2003).** Antimicrobial of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 36(7) : 679-684.
- Quezel P et Santa S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertique meridionale, Tome II, Paris : Editions du Centre Nationale de la Recherche Scientifique.
- Radi F.z., Bouhrim M., Mechchate H., Al-zahrani M., Qurtam A.A., Aleissa A.M., Drioiche A., Handaq N., Zair T. (2022).** Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxydant Properties of *Thymus zygis* L. and *Thymus wilddenowii* Boiss. Essential Oils. Plants :11, 15.
- Ritchard H., Benjilali B., Bauquour N., Baritoux O., (1985).** Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. Lebensm-Wiss U-technol. In Chikhoune, A. (2007). Huiles essentielles de thym et d'origonn étude de composition, de l'activité antioxydant antimicrobienne. Mémoire de magister.Institut national agronomique, El Harrach- Alger.p25.
- Saidj F. (2007).** Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus kabylica*. Mémoire de magister. Université M'hamed Bouguara, Boumerdes. p13-16.

- Sanchez- Moreno et al. (1998).** Main methods used in lipid oxydation determination Food scie and techn intern, v.4 :p. 391-399.
- Sari M. (2011).** Etude biologique et phytochimique de l'origan (*Origanum vulgare L. ssp glandulosum Desf.* Lestwaart) espèce endémique d'Algérie-tunisie. Thèse de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas, Setif.
- Schauenberg P et Paris F. (2010).** Guide des plantes médicinales, Edition Delachaux et Niestlé, Paris. p15-16.
- Simpson M.G. (2006).** Plant systematic. Edition Elsevier. Academic press, California.590. In Boulaghmen Faiza.2012. Extraction des huiles essentielles de l'origan. Thèse de doctorat. Université Saad Dahlab Blida, Algérie.p12.
- Smadja J. (2009).** Les huiles essentielles. Colloque GP3A – Tananarive 2-3 juillet 2009. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de La Réunion. La Réunion, France.p50.
- 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 le bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : bruchidae). Thèse de Doctorat en sciences biologiques. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
- Toure D. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire. Thèse de doctorat. Université Félix Houphouët-Boigny.Cote d'Ivoire.p11.
- Trease G.E., Evans W.C. (1978).** Pharmacology 11th Ed. Bailliere Tindall Ltd, London. P 60-75.
- Wagner H., & Blatt S. (1996).** Plant drug analysis : à thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media.
- Willem J.P. (2004).** Les huiles essentielles, médecine d'avenir ». Edition Dauphin, Paris.p318.
- Yahyaoui. (2005).** Extraction, analyse de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata L* sur *Rhyzoperth dominica (F.)* (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum (Duv.)* (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.
- Yakhlef G. (2010).** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L.* et *Laurus nobilis L.* Mémoire de magister. Université de Batna, Algérie.p110.

Zeghib A., Calliste C.A., Simon A., Charfeddine R., Aouni M., Duroux J L., Kabouche A & Kabouche Z. (2019). Chemical composition and biological potential of *Thymus Willdenowii Boiss. & Reut.* Essential oil, Natural Product Research 35 (5) :485-848.

Sitographie :

Anonyme 1 : <https://florafgibraltar.myspecies.info/content/thymus-willdenowii-boiss>

Anonyme 2 : <https://www.quelleestcetteplante.fr/genres>.

Anonyme 3 : <https://www.tela-botanica.org/isfan-nn-145452-enthobotanique>

Anonyme 4 : <https://www.creapharma.ch/origan.htm>

Anonyme 5 : <https://www.chimix.com>

Anonyme 6 : <https://danielefesty.com/2011/03/quel-est-le-ph-dune-huile-essentielle/>

Anonyme 7 : <https://booksofdante.wordpress.com/2013/02/20/ph-et-resistivite-deux-facteurs-cles-des-huiles-essentielles>

Annexes

Annexe I : Matériels non biologiques

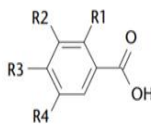
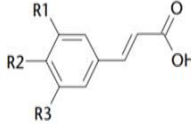
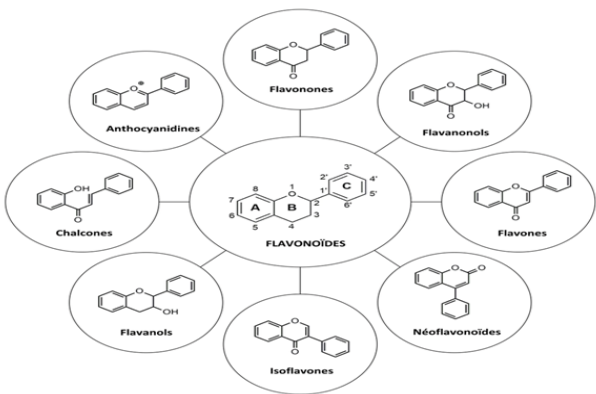
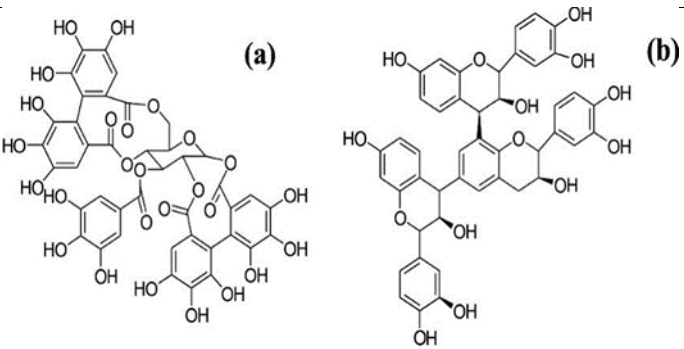
Tableau 1 : Matériel, équipements et solvant utilisés

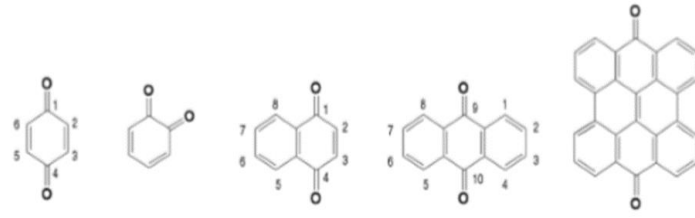
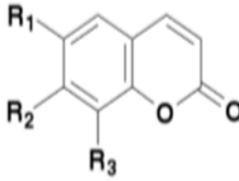
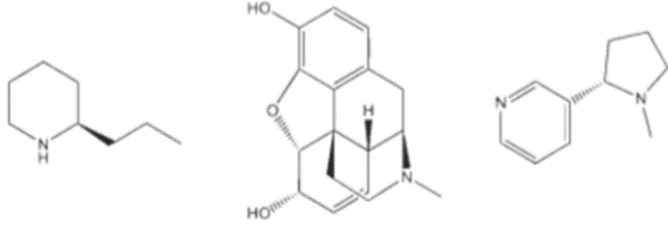
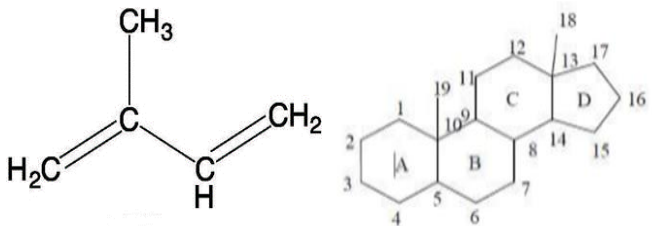
Matériels (liste de verrerie)	Equipements	Solvants et Réactifs
-Tubes à essai	-Montage de	-Eau distillé
-Béchers	l'hydrodistillation	-Ethanol C ₂ H ₆ O
-Pipette pasteur	-Bain-marie	-Méthanol CH ₃ OH
-Burette graduée	-Etuve	-Chloroforme CHCl ₃
-Eprouvette graduées	-Autoclave	-Acide sulfurique H ₂ SO ₄
-Boîtes de pétrie	-Balance analytique et de	-Acide acétique C ₂ H ₄ O ₂
-Verre de montre	précision	-Acide chlorhydrique HCl
-Spatule	-Spectrophotomètre	-Hydroxyde de sodium
-Papier filtre	-Agitateur magnétique	NaOH
-Anse de platine	-Bec benzen	-Ammoniaque NH ₄ OH
-Pipette pasteur	-Chambre noir UV	-Gélose nutritive
-Pince stérile	-Plaque chauffantes	-Milieu Muller Hinton
- Entonnoir	-Vortex	-Toluène C ₇ H ₈
-Micropipette	-Réfrigérateur	-Acétate d'éthyle C ₄ H ₈ O ₂
-Erlen Mayer	-Bain marie	-Vanilline sulfurique
-Cuve en plastique	-Hotte	C ₈ H ₈ O ₆ S
-Fiole	-Réfractomètre	-DPPH
-Barreaux magnétique	- Broyeur électrique	-Hexane C ₆ H ₁₄
	- Appareil de CPG/SM	

Annexe II : Métabolites secondaires :

Elles sont réparties en trois grandes familles chimiques : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (**Badiaga, 2011**). Ils sont des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes. Ils se trouvent dans toutes leurs parties mais sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Merghem, 2009**).

Tableau : les métabolites secondaire et leurs structures

Métabolites secondaire		Structure
Les composés phénoliques	Acides phénolique (Laguerre et al. 2007).	<p>Acides hydroxybenzoïques</p>  <p>R1=R2=R3=R4=H Acide benzoïque (non phénolique) R1=R4=H, R2=R3=OH Acide protocatéchique R1=H, R2=R3=R4=OH Acide gallique R1=OH, R2=R3=R4=H Acide salicylique R1=R4=OH, R2=R3=H Acide gentisique</p> <p>Acides hydroxycinnamiques</p>  <p>R1=R2=R3=H Acide cinnamique (non phénolique) R1=R3=H, R2=OH Acide p-coumarique R1=R2=OH, R3=H Acide caféique R1=OCH₃, R2=OH, R3=H Acide férulique R1=R3=OCH₃, R2=OH Acide sinapique</p>
	Flavonoïdes (Rousserie, 2019)	
	Tanins (Bayrat, 2019)	

	<p>Quignons (Bruneton, 2009)</p>	 <p>p-quinone o-quinone naphthoquinone anthraquinone naphthodianthrone</p>																								
	<p>Coumarins (Bruneton, 2009)</p>	 <table border="1" data-bbox="1037 510 1380 761"> <thead> <tr> <th>Composés</th> <th>R1</th> <th>R2</th> <th>R3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ombelliférone</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Hemiarine</td> <td>H</td> <td>OCH₃</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Esculétol</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Scopolétol</td> <td>OCH₃</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>Fraxétol</td> <td>OCH₃</td> <td>OH</td> <td>OH</td> </tr> </tbody> </table>	Composés	R1	R2	R3	Ombelliférone	H	OH	H	Hemiarine	H	OCH ₃	H	Esculétol	OH	OH	H	Scopolétol	OCH ₃	OH	H	Fraxétol	OCH ₃	OH	OH
Composés	R1	R2	R3																							
Ombelliférone	H	OH	H																							
Hemiarine	H	OCH ₃	H																							
Esculétol	OH	OH	H																							
Scopolétol	OCH ₃	OH	H																							
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH																							
<p>Alcaloïdes (Bergeron, 2014)</p>		 <p>Coniline (1) Morphine (2) Nicotine (3)</p>																								
<p>Les terpenoïdes et stéroïdes</p>		 <p>(Almarie,2020) (Ling et Jones., 1995)</p>																								

Annexe III : La description des souches utilisées :

- **Escherichia Coli** : est une bactérie qu'on retrouve naturellement au sein de la flore intestinale, Toutefois, il existe plusieurs souches différentes d'E. Coli et si certaines sont sans danger et nécessaires au bon fonctionnement du microbiote intestinal, d'autres moins nombreuses, sont plus nocives. Ainsi, plusieurs types d'Escherichia coli sont susceptibles de provoquer des infections (notamment intestinales) de gravité variable.

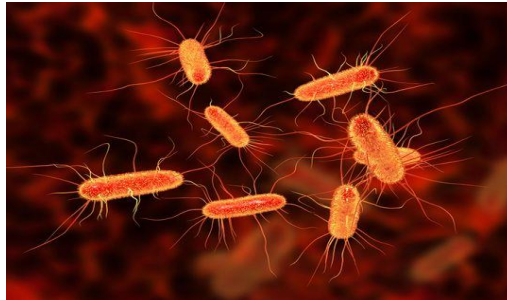


Figure : *Escherichia Coli*

- **Staphylococcus aureus** : est une bactérie très fréquente à l'état commensal et pathogène. En effet, elle colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Elle est également présente au niveau des fosses nasales et des mains. Mais elle peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées et de certaines infections ORL. En milieu hospitalier, elle est impliquée dans les infections nosocomiales et responsables d'intoxications alimentaires.



Figure : *Staphylococcus aureus*

- **Candida albicans** : est un champignon habituellement présent dans la flore des muqueuses. Il n'est pas pathogène et participe à l'équilibre de notre microbiote. Toutefois, une prolifération anarchique de cette levure est pathologique : on l'appelle la candidose.



Figure : *Candidas albicans*

Annexe IV : L'activité antioxydante des HE de *T.willdenowii*, *O.floribundum* et de l'A.ascorbique.

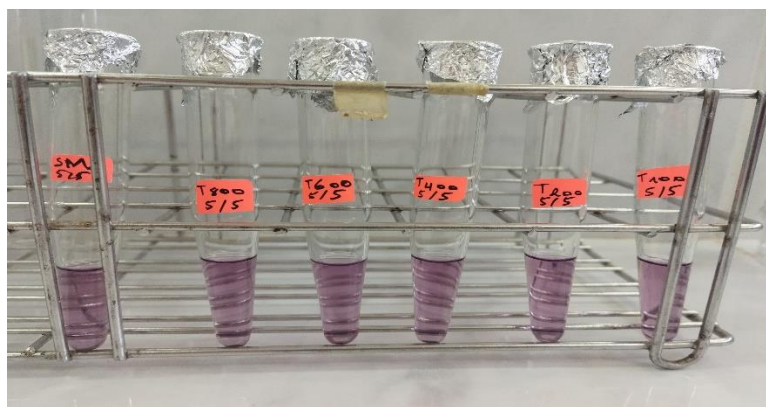


Figure : L'activité antioxydante de l'HE de *T.willdenowii* après incubation 30min



Figure : L'activité antioxydante de l'HE de l'*O.floribundum* après incubation 30min

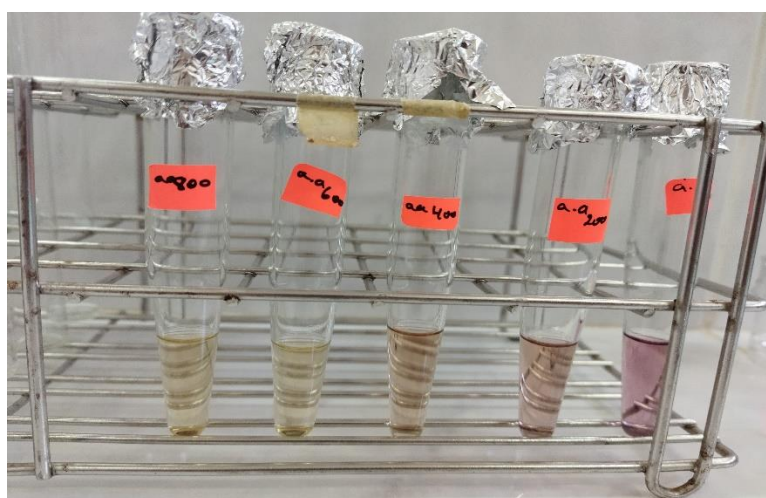


Figure : L'activité antioxydant de l A. ascorbique après incubation 30min



**Annexe V : Fiche d'enquête
ethnobotanique
La plante de l'origan (Zaâter)**



Profil d'informateur :

Wilaya :

Région :

Age :

Sexe : Féminin Masculin

Niveau académique : Néant Primaire Secondaire

Lycéenne Universitaire

Usage de la plante :

Nature d'usage : Thérapeutique Cosmétique Culinaire

Partie utilisée : Tige Fleurs Racine

Feuilles Plante tout entière

La plante est utilisée : Seule En association possible avec une autre plante

Forme d'emploi : Tisane Poudre Huiles Extrait

Mode de préparation : Infusion Décoction Macération Poudre

Mode d'administration : Oral Massage Autres

Affection traitée :

M. Dermatologiques M. Respiratoires M. digestives

M. Cardio-vasculaires M. Neurologiques M. Ostéo-articulaire

M. Génito-urinaires Autres

Résultat d'utilisation : Guérison Amélioration Inefficace

Effets secondaires engendrés :

Toxicité :



**Annexe V : Fiche d'enquête
ethnobotanique
La plante du thym (Zaaitra)**



Profil d'informateur :

Wilaya :

Région :

Age :

Sexe : Féminin Masculin

Niveau académique : Néant Primaire Secondaire

Lycéenne Universitaire

Usage de la plante :

Nature d'usage : Thérapeutique Cosmétique Culinaire

Partie utilisée : Tige Fleurs Racine

Feuilles Plante tout entière

La plante est utilisée : Seule En association possible avec une autre plante

Forme d'emploi : Tisane Poudre Huiles Extrait

Mode de préparation : Infusion Décoction Macération Poudre

Mode d'administration : Oral Massage Autres

Affection traitée :

M. Dermatologiques M. Respiratoires M. digestives

M. Cardio-vasculaires M. Neurologiques M. Ostéo-articulaire

M. Génito-urinaires Autres

Résultat d'utilisation : Guérison Amélioration Inefficace

Effets secondaires engendrés :

Toxicité :

Résumé

L'objectif de ce travail est la valorisation des huiles essentielles des deux plantes médicinales, aromatiques et endémiques algériennes appartenant à la famille des lamiacées : *Thymus willdenowii* provenant de Blida et l'*Origanum floribundum* de la région Tizi Ouzou. D'après les résultats obtenus, le screening phytochimique a prouvé que ces deux plantes sont riches en métabolites secondaires notamment les tanins galliques, alcaloïdes, oses, holosides, coumarines, composés réducteurs, des stérols et triterpènes. L'extraction des huiles essentielles du *thymus* et de l'*origanum* a été réalisée par hydrodistillation, le rendement obtenu est de l'ordre de 0,68% et 1,23%, les caractéristiques physico-chimiques des deux plantes (indice de réfraction, la densité, indice d'acidité et mesure de pH) sont conformes aux normes, l'analyse de la CCM a révélé plusieurs tâches dont deux sont significatives correspondent au thymol pour le thym et de thymol et carvacrol pour l'origan d'après les valeurs des Rf. L'analyse par GC-SM a détecté la prédominance du thymol pour l'HE de l'origan et du linalool pour l'HE de thym. Concernant, l'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'aromatogramme, les quatre microorganismes testés (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* sensible, *Candida albicans*) sont sensibles et extrêmement sensibles vis-à-vis à l'HE du *thymus* et d'*origanum* respectivement, l'activité antioxydante par le test du DPPH a montré que les huiles essentielles du *T.willdenowii* et *O.floribundum* ont une IC₅₀ de l'ordre de 1532,57 µg/ml et 348,45 µg/ml

Enfin, l'étude ethnobotanique a décrit les différentes utilisations des deux plantes, principalement en usage thérapeutique avec un pourcentage élevé en maladies respiratoires ainsi que en usage culinaire.

Mots clés : *T.willdenowii*, *O.floribundum*, Huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante, CCM, GC-MS

Abstract:

The objective of this work is the valorization of the essential oils of the two medicinal, aromatic and endemic Algerian plants belonging to the Lamiaceae family: *Thymus willdenowii* from Blida and *Origanum floribundum* from the Tizi Ouzou region. According to the results obtained, the phytochemical screening proved that these two plants are rich in secondary metabolites, in particular Gallic tannins, alkaloids, oses, holosides, and coumarins, reducing compounds, sterols and triterpenes. The extraction of essential oils from thyme and oregano was carried out by hydrodistillation, the yield obtained is of the order of 0.68% and 1.23%, the physico-chemical characteristics of the two plants (index of refraction, density, acidity index and pH measurement) are in accordance with the standards, the TLC analysis revealed several stains, two of which were significant corresponding to thymol for thyme and thymol and carvacrol for oregano, after the Rf values. GC-MS analysis detected the predominance of thymol for oregano EO and linalool for thyme EO. Concerning the evaluation of the antimicrobial activity by the aromatogram method, the four microorganisms tested (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sensitive *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) are sensitive and extremely sensitive to HE of thyme and oregano respectively, the antioxidant activity by the DPPH test showed that the essential oils of *T.willdenowii* and *O.floribundum* have an IC₅₀ of the order of 348.45 µg/ml and 1532.57 µg/ml. Finally, the ethnobotanical study described the different uses of the two plants, mainly in therapeutic use with a high percentage in respiratory diseases as well as in culinary use.

Keywords: *T.willdenowii*, *O.floribundum*, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity, CCM, GC-MS.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو تقييم الزيوت الأساسية لنبتين طبيئتين، عطريتين ومتوطنتين جزائريتين تنتميان إلى عائلة lamiacées *Thymus willdenowii* من البلدية و *Origanum floribundum* من منطقة تيزي وزو. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، أثبت الفحص الكيميائي النباتي أن هاتين النباتين غنيتان بالمواد الأيضية الثانوية، ولا سيما العفص الجاليك، والقلويدات، و oses، والهولوسيدات، والكومارين، والمركبات المختزلة، والستيرولات، والترتربين. تم استخلاص الزيوت الأساسية ل *thym* و *origan* عن طريق التقطير المائي، وكان العائد الناتج 0.68% و 1.23% على التوالي، الخصائص الفيزيائية والكيميائية للنبتين (معامل الانكسار، الكثافة، مؤشر الحموضة وقياس درجة الحموضة) وفقاً للمعايير، أظهر تحليل CCM عدة بقع، اثنتان منها كانتا مهمة تقابل الثمول ل *thym* والثيمول والكارفاكرو ل *origan* بعد قيم RF. كشف تحليل GC-MS عن غلبة الثيمول لزيوت الأساسية ل *origan* و *linalool* ل *thym*. فيما يتعلق بتقييم النشاط المضاد للميكروبات بواسطة طريقة aromatogramme، فإن الكائنات الحية الدقيقة الأربعة المختبرة (*Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus aureus* الحساسة، *Candida albicans*) حساسة وحساسة للغاية لاتجاه الزيت الأساسي ل *thymus* و *origanum* على التوالي، النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة اختبار DPPH أظهرت أن الزيوت الأساسية ل *T.willdenowii* و *O.floribundum* تحتوي على IC₅₀ بترتيب 348.45 ميكروغرام / مل و 1532.57 ميكروغرام / مل. أخيراً، وصفت الدراسة العرقية النباتية الاستخدامات المختلفة للنبتين، وخاصة في الاستخدام العلاجي مع نسبة عالية في أمراض الجهاز التنفسي وكذلك في استخدام الطهي.

الكلمات المفتاحية: *O.floribundum*، *T.willdenowii*، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأوكسدة، CCM، GC-SM