

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en :
Protection des Végétaux
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Science Agronomique
Spécialité : Protection des Végétaux

Thème

**Valorisation et activité biologiques de quelques plantes de la
région d'Ain Témouchent**

Présenté Par :

- 1) Melle Si Amer Rahma
- 2) Melle Bendahman Fatna

Devant le jury composé de :

Dr Derrag Zineb	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
Dr Ilyas Faiza	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
Dr Tabti Leila	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrante

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah, le tout puissant de nous avoir accordé la santé, le courage et la patience pour passer tous les moments difficiles pour accomplir ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui.

*Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos plus sincères remerciements à notre encadrante **Mme Leïla Tabti** qui a bien voulu assurer notre encadrement, ainsi que pour le temps et l'attention qu'elle a bien voulu consacrer au bon déroulement de notre travail, pour sa compréhension, sa grande contribution, sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations.*

Et

*Finalement, nous remercions vivement Les jury **Dr.Derrag Zineb** et **Dr.Ilyas Faïza** et tous les enseignants du département des sciences de la vie et de la nature du centre universitaire Ain Témouchent et tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin, à la réussite de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, avant tout, à mes très chers parents pour leur éducation, leur soutien, leur sacrifice et leur encouragement.

Merci d'avoir été présents à chaque moment de ma vie.

Que Dieu vous apporte santé, bonheur et longue vie.

A mes frère

A mes sœurs

A tous mes proches amis (es), qui m'ont accompagné durant les années d'étude merci pour les bons moments qui ont contribué à rendre ces années inoubliables

En leurs souhaitant tous le succès et le bonheur.

Et à toutes les personnes Qui m'ont aidé à franchir un horizon dans ma vie.

Fatna

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec tout mon affection à :

Mes parents

Ma mère (allah yarhamha)

Dieu la repose et la met au paradis

Mon père,

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime,
le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous; Merci
pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de
toi.*

A mes chers frères

A toute ma famille merci beaucoup.

*A ma meilleur amie **Ines** Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma
gratitude de t'avoir comme une amie voir comme une sœur .*

*A **Dounia** mon amie, je tiens à te remercier pour ton soutien, ton
encouragement le long de mes études.*

*A **fatna** , ma partenaire de mémoire, mon binôme... sans qui rien n'aurait
été pareil. Merci beaucoup.*

*A **Mostapha**, mon amie qui m'aider et encourager le long de ce modeste
travail.*

A tous mes camarades de promotion.

A tous ceux que j'aime.

Rahma

Tables de matières

المُلخَص	
Résumé :	
Abstract	
<i>Liste des figures</i>	
<i>Liste des tableaux</i>	
Introduction générale	1
Chapitre I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. <i>Thymus capitatus</i>	4
I.1. Historique de <i>Thymus capitatus</i>	4
I.3. Description de <i>Thymus capitatus</i> :	4
I.3. Distribution géographique de <i>Thymus capitatus</i> :	5
I.3.1. Dans le monde :	5
I.3.2. En Algérie	5
I.4. Classification de <i>Thymus capitatus</i> :	6
I.5. Principales utilisations du <i>Thymus capitatus</i> :	6
II. <i>Eucalyptus</i>	7
I.1. Historique d' <i>Eucalyptus</i>	7
II.2. Généralités sur <i>Eucalyptus</i> :	8
II. Description Botanique :	9
III. Huiles essentielles	10
III.1. Définition :	10
III.2. Rôle physiologique :	11
III.3. Localisation des huiles essentielles :	11
III.4. Méthodes d' extraction des huiles essentielles	12
III.4.1. Distillation	12
III.4.2. Hydrodistillation	12
III.4.3. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau	12
III.4.4. Hydrodiffusion	13
III. Hydrodiffusion assistée par micro-ondes	13
IV. Composition des huiles essentielles	14

IV.1. Composés volatils des huiles essentielles	14
IV.2. Activités biologiques des huiles essentielles :	14
IV.3. Activité antioxydante des huiles essentielles :	15
IV.3.1. Différents types de radicaux libres	15
IV.3.2. Origine et production des espèces réactives oxygénées	15
IV. Dommages oxydatifs des radicaux libres	16
V. Activité antifongique :	17
VI. Activités antibactériennes	17
VII. Méthodes de détermination des huiles essentielles	17
VII.1. CPG et les indices de rétention	17
VII.2. Couplage CPG-SM	18
Chapitre II : MATERIEL ET METHODES	19
I. Matériel végétal:	20
I.1. Études microbiologique :	20
II.1. Préparation des huiles essentielles :	21
II.1.1. Hydrodistillation:	21
II.1.2. Récupération de l'huile essentielle	22
II.1.3. Conservation des huiles essentielles	22
II.1.4. Propriétés organoleptiques de HE	22
III. Préparation des milieux de culture :	23
III.1. Milieu PDA (potatos destrose agar):	23
III.2. Préparation de milieu sabouraud :	23
IV. Activité antifongique :	23
IV.1. Évaluation de l'activité antifongique des HES Vis-à vis (pénicillium)	23
IV.2. Évaluation de l'activité antifongique vis à vis condida	24
IV.3.1. Dosage de pouvoir réducteur « frap »	25
IV.3.1. principe :	25
IV.3.2. Méthode de dosage	27
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	28
I. Rendement en huile essentielle et paramètres organoleptiques:	29
II. Évaluation de l'activité antifongique de deux HES de T. capitatus et l'eucalyptus: ..	29
II.2. Évaluation de l'activité antifongique des HES vis à vis <i>Penicilium italicum</i> :	29
II. Évaluation de l'activité antifongique des HES vis -à vis <i>Candida Albican</i>	30
III. Évaluation de l'activité antioxydantes:	31

III.1.Effet antioxydant de HE de <i>T.capitatus</i> et <i>E globulus</i> :.....	32
III.3.Effet de l'acide gallique	32
I.Rendement :.....	34
I.1.Activités antibactérienne.....	34
I.2.Activité antioxydante	355
Conclusion générale	377
Références bibliographiques	388

Résumé :

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de la partie aérienne de *Thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle en l'Algérie. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant le mode de frap, Les deux huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation par un appareil de type Clevenger. Le Rendement de *T. capitatus* et *E. globulus* est 3,2% et 0,48% respectivement. Ces HEs ont montré une capacité anti-oxydante importante. De plus un effet antifongique a été évalué par la méthode des puits, test sur deux souches des champignons, les résultats révèlent que les deux extraits ont exercé un effet antifongique considérable; *Penicillium italicum* est avéré sensible par rapport à HE d'*E. globulus*, et résistante par rapport au *T. capitatus*. Cependant, *Candida albicans* a présenté une sensibilité par rapport aux deux HEs. Comme conclusion les huiles essentielles de *Thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* possèdent une excellente activité antioxydante et un effet antifongique considérable.

Abstract :

The aim of this study was to evaluate the activity of essential oils extracted from the aerial parts of *Thymus capitatus* and *Eucalyptus globulus*, they are two of the medicinal plants used in traditional medicines in Algeria. The antioxidant activity was evaluated using the essential oils extracted by steam distillation by using the Clevenger device, the yield of *Thymus Capitatus* and *Eucalyptus globulus* was 3,2% and 0,48% respectively. These essential oils showed a great ability to confront. The antifungal effect of the two extracts was also evaluated by disseminating them in petri dishes in a solid food medium. The experiment was concluded on two strains of fungi. The results show that both extracts have a significant antifungal effect. The two tested strains were classified in sensitivity and were less sensitive to *Penicillium Italicum* relative to the essential oil of *Eucalyptus globulus* and *Penicillium Italicum* sensitive to *Thymus capitatus* and *Candida Albicans* less sensitive to both essential oils. This confirms that both oils have a level of toxicity un high doses as an extract for this study the essential oils of both *Thymus capitatus* and *Eucalyptus globulus* are excellent in all aspects of antioxidant activity and have an acceptable antifungal effect.

Liste des figures

Figure 1: <i>Thymus capitatus</i>	4
Figure 2: Distribution du genre <i>Thymus</i> dans le monde (Morales, 2002).	5
Figure 3 : <i>Eucalyptus globulus</i>	10
Figure 4 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.	12
Figure 5 : Schéma d'un montage d'hydrodiffusion assistée par micro-ondes	14
Figure 6 :Partie aérienne de <i>Eucalyptuse</i> Figure 7:Patie aérienne de <i>T capitatus</i>	20
Figure 8:Développement de pénicillium. <i>Italicum</i> sur fruit d'orange	21
Figure 9 : Zone de platine pour coller le PDA	21
Figure 10: L'appareil clé venger.....	22
Figure 11: Méthode de disque	24
Figure 12: Appareillage de la chromatographie en phase gazeuse	26
Figure 13:Mécanisme réactionnel intervenant lors du test frap entre le complexe ferriyanide ferrique Fe^{3+} et anti-oxydants (AH) de la chromatographie en phase gazeuse.....	26
Figure 14: Effet de <i>T.capitatus</i> contre le <i>pénicillium italicum</i>	30
Figure 15:Effet de <i>Eucalyptus</i> contre le <i>pénicillium.italicum</i>	30
Figure 16 : Effet de <i>T capitatus</i> contre <i>C.parapsoriasis</i>	31
Figure 17:Effet d' <i>E.globulus</i> sur <i>C.parapsosis</i>	31
Figure 18: Représentation graphique de pouvoir réducteur de HE de la parti aérienne de <i>T.capitatus</i>	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Localisation des principales espèces du Thym en Algérie (Quézel, 1963).	6
Tableau 2 : Utilisations traditionnelles du Thym.	7
Tableau 3: Caractéristiques organoleptiques des HEs tester.....	29
Tableau 4: Diamètre des zones d'inhibition (mm) et les Indices fongique des HEs testées de la souche <i>pénicillium Italicum</i>	29
Tableau 5: Diamètre des zones d'inhibition des HEs testée de la souche <i>C.parapsasis</i>	30
Tableau 6 : Valeur des Ec50 de HE T capitatus, E globulus et l'acide gallique.	33

Liste des abréviations

HEs :Huiles essentielles.

T.capitatus : *Thymus capitatus*.

Eg :*Eucalyptus gloubuleux*

CPG :Chromatographique en phase gazeuse.

SM :Spectrométrie de masse.

IRTF :Spectrométrie infrarouge par transformée de fourier.

IK :indces kovàts.

IR :indces de rétention

IE :impact électronique.

PDA :potatos destrose agar.

FRAP :Réduction de lien ferrique.

Introduction générale

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

Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques.

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisée par les êtres humains (**Elqaj et al, 2007**).

Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (**Muthu et al., 2006**). L'enquête ethnobotanique s'est avérée une des approches les plus fiables pour la découverte de nouveaux médicaments.

L'Algérie, par la diversité de son climat et de ses sols, offre une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques. Ces ressources végétales constituent un réservoir inépuisable de substances biologiquement actives, susceptibles d'être utilisées à des fins pharmaceutiques, diététiques, agroalimentaires et cosmétiques.

Les huiles essentielles par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés anti-oxydantes et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

Un intérêt particulier sera accordé aux espèces les plus actives sur le plan activité anti-oxydante et activité biologique (antimicrobienne, anticancéreuse et anti-inflammatoire) ce qui permettra de diminuer la pression sur les espèces sauvages.

Economiquement les cultures sont exposées à différents bio-agresseurs qui causent d'importants dégâts sur les rendements à savoir les insectes, les champignons et les bactéries. Cependant l'utilisation accrue des pesticides est en perpétuelle augmentation ce qui est nocif pour la santé des êtres humains et l'environnement, pour cela la recherche de substituts naturels est devenue une nécessité.

Dans ce travail nous nous sommes intéressées à deux plantes médicinales et aromatiques ; *Thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* pour lesquelles nous avons évalué les pouvoirs antifongique et antioxydant.

Ce manuscrit est subdivisé en trois parties, la première est consacrée à une synthèse

bibliographique dans laquelle nous avons donné des généralités, présentations botaniques, des propriétés et activités biologiques des plantes étudiées ainsi que leurs utilisations dans vie quotidienne.

Dans la seconde partie nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisées dans la réalisation de ce travail.

La troisième partie est destinée pour les résultats et une discussion par rapport aux travaux antérieurs

En fin une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre I

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. Thymus capitatus

I.1. Historique de *Thymus capitatus*

Le nom *Thymus capitatus* vient probablement du latin "*Thymus*" qui signifie «parfumé» ou du grec "*Thymos*" qui signifie "courage" ou "force" (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

Les grecques brûlaient cette herbe pour chasser les insectes piquants de la maison. Le Thym représentait le style et l'élégance des premiers Grecs, et l'esprit républicain en France au moyen Age.

A cette époque, les moines bénédictins apportaient du Thym en Europe centrale et en Angleterre car ils pensaient que les oreillers à Thym soulageaient l'épilepsie et la mélancolie. Au XVII siècle, le Thym a été utilisé au cours de la peste qui a balayé l'Europe. Il est utilisé aussi par les Egyptiens pour embaumer les morts. Les Romains, de leur part brûlaient le Thym pour éloigner les créatures venimeuses. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser le fromage (Charles, 2012).

I.3. Description de *Thymus capitatus* :

Les plantes du genre *Thymus* sont des arbustes perpétuels herbacés avec des racines ligneuses, elles peuvent atteindre une hauteur de 45 cm. Les tiges sont verticales, les branches sont persistantes, les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (Charles, 2012).



Figure 1: *Thymus capitatus*

Plusieurs dénominations ont été données aux espèces du genre *Thymus capitatus* ; en

Amazigh : Azukni, Tazuknite, en Arabe : Ziitra (**Stahl-Biskup et Saez, 2002**).

Ce genre contient des propriétés aromatiques et médicinales et le plus populaires dans le monde. La connaissance de la composition chimique et les effets pharmacologiques de ce genre permettent la classification des différents chémotype. Ces espèces de *Thymus capitatus*;, se rencontrent, en plaine, en montagne, dans les rocailles, les garrigues, les pelouses et les broussailles (**Bellakhdar, 1997**).

I.3. Distribution géographique de *Thymus capitatus* :

I.3.1. Dans le monde :

Le genre *Thymus capitatus* ; de la famille de Lamiacée est largement retrouvé dans le monde (**figure 2**) tels que l'Europe, l'Afrique, l'Asie, le Groenland, le Canada, le Chili et la nouvelleZélande, mais ce genre est principalement répandu dans la méditerranée.

Aujourd'hui, environs 250 taxons qui se concentrent dans la méditerranée (214 espèces et 36 sous- espèces sont acceptées et sont divisées en huit sections) (**Morales, 2002**).

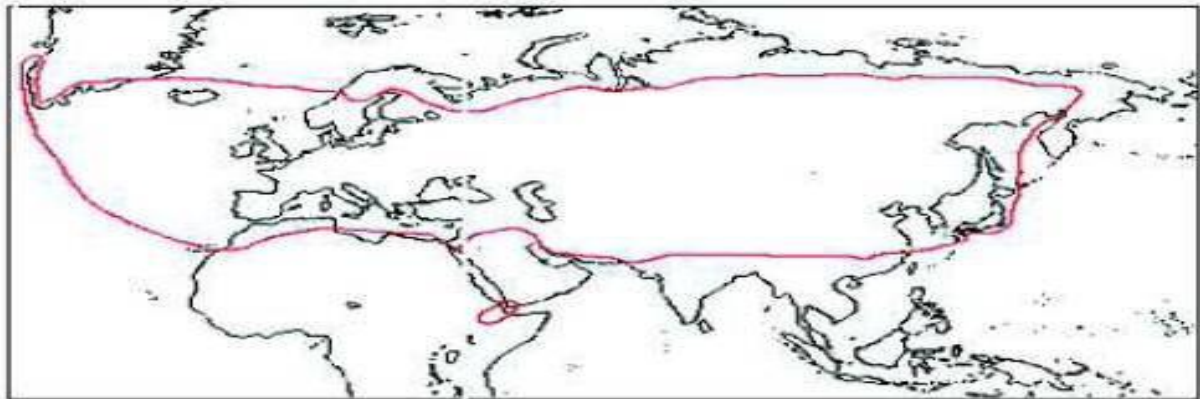


Figure 2: Distribution du genre *Thymus* dans le monde (Morales, 2002**).**

Le cercle rouge représente la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde

I.3.2. En Algérie

Le genre *Thymus capitatus* ; a colonisé le territoire de l'Algérie avec 12 espèces (**Dob et al ., 2006**). Parmi ces dernières, certaines sont endémiques de l'Algérie, telles que *Thymus pallescens* de Noé, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé et *Thymus lanceolatus* Desf (**Hazzit et al., 2009**). Sa répartition géographique est représentée dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Localisation des principales espèces du Thym en Algérie (Quézel, 1963).

Espèce	Découvert par	Localisation	Nom local
<i>Thymus Guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois et oranais et constantinois.	–
<i>Thymus Dreatensis</i>	Batt	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois et constantinois.	–
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Le secteur de l'atlas tellien (terni de Médéa et Benchicao) et sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret).	Zaàteur
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur littoral.	Djertil Hamrya
<i>Thymus Pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas saharien.	Zizerdite

I.4. Classification de *Thymus capitatus* :

La classification botanique, selon Quézel, (1963) est la suivante

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous-embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Thymus*
- Espèce : *Thymus capitatus*

I.5. Principales utilisations du *Thymus capitatus* :

Le Thym possède un large spectre d'utilisation (Tableau 2), parmi lesquelles on

peut citer :

Tableau 2 : Utilisations traditionnelles du Thym.

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi	Références
Planteentière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-pulmonaires	De l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.	Rasooli et al 2006.
Racines	Diarrhée	Décoction	Pina-Vaz et al 2004.
Feuilles	Fièvre la toux ; les blessures Infection	Utilisées comme poudres ou en infusions.	El Bouzidi et al., 2013.
Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Employée pour donner de saveur à laviande. Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation des moisissures.	Miura et al., 2002.
Planteentière	Antiseptiques Antispasmodiques Antimicrobiennes	Décoction ou infusion	Nickavar et al., 2005 ; Pirbalouti, 2013.

II. *Eucalyptus*

I.1. Historique d'*Eucalyptus*

Les *Eucalyptus* sont pour la plupart de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées. On dénombre aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'*Eucalyptus*. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'acclimater.

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « *eu* » qui signifie « bien » et « *calyptos* » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des *Eucalyptus*, les capsules. C'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous

les *Eucalyptus*.

De nombreux botanistes ont essayé de créer des classifications du genre *Eucalyptus* : la première était la classification de Mueller qui se basait sur les différents types d'écorces. Bentham s'est concentré sur les caractéristiques des étamines et en particulier des anthères. Mueller a, par la suite, créé lui-aussi une classification sur les anthères, puis il a été suivi de **Maiden** et **Blakely** mais cette classification a vite connu ses limites. De nombreuses classifications ont vu le jour en fonction des nervures des feuilles, de la morphologie des graines, de la nature de la capsule et de la structure de l'inflorescence.

Une classification complète, mais informelle, de toutes les espèces *d'eucalyptus* connues a été publiée en 1971 par **Pryor et Johnson**. Elle comprend sept grands groupes basés sur l'association de plusieurs caractères morphologiques et suggérées par l'incompatibilité ni de reproduction entre eux. Leur système a été soumis à un examen minutieux au cours des 30 dernières années. De nombreuses améliorations de cette classification ont été proposées par Johnson lui-même et par d'autres, même s'il n'a jamais officiellement publié un système de classification.

Dans le volume 19 de « Flora of Australia », publié en 1988, tous *les eucalyptus* ont été groupés en 513 espèces par Chippendale.

En 1995, Hill et Johnson ont pour la première fois décrit le genre *Corymbia*.

En 2000, MIH Brooker a publié une classification officielle du genre, basée sur le travail de **Pryor et Johnson (22)**.

II.2. Généralités sur *Eucalyptus* :

Les Eucalyptus craignent le froid (température inférieure à moins dix degrés Celsius) et aiment la lumière. Grâce à leur grande capacité d'absorption d'eau souterraine, ils sont utilisés afin d'assécher les marais (exemple en Corse) et ils assainissent les régions insalubres en supprimant les gîtes à moustiques combattant ainsi efficacement la malaria.

Cette capacité à assécher les sols pose d'ailleurs problème en Australie et en Afrique. En effet, pendant les périodes de fortes chaleurs, de nombreux feux de forêts se déclarent dans les forêts d'*Eucalyptus* à cause de cette sécheresse. De plus, en réaction à la chaleur, les *Eucalyptus* libèrent leur huile essentielle dans l'atmosphère ce qui crée un phénomène nommé le « blue haze », ou brouillard bleu, qui est très inflammable. La chaîne de montagnes Greater Blue Mountains tiens d'ailleurs son nom de ce brouillard.

De surcroît, *les Eucalyptus* émettent beaucoup de déchets inflammables : ils perdent

beaucoup de branchages et leur écorce se renouvelle en permanence, ce qui fait que les sols des forêts d'*Eucalyptus* prennent feu facilement.

Toutes ces propriétés font qu'il y a très souvent des feux de forêts d'*Eucalyptus*. Pour pallier ce problème, les *Eucalyptus* se sont adaptés pour survivre. En effet, les capsules des *Eucalyptus* résistent à la chaleur et ne s'ouvrent que lorsqu'elles sont brûlées et que l'incendie est passé. De cette manière, les graines sont dispersées sur les sols riches en cendres et peuvent fleurir pour repeupler à nouveau les forêts.

Le tronc des *Eucalyptus* est assez particulier car l'écorce se renouvelle fréquemment et elle se détache en longues bandes ce qui procure un aspect multicolore au tronc. C'est notamment le cas d'*Eucalyptus deglupta*, ou *Eucalyptus* arc-en-ciel, qui non seulement à l'écorce qui se détache, mais de surcroît, le tronc change de couleur en vieillissant. Cela donne, comme son nom l'indique, un tronc couleur arc-en-ciel, les couleurs allant du vert pâle en passant par le bleu, le violet, le rouge et le brun.

II. Description Botanique :

Nom latin : *Eucalyptus globulus*.

Noms français ou vernaculaires : *Eucalyptus* globuleux, gommier bleu, eucalyptus bleu, arbre à fièvre, eucalyptus commun, eucalyptus officinal.

- Embranchement des Spermatophytes
- Sous embranchement des Angiospermes
- Famille des Myrtacées
- Genre *Eucalyptus*
- Genre espèce : *Eucalyptus globulus*

L'*Eucalyptus globulus*, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert en 1792 par le botaniste français La Billardière. C'est un arbre originaire de Tasmanie (Australie). Le docteur Muller (1825-1896), directeur du jardin botanique de Melbourne, a été le premier à le décrire dans son ouvrage *Fragmenta phytographiæ australiæ*. Aujourd'hui, l'*Eucalyptus globulus* est cultivé dans le bassin méditerranéen et en Chine où il est utilisé pour fabriquer de la pâte à papier.

Les *Eucalyptus* sont des arbres qui poussent très rapidement. L'*Eucalyptus globulus*

mesure 30 à 60 mètres de haut et il peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris. Son écorce se détache facilement en longues bandes. Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles. Mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles peuvent atteindre 25 centimètres de long. Elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. Les feuilles ont une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille.

Les fleurs, visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines.

-Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines.



Figure 3 : *Eucalyptus globulus*

III. Huiles essentielles

III.1. Définition :

Le terme "huile essentielle" a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse **Parascelsus von Hohenheim** afin de désigner le composé actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Essawi et al., 2000**).

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'HE_S comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'HE est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» La majorité des HE_S sont des liquides très peu colorés, volatils à température ambiante. Les huiles essentielles dégagent une odeur caractéristique et sont, en général plus légères que l'eau tout en possédant des caractéristiques hydrophobes.

III.2. Rôle physiologique :

Beaucoup de plantes produisent les HES en tant que métabolites secondaires, leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **Bakkali (2008)**, les HES peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante : attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, pour leur action répulsive sur les prédateurs.

III.3. Localisation des huiles essentielles :

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'HE_S :

- Les fleurs, exemples : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang)
- Les feuilles le plus souvent, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin
- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)
- Les fruits, exemples : fenouil, anis, épicarpes des Citrus.
- Les graines : noix de muscade, coriandre.
- Le bois et les écorces, exemples : cannelle, santal, bois de rose.
- HE_S sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables.
- Les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, Géraniacées et Verbénacées.
- Les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacée, Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Apiacées.

III.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

III.4.1. Distillation

La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (Franchomme et al., 1990). Il existe trois procédés utilisant ce principe.

III.4.2. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité, (figure 4). L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat.

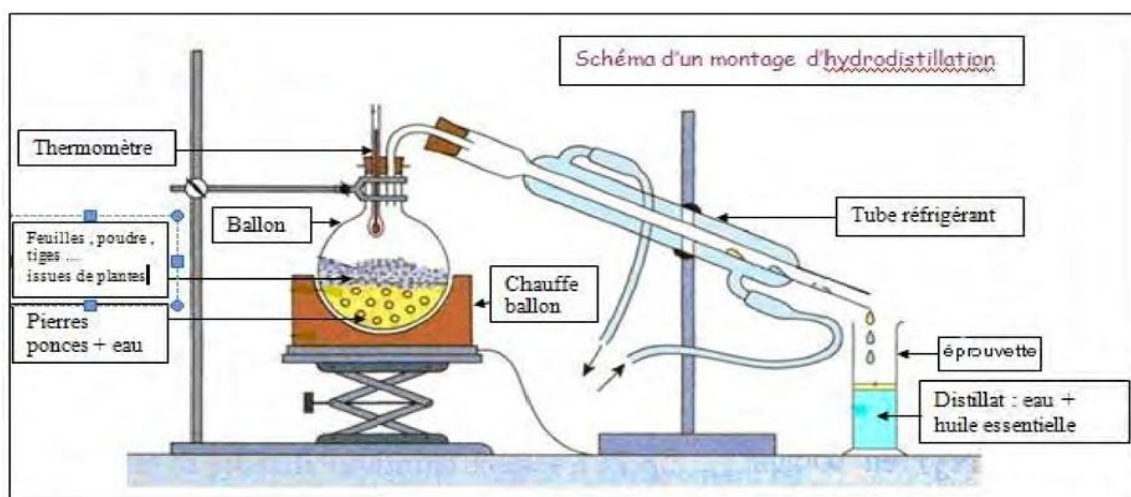


Figure 4 : schéma d'un montage d'hydrodistillation.

III.4.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans 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. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme et al., 1990**).

III.4.4. Hydrodiffusion

Cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'HE_S obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : « essence de percolation » (**Franchomme et al., 1990 ; Richard, 1992**)

III. Hydrodiffusion assistée par micro-ondes

L'hydrodiffusion assistée par micro-ondes (**figure 5**) a été développée depuis 2008 par **Marilyne Abert Vian et al.**

C'est une combinaison de l'hydrodiffusion classique aux micro-ondes. Le ballon où se trouve le matériel végétal (sans solvant) est soumis à un chauffage par micro-ondes. Les cellules végétales éclatent sous l'effet de la chaleur et libèrent l'eau in situ et les molécules aromatiques. Le mélange « vapeur d'eau + huile essentielle » est alors poussé vers le condenseur sous l'effet de la pesanteur. (**Abert Vian et al., 2008**)

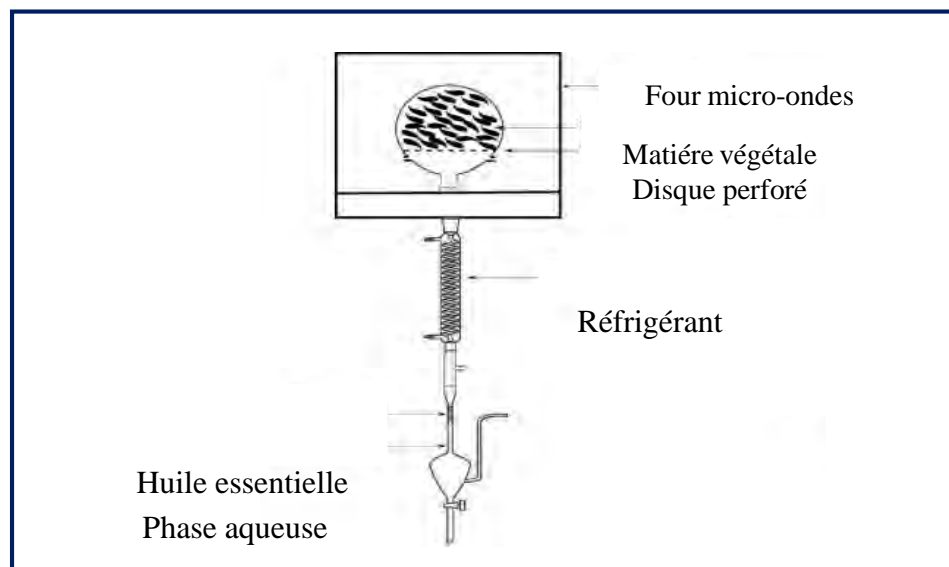


Figure 5 : Schéma d'un montage d'hydrodiffusion assistée par micro-ondes

IV. Composition des huiles essentielles

IV.1. Composés volatils des huiles essentielles

l'HE_S sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell, 2006). Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C₅H₈), soit deux unités pour les monoterpènes (C₁₀H₁₆) et trois pour les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄). Exceptionnellement, quelques diterpènes (C₂₀H₃₂) peuvent se retrouver dans l'HE_S. (Vila et al, 2002). Plusieurs milliers de composés appartenant à la famille des terpènes ont, à ce jour, été identifiés dans l'HE_S (Modzelewska et al., 2005). La réactivité des cations intermédiaires obtenus lors du processus biosynthétique des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools (géraniol, α -bisabolol), des cétones (menthone, β -vétivone), des aldéhydes (citronellal, sinensal), des esters (acétate d' α -terpinyle, acétate de cédryle), des phénols (thymol), etc.

IV.2. Activités biologiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires

(Billerbeck, 2008) ou au niveau de la microflore vaginale (Duarte, Leme, Delarmelina, Soares, Figueira & Sartoratto, 2007 ; Giron, Aguilar, Caceres & Arroyo, 1988); et d'origine fongique contre les dermatophytes (Duarte, Figueira, Sartoratto, Rehder & Delarmelina, 2005) . Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (Bakkali et al., 2008) qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (Kurita, Miyaji, Kurane & Takahara, 1981) et en agroalimentaire, contre les microorganismes contaminant les denrées alimentaires (Smith-Palmer, Stewart & Fyfe, 2002).

IV.3. Activité antioxydante des huiles essentielles :

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène. (Walker et al., 1982).

IV.3.1. Différents types de radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou, un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (André., 1998).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^\cdot), le radical peroxyde (ROO^\cdot) et le radical alkoxy (RO^\cdot). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH^\cdot$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

IV.3.2. Origine et production des espèces réactives oxygénées

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ROS. Selon certains auteurs, environ 1 à 7% de l'oxygène utilisé par la mitochondrie sont incomplètement réduits et produisent des anions superoxyde, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux

hydroxyles (Pincemail et al., 2002 ; Favier, 2003 ; De Moffarts et al., 2005). L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement via les cellules phagocytaires. L'activation de ces cellules immunitaires par des stimuli exogène ou endogène s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène avec activation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase qui catalyse la réduction de cet oxygène en anion superoxyde (O_2O^-). Ce dernier donne le (H_2O_2) par dismutation. Le O_2 et H_2O_2 participent à la libération d'hypochlorite sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la myéloperoxydase (Bonfont-Rousselot et al., 2002 ; De Moffarts et al., 2005).

A côté de ces sources majeures des ROS, d'autres sources existent. Les sources cytosoliques, constituées essentiellement de peroxydase qui constitue une source importante de la production cellulaire de H_2O_2 (Sevanian et al., 1990; Valko et al., 2007), la xanthine oxydase qui produit de l' $O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2 (Groussard, 2006) et les enzymes de réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques) (Massion et al., 2002). A cela, s'ajoute d'autres facteurs qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres. On peut citer entre autres, les rayonnements UV capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet, les rayons X ou sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants (Tamer, 2003) les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ROS (Favier, 2003 ; Wang et al., 2008). Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter (Pincemail et al., 2001 ; Lee et al., 2006 ; Pincemail & Defraigne, 2004). Des infections bactériennes ou virales provoquent, elles aussi selon Auruousseau (2002), des phénomènes radicalaires à caractère exponentiel après augmentation de la population des macrophages impliqués dans leur élimination.

IV. Dommages oxydatifs des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (Rahman, 2003). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN (Auruousseau, 2002 ; Valko et al., 2006). Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (Aruoma, 1998). Parmi lesquelles les maladies d'Alzheimer de Parkinson, de Creutzfeldt

Jacob et de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (Jha et al., 1995), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (Georgetti et al., 2003) et le cancer (Ali et al., 2003)

V. **Activité antifongique :**

L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure.

VI. **Activités antibactériennes**

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 (**Boyle, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est par ailleurs variable d'une HE_s à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba et al, 2003**). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions.

VII. **Méthodes de détermination des huiles essentielles**

L'analyse des HE_s est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques, la technique qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique généralement la chromatographie en phase gazeuse CPG, avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM) ou quelques fois, la spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF).

VII.1. **CPG et les indices de rétention**

La CPG est une méthode de séparation mais aussi d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative.

L'identification d'une substance peut être facilitée par la connaissance de son temps de rétention qui est une valeur caractéristique pour une phase stationnaire donnée. En effet, les

temps de rétention de chaque composé dépendent des conditions expérimentales (nature et épaisseur de la phase stationnaire, programmation de la température, état de la colonne, etc).

Une meilleure information peut être obtenue grâce à l'utilisation des indices de rétention, mesurés sur les colonnes apolaire et polaire, qui sont plus fiables que les temps de rétention. Ils sont calculés à partir d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires. Le calcul peut se faire pour une expérimentation à température constante par interpolation logarithmique : indices de Kováts (IK) (1965), ou en programmation de température par interpolation linéaire indices de rétention ou indices de **Van Den Dool et Kratz (Ir) (1963)**.

VII.2. Couplage CPG-SM

Le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des HES. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons, une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier, ainsi que celles élaborées de manière interne en laboratoire (**Mc Lafferty et Stauffer, 1994; Adams, 2001 etc**)

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

Ensembles des manipulations de ce présente travail ont été réalisé au niveau de l'université de Tlemcen « Abou Baker Belkaid » ; la partie extraction des huiles essentielle a été effectué au niveau du laboratoire L'ASNABIO sous la direction de Monsieur Ghalem Said et Boufeldja Tabti (Hommage à son ame) auxquels nous redressons nos vifs remerciement ;et la partie activité biologique à été réalisé au niveau du laboration gestion et pathologie des eco systemes sous la direction de Monsieur Merzouk Abdessamade . L'identification des plantes étudiées ont été identifié par Mr Benabadji Nouri. Botaniste à l'université de Tlemcen.

I. Matériel végétal:

Notre études à été réalisée sur la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs) de *thymus capitatus* et *Eucalybtus globulus* . le materiel végétal à été séchée à l'ombre et l'abri de l'humidité à température ambiante pendant quelques jours. pour préparer les huiles essentielles.

Les parties aérienne on été recueillir à stade de la floraison durant le mois de mai 2021



Figure 6 :Partie aérienne de *Eucalyptuse*



Figure 7:Patie aérienne de *T capitatus*

I.1.Études microbiologique :

Prélèvement des fruits pour l'étude microbiologique au sein du verger, des arbres sont choisis au hasard afin de cueillir quelques fruits distines à l'étude microbiologique. transporter dans une glaciere à laboratoire pour analyse.

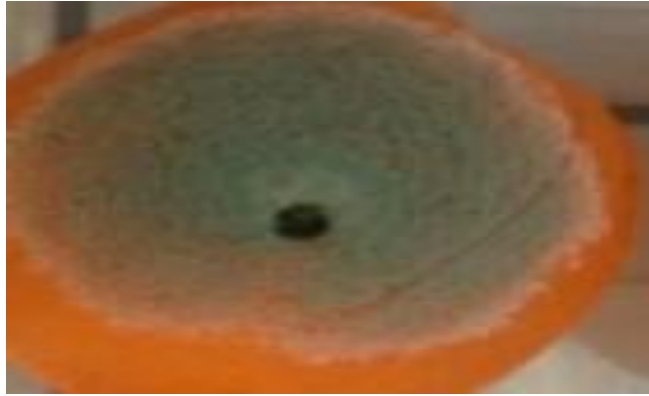


Figure 8:Développement de *Penicillium italicum* sur fruit d'orange

I.2 Matériel fongique:

Nous avons procédé à une purification de différentes souches issues deux méthode en appliquant plusieurs repiquages successifs sur milieu PDA acidifiée pour les moisissures jusqu'à l'obtention d'isolats purs.ces dernières sont repris sur des boites de Petri de PDA a inclinés et incubés à $25 \pm 1C^{\circ}$,pendant une semaine ou plus ,puis conservés.



Figure 9 : zone de platine pour coller le PDA

II.1. Préparation des huiles essentielles

II.1.1. Hydrodistillation:

L'hydrodistillation de l'HEs de *thymus capitatus* à été accomplie à l'aide d'un dispositif de type (clevenger 1928) là procédure d'extraction se résume à porter à ébullition une quantité de matériel végétal sèche pendant 7ou8 h avec quantité d'eau distillé dans un ballon de 5l surmonté d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant tout en s'assurant de l'étanchéité de l'appareillage .

Ce système permet d'effectuer des prélèvements horaires sur les phases aqueuse et organique destinées aux mesures de la cinétique d'hydrodistillation un simple robinet au bas permet de recueillir l'HE à la fin de la réaction



Figure 10: l'appareil clé venger.

II.1.2. Récupération de l'huile essentielle

Le distat récupéré comporte deux phases aqueuse majoritaire qui contient des constituants hydrosolubles sur laquelle nagent quelque goutte de HE représentant les deuxièmes phases si nous récupérons les gouttelettes surnageant par simple décontation nous obtenons une huile dite primaire la récupération de l'HE on des constituants hydrosolubles existant dans la phase aqueuse nécessite une extraction liquide – liquide on moyen de l'éthère diéthylique nous obtenons une HE dit secondaire

II.1.3. Conservation des huiles essentielles

La conservation des HEs est difficile ceci est du à l'instabilité de leurs molécules de ce fait les possibilités de dégradation sont nombreuses il est possible de limiter celle-ci en utilisant des flacons de faible volume en aluminium en acier inoxydable ou en verre entièrement remplis et fermer de façon étanche stockés en basse température ou conservations sous atmosphère d'azote (**j.Brunton,1933**)

II.1.4. Propriétés organoleptiques de HE

Les différentes caractéristiques organoleptiques(aspect couleur odeur) de l'essence en été

notées

L'organepeptique : parmi les critères organoleptiques contrôlés ,l'odeur est certainement,le plus important puisque déterminant dans l'industrie de parfum et de la cosmétiques on évaluera ensuite la couleur et l'aspect.

La physico-chimiques : huile essentielle étant un mélange de molécules dans chacun contribue à ces propriétés elle a ses propres valeurs physico- chimiques (densité ,indice de réfraction et pouvoir rotatoire qui participent à l'évaluation première de sa bon qualité.

III.Préparation des milieux de culture :

III.1. Milieu PDA (potatos destrose agar):

Le milieu de culture PDA est favorable pour la croissance des champignon de

En présence de PDA de synthèse sa préparation est simple car il suffit de:

- prendre 39 g de PDA de synthèse
- mélanger à 1l l'eau distillée .secouer doucement jusqu'à obtenir un mélange homogène
- auto- clave sous une pression de 1,4 bar à la température de 125C° durant (20 minutes)
- laisser refroidir un peut sous la hotte puis couler la solution sur les boites pétrie
- laisser sécher pendant quelques minutes dans une zone stérile

III.2. Préparation de milieu sabouraud :

dessoudre 30 g de poudre dans 1l d'eau distillé. mélange soigneusement, répartir est stérilisés mandant 15 mn a 121C°à l'autoclave

IV. Activité antifongique :

Les HE de *thymus* sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (**parageorgio 1980**)

IV.1. Evolution de l'activité antifongique des HEs Vis-à vis (pèniciliume)

Pour préparer la solution mère

- Un volume de 1ml d'HE est solubiliser dans 1ml de tween 80 a de cette dernière nous avons pris les volumes suivants 1,5ul , 3ul 4,5ul, 6 ul qui sont mis dans des tubes à essai contenant 15ml de milieu de culture PDA pour arriver à des concentrations finales respectivement :(0,1 ,0,2 , 0,3, 0,4 ul /ml).
- Le tout est mélangé à l'aide d'un vortex et couler dans une boite de pétri de 9cm de diamètre l'inoculation se fait par dépôt au centre de la boite d'un disque du mycélium d'environ 0,5cm

de diamètre d'une culture jeune de 6 à 7 jours pour chaque concentration trois répétitions sont réalisées .

-Après incubation à $28^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ pendant 2 à 7 jours en tenant compte de la croissance du témoin .

-On calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule suivante
Indice antifongique IA= $(1 - D_a/D_b) \times 100$.

Da: le diamètre de la zone de croissance de l'essai .

Db :le diamètre de la zone de croissance de témoin .

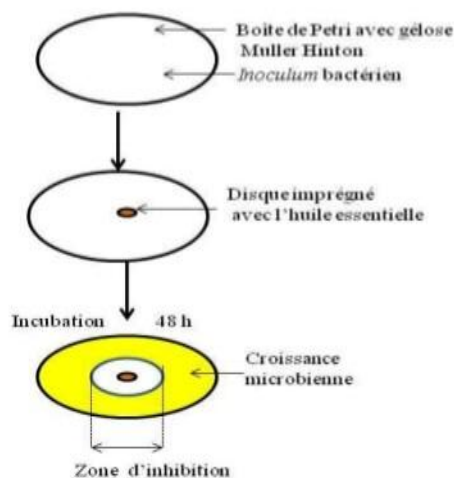


Figure 11: méthode de disque

IV.2. Evaluation de l'activité antifongique vis à vis candida

La méthode des puits est la technique choisie pour déterminer l'activité antifongique de HE à tester cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de HE sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de pétri cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antifongique de HE sur les levures ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces levures vis-à-vis de cette HE cette méthode consiste à faire des puits remplis d'une quantité de HE à la surface de la gélose en démenée par l'inoculum fongiques à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation

L'évaluation l'activité antifongique des HE vis-à-vis (candidat SP) par les étapes suivantes :

- Couler aseptiquement le milieu de culture dans les boîtes de pétri à raison de 15ml par boîte puis en rajouter 30ul de inoculum fongique (concentration est ajustée à 10^8 germes /ml avec le spectrophotomètre à l'UV visible) qui on fait .
- Répartir sur le milieu de culture à l'aide d'une pipette stérile afin d'avoir une

croissance homogène de levure on laisse refroidir et solidifier .

- Creuser des puits de 6mm de diamètre à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans le but d'éviter la surfusion des extraits sous la gélose est en rempli chaque puits avec 30ul huile essentielle.
- L'expérience est répétée trois fois pour chaque espèce fongique afin de minimiser l'erreur le vitral d'ézonazode servira comme témoin positif et levueen comme témoin négatif.
- Les boites de pétri sont ensuite fermées et mises a l'étuve à la température de 35° pendant '48h lectime a la sortie de l'étuve l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halotranslucide autour du puits identique à la gélose stérile dont le diamètre est mesuré a l'aide d'une règle en (mm) les résultats sont exprimées par le diamètre de la zone d'inhibition et peut etre symbolisé par des signes d'après la sensibilité vis-à-vis de l HE (**ponce et,al 2003**).
- d'après ponce etal (2003) la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition:
 - a) (-) nom sensible pour les diamètres mois de 8mm
 - b) (+) sensible pour les diamètres de 8à 14mm
 - c) (++) très sensible pour les diamètres de 15à 19mm
 - d) (+++) exactement sensible pour les diamètres plus de 20mm.**

IV.3.1. Dosage de pouvoir réducteur « frap »

IV.3.1.principe :

La méthode frap basé sur la réduction de lien ferrique (Fe^{3+})en ion ferreux (Fe^{2+}) ,cette méthode évolue le pouvoir réducteur des composés (**ou et al,2001**).

La présence des réducteurs (AH) dans les HE provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux par conséquent le Fe^{2+} peut etre évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel a 700nm (**chung.et al,2002**).



Figure 12: appareillage de la chromatographie en phase gazeuse

En effet le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ conféré à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des antioxydants qui participent à la réaction redox (amarowlez. et al ,2004).

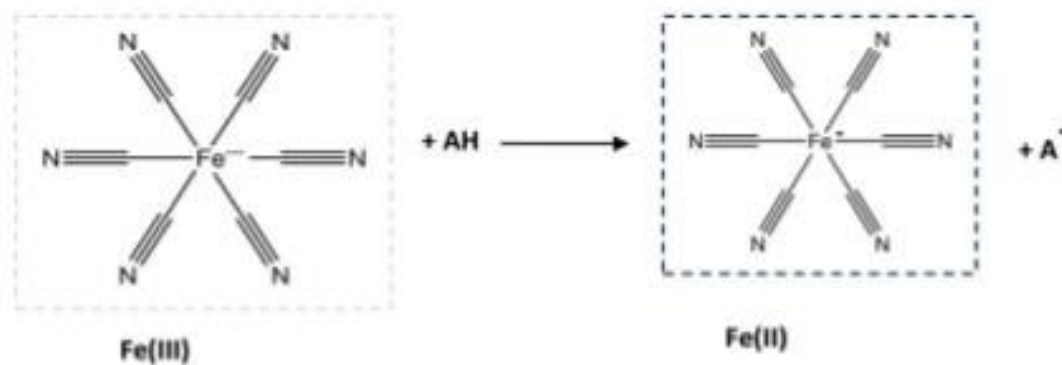


Figure 13: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test frappe entre le complexe ferriyanide ferrique Fe^3 et anti-oxydants (AH) de la chromatographie en phase gazeuse

IV.3.2.Méthode de dosage

- Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par (oyoizu 1986) dans un tube à essai en verre contenant 2ml de solution d'échantillon à différentes concentrations ont été ajouté 0,5ml de tampon phosphate (0.2 M :PH= 6.6) puis 0.5ml de potassium hexacyonoferrate ($K_3 Fe CN$) 1% dans l'eau distillée l'ensemble est incubat a 50% pendant 20minutes .
- Un volume de 0,5ml d'acide trichlorocétique (10%) est ensuite ajouté et le m étonge est centrifugé à 3000 pendant 10 minutes un aliquote de 0,5ml de surnageant et transféré dans un autre tube auquel ont été ajouté 0,5ml de l'éthanol et 0,1 de Fe 1% fraîchement préparé dans l'eau distillée.
- Un blanc sans échantillon est préparé dans les memes conditions en remplaçant l'huile par éthanol .
- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel de fait a 700m contre un blanc
- Semblablement préparé en remplaçant l'huile par le etanol qui permet de calibrer l'appareil (UV VIS) (spectrophomètre) le control positif et représenté par une solution d'un antioxydant standard l'acide oscorbique dont l'absorbance à été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés .

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

A/ Résultats

I. Rendement en huile essentielle et paramètres organoleptiques:

Les paramètres organoleptiques de nos HEs obtenues par l'Hydro distillation de la plante aromatique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 3: caractéristiques organoleptiques des HEs tester.

HEs	Couleur	Odeur	Aspect	Rendement
T.capitatus	Jaune foncé	Forte odeur	Liquide liquide	3,2%
Eucalyptus	Jaune a jaune pâle	Fraiche et épissé	Liquide liquide	0.48%

Les résultats présents dans le tableau mentrent que le rendement moyen obtenu de l'extraction par hydrodistillation au niveau de laboratoire est de l'ordre de 3,2pour T.capitatus .Nous remarquent que *T.capitatus* et très riche en huile essentielle.

Pour le HE de *Eucalyptus globulus* on remarque que notre rendement est plus élevée.

Cette différents de rendement entre les mêmes espèces peut être attribuée à de menbraux factures, stade de croissance, conditions ,pédoclimatiques et édaphique de la région ,Technique d'extraction ,etc (Fllah,2006)

II. Évaluation de l'activité antifongique de deux HEs de *T.capitatus* et *l'eucalyptus*:

II.2. Évaluation de l'activité antifongique des HEs vis à vis *Penicillium italicum*:

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique de la souche pénicillium et la souche été tester différents dose de HEs de *T.capitatus* et *Eucalyptus*.

Tableau 4: diamètre des zones d'inhibition (mm) et les Indices fongique des HEs testées de la souche *pénicillium Italicum*

	Concentration	0,1	0,2	0,3	Témoin
Diamètre de zone d'inhibition	T capitatus	0mm	0mm	0mm	30mm
Diamètre de zone d'inhibition	E globulus	27mm	24mm	20mm	30mm
Indice antifongique	T capitatus	100%	100%	100%	
Indice antifongique	E globulus	10%	20%	33,4%	

A la lumière de ces résultats, nous pouvons extraire plusieurs points :

Aucune croissance fongique n'a été observée pour les différentes doses d'HEs de *T. capitatus*. Les résultats des diamètres d'inhibition sont rapportés dans le tableau. L'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* est active uniquement sur la souche de dose 0,1 ul à diamètre d'inhibition de 11 mm. Les autres doses 0,2 et 0,3 ul ont donné des diamètres respectifs de 20 et 33,4 mm.

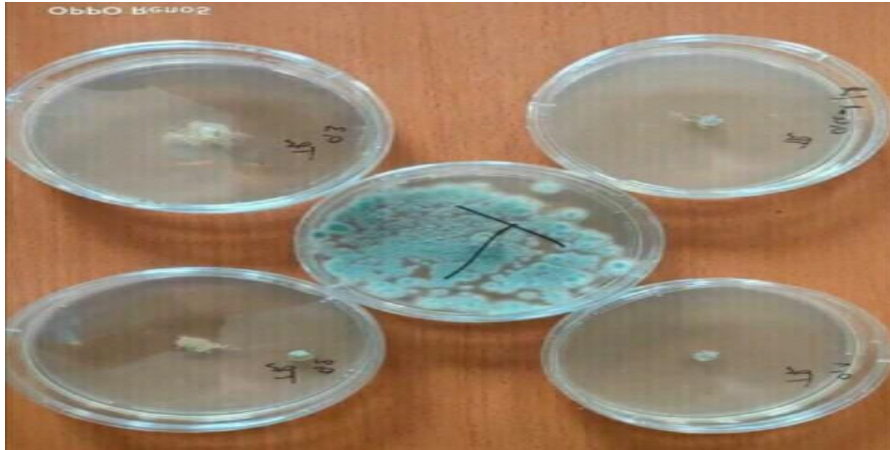


Figure 14: Effet de *T. capitatus* contre le *penicillium italicum*



Figure 15: Effet de *Eucalyptus* contre le *penicillium italicum*

II. Évaluation de l'activité antifongique des HEs vis-à-vis *Conidia Albican*:

Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *Conidia.sp* et la souche de référence qui ont été testées

Tableau 5: Diamètre des zones d'inhibition des HEs testées de la souche *C. parapsosis*

	Diamètres la zone d'inhibition
Thymus capitatus	45mm
Eucalyptus	4mm

À la lumière de ces résultats nous pouvons extraire plusieurs points :

Croissance fongique observées pour les huiles essentielles de *T capitatus* et *E globulus*.



Figure 16 : Effet de *T capitatus* contre *C.parapsoriasis*



Figure 17: Effet d'*E.globulus* sur *C.parapsiasis*

III. Évaluation de l'activité antioxydantes:

L'activité antioxydante des HEs de *T.capitatus* et *Eucalyptus* à été évaluée par la méthode de frap(Ferric Reducins Antioxidant Power) basée sur le pouvoir réducteur de HE par rapport l'acide gallique.

III.1. Effet antioxydant de HE de *T.capitatus* et *E globulus* :

La courbe présentée ci dessous représente la variation de l'absorbance en fonction des concentrations de HE de *T .capitatus* et *E.globulus* exprimées en mg/ml.

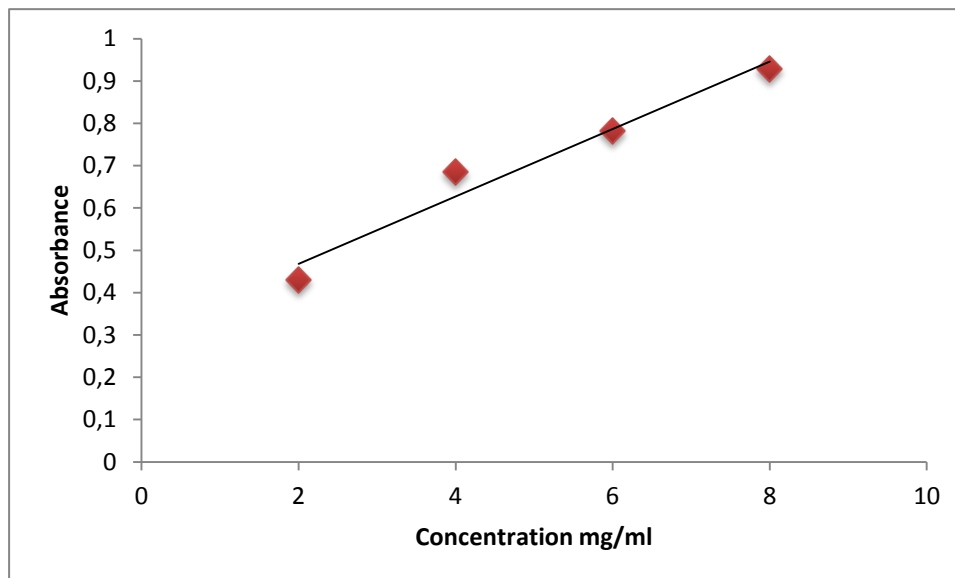


Figure 18 : Représentation graphique de pouvoir réducteur de HE de la partie aérienne de *T.capitatus*

Les résultats obtenus illustrés en figure montrent que le pouvoir réducteur présente une augmentation proportionnelle par rapport à la concentration de HE.

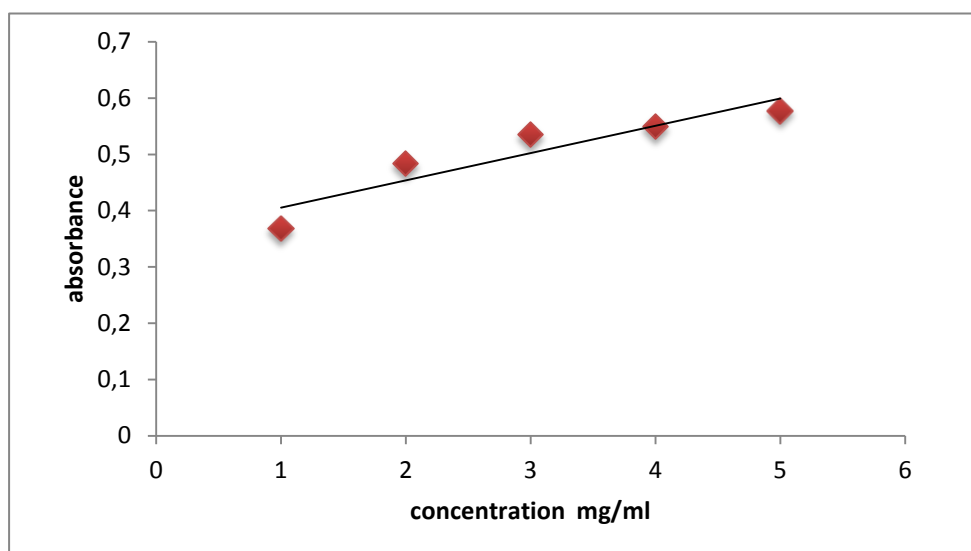


Figure18: Représentation graphique de pouvoir réducteur de Eucalyptus globulus.

III.3. Effet de l'acide gallique :

L'acide gallique qui est un composé réducteur par excellence à été employé dans cette

méthode comme témoin. Nous constatons que ce dernier présente un pouvoir réducteur plus important.

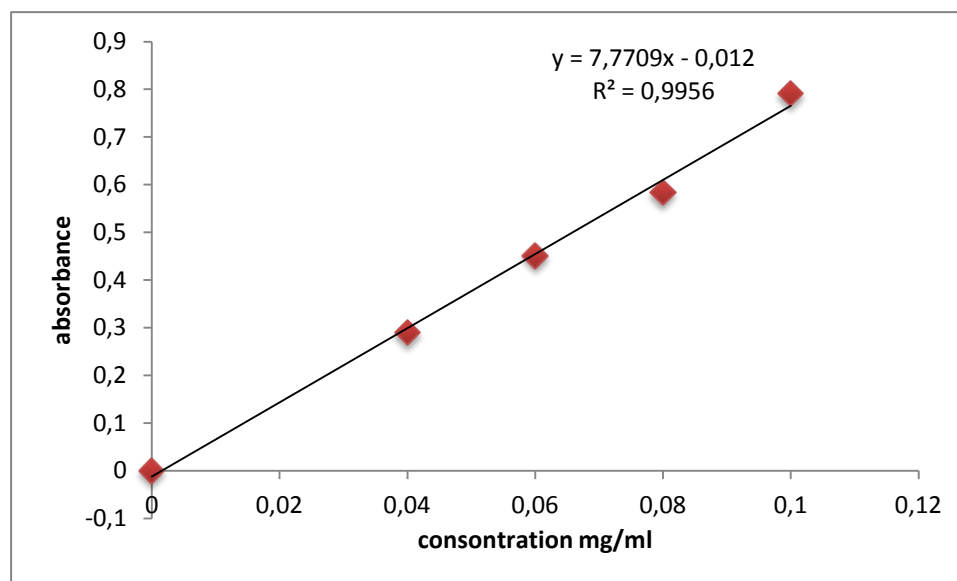


Figure 19: Représentation graphique du pouvoir réducteur de l'acide gallique.

En comparant les résultats obtenus à partir des graphes précédents nous remarquons que le pouvoir réducteur des HEs de la partie aérienne de la plante de *thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* est dépendante (consultation, dépendante) c'est à dire plus concentration augmentz par leur capacité a réduire le fer ferrique est importante .

De plus cette activité anti-oxydante est estimée par la concentration efficace (Ec50) qui exprimé la concentration de l'échantillon qui produit 50% de l'activité réductrice de fer (frap) établie à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage linéaire

Les valeurs Ec50 déterminées en mg/ml sont exprimées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Valeur des Ec50 de HE T capitatus, E globulus et l'acide gallique.

HEs	<i>T.capitatus</i>	<i>E globulus</i>	L'acide gallique
Ec50	0,27	0,47	0,065

B/ Discussion

I. Rendement :

Le rendement des huiles essentielles extraites à été calculé en fonction de la matière végétale seche de la partie aérienne des plantes étudiées .de ce fait le rendement en huiles essentielles de *Thymus capitatus* à marqué la valeur de 3,2% ,cependant pour *Eucalyptus globulus* à marqué la valeur 0,48%.

Cette différence de rendement entre les mêmes espèces peut être attribuée à de nombreux facteurs: stade de croissance , conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région et technique d'extraction ,..etc (**fellah,2006**).

Les différences de rendement en huiles essentielles d'un organe à autre ou d'une espèce à une autre on été rapportées selon plusieurs auteurs , l'origine de récolte de l'espèce , la période de récolte, l'organe de la plante , la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles. (**Russo et al, 1998; Tonzibo, 1998; veldari et al, 2002; karousous et al, 2005; Kouamé, 2012**).

I.1. Activité antibactérienne:

Les huiles essentielles sont des produits qui presentment des effets sur les champignons et les agents pathogènes. Dans ce travail nous avons choisi deux différentes plantes qui ont des huiles essentielles fortes et capables d'attaquer les champignons.

Ces huiles essentielles sont efficaces vis-à-vis *Penecillium italicum* et *Candida albicans*.

Selon **Rassoli et Abyanel(2004)**, les huiles de *T. ericolyx* et *T.X.porlok* ont fortement inhibé *Aspergillus parasiticus* tandis que la production de l'aflatoxine à été significativement réduite par deux huiles .

Cependant les huiles *T. eriocalyx* a exercé une activité antifongique ainsi que des effets antioxygéniques plus que celle de *T. X. porlock*, les auteurs suggèrent que la présence de thymol dans les huiles essentielles peut être responsable au mois en partie des résultats obtenus.

Les composés phénoliques tels que le thymol, le carvarcol et l'icoeugenol présentent l'activité antifongique la plus élevée, Ces résultats ont mis en évidence que ,en plus du groupe fonctionnelle ,d'autres priorités telle que de légèrè différences de structure peuvent effectuer la propriété physiques ou chimiques de ces composés ,en modifiant leur bio activité .

Dans la littérature, pas mal de travaux ont été réalisé sur les activités biologiques des huiles

essentielles de *T.capitatus* les quelques études effectuées sont montrées que ces essences sont antibactériennes, antifongiques et gtoxiques (**Bouhagiar et al,1999,Bourkhiss et la 2007, Bourkiss et al, 2010**).

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles, incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de l'arbre à thé (**Brut,2004**) ont été décrites, l'efficacité des huiles extraites des achillées *Achillea fragrantissima* (**Barel et al,1991**), *A.teretifolia*(**Unlu et al, 2000**) et *A. millefolium* (**Cancan et al,2003**), contre la levure pathogène *Candida albicans* a également été mise en évidence.

Dans cette étude, la réduction de la croissance des colonies du mycélium en présence des huiles essentielles de *T capitatus* et *E globulus* montre que ces produits testés contrôlent efficacement toutes les souches, cette efficacité s'explique par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes, les propriétés antifongiques des huiles essentielles sont probablement associées à la grande quantité de terpènes phénoliques, en particulier à la composante principale : le carvacrol.

En effet le carvacrol est utilisé en tant que désinfectant, fongicide, et dans des préparations cosmétiques, comme ingrédient de parfum. En ce qui concerne le mécanisme d'action : une fois que le composé phénolique traverse la membrane cellulaire microbienne les interactions avec les enzymes et les protéines membranaires provoqueraient un flux inverse de protons, ce qui affecte l'activité cellulaire (**Davidsons, 2001**).

I.2. Activité antioxydante:

Dans cette étude les résultats montrent que les huiles essentielles de *Thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* présentent, in-vitro, une activité antioxydante remarquable avec des valeurs Ec_{50} obtenus qui permettent de classer les HEs testées en fonction de son pouvoir réducteur de fer. L'huile essentielle de *T capitatus* a un $Ec_{50}=0,27$ ce qui traduit un pouvoir réducteur meilleur que celui de EH de *E globulus* avec $Ec_{50}=0,47$. mais ils restent plus faibles que celle de l'acide gallique avec $Ec_{50}=0,065$ qui a le pouvoir réducteur le plus fort.

La méthode de frap a été réalisée pour mettre en évidence l'activité antioxydante des huiles essentielles, les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles et l'acide gallique (employé dans cette méthode comme un contrôle positif) cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre le fer ferrique Fe^{2+} et les composés présents dans HEs le fer ferrique présent dans le complexe de ferricyanure de potassium se réduit en fer ferreux par ces composés (**Habibou et al, 2019**).

D'après plusieurs chercheurs qui ont observé une réponse linéaire entre la capacité phénolique total et l'antioxydant dans frap. On a conclu que la plante de *T capitatus* et *E globulus* présentent une activité antioxydante , cela peut être due aux différentes molécules présentes dans les extraits testés dont elles les composés phénoliques (**Ghasmi Pirbalonti et al 2004**).

Enfin, nous concluons que la partie aérienne de la plante *T capitatus* et *E globulus* a une activité antioxydante remarquable et importante, qui peut être due à la présence de différentes molécules dans les HEs testées. Ces plantes peuvent être considérées comme un futur candidat prometteur en tant que complément alimentaire ,il est donc essentiel d'établir les bases scientifiques de leurs actions thérapeutiques, qui peuvent servir de source pour le développement des médicaments efficaces . Ce travail est encore préliminaire et mérite d'être reproduit par d'autres techniques antioxydantes.

Conclusion générale

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances, l'objectif primordial assigné par cette études et évaluer les propriétés antifongiques et antioxydantes de la plante *Thymus capitatus* et *Eucalyptus globulus* utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour traitement plusieurs maladies.

Les huiles essentielles de différentes organes des plantes étudiés ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un hydro distillateur de type cleverger .

Les résultats obtenus montrent que *Thymus capitatus* a présenté un bon rendement de 3,2% ; tandi que *Eucalyptus globulus* a montré un moyen rendement de 0,48%.

Le pourcentage de la résistance vis à vis *Penicillium italicum* pour l'huile essentielle de *Thymus capitatus* étaient respectivement de l'ordre de 100% ; et de 10%,20%,33,4% pour l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* , ces taux sont aussi alarmants dues à la rareté de ce phénotype en Algérie et à la menace de la dissémination de cette résistance dans la molécule.

Pour l'activité antifongique des HEs vis-à-vis *Candida parapsoriasis* ; le *Thymus capitatus* a un diamètre de zone d'inhibition élevé ,de l'ordre de 45mm, par rapport a celui provoqué par *Eucalyptus globulus* qui est de 4mm .

Les résultats de la méthode de réduction frap montrent que les huiles essentielles ont une capacité à réduire le fer qui augmente avec l'augmentation de la concentration du produit testé, les valeurs Ec_{50} permetent de classer cette capacité , $Ec_{50}=0,27$ marquée par *Thymus capitatus* a montré une activité anti-oxydante plus élevée par rapport à celle d'*Eucalyptus globulus* ($Ec_{50}=0,47$).

À la lumière de ces résultats de nombreuses perspectives peuvent être soumises pour des études complémentaires précises et approfondies telles que la réalisation d'autres méthodes d'extraction d'huiles essentielles. L'évaluation des activités antifongiques en changeant les milieux de cultures et les souches testées et en fin évaluer d'autres activités biologiques telle que l'activité insecticide; bactéricide et raticide.....

Références bibliographiques

1. Abert Vian et al, In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus capitatus essential oils. Letters in applied microbiology, 2008. 29(2): p. 130-135.
2. AFNOR (janvier 2010) Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités>.
3. ALI S.I., JAFRI S.M.H. et EL GADI A. (ed.), 1976. Flora of Libya. Al Faateh University. Tripoli. 1976 [i.e. 1977]-1989. fasc. 1-147
4. André , Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de Lavandula officinalis sur les moisissures des légumes secs. 1998.
5. ANONYME, 2012 : avis de validation d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes, journal officiel du 8 mai 2012.
6. Bakkali et al, Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de Rosmarinus officinalis L. par la méthodologie de surface de réponse. J. Mater. Environ. Sci., 2008. 6(8): p. 2346-2357.
7. Bakkali., Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. 2008.
8. Bellakhdar ,Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). 1997: Lavoisier.
9. Berhaut *et al*, 2003 stockage et conservation des grains à la ferme (qualité- stockage), stockage à la ferme, (arvalis – institut du végétal) et jean-pierre criaud (grceta de l'evereucin), ARVALIS - institut du végétal.
10. Boyle., Optimisation des techniques d'extraction par hydrodistillation et hydrodistillation assistée par microonde de l'huile essentielle de thymus capitatus espece poussant en Algérie. 1955.
11. Burt., et al., Optimisation de la stabilité d'une émulsion de Pickering H/E à l'aide de la méthodologie des surfaces de réponses. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2004. 95(1): p. 77-82.
12. Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc. Volume 2.2002.
13. Charles, Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. 2012.
14. Dibong et al.,. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyses des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie.

- Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches. Vol. 73. 2011, Montpellier : CIHEAM / FranceAgriMer. 222.
15. Dob et al, Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Ghislenghien: Pranarôm International, 2006.
 16. Duarte, Figueira, Sartoratto, Rehder & Delarmelina, 2005
 17. Duarte, Leme, Delarmelina, Soares, Figueira & Sartoratto, 2007 ; Giron, Aguilar, Caceres & Arroyo, 1988)
 18. Elqaj et al, 2007., Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret.
 19. Essawi et al. Santa, 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris. 2.
 20. Favier, B.M., Optimisation des procédés d'extraction de l'huile essentielle du thym *capitatus* et activité antimicrobienne. 2003, Université M'hamed Bougara de Boumerdès.
 21. Fekih, N., Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinus* poussant en algérie. 2015.
 22. Franchomme et al, Chemical composition of the essential oil of creeping thyme (*Thymus capitatus*) growing wild in Lithuania. *Planta medica*, 1990. 64(08): p. 772-773.
 23. Franchomme et al., Les plantes en famille. 1990. 56.
 24. FRANCHOMME, P., JOLLOIS, R., PENOEL, D. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles Editions Jollois, 2001.
 25. HALIMI, 2004, Berti, Alger, P :243
 26. Hazzit et al., Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *foeniculum vulgare* Mill. 2009.
 27. Jha et al., Christian Martin, Vincent Cattoir, Bactériologie Médicale Techniques usuelles. 3 ed. 1995.
 28. JULIEN 1894 - Flore de la région de Constantine, p :250.
 29. Kalembe et al, Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Université de Limoges, 2003.
 30. Kurita, Miyaji, Kurane & Takahara, Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. capitatus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 1981. 83(118): p. 132.

31. l'HE_s (Modzelewska et al Creighton, Introduction aux plans d'expériences-3ème édition-Livre+ CD-Rom. 2005: Dunod.
32. LE FLOC'H E. & L. BOULOS ,2008- Flore de Tunisie, catalogue synonymique commenté. 310p. Montpellier.
33. MAIRE R., 1957 - Flore de l'Afrique du Nord - Volume 4
34. Marilynne Abert Vian et al ., Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: Séparation, identification et mode d'action. 2010, Université de Corse.
35. Morales., La qualite des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicite. Université de Lorraine, Nancy, 2002.
36. MUNBY G., 1847, FLORE DE L'ALGERIE, p : 102
37. MUNBY G., 1858_Catalogus plantarum in Algeria sponte nascentium ,p :31
38. Muthu et al.,, Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Lavandulaofficinalisde la région de Tlemcen. 2006.
39. Quézel, Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algerien. 1963.
40. RAMEAU J.-C., D. Mansion, G. Dumé et C. Cauberville, 2008, Flore Forestiere Francaise 3, Région méditerranéenne, p : 1209
41. Sell, Activité antifongique des huiles essentielles de Thymus bleicherianus Pomel et Thymus capitatus (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 2006. 12(4): p. 345-351.
42. Sevanian et al., 1990; Valko et al, Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil, et de persil., in Departement de chimie. 2007, Université d'Oran Ahmed Ben Bella.
43. Smith-Palmer, Stewart & Fyfe, 2002
44. Stahl-Biskup et Saez , Huiles essentielles de thym capitatus et d'origan. 2002, INA.
45. Stahl-Biskup et Saez, S. Benmeziane, and M.E. Rahmani-Berboucha, Etude comparative des activités biologiques des huiles essentielles et extraits volatiles (CO₂ supercritique) de plantes aromatiques du genre Thymus capitatus . 2002.
46. VALDES B., M. Rejdali, A. Achhal EI Kadmiri, J. L. Jury et J. M. Montserrat.
47. Vila et al La chimie des huiles essentielles: Tradition et innovation. 2002: Vuibert.
48. Walker et al, Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. 1982, Université d'Avignon.

49. www.jardinage.ooreka.fr