

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

الدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية

-الحراش -الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE

ELHARRACH - ALGER-



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences agronomiques

Thème

Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de quelques plantes poussant dans la région de Djelfa : le thym (*Thymus guyonii* et *Thymus algeriensis*), l'armoise rouge (*Artemisia campestris*) et l'anacycle de valence (*Anacyclus valentinus*)

Présentée par : Mme HEFFAF Fatiha Epse DERRADJI

Le jury :

Président : M. BENCHABANE O.

Professeur (ENSA)

Directeur de thèse : M. HAZZIT M.

Professeur (ENSA)

Co- promotrice : Mme. MOUHOUCHE F

Professeur (ENSA)

Examineurs : Mme. YAHIAOUI K.

Professeur (Université Boumerdes)

Mme. AOUS W.

MCA (Université Boumerdes)

Mme HADJADJ N.

MCA (Université Blida1)

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de mon directeur de thèse **Mr. HAZZIT Mohamed**, Professeur au Département de la Technologie Alimentaire à l'École Nationale Supérieure Agronomique, je le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience et sa disponibilité tout au long de ce travail*

*Mes remerciements vont également à **Mme MOUHOUCHE F**, Professeur au Département de Zoologie Agricole et Forestière à l'École Nationale Supérieure Agronomique pour son aide et ses précieux conseils et de m'avoir accepté dans son laboratoire. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.*

*Je remercie Monsieur **BENCHABANE O**, Professeur au Département de la Technologie Alimentaire à l'École Nationale Supérieure Agronomique pour avoir bien voulu accepter de présider mon jury.*

*Mes remerciements vont à **Mme Yahiaoui K**, Professeur à l'Université de Boumerdes pour avoir accepté de faire partie de mon jury.*

*Mes remerciements vont également à **Mme AOUS W**, Maître de conférences à l'Université de Boumerdes et **Mme HADJADJ N** Maître de conférences à l'Université de Blida1 pour avoir accepté de faire partie de mon jury.*

Mes remerciements vont à tout personnel du Département de la Technologie Alimentaire

Un grand merci à mon mari, qui m'a toujours soutenu et encouragé.

Enfin, je tiens à exprimer mes sincères gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*À la mémoire de la personne qui mérite le plus
d'appréciation et d'amour, elle restera dans mon cœur*

À ma grand-mère : HOURA. S

*À la source de mes efforts, mon exemple éternel, celui qui
s'est toujours sacrifié pour me voir réussir*

*À toi **PAPA***

À la source de l'amour et de la tolérance

*À toi **maman***

À mon mari et mes enfants

À tous ceux qui m'ont aimé et respecté

Fatiha



Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1
Partie 1: Partie bibliographique.....	3
Chapitre I. Matières actives : les huiles essentielles et les composés phénoliques	3
I.1- Les huiles essentielles	3
I.1.1-Historique des huiles essentielles.....	3
I.1.2- Définition des huiles essentielles (HEs).....	3
I.1.3- Caractéristiques physico-chimiques des Hes.....	4
I.1.4- Composition chimique des HEs.....	4
I.1.4.1- Les terpénoïdes	4
I.1.4.2- Les composés aromatiques	5
I.1.4.3- Composés d'origine diverses	5
I.1.5- Répartition et localisation des HEs	5
I.1.6- Fonction des huiles essentielles	5
I.1.7- Facteurs de variabilité des HEs	6
I.1.8- Toxicité des Hes.....	6
I.1.9- Domaines d'utilisation des HEs	6
I.1.9.1- En industries pharmaceutiques et cosmétiques.....	7
I.1.9.2- En industrie agro-alimentaire	7
I.1.9.3- En phytothérapie	7
I.1.10- Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	7
I.1.10.1- Distillation.....	7
a) L'hydrodistillation.....	8
b) Entraînement à la vapeur.....	8
c) Hydrodistillation à la vapeur d'eau.....	8

I.1.10.2- Extraction à l'eau surchauffée	8
I.1.10.3- Hydrodiffusion	8
I.1.10.4- Extraction par micro-onde.....	9
I.1.10.5- Expression à froid.....	9
1.1.10.6- Distillation par extraction simultanée (SDE).....	9
I.1.10.7- Extraction au CO ₂ liquide	9
I.1.10.8- Extraction au moyen des solvants.....	10
I.1.10.9- Extraction au moyen de méthodes innovantes	10
I.1.11- Analyse chimique des huiles essentielles	10
I.1.11.1- La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	11
I.1.11.2- La spectrométrie de masse	11
I.1.11.3- La chromatographie couplée à la spectrométrie de masse	11
I.2- Les composés phénoliques.....	12
I.2.1- Généralités	12
I.2.2- Classification des composés phénoliques.....	12
I.2.2.1- Les acides phénoliques.....	14
I.2.2.2- Les flavonoïdes.....	14
I.2.2.3- Les tanins.....	15
I.2.3- Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques.....	15
I.2.4- Méthode d'extraction des polyphénols.....	15
I.2.5- Propriétés physicochimiques des polyphénols	16
I.2.6- Rôle physiologique des composés phénoliques.....	16
I.2.7- Intérêts et applications industrielles des polyphénols	16
I.2.8- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	17
Chapitre II. Activité biologique des plantes aromatiques.....	18
II.1- Activité antimicrobienne.....	18
II.1.1- Propriétés antimicrobiennes	18
II.1.1.1- Les principes actifs antibactériens	18
II.1.1.2- Mécanismes d'action des huiles essentielles	19

II.1.2- Activités antifongiques	20
II.1.3- Activités antivirales	21
II.1.4- Facteurs influençant l'activité antimicrobienne	21
II.1.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	22
II.1.5.1- Détermination de la CMI et de la CMB	22
II.1.5.2-Technique par contact.....	22
II.1.5.2.1- Technique de diffusion en disque (en milieu solide)	22
II.1.5.2.2- Technique d'aromatogramme	23
II.1.5.2.3- Méthodes de dilution	23
II.1.5.2.4-Méthode des puits.....	24
II.1.5.3- Technique de micro-atmosphère	24
II.2- Activité antioxydante.....	25
II.2.1- Les radicaux libres	25
II.2.2- le stress oxydant	25
a) Oxydation de l'ADN	26
b) Oxydation des protéines.....	26
c) Oxydation des lipides.....	26
d) Oxydation des glucides	27
II.2.3- Les antioxydants.....	28
II.2.4- Classification des antioxydants	29
II.2.4.1-Classification selon le mode d'action des antibiotiques	29
a)-Les antioxydants de type I	29
b)-Les antioxydants de type II.....	29
II.2.4.2- Classification selon la nature des antioxydants	29
a)-Les antioxydants naturels.....	29
b)- Antioxydants synthétiques	29
II.2.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	30
II.2.5.1- Test d'activité anti DPPH ou test de piégeage du radical DPPH... ..	31
II.2.5.2- Test de piégeage du radical cation ABTS ^{•+}	32

II.2.5.3- Réduction du fer ferrique en fer ferreux (FRAP)	32
II.3- Activité insecticide.....	33
II.3.1- Principaux plantes à effet insecticide	33.
II.3.2- Avantages des biopesticides végétales	34
II.3.2.1- La biodégradabilité.....	34
II.3.2.2- La résistance.....	34
II.3.2.3- La biodisponibilité.....	34
II.3.3- Mode d'action des composés à effet insecticide.....	35
II.3.3.1- Action sur le système nerveux	35
II.3.3.2- Action sur les récepteurs octopaminergiques	35
II.3.3.3- Action sur les stades de développement des insectes	35
II.3.4- Modes de pénétration d'huiles essentielles dans l'insecte	36
II.3.4.1- Par contact	36
II.3.4.2- Par inhalation	36
II.3.4.2- Par ingestion	36
II.3.5- Problème de résistance à l'égard es HEs.....	36
Chapitre III. Monographie des espèces étudiées.....	37
III.1- Description des plantes choisies	37
III.1.1- Généralités sur la famille des lamiacées.....	37
III.1.2- Caractéristiques du genre <i>Thymus</i>	37
III.1.2.1- <i>Thymus algériensis</i>	40
III.1.2.1.1-Description botanique de la plante	40
III.1.2.1.2-Position systématique	41
III.1.2.1.3- Noms vernaculaires	41
III.1.2.1.4-Habitats et répartition géographique.....	41
III.1.2.2- <i>Thymus guyonii</i>	41
III.1.2.2.1-Description botanique de la plante	41
III.1.2.2.2- Position systématique	42
III.1.2.2.3-Habitats et répartition géographique.....	43

III.1.3- Domaines d'application du thym.....	43
III.1.4- Généralités sur la famille des Asteracées	44
III.1.4.1- <i>Artemisia campesris</i>	44
III.1.4.1.1-Description botanique de la plante	44
III.1.4.1.2-Position systématique	44
III.1.4.1.3- Noms vernaculaires	45
III.1.4.1.4-Habitats et répartition géographique.....	46
III.1.4.1.5- Domaines d'application.....	46
III.1.4.2- <i>Anacyclus valentinus</i>	47
III.1.4.2.1- Description botanique de la plante	47
III.1.4.2.2- Position systématique	48
III.1.4.2.3- Noms vernaculaires	49
III.1.4.2.4- Habitats et répartition géographique.....	49
III.1.4.2.5- Domaines d'application.....	49
III.2- Description de l'insecte étudiée	49
III.2.1-Caractères généraux des curculionidés.....	49
III.2.2- Etude bioécologique du charançon du riz.....	50
III.2.2.1- Position systématique de <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	50
III.2.2.2- Répartition géographique.....	50
III.2.2.3- Régime alimentaire.....	51
III.2.2.4- Biologie et cycle de développement de <i>Sitophilus oryzae</i>	51
III.2.3- Dégâts causées par <i>Sitophilus oryzae</i>	54
III.2.4- Les moyens de lutte	55
III.2.4.1- La lutte préventive	55
III.2.4.2- La lutte chimique	55
III.2.4.3- La lutte physique.....	55
III.2.4.4- La lutte biologique	56
III.3- Description des souches microbiennes.....	56
III.3.1- Souches bactériennes.....	56

III.3.1.1- <i>Staphylococcus aureus</i>	56
III.3.1.2- <i>Bacillus subtilis</i>	57
III.3.1.3- <i>Escherichia coli</i>	57
III.3.2- Souches fongiques	57
III.3.2.1- <i>Candida albicans</i>	58
III.3.2.2- <i>Aspergillus brasiliensis</i>	58

Partie 2: Partie expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes	59
I.1- Objectifs.....	59
I.2- Choix de matériel biologique	59
I.2.1- Matériel végétale	59
I.2.2- Matériel entomologiques.....	60
I.2.3- Matériel microbiologique.....	61
I.3- Extraction des huiles essentielles	62
I.3.1- Hydrodistillation avec l'appareil du Clevenger	62
I.3.2- Rendement de l'extraction.....	64
I.3.3- Analyse chimique par GC et GC/MS	64
I.3.3.1-Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (GC)	64
I.3.3.2- Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).....	64
I.3.3.3- Identification des composés	65
I.4- Elaboration des extraits végétaux.....	66
I.4.2- Rendement en extrait	67
I.4.3- Dosages des phénols totaux	67
I.4.3.1- Principe de dosage	67
I.4.3.2- Préparation des réactifs	68
I.4.3.3- Mode opératoire.....	68
I.4.4-Dosages des flavonoïdes.....	69
I.4.4.1- Principe	69
I.4.4.2- Mode opératoire.....	69

I.5- Evaluation de l'activité antioxydante	70
I.5.1- Pouvoir de piégeage du radical libre positif ABTS	70
I.5.1.1- Principe	70
I.5.1.2- Mode opératoire.....	70
I.5.2- Pouvoir de piégeage du radical libre DPPH.....	72
I.5.2.1 Principe	72
I.5.2.2- Mode opératoire.....	73
I.6- Evaluation de l'activité antimicrobienne	74
I.6.1- Etude qualitative de l'effet antimicrobien	74
I.6.1.1- Principe	74
I.6.1.2- Préparation de l'inoculum.....	75
I.6.1.3- Préparation des milieux de culture.....	75
I.6.1.4- Dépôt des disques.....	75
I.6.1.5- Expression des résultats	76
I.6.2- Etude quantitative de l'effet antimicrobien	76
I.6.2.1- Principe	76
I.6.2.2- Expression des résultats	77
I.7- Evaluation de l'activité insecticide	77
I.7.1-Test du contact	77
I.7.2- Test d'inhalation	79
I.8-Tests statistiques.....	80
Chapitre II: Résultats et discussions	81
II.1- Rendement et composition chimique des huiles essentielles des <i>Thymus</i>	81
II.1.1-Cas de <i>Thymus guyonii</i>	81
II.1.2- Cas de <i>Thymus algériensis</i>	89
II.1.3- Cas d' <i>Artémisia campestris</i>	94
II.1.4- Cas d' <i>Anacyclus valentinus</i>	101
II.2-Rendement et estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux	105
II.3- Évaluation de l'activité antioxydante.....	108

II.3.1-- Cas des huiles essentielles	108
II.3.2. Cas des extraits éthanoliques.....	111
II.4- Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	114
II.4.1- Étude qualitative de l'activité antimicrobienne de <i>Thymus algeriensis</i> et <i>Thymus guyonii</i>	114
II.4.2- Activité antimicrobienne des Huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris</i> et d' <i>Anacyclus Valentinus</i>	118
II.5- Évaluation de l'activité insecticide	120
II.5.1- Test de l'effet des HEs par contact	120
II.5.2- Test de l'effet des HEs par inhalation.....	125
Conclusion générale.....	128
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 : structure de base des flavonoïdes.....	14
Figure 2 : Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien	20
Figure 3 : Méthode de diffusion sur disque pour les tests de sensibilité aux antibiotiques et HEs	23
Figure 4 : Schéma illustrant la méthode de micro-atmosphère.....	24
Figure 5 : La phase initiale de l'oxydation	27
Figure 6 : Les phases de la peroxydation	27
Figure 7 : Quelques composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes.....	30
Figure 8 : Réaction du radical DPPH avec un antioxydant	31
Figure 9 : Structure chimique du Trolox.....	32
Figure 10 : Schéma de la réaction FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power	33
Figure 11 : Distribution géographique du genre <i>Thymus</i> dans le monde	37
Figure 12 : <i>Thymus algeriensis</i>	40
Figure 13 : <i>Thymus guyonii</i>	42
Figure 14 : <i>Artemisia campestris</i>	45
Figure 15 : Répartition géographique globale d' <i>Artémisia campestris</i> L.....	46
Figure 16 : <i>Anacyclus valentinus</i> L	47
Figure 17 : <i>Anacyclus valentinus</i>	48
Figure 18 : Les différents états de développement de <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	53

Figure 19: Dégâts causés par <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	54
Figure 20: <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	61
Figure 21: Elevage en masse de <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	61
Figure 22: Appareil d'extraction d'huile essentielle type Clevenger	63
Figure 23: Un évaporateur rotatif	66
Figure 24: la formule de l'acide gallique	67
Figure 25 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique	68
Figure 26: Formule chimique de la quercétine	69
Figure 27 : Droite d'étalonnage de la quercétine.....	70
Figure 28: Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant AH.....	72
Figure 29: Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH	73
Figure 30: Principe de la méthode de diffusion des disques sur gélose	74
Figure 31: Dispositif expérimental adopté pour l'essai contact.....	78
Figure 32: Dispositif expérimental adopté pour l'essai d'inhalation.....	80
Figure 33: Chromatogramme (CG-MS) de l'huile essentielle de <i>T. guyonii</i>	86
Figure 34 : Spectre de masse du p-cymene	86
Figure 35 : Spectre de masse du γ -terpinene	87
Figure 36 : Spectre de masse du thymol methyl ether.....	87
Figure 37: Spectre de masse du thymol	87
Figure 38: Familles chimiques de l'huile essentielle de <i>Thymus guyonii</i>	88

Figure 39: Familles chimiques de l'HE de <i>Thymus algeriensis</i>	90
Figure 40 : Chromatogramme (G-MS) de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i>	91
Figure 41: Spectre de masse du bornyl acetate.....	91
Figure 42: Spectre de masse du terpinyl acetate.....	92
Figure 43 : Spectre de masse du β -myrcene.....	94
Figure 44: Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>	95
Figure 45 : Spectre de masse du cis- β -ocimene.....	95
Figure 46 : Chromatogramme (CG-MS) de l'HE d' <i>Anacyclus valentinus</i>	102
Figure 47: Structure du composé <i>cis</i> -8-Acetoxychrysanthenyl acetate.....	104
Figure 48: Rendement (%) de l'extrait éthanolique (g) à partir de <i>T. algeriensis</i> , <i>T. guyonii</i> , <i>Anacyclus valentinus</i> et <i>A. campestris</i>	105
Figure 49 : Zone d'inhibition des huiles essentielles et des antibiotiques (mm).....	115
Figure 50 : Zones d'inhibition de l'HE de <i>T. guyonii</i> sur quelques microorganismes.....	115
Figure 51: Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris</i> et d' <i>Anacyclus valentinus</i>	119
Figure 52: Pourcentage de mortalité de <i>Sitophilus oryzae</i> par l'effet des HEs (Test du contact).....	121
Figure 53: Régression linéaire de l'effet dose d'HE du <i>T. guyonii</i> sur la mortalité de <i>Sitophilus</i> <i>orysae</i>	122
Figure 54: Régression linéaire de l'effet dose d'HE du <i>T. algeriensis</i> sur la mortalité de <i>Sitophilus orysae</i>	124
Figure 55 : Le pourcentage de mortalité du <i>Sitophilus oryzae</i> par l'effet des HEs (Test d'inhalation).....	126

Liste des tableaux

Tableau 1: Principales classes des composés phénoliques	13
Tableau 2 : Localisation géographique des espèces de thym en Algérie (Quezel et Santa, 1963)	39
Tableau 3: Les espèces étudiées avec leurs provenances	60
Tableau 4: Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées par les huiles essentielles de <i>T. guyonii</i> et de <i>T. algeriensis</i>	62
Tableau 5: Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées par les huiles essentielles d' <i>Artemisia campestris</i> et d' <i>Anacyclus valentinus</i>	62
Tableau 6: Rendement des HEs de <i>T.guyonii</i> de différentes régions en Algérie.....	81
Tableau 7 : Composition chimique (%) des HEs de <i>Thymus guyonii</i> (T.g) et <i>T. algeriensis</i> (T.a) de Djelfa	82
Tableau 8: Principaux composés des huiles essentielles de <i>Thymus guyonii</i> de différentes régions.....	88
Tableau 9: Comparaison des rendements (mL/100g MS) en huile essentielle de quelques échantillons de <i>Thymus algeriensis</i>	89
Tableau 10 : Principaux composés (%) des l'HEs de <i>T. algeriensis</i> d'Algerie, de Tunisie, du Morocco et de Lybie	93
Tableau11 : Composition (%) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i>	96
Tableau 12 : Principaux composés de l'huile essentielle d' <i>Artemisia campestris</i> de différentes origines	99
Tableau 13: Composition (%) de l'huile essentielle d' <i>Anacyclus valentinus</i>	102
Tableau 14 : Phénols totaux et flavonoïdes des extraits éthanoliqes de <i>T. guyonii</i> , <i>T. algeriensis</i> , <i>A. campestris</i> et d' <i>Anacyclus valentinus</i>	106

Tableau 15: Phénols totaux (mgEAG/g Extrait) et flavonoides (mg EQ/g extrait) d' <i>A. campestris</i> de différentes origines	107
Tableau 16 : Activité de piégeage du radical DPPH (%) du BHT, du Trolox et des huiles essentielles de <i>T. guyonii</i> , <i>T. algeriensis</i> , <i>Artemisia campestris</i> et <i>Anacyclus valentinus</i> ...	109
Tableau 17: Activité de piégeage du radical ABTS (%) du BHT, du Trolox et des HEs de <i>T. guyonii</i> , <i>T. algeriensis</i> , <i>Artemisia campestris</i> et <i>Anacyclus valentinus</i>	110
Tableau 18. Activités de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS exprimées en termes d'IC ₅₀ (mg/L) du BHT, du Trolox , des extraits éthanoliques et des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> , <i>T. guyonii</i> , <i>Anacyclus valentinus</i> et d' <i>Artemisia campestris</i>	111
Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des HEs de <i>T. algeriensis</i> et <i>T. guyonii</i>	114
Tableau 20 : Concentrations minimales inhibitrices des HEs (CMI) de <i>T. algeriensis</i> et <i>T. guyonii</i>	117
Tableau 21 : Zones d'inhibition des HEs d' <i>Artemisia campestris</i> et d' <i>Anacyclus valentinus</i>	119
Tableau 22. Mortalités corrigées en fonction des doses d'HE du <i>T. guyonii</i> par effet de contact	122
Tableau 23: Mortalités corrigées en fonction des doses d'HE du <i>T. algeriensis</i> par effet de contact	123
Tableau 24: Taux de mortalité (%), DL ₅₀ et DL ₉₀ (µL/L air) de <i>Sitophilus oryzae</i> par les huiles essentielles de <i>T. guyonii</i> et <i>T. algeriensis</i> dans le test d'inhalation.....	125

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AChE : Acétylcholinestérase

ADN: Acide ribonucléique

AFNOR: Association Française de Normalisation

ANOVA: Analyse de la variance

ATTC : American type culture collection

BHA: Butyl Hydroxy Anisole

BHT: Butyl Hydroxy Toluen

cfu/ml : unités de colonies formés / millilitre

CG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

CI50 : Concentration Inhibitrice à 50% **CMB** :

Concentration Minimale Bactéricide **CMI** :

Concentration Minimale Inhibitrice **CPG** :

Chromatographie en Phase Gazeuse

DL50: Dose létale pour 50% de la population **DL90**:

Dose létale pour 90% de la population **DPPH** : radical

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl **EAG** : équivalent acide
gallique

EAT : équivalent acide tannique

EEs: extraits éthanoliques

EQ : équivalent quercétine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FCR : Folin-Ciocalteu Reactif

GABA : Acide gamma aminobutyrique

GAE : Equivalent d'Acide Gallique

IC50 : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux

IR : Indice de Rétention

h : heure

HE: Huile Essentielle **HR**:

humidité relative **Log**:

logarithme décimal **MH**:

Mueller Hinton **Min** : minute

MS : matière sèche

N : nuit d'incubation

Nm : Nanomètre

QE: Equivalent de quercétine

Rd : Rendement en huile essentielle

SAB: Gélose Sabouraud

SDE : Extraction distillations simultanées

SM : Spectrométrie de Masse

Introduction générale

Introduction générale

Depuis une trentaine d'années, physiologistes, biochimistes, chimistes, écotoxicologues, phytopathologistes et zoologistes agricoles unissent leurs efforts dans la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale susceptibles de permettre à l'humanité de lutter efficacement et durablement contre les nuisibles, tout en préservant les différents agro-écosystèmes et l'homme (**Newman et Cragg 2012 ; Ducourthial G, 2016**). En identifiant, dans les plantes aromatiques et médicinales (PAM), les molécules allélochimiques biodégradables, on sera en mesure de mener une protection biologique sans pollution de la nature et nuisibilité de l'environnement. Actuellement, les PAM occupent une place importante, grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles ainsi que leurs utilisations dans plusieurs domaines d'intérêt économique : en agroalimentaire, médecine, phytothérapie, parfumerie, cosmétique..etc

Les huiles essentielles et les extraits alcooliques possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoire, antioxydante etc...) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques.

Les HEs présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leur incidence sur la conservation des produits alimentaires. Ainsi, ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, qui ont montré des effets nuisibles (effet carcinogène) (**Paradiso et al., 2006**). De nombreuses études s'orientent vers la recherche d'antioxydants naturels parfaits, à la fois sûrs et efficaces.

Au cours des dernières décennies, la fréquence des infections microbiennes a considérablement augmenté, notamment avec l'émergence de la résistance développée par les micro-organismes vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques de synthèse (**Uddin et al., 2021**), constituant ainsi un problème de santé majeur. D'un autre côté, au cours de leur préparation ou de leur entreposage, les denrées alimentaires sont susceptibles d'être dégradées par des attaques parasitaires notamment par des moisissures (**Senhaji et al., 2006**).

Les huiles essentielles dérivées de plantes aromatiques peuvent constituer aussi des alternatives efficaces aux insecticides actuellement utilisés surtout contre les ravageurs des denrées stockées. *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae), le charançon du riz, est l'un des ravageurs les plus importants et les plus nuisibles trouvés dans les céréales stockées dans le monde (**Park et al., 2003**). **Gupta et al.(1999)** ont signalé qu'il cause des pertes considérables de céréales, affectant la quantité et la qualité des céréales et des produits céréaliers, ainsi que la viabilité des semences. La fumigation reste l'une des méthodes les plus efficaces pour contrôler les insectes des produits stockés. Les pesticides de synthèse présentent des inconvénients qui limitent leurs emplois. Il s'agit notamment de la présence dans les denrées de résidus, du développement de souches d'insectes résistantes à ces insecticides, de la pollution de l'environnement, de nombreux cas d'intoxication et d'empoisonnement signalés dans certains pays (**Ahmed et al., 2002 ; Benhalima et al., 2004**).

La richesse de l'Algérie en plantes aromatiques et médicinales fait que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles.

L'objet de cette recherche est la valorisation de quatre plantes aromatiques qui poussent spontanément dans la wilaya du Djelfa et l'étude de leurs propriétés biologiques. Pour ce faire, notre recherche a porté sur :

- Description botanique des parties aériennes des quatre espèces étudiées : *Thymus guyonii* , *Thymus algeriensis*, *Artemisia campestris* et *d'Anacyclus valentinus*;
- Extraction des huiles essentielles et des extraits éthanoliques non volatiles des plantes testées.
- Étude de l'activité antioxydante des différentes huiles essentielles et extraits.
- Évaluation de l'activité antimicrobienne des différentes huiles essentielles.
- Étude de l'activité insecticide des huiles essentielles de *Thymus guyonii* et de *Thymus algeriensis* contre *Sitophilus oryzae* en testant leurs effets sur la mortalité des adultes selon deux modes de pénétration (contact et inhalation).

Partie bibliographique

CHAPITRE I:

**Matières actives :
Les huiles
essentielles et les
composés phénoliques**

Chapitre I. Matières actives : Les huiles essentielles et les composés phénoliques**I.1- Les huiles essentielles****I.1.1- Historique des huiles essentielles**

L'utilisation des huiles essentielles remonte à l'antiquité, les égyptiens les utilisaient dans la conservation des momies, l'aromatisation des bains et la désinfection de plaies (**Möller, 2008**). Les romains et les grecs ont aussi eu recours aux huiles essentielles pour leurs bains. A Athènes, au Vème siècle avant JC, lors de la grande épidémie, la fumigation des personnes malades avec des plantes aromatiques est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques (**Sallé, 1991, Buchbauer et al., 1993**).

Le terme aromathérapie désigne l'utilisation des plantes afin de traiter des pathologies et d'améliorer sa santé et son bien-être. Il est utilisé pour la première fois en 1930 par un pharmacien français, René-Maurice Gattefossé. Dans les années 1960, le Docteur Jean Valnet reprend les travaux de Gattefossé et publie des ouvrages de référence d'aromathérapie (**Valnet 1984**). Depuis une trentaine d'années, l'aromathérapie est accessible à tous, et les connaissances en la matière n'en finissent de grandir. En 1975, c'est Pierre Franchomme, biochimiste français, qui fondera le premier laboratoire spécialisé en huiles essentielles. Grâce à son travail, les spécificités biochimiques de chaque huile sont plus faciles à identifier (**Baudoux, 2008**).

I.1.9- Domaines d'utilisation des HEs

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs :

I.1.2- Définition des huiles essentielles (HEs)

Les HEs représentent la composante la plus subtile et purifiée de la plante (**Padrini et Lucheroni, 1996**). Le terme "huile" souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances (**Bernard et al., 1988 ; Bruneton, 1993**) et le terme "essentielle" désigne la caractéristique principale de l'odeur forte dégagée par la plante (**Pharmacopée européenne, 2008**).

L'AFNOR (Association Française de Normalisation), a donné une définition précise et officielle de l'huile essentielle, qui doit être « obtenue à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche » (**AFNOR, 2000**). Elles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales. Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétale (**Teuscher et al., 2005**).

I.1.3- Caractéristiques physico-chimiques des HEs

Les huiles essentielles possèdent un nombre de propriétés physiques:

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur ;
 - Elles ont un indice de réfraction élevé et leur point d'ébullition varie de 160° à 240 °C;
 - Leur densité est en générale inférieur à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 avec quelques exceptions ;
 - A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pales
- Certaines sont altérables, très sensibles à l'oxydation

I.1.4- Composition chimique des HEs

La détermination de la composition chimique a intéressé de nombreux chercheurs et les méthodes d'analyse chimique de plus en plus sophistiqués ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants des huiles essentielles.

Ces huiles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes distincts caractérisés par des origines biogénétiques distinctes (**Bruneton, 1999**) :

I.1.4.1- Les terpénoïdes

Ce sont des molécules constituées d'un assemblage de plusieurs molécules s'isoprène (C₅H₈). Ces terpènes sont très volatils et regroupent les monoterpènes (C₁₀H₁₆) et les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄). Selon **Bruneton (1995, 1999)**, les monoterpènes sont présents dans la quasi-totalité des HEs, ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène). Les sesquiterpènes sont les moins répandus et ils sont mono ou polycycliques (β -caryophyllène). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools, phénols, esters, aldéhydes et autres (**Bruneton, 2009**) et à côté des composés majoritaires on trouve des composés minoritaires et d'autres sous forme des traces (**Pibiri, 2006**).

I.1.4.2- Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les HEs des composés en C6-C1 comme la vanilline ou comme l'eugénol (**Bruneton, 1999**)

I.1.4.3- Composés d'origine diverses

Il s'agit là des produits résultants de la transformation de molécules non volatiles (alcools, esters acycliques et des produits azotés ou soufrés) (**Bruneton, 1995**).

I.1.5- Répartition et localisation des HEs

Les plantes aromatiques sont largement répandues dans le monde, notamment en Asie du Sud et du Sud-Est. En Afrique, plus de 5 000 espèces de plantes sont utilisées à des fins médicinales (**Pandel et al (2020)**).

Les HEs sont emmagasinées dans des structures spécialisées de plante au niveau des fleurs, des feuilles, des fruits, des graines, des écorces ou des racines (**Philogene et al., 2008**).

Les HEs sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules, elles s'en séparent par synérèse sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues et s'accumulent dans des cellules glandulaires.

Selon **Belaiche (1979)**, la morphologie des formations glandulaires permet de distinguer différents types d'éléments sécréteurs :

- ❖ Des poches sécrétrices (Myrtacées).
- ❖ Des cellules sécrétrices incluses dans l'épiderme ou à l'extrémité des poils (Lauracées).
- ❖ Les poils sécréteurs (Lamiacées). ❖ Des canaux sécréteurs (Astéracées) .

I.1.6- Fonction des huiles essentielles

Le rôle des HEs n'a pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produit de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation (**Bruneton, 1995**).

Certains terpènes linéaires interviennent par ailleurs dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 1996**), facilitant certaines réactions chimiques. Selon **Belaiche (1979)**, les HEs conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques.

I.1.7- Facteurs de variabilité des HEs

La qualité des huiles essentielles varie selon plusieurs facteurs (**Regnault-Roger, 2008**):

- Les facteurs génétiques : La composition en molécule allélochimique varie d'une espèce à une autre et même dans la même espèce.
- Les facteurs physiologiques : La proportion en HE varie en fonction du cycle végétatif.
- Les facteurs pédologiques et climatiques : la composition d'une huile essentielle varie selon la nature du sol et du climat. Une même plante suivant son biotope donne des chémotypes différents.
- Les facteurs analytiques : les différents procédés d'obtention des huiles essentielles interfèrent sur les constituants extraits.

Donc, pour assurer la qualité du produit et de sa constance, il faut étudier, définir et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final (**Bruneton, 1999**).

I.1.8- Toxicité des HEs

Certaines essences peuvent présenter un risque de toxicité si elles sont utilisées en quantité élevée, l'on entend 10 à 20 ml d'essence. D'autres bien que ne présentent pas de risque de toxicité, peuvent être irritantes, (**Padrini et Lucheroni 1996**). Une forte dose d'HE peut être neurotoxique chez les rats (**Huignard et al., 2008**) et une dose de 2g du menthol peut induire un spasme et la même dose pour le carvacrol peut provoquer une gastralgie avec nausée (**Bruneton, 1999**).

Néanmoins, et d'après **Isman (2000)**, l'utilisation d'une huile essentielle tout au moins aux doses utilisées pour tuer les insectes ne présentent pas des risques pour les utilisateurs.

I.1.9.1- En industries pharmaceutiques et cosmétiques

Dans leur grande majorité, les plantes médicinales sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions et des produits antiseptiques externes.

En effet, les HEs ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures. L'effet biologique a souvent été trouvé supérieur à celui de plusieurs fongicides du commerce (**Singh et al., 1983**). De plus, les HEs sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques ; ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection (**Duquenois, 1968 ; Valnet, 1984**). Elles sont utilisées comme anti-infectieux (girofle, eucalyptus). Les essences d'eucalyptus qui, à leur volatilité, favorisent l'expectoration et sont, de ce fait, indiquées dans les bronchites chroniques (**Duquenois, 1968**).

Les HEs rentrent dans la fabrication des produits d'hygiène et ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (**Turgeon, 2001**).

I.1.9.2- En industrie agro-alimentaire

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps (**Turgeon, 2001**). C'est pour cela, plusieurs études ont mis en évidence l'importance des HEs dans la conservation des aliments (**Busta et Foegeding, 1983**).

I.1.9.3- En phytothérapie

Les substances extraites des plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité dans le traitement de plusieurs maladies (**Domar et Bourneuf, 1990**). La phytothérapie contemporaine est devenue une véritable science.

I.1.10- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe diverses méthodes pour extraire les huiles essentielles, celle la plus utilisée étant la distillation par entraînement à la vapeur. L'extraction des huiles essentielles peut être réalisée à partir des fleurs, des feuilles, des racines ou encore des graines de la plante.

I.1.10.1- Distillation

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile facilement analysable par chromatographie en phase gazeuse avec une technique relativement simple et un coût plus bas (**Benjilali, 2004**). IL existe trois modes de distillation :

a) L'hydrodistillation

Cette technique consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**). L'extraction qui s'effectue à température élevée, à pH acide peut engendrer des réactions secondaires au sein de l'huile essentielle (**Benhabiles, 1995**).

b) Entraînement à la vapeur

Elle consiste à récupérer l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales au moyen de la vapeur d'eau. La matière première aromatique est mise dans un alambic dans lequel est injecté de la vapeur d'eau formée par une chaudière ou un générateur de vapeur. La vapeur chargée d'huile essentielle est condensée par refroidissement dans un condenseur avant d'être récupérée dans un essencier (**Guenther, 1972**).

c) Hydrodistillation à la vapeur d'eau

C'est un processus couplant l'entraînement à la vapeur avec l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale baignant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans une ampoule à décanter où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes (**Bachelot et al., 2006**).

I.1.10.2- Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température de 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à une température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (**Basile et al, 1998**).

I.1.10.3- Hydrodiffusion

Le principe de ce nouveau procédé consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, de haut vers le bas à travers le végétal disposé sur une grille à l'intérieur d'un parallélépipède métallique, ce qui permet une meilleure répartition de la charge. L'huile essentielle s'écoule vers un collecteur permettant un équilibrage de pressions (**Legast et al, 1983**).

La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Cette technique permet un gain de temps et d'énergie **(Bruneton, 2009)**.

I.1.10.4- Extraction par micro-onde sous vide

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : l'huile essentielle est entraînée dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée **(Bruneton, 1999)**.

Comparée aux techniques d'extraction conventionnelles (Soxhlet), l'extraction assistée par micro-ondes est plus rapide, la consommation de solvants est plus faible et si besoin, des températures plus élevées peuvent être utilisées **(Priscilla et al, 2013)**.

I.1.10.5- Expression à froid

Cette technique est utilisée industriellement pour l'obtention d'huile essentielle d'agrumes, elle consiste à récupérer les composés volatils par des moyens mécaniques (abrasion, perforation, compression, incision et autres). Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois **(Dugo et Diacomo, 2004)**.

I.1.10.6- Distillation par extraction simultanée (SDE)

L'extraction par distillation simultanée ou SDE, est une extraction liquide – liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu le solvant. Cet appareillage conçu pour l'étude d'un grand nombre d'arômes **(Vernin, 1982)**.

I.1.10.7- Extraction au CO₂ liquide

Très moderne et très coûteuse, cette méthode consiste à faire passer un courant de CO₂ à haute pression qui fait éclater les poches à essence et entraîner les substances aromatiques. Elle est utilisée dans l'industrie alimentaire notamment pour l'extraction des produits antioxydants **(Benhabiles, 1995)**.

I.1.10.8- Extraction au moyens des solvants

Les solvants sont utilisés pour extraire l'huile essentielle d'éléments végétaux qui ne supportent pas la chaleur. C'est par exemple le cas de la jacinthe et du jasmin. Cette technique varie selon la variété des solvants utilisés telle que l'extraction par solvants volatils ou par solvants fixes (enfleurage, macération) (**Paris et Hurabielle, 1981**).

L'enfleurage est réservé pour réaliser des huiles florales de très grande qualité et est essentiellement utilisée pour les fleurs qui supportent mal l'action de la chaleur (comme le jasmin, la violette). Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur la graisse sur des châssis de verre qui sont remplacées toutes les 24 heures, les huiles essentielles saturant rapidement la graisse. Le composé obtenu, appelé « pommade », est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée.

La macération ressemble à l'enfleurage. Elle est employée pour extraire les huiles essentielles par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu (L'huile doit être chauffée pour accélérer le processus). Le produit obtenu est une pommade florale (**Bruneton, 1993**). Le lavage de la pommade par un alcool fort aboutit à un extrait alcoolique et on obtient ainsi un absolu de macération (**Benjilali, 2004**).

L'inconvénient majeur de l'extraction par les solvants est leur manque de sélectivité de nombreuses substances lipophiles et le problème des résidus de solvant dans le produit final (**Bruneton, 1999**), pour cela ce procédé est à proscrire pour les HEs à destinations thérapeutiques.

I.1.10.9- Extraction au moyen de méthodes innovantes

Des méthodes innovantes ont été introduites ces dernières années telles que les extractions (distillations ou entraînement à la vapeur) assistées par micro-ondes, par ultra-sons ou par champ électrique pulsé. Une autre technique par micro-ondes sans utiliser de solvant (eau) applicables aux matières fraîches seulement.

I.1.11- Analyse chimique des huiles essentielles

Parmi les méthodes d'analyse des HEs, les méthodes chromatographiques sont les plus utilisées.

I.1.11.1- La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG s'est montrée une méthode appropriée pour la séparation et l'identification des composants d'une huile essentielle, elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (**Paris et Godon, 1979**), dans un temps relativement bref (**Richard et Multon, 1992**).

Cette technique de chromatographie permet de séparer des molécules d'un mélange gazeux, éventuellement très complexe, de natures très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange se séparent et sortent de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

I.1.11.2- La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique analytique très puissante et très sensible permettant d'analyser des composés organiques solides, liquides ou gazeux. Elle permet de déterminer la masse moléculaire, de corréler le spectre d'un composé avec sa structure, d'expliquer des mécanismes de ruptures de liaisons, de trouver les facteurs rendant plus ou moins probable la formation de l'un ou l'autre des fragments ioniques. Par spectrométrie de masse, on peut réaliser des analyses qualitatives et quantitatives.

I.1.11.3- La chromatographie couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, abrégé CPG-SM, est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge (**Burgot et burgot, 2006**).

Cette technique permet d'identifier et de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces et 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 (**Cavalli, 2002**). Le principe de la méthode consiste à soumettre un composé moléculaire à cette analyse en déclenchant un processus à plusieurs étapes (**Pradeau et al, 1992**):

- L'ionisation : les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200°C), il résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ ;
- L'accélération : les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leur énergie cinétique ;
- La séparation : les ions seront distribués suivant leur rapport Masse/ Charge ;
- La détection : les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées ;
- Le traitement du signal : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport Masse/Charge.

L'appareillage CG/MS permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondants à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG.

I.2- Les composés phénoliques

I.2.1- Généralités

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. On les retrouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante de notre alimentation. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux.

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (**Guignard, 2000; Bruneton, 2008**), la glycolyse, la voie des pentoses phosphates et le métabolisme des lipides, ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires (**Kruger et von Schaewen, 2003**).

I.2.2- Classification des composés phénoliques

Selon **Harborne (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Ils peuvent aller de molécules simples, tels

que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (**Lugasi et al., 2003**). Cette classification (**Tableau 1**) est faite selon le nombre et la disposition des atomes, le type de squelette carboné et la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (**Mamoudo et al., 2006**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et les tannins), forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

Tableau 1: Principales classes des composés phénoliques ((**Macheix et al., 2005**))

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféïque, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine	
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes * Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruit, légumes, fleurs.
	* Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	* Flavanols * Flavanones	Catéchine, épicatechine Naringénine	Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3-C6)2 B	Biflavonoïdes	Amentoflavone	
(C6-C3)n	Lignines		Bois, noyaux des fruits
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

I.2.2.1- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques possèdent une forme chimique simple allant du simple phénol en C6. Parmi les acides phénoliques les plus connus : les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques (**Macheix et al., 2005**), l'acide salicylique et l'acide gallique (**Bruneton, 1999**).

I.2.2.2- Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques différentes et des propriétés spécifiques (**Benhammou, 2011**). Les flavonoïdes sont pratiquement présents dans toutes les parties de la plante, en particulier les cellules végétales photosynthétiques (**Kumar et Pandey, 2013**).

En 2003, environ 4000 composés flavoniques sont connus (**Edenharder et Grunhage, 2003**). Ces composés se trouvent sous forme libre, appelée aglycone, ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liés à des oses et à d'autres substances (**Heller et Forkmann, 1993**). Ils ont un squelette de base constituée de deux cycles C6 (A et B) reliés par une chaîne C3 pouvant évoluer en hétérocycle (cycle C) (**Akroum, 2011**).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon les degrés d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta, 2000**) (**Figure 1**). 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et mieux caractérisés : flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavanonols et anthocyanidines (**Hendrich, 2006**).

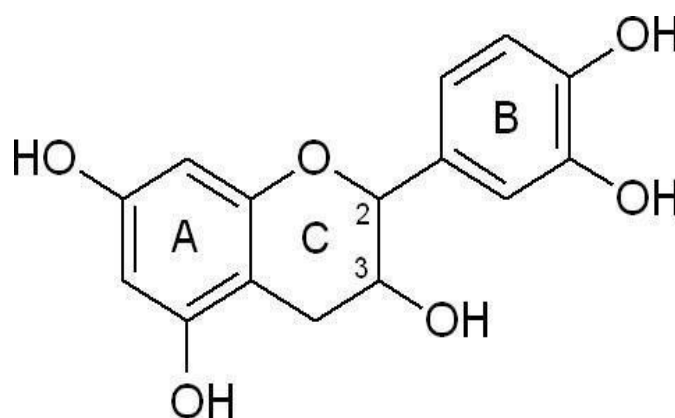


Figure 1: structure de base des flavonoïdes (**Harborne, et Williams, 2000**)

I.2.2.3- Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires d'origines végétales, existant dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (**Cowan, 1999**). Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal, grâce à l'existence des nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable (**Berthod et al, 1999**).

D'après **Porter (1988)**, les tanins sont classés en deux catégories : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

I.2.3- Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques

Différents facteurs physiques, chimiques et biologiques externes ou endogènes jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique.

En fonction, du stade physiologique, les organes jeunes sont plus riches en composés phénoliques que les organes âgés et à l'échelle tissulaire, les composés des feuilles se caractérisent avec une forte teneur des anthocyanes et des flavonols dans les épidermes. Les variations des teneurs en composés phénoliques sont considérables d'une espèce à une autre, à l'intérieur même d'une espèce et peuvent être influencés par les facteurs externes comme la lumière et la température.

I.2.4- Méthode d'extraction des polyphénols

L'utilisation des solvants polaires, conduit à une teneur élevée en composés phénoliques (**Hayouni et al, 2007**). Les extraits obtenus à l'aide des solvants organiques volatils (hexane, éther éthylique, alcool éthylique, acétone, dioxyde de carbone ,... etc) sont plus complets que les huiles essentielles car ils contiennent non seulement les composés volatils mais aussi d'autres constituants qui n'étaient pas entraînés par la vapeur d'eau (triglycérides, cires, colorants de nature lipidique).

Le rendement en polyphénols varie avec la nature du solvant utilisé (méthanol, éthanol, eau, acétone...) (**Koffi et al., 2010**). Notons, que le solvant doit être éliminé avec le plus grand soin de manière à ne pas faire disparaître les constituants les plus volatils.

Par ailleurs, la plupart des solvants utilisés font l'objet d'une réglementation stricte dictée par des considérations de santé. En particulier, leur teneur résiduelle dans les aliments doit être inférieure à 1 mg/kg, par ailleurs, seuls les solvants sans risque de toxicité sont autorisés (**Bruneton, 2009**).

I.2.5- Propriétés physicochimiques des polyphénols

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques sont solubilisés par le bicarbonate et les glycosides ainsi les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, et sont solubles aussi dans les alcools et l'acétone. Les dérivés d'acides cinnamiques tendent à former des isomères dans les solutions aqueuses.

Tous les composés phénoliques sont instables, ils peuvent tous être oxydés, notamment dans les conditions alcalines (Bruneton, 1999). Une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, ce qui entraîne la formation d'anions phénoxydes stabilisés par résonance. Cet anion, a la possibilité de perdre un électron pour former un radical (Sartori-Thiel, 2003) ; l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre. Les substitutions les plus rencontrées sur les phénols des végétaux sont principalement la méthylation et la conjugaison avec des esters et des glycosides, lesquels peuvent être acylés. Les polyphénols sont généralement glycosylés dans leur état naturel (Sartori-Thiel, 2003).

I.2.6- Rôle physiologique des composés phénoliques

Les polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments et des végétaux. Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (Bruneton, 1993), ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (Bruneton, 1993., Hadi, 2004).

Les pigments responsables de la coloration des fleurs représentant des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. D'autres polyphénols incolores tels que les flavonols et les flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer la couleur des fleurs et des fruits (Brouillard et al, 1997). D'après Ress et Harborne (1985), La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques.

I.2.7- Intérêts et applications industrielles des polyphénols

Les polyphénols ont de puissantes propriétés antioxydantes et des effets dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydant (Manach et al., 2004). En plus de

leur capacité antioxydante, les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines industriels.

Les polyphénols interviennent dans la prévention ou le traitement des maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et du cancer.

I.2.8- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire (Marc et al., 2004). Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives.

Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante de composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li et al, 1999). Une autre méthode a été proposée par (Glavind et Holmer, 1967) qui combinent la méthode précédente avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est reliée avec l'oxydation dans les aliments et les systèmes biologiques.

Les méthodes principales comportent, le piégeage des radicaux de superoxyde ($O_2\bullet$) (Sanchez-Moreno, 2002); le piégeage du radical d'hydroxyle ($HO\bullet$), des radicaux peroxy, $ABTS^{\bullet+}$ (2,2- azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate), $DPPH^\bullet$ (2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl) (Brasseur et al., 1995; Maamri, 2008).

CHAPITRE II:

Activités biologiques des plantes aromatiques

Chapitre II- Activités biologiques des plantes aromatiques

Les matières actives présentes dans les plantes aromatiques, sont utilisées pour leurs propriétés : antiseptique, insecticide, fongicide. En effet, elles sont devenues comme des sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**).

II.1- Activité antimicrobienne

II.1.1- Propriétés antibactériennes

Pour lutter contre les agressions microbiennes, nous avons aujourd'hui les antibiotiques ou autres médicaments similaires. Or ces produits, non seulement enravent l'infection mais affaiblissent en même temps l'organisme. Par contre, de récentes études ont pu revaloriser les essences et prouver que leur action antibiotique est exempte de toutes réactions secondaires sur les fonctions de l'organisme.

II.1.1.1- Les principes actifs antibactériens

Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Lamiacées : l'Origan, le thym, la sauge et le romarin sont autant de plantes aromatiques fréquemment utilisées comme ingrédients alimentaires. Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune : elles sont riches en composés phénoliques comme le thymol et le carvacrol. Ces deux composés ainsi que l'eugénol possèdent une forte activité antibactérienne contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogene*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Satphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (**Piochon, 2008 ; Elbouzidi et al, 2013**).

En outre, l'essence du thym a un pouvoir antiseptique supérieur à celui de l'eau oxygénée grâce à sa teneur en thymol. La solution aqueuse du thymol détruit en deux minutes la bacille de typhoïde et du streptocoque (**Chiej, 1982**).

En plus des phénols, les alcools sont connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives. Ils agissent en dénaturant les protéines (**Dorman et Deans, 2000**). Les aldéhydes possèdent aussi des activités antimicrobiennes. Un groupe aldéhydique conjugué à une double liaison est fortement électronégatif. Les composés électronégatifs peuvent induire des réactions de transfert d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie : protéines et acides nucléiques (**Dorman et Deans, 2000**).

II.1.1.2-Mécanismes d'action des huiles essentielles

Les mécanismes par lesquels les huiles essentielles exercent leur activité antibactérienne sont peu connus, mais il y a un certain nombre de mécanismes proposés (**Holley et Patel, 2005**). L'action des huiles essentielles sur le développement des micro-organismes peut être expliquée par: l'altération de la perméabilité membranaire des germes en perturbant les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie (**Sikkema et al., 1995; Chami, 2005; Oussalah et al., 2006; Souza et al., 2006**) et par l'altération des protéines membranaires (**Juven et al., 1994; Ultee et al., 1999**), la coagulation du cytoplasme (**Gustafson et al., 1998**).

L'effet des terpènes sur la membrane bactérienne est attribué à leurs propriétés lipophiles, à la force de leurs groupes fonctionnels et à leur solubilité dans l'eau. Leur site d'action paraît sur la bicouche lipidique de la membrane cytoplasmique cellulaire. Cette altération de la membrane perturbe la régulation osmotique. D'après **Lambert et al., (2001)**, le carvacrol et le thymol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire, le carvacrol est aussi capable de diminuer l'ATP intracellulaire induite par une fuite des protons du potentiel membranaire (**Ultee et al., 2002**).

L' α -pinène, le β -pinène et le limonène inhibent l'activité respiratoire chez la mitochondrie de la levure (**Tepe et al., 2005**). L'effet du clérocidine (un diterpène à effet antibactérien) est testé sur la topoisomérase ; il coupe l'ADN au niveau des guanines précédents le site de clivage de l'ADN, ce qui entraîne la distorsion de la double hélice de l'acide nucléique (**Slamenova et al., 2004**).

Les terpènes-alcools peuvent agir sur la dénaturation des protéines, comme un agent solvant ou comme des agents déshydratants. Les aldéhydes, notamment le formaldéhyde et le cinnamaldehyde, ont une forte activité sur les bactéries. Les aldéhydes conjugués à une double liaison carbonique forment un arrangement électronégatif très fort, ce qui peut expliquer leur activité. Des travaux ont montré que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les bactéries à Gram (-) qui se caractérisent par une membrane externe imperméable (**Dorman et Deans, 2000 ; Holley et Patel, 2005 ; Smith-Palmer et al., 2001**).

En effet, le pouvoir antifongique des terpènes oxygénés est dû à leurs interférences avec les réactions enzymatiques lors de la synthèse de la paroi cellulaire induisant des altérations de la perméabilité cellulaire en perturbant la structure des lipides et entraînant ainsi

des changements de propriétés des fonctions membranaires (Figure 2) (Zambonelli et al., 1996; Inouye et al., 2000).

D'une manière générale, l'action de l'HE se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Daferera et al., 2003).

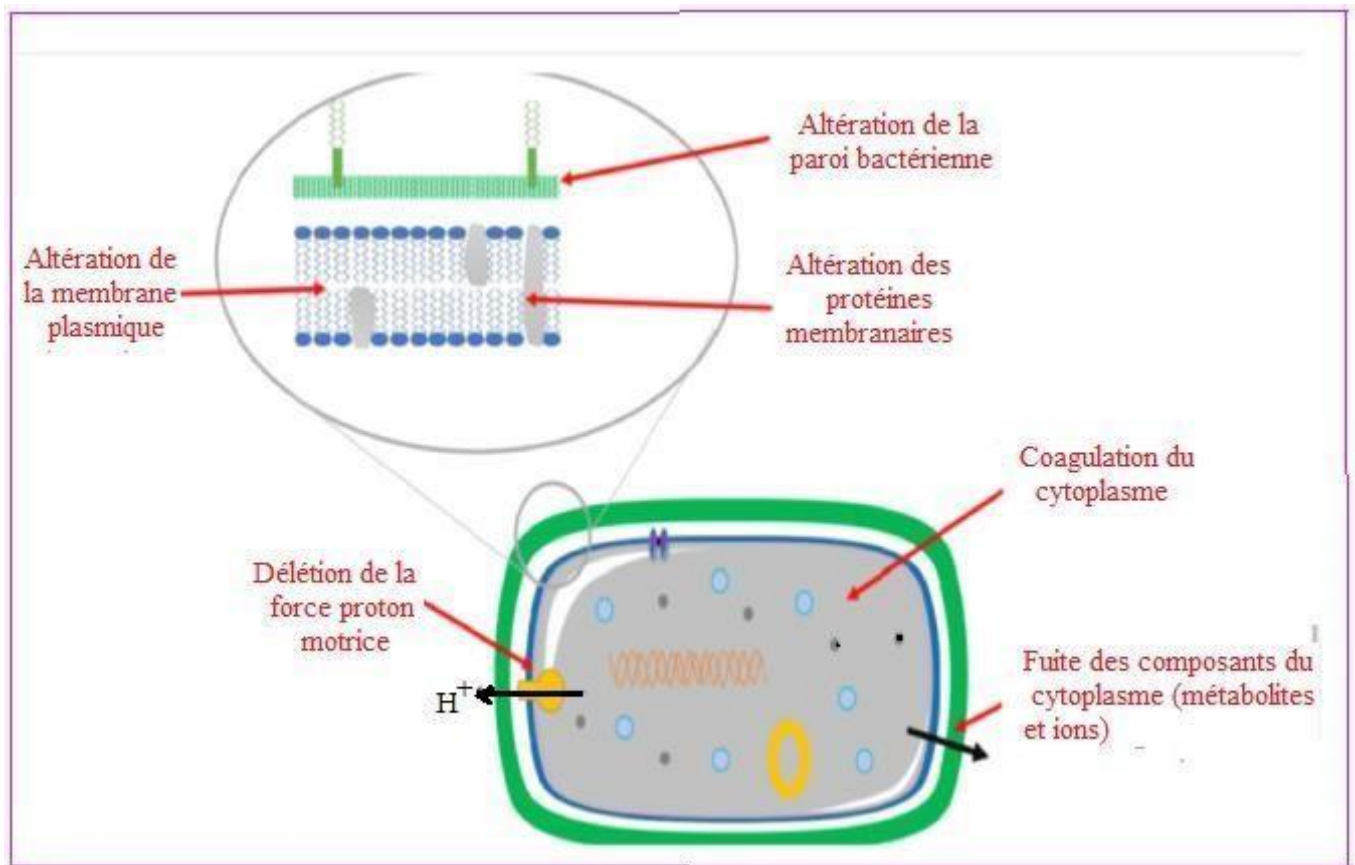


Figure 2: Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien

(Lboumhamdi et al, 2018)

II.1.2- Activités antifongiques

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (Kalemba et Kunicka, 2003). Le pouvoir antifongique est attribué aussi à la présence de certains groupements fonctionnels chimiques dans la composition des

huiles essentielles. Les travaux de **Benjlali et al., (1986)** ont enregistré le pouvoir antifongique de 26 huiles essentielles testées en particulier d'armoise blanche, de thym, d'eucalyptus et de romarin. L'huile essentielle du thym s'est révélée la plus active sur les 37 souches de moisissures étudiées, suivie de l'armoise blanche, celle du romarin et de l'eucalyptus étant les moins efficaces. D'après les travaux de **Uwineza (2018)**, les HEs d'*Eugenia aromatica* et de *Mentha pulegium* ont démontré un effet fongicide vis-à-vis du champignon : *Fusarium culmorum*.

II.1.3- Activités antivirales

Les molécules composant certaines huiles essentielles ont démontré des propriétés antivirales variées :

- Soit en neutralisant le virus avant sa pénétration dans la cellule,
- Soit en modifiant la capsid ou l'enveloppe du virus,
- Soit en bloquant l'accès aux cellules en se fixant sur les récepteurs utilisés par les virus,
- Soit à l'intérieur de la cellule en empêchant la réplication du virus,
- Soit en détruisant l'enveloppe protectrice du virus.

Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**).

II.1.4- Facteurs influençant l'activité antimicrobienne

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HEs ou de leurs composants actifs, tels que le type et la structure moléculaire des composants actifs de l'huile essentielle, la méthode d'évaluation antimicrobienne, la dose ajoutée ainsi que le type de microorganisme ciblé et son éventuelle adaptation (**Hermal, 1993**). Malgré le large spectre d'activité des HEs, les souches Gram négatif ont été signalées comme étant les souches les plus résistantes en comparaison avec les souches Gram positif (**Cosentino et al., 1999; De Billerbeck, 2007**).

D'autres travaux (**Bowles et al., 1995**,) ont mentionné l'influence de la température sur les propriétés d'inhibition de l'aldéhyde cinnamique lorsqu'elle augmente et améliore les propriétés antibactériennes des carbonyles aromatiques lorsqu'elle baisse. **Jay et Rivers (1984)**, ont constaté une augmentation de l'activité de 11 composés actifs à pH=6 par rapport un pH=8.

D'autres facteurs tels que le volume de l'extrait ou l'huile essentielle placée sur le disque d'aromatogramme, l'épaisseur de la couche d'agar, la présence ou non d'agents

émulsifiants, la nature et le type de milieu de culture, le volume de l'inoculum et la durée d'incubation peuvent induire des biais lors de la comparaison des résultats obtenus (**Burt, 2004; Lahlou, 2004**).

II.1.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

La technique de détermination de l'activité antimicrobienne des HEs a une grande influence sur les résultats. Les difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants de ces huiles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (**Huiln et al.,1998**). Le choix de la méthode d'évaluation varie selon le milieu de diffusion (liquide, solide ou gazeux) et selon la nature du contact de l'HE avec le germe en question.

II.1.5.1- Détermination de la CMI et de la CMB

Deux mesures sont à la base de toutes les techniques d'étude de l'activité des HEs ou des antibiotiques :

- La concentration inhibitrice minimale (**CMI**): correspond à la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance d'un nombre déterminé de germes après un temps d'incubation donné en présence de dilutions en série des composés d'essai (**Hulin et al., 1998**). Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique.
- La **CMB** est la concentration bactéricide minimale, plus petite concentration d'antibiotique ou d'HE ne laissant subsister au maximum que 0,01% de survivants de l'inoculum initial après un temps bien déterminé (**Davidson et Parish, 1989**).

II.1.5.2-Technique par contact

II.1.5.2.1- Technique de diffusion en disque (en milieu solide)

Actuellement, cette méthode est la plus connue et la plus utilisée. Sur un milieu gélosé qui aura été préalablement ensemencé avec la bactérie à étudier, un disque de papier buvard contenant les antibiotiques ou les HEs (à différentes concentrations) à tester sera déposé (figure 3).

Cette méthode permet de réaliser un classement en utilisant la relation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre d'inhibition. Pour une bactérie et un antibiotique donné, le diamètre mesuré sera comparé aux diamètres critiques, ce qui permettra de classer la bactérie par rapport à un antibiotique précis.

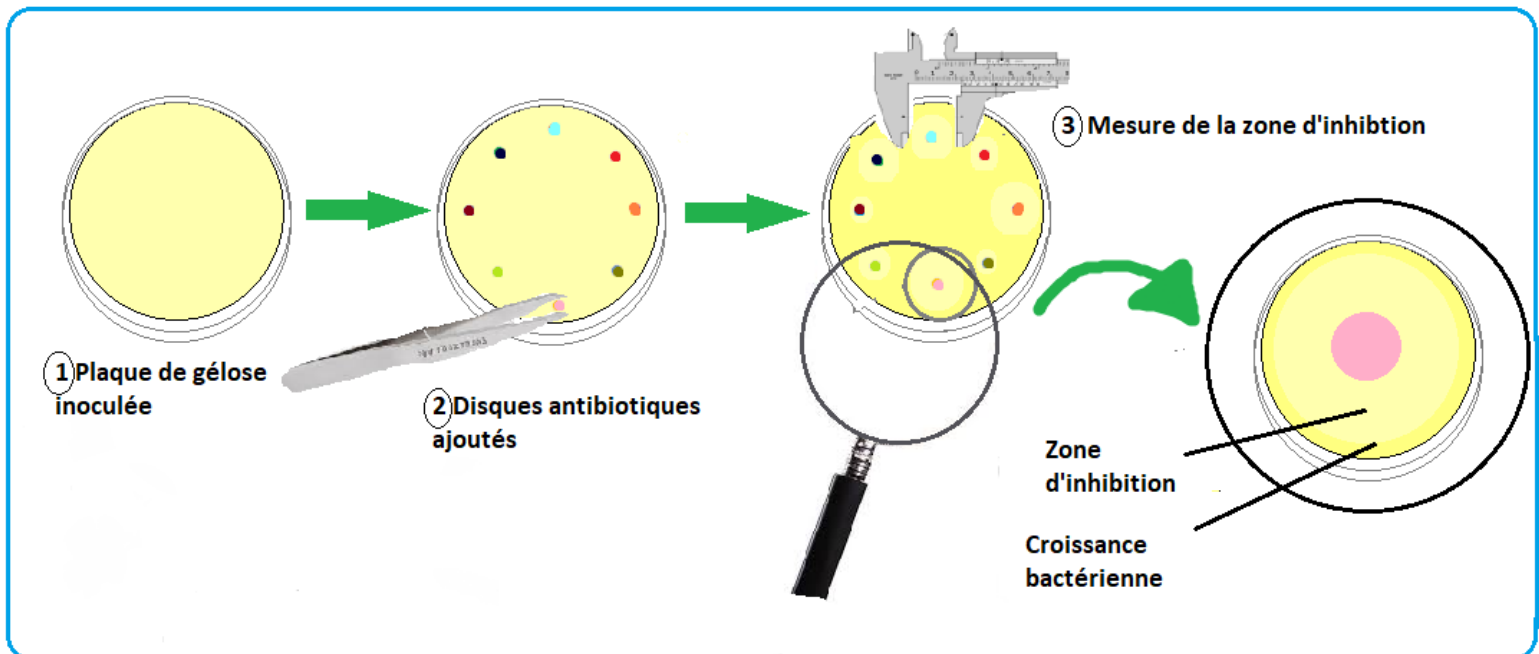


Figure 3 : Méthode de diffusion sur disque pour les tests de sensibilité aux antibiotiques et HEs.

II.1.5.2.2- Technique d'aromatogramme

Les aromatogrammes sont une technique dérivée de la méthode des disques, ils permettent de comparer les efficacités des HEs entre elles. Les disques étant tous chargés de la même quantité d'HE, cette méthode permet de choisir pour une bactérie donnée, l'HE la plus efficace. Cependant, les recommandations et normes « officielles » ne se fondent pas sur des résultats relatifs, mais sur des valeurs chiffrées.

II.1.5.2.3- Méthodes de dilution

Cette méthode consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison de 2. Après 18h à 24h d'incubation à 37°C, la CMI correspond à la concentration à laquelle l'inhibition de la croissance bactérienne est visible à l'œil nu (absence de turbidité dans le tube). La technique de dilution est effectuée en milieu solide ou bien liquide où l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (macro dilution) ou de cupules (micro dilution) contenant l'antibiotique.

II.1.5.2.4-Méthode des puits

La méthode consiste à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. Diffusant radialement, cette dernière forme une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Dorman et Deans, 2000**).

II.1.5.3- Technique de micro-atmosphère

Le disque imprégné de l'huile à étudier est déposé au centre géométrique du couvercle de la boîte de Pétri, et n'entre pas en contact avec la gélose. La boîte est fermée, couvercle en bas et placée dans une étuve à 37°C, au bout d'un certain temps de latence, les colonies microbiennes situées sur l'air d'évaporation de l'huile ont disparu. Si on prolonge l'expérience, on constate que toutes les colonies subissent le pouvoir bactéricide de l'huile qui a alors diffusé à toute la surface de la gélose (**Belaiche, 1979**). La quantité minimale inhibitrice est définie comme la plus petite quantité pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans produit. Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des HEs. Elle montre seulement l'activité des constituants volatils à la température d'incubation (**Hulin et al., 1998**).

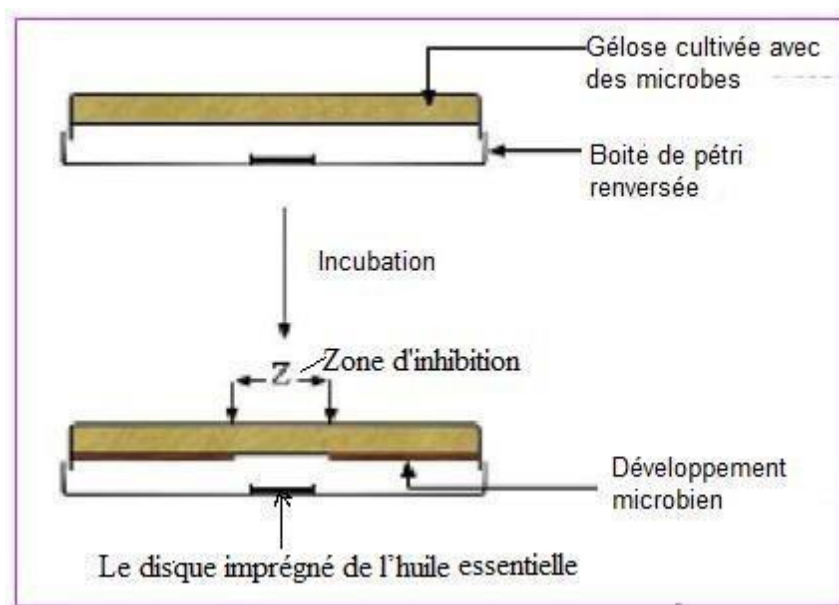


Figure 4: Schéma illustrant la méthode de micro-atmosphère (**Bousbia, 2004**)

II.2- Activité antioxydante

Les acides phénoliques et les huiles essentielles sont des produits connus pour leurs propriétés antioxydantes. Cette capacité à piéger les radicaux libres leur permet d'intervenir dans de nombreux phénomènes biologiques.

Certaines études ont montré que les propriétés antioxydantes de ces composés permettent de protéger la cellule contre un stress oxydant. Au cours de l'oxydation des radicaux libres vont exister pendant une durée variable.

Les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 1999**).

II.2.1- Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

II.2.2- Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est susceptible d'entraîner des dégâts cellulaires qui pourraient être à l'origine de certaines pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies neuro-dégénératives, la polyarthrite rhumatoïde et le vieillissement accéléré (**Valko et al., 2007; Martinez-Cayuela, 1995**). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Mohammedi, 2013**).

Le stress oxydant, tout comme l'inflammation, est reconnu comme étant un acteur clé dans l'apparition et les complications de nombreuses pathologies chroniques. Dans un souci de prévention, il convient donc de disposer d'outils performants permettant d'évaluer correctement le statut de stress oxydant, afin d'apporter les corrections nécessaires pour optimiser les défenses antioxydantes et diminuer les dommages oxydatifs induits par les espèces oxygénées activées (EOA) au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides (**Morelle, 2003**).

a) Oxydation de l'ADN :

Le radical hydroxyle (OH^\bullet) est connu pour réagir avec tous les composants de la molécule d'ADN, d'endommager à la fois les bases puriques et pyrimidiques et aussi le squelette désoxyribose. Les modifications permanentes du matériel génétique résultant de ces incidents de "dommages oxydatifs" représentent la première étape impliquée dans la mutagenèse et la cancérogenèse (**Valko et al., 2007; Martinez-Cayuela, 1995**). Les oxydants et les antioxydants dépourvus d'histones et ne semblent pas avoir de systèmes de réparation aussi efficaces que celui de l'ADN nucléaire, mais aussi du fait de sa proximité directe de l'une des principales sources d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) cellulaire : la chaîne respiratoire mitochondriale (**Servais, 2004**).

b) Oxydation des protéines

Les radicaux libres peuvent réagir avec les acides aminés contenant des groupes insaturés ou de soufre tels que la phénylalanine et la cystéine. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport. Ces réactions donnent lieu à des perturbations structurales dans les protéines, tels que les phénomènes d'agrégation qui sont favorisées par la formation de liaisons disulfures inter et intramoléculaire. L'oxydation des protéines inactive ainsi les protéines, augmentant leur hydrophobicité et leur sensibilité à la protéolyse (**Martinez-cayuela, 1995**).

c) Oxydation des lipides

Les lipides sont principalement présents dans les aliments sous forme de triglycérides et de phospholipides constitués d'acides gras saturés (AGS), mono insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI). Les acides gras insaturés sont sensibles aux réactions d'oxydation (**Judde, 2004**).

Les radicaux, hydroxyle et hydroperoxyde, sont capables d'attaquer les acides gras insaturés des phospholipides et d'autres molécules lipidiques de la membrane, initiant de cette façon, la peroxydation lipidique. La lipoperoxydation peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des initiateurs principalement les métaux (**Eymard, 2003**). Elle s'agit d'un enchaînement des réactions radicalaires organisées en 03 phases successives: phase d'initiation, phase explosive de propagation et phase de terminaison (**Eymard, 2003**).

Dans ce processus, le radical libre primaire arrache un atome d'hydrogène à partir d'une liaison méthylène de la chaîne de carbone. Le radical produit réagit facilement avec l'oxygène moléculaire pour former un radical peroxyde, qui peut à son tour enlever un atome d'hydrogène d'une autre molécule de lipide permettant la propagation de la chaîne de peroxydation (**Figure 5 et 6**). La peroxydation lipidique provoque de graves dommages à la structure membranaire et, par conséquent, modifie sa fluidité et sa capacité de fonctionner correctement (**Martinez-cayuela, 1995**).

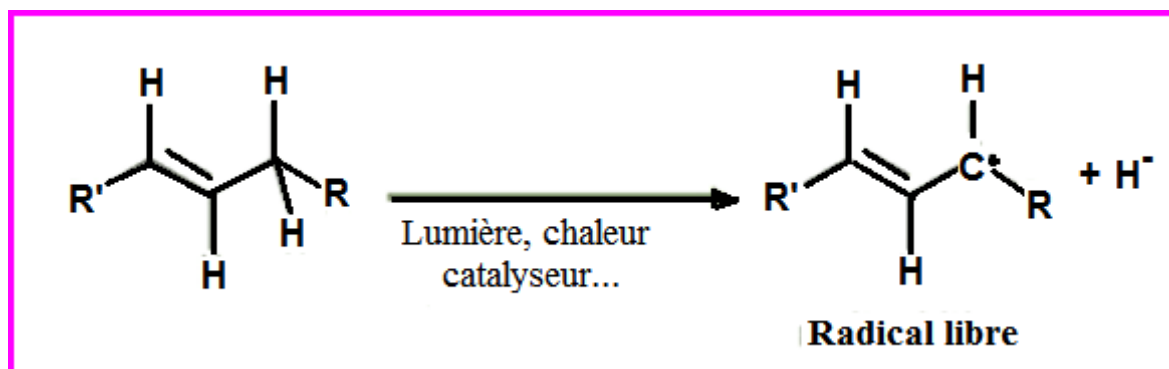


Figure 5: La phase initiale de l'oxydation

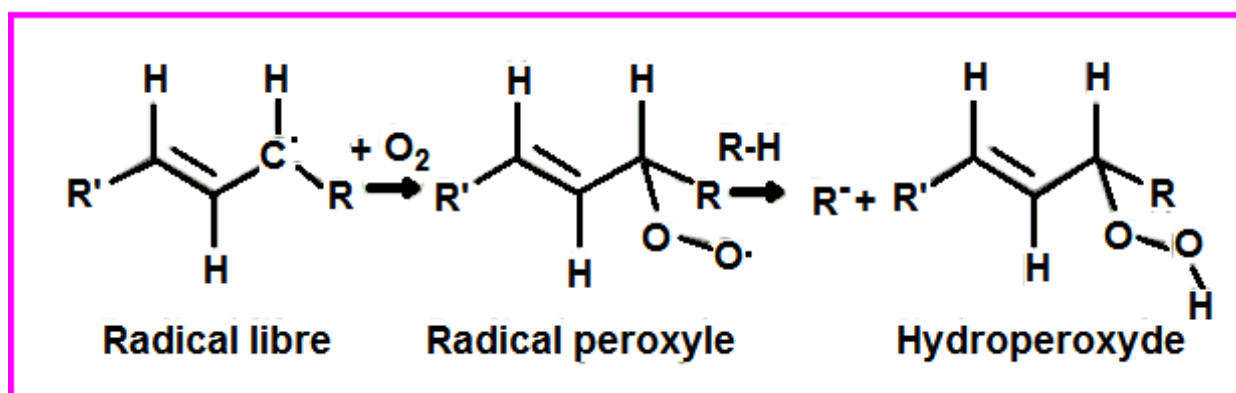


Figure 6: Les phases de la peroxydation

Plusieurs facteurs influencent l'oxydation des lipides, facteurs environnementaux (température, pH, activité de l'eau et pression partielle en oxygène) et facteurs endogènes notamment la qualité et le taux d'insaturations des corps gras (**Judde, 2004**).

d) Oxydation des glucides

Les radicaux peuvent oxyder les monosaccharides, mais ils peuvent également réagir avec des polysaccharides et induire leur dépolymérisation (**Martinez-cayuela, 1995**).

Le radical OH est capable de couper les molécules de sucres (désoxyribose, mannose, glucose) et de susciter ainsi des liaisons entre sucres et protéines provoquant des épaissements membranaires. La cataracte diabétique serait une conséquence de cette liaison.

Les radicaux libres de l'oxygène provoquent aussi une fragmentation des polymères comme l'acide hyaluronique, glycosaminoglycane constitué de répétitions d'unités d'acide glucuronique-N-acetylglucosamine et qui maintient la viscosité élevée du liquide synovial. Cependant, dans la polyarthrite rhumatoïde, il est dépolymérisé, sous l'effet des ERO générés par les neutrophiles (**Pasquier, 1995**).

II.2.3- Les antioxydants

Le terme « antioxydant » (on dit parfois *antioxygène*) était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. À la fin du XIXe , les propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels.

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Behera et al., 2006**). Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète...) et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux (**Méda et al., 2005**).

Les polyphénols présentent une activité antioxydante (**Zheng, W.; Wang, S.W. (2001)**) et fournissent ainsi aux cellules de notre organisme une protection contre les méfaits causés par le vieillissement ou l'exposition prolongée à des éléments tels que les infections, les rayons UV du soleil, la pollution . Selon les résultats de certaines études conduites chez l'homme ces dernières années, les polyphénols seraient impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires et peut-être également d'autres pathologies telles que les maladies neurodégénératives, le diabète, l'ostéoporose et les cancers (**Madhavi et al., 1995**) . Ces composés sont ainsi devenus en quelques années les molécules préférées des nutritionnistes, des épidémiologistes, des industriels de l'agroalimentaire et des laboratoires pharmaceutiques et cosmétiques.

II.2.4- Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Delattre et al., 2005**).

a) Les antioxydants de type I: Ce sont des molécules ayant la capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents dans le milieu (**Belaiche, 1979**).

b)-Les antioxydants de type II: Ils vont diminuer la vitesse d'oxydation, ils ne transforment pas les radicaux libres en structures plus stables. On trouvera différentes classes de molécules comme les agents chélateurs de métaux pro-oxydant. Les flavonoïdes rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**).

Une autre catégorie de molécules peut intervenir il s'agit de structures qui piègeront l'oxygène moléculaire.

II.2.4.2- Classification selon la nature des antioxydants

a) -Les antioxydants naturels: Certaines vitamines, présentes dans les fruits et légumes, augmentent la capacité antioxydante des aliments. Il s'agit principalement des vitamines A, C et E. La vitamine E est lipophile, elle peut entrer dans les membranes cellulaires et lutter contre la peroxydation des lipides. En revanche, la vitamine C, hydrophile, peut avoir une action intracellulaire. Elle sert aussi à régénérer la vitamine E dans la membrane. De nombreux polyphénols d'origine végétale comme les flavonoïdes, les flavones, les caroténoïdes sont des antioxydants naturels disponibles (**Moure et al., 2001**) (**Figure 7**).

b) - Antioxydants synthétiques : Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le BHA (Butyl hydroxyanisole), le BHT (Butyl hydroxytoluène) et la TBHQ (La tert-butylhydroquinone) sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales. Le PG (le Gallate de propyle) et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés. Malgré la puissance de leur activité antioxydante (**Gironde et al., 2020**), l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, responsable de mutagenicités et peut même présenter un danger pour la santé humaine .

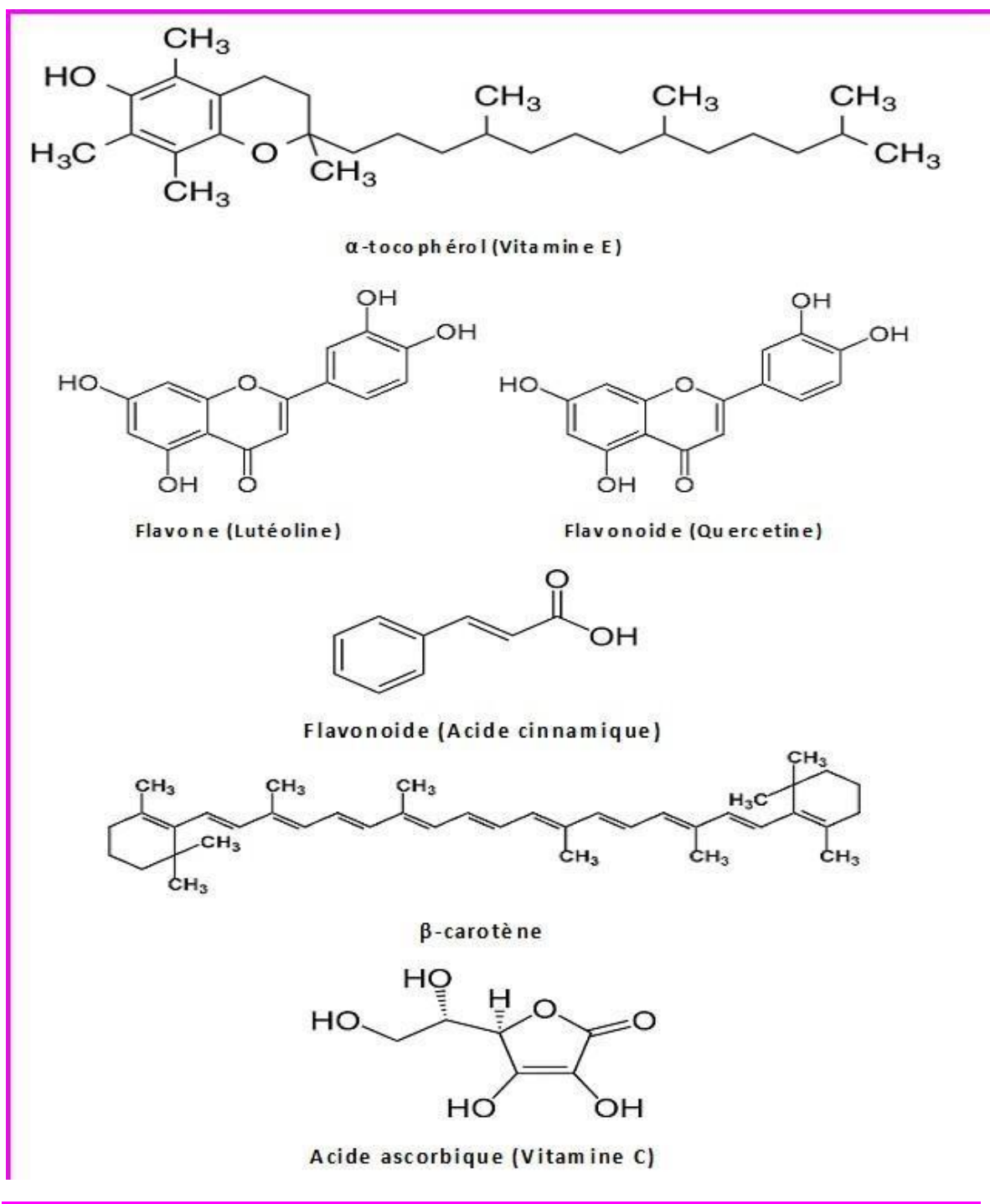


Figure 7: Quelques composés naturels (ou synthétisés) possédant des propriétés antioxydantes (Marc *et al.*, 2004)

II.2.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et des systèmes biologiques (Ali *et al.*, 2008). Des techniques sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. Alors que, d'autres

méthodes sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres (**Sanchez-Moreno, 2002**). Parmi ces techniques, les méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS, la méthode FRAP (pouvoir réducteur) et la méthode TRAP (Paramètre du Piégeage du Radical Total).

II.2.5.1- Test d'activité anti DPPH ou test de piégeage du radical DPPH

Le test d'activité anti DPPH (2,2-Diphényl-1-1-Pyrcil-Hydrazyl) fut l'un des premiers des radicaux libres utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des différents composés phénoliques (**Brand-Williams et al., 1995**). Le principe est de mesurer leur capacité à inhiber le radical instable DPPH.

La première étape de la réaction, est la capture d'un atome d'hydrogène du composé phénolique par le radical DPPH, pour donner du diphényl-picryl-hydrazine et un radical phénoxy (**Figure 8**). Cette étape est la première d'une série de réactions telles que des fragmentations, additions ou autres qui peuvent éventuellement influencer les résultats obtenus, notamment les cinétiques de la capture du DPPH par le composé testé.

l'utilisation de ce test présente plusieurs avantages : formation d'un spectre caractéristique qui est facilement détectable au cours du temps et compatible avec tous les solvants (**Trouillas et al., 2003**).

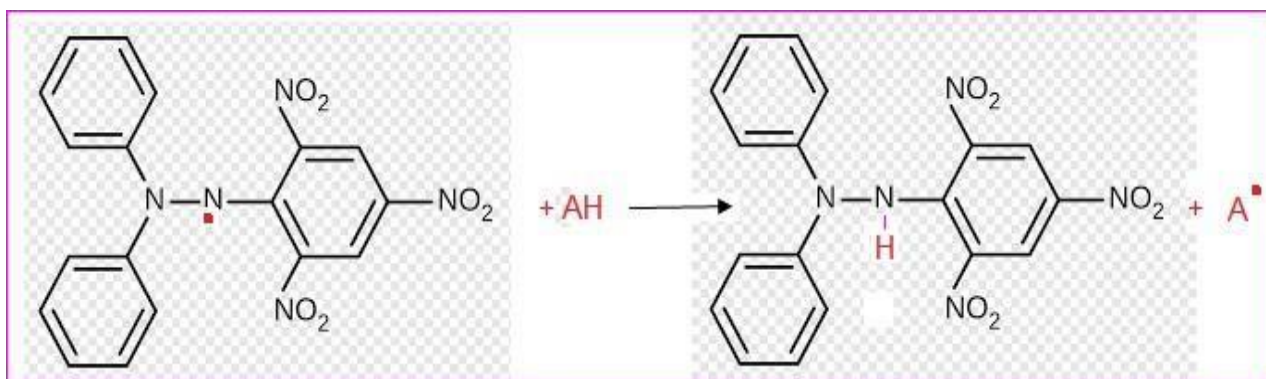


Figure 8 : Réaction du radical DPPH avec un antioxydant (**Pisoschi et al., 2009**).

II.2.5.2- Test de piégeage du radical cation ABTS^{•+}

L'ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) est également utilisé couramment par les chercheurs dans le domaine agroalimentaire pour évaluer la capacité antioxydante des aliments (**Huang et al., 2006**). Le radical cationique ABTS réagit avec la plupart des antioxydants, notamment les phénols les thiols et la vitamine C (**Walker et al., 2009**). Au cours de ces réactions, il perd sa couleur bleue et retrouve son état neutre, incolore.

Cette méthode est appelée aussi la méthode TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylic acid), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (**Figure 9**). Ces réactions peuvent être suivies par spectrophotométrie .

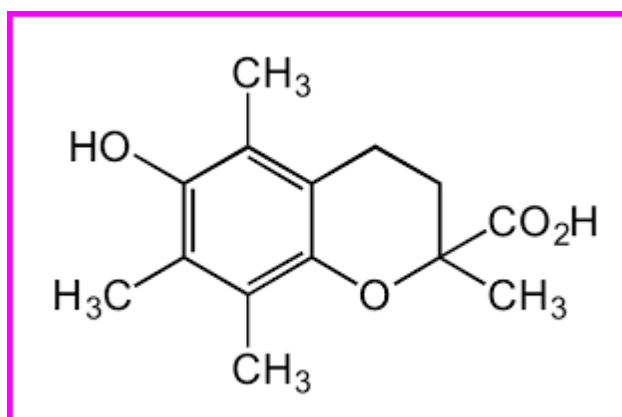


Figure 9: Structure chimique du Trolox

II.2.5.3- Réduction du fer ferrique en fer ferreux (FRAP)

La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique Fe³⁺ en sel de fer ferreux (Fe²⁺) par les antioxydants (**Ou et al., 2001**). Cette analyse peut être appliquée aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al., 2008**).

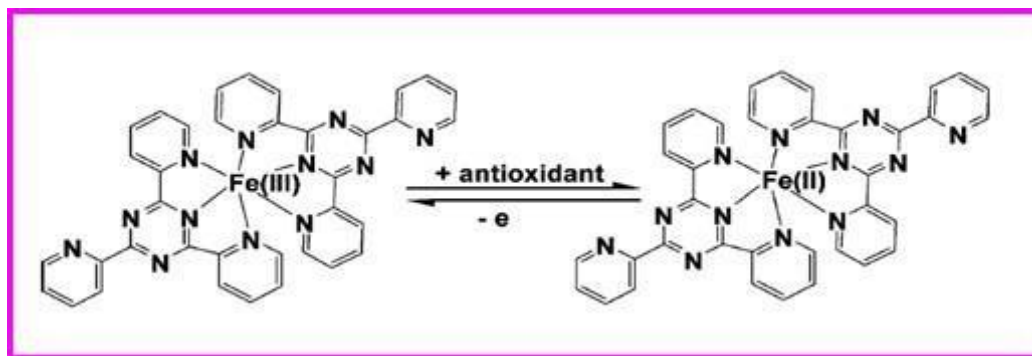


Figure 10 : Schéma de la réaction FRAP (Ferric Reduction Antioxidant Power) (Prior et al. 2005)

II.3- Activité insecticide

Le développement de la résistance des insectes des stocks de denrées alimentaires aux insecticides chimiques (Haubruge et Amichot, 1998), a incité à la recherche d'autres alternatives de lutte comme l'utilisation des ennemis naturels et les biopesticides d'origines végétales. Les produits naturels d'origine végétale comme des poudres minérales, des huiles végétales et des huiles essentielles issues du phénomène de la phytothérapie (Padin et al., 1997). Les HEs interviennent dans la protection des végétaux contre les insectes, elles peuvent être considérées comme des " biopesticides d'origine végétale" (Philogène et al., 2002).

II.3.1- Principales plantes à effet insecticide

L'utilisation traditionnelle des plantes dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées a fait preuve de son efficacité. Les huiles essentielles extraites des feuilles des plantes présentent également des propriétés insecticides très intéressantes, qui permettent de lutter contre divers insectes nuisibles pour les stocks des denrées alimentaires (Kellouche, 2005; Tapondjou et al., 2003)

Plusieurs auteurs, comme Vincent et al., (2000); Isman (2000); Regnault - Roger et al., (1993), Thiam et Ducommun (1993), rapportent qu'un nombre important d'espèces de plantes riches en huiles essentielles est utilisé comme moyens traditionnels de protection des stocks. En outre, les plantes les plus efficaces dans la protection des denrées au cours du stockage appartiennent aux familles des Meliaceae, Annonaceae, Labiatae, Rutaceae, Asteraceae . De plus, les huiles essentielles de trois plantes de la famille de Zingiberaceae ont montré une forte activité toxique contre *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais* (Suthisut et al., 2011).

Les huiles essentielles extraites des trois plantes *Rosmarinus officinalis* (Lamiacées), *Origanum glandulosum* (Lamiacées), et *Artemisia herba-alba* (Astéracées), sont toxiques sur *Acanthoscelides obtectus* et *Tineola bisselliella* (Bouchiki, 2011).

Par ailleurs, Nathan, Kalaivani et al (2006), ont testé plusieurs limenoïdes du neem (dont l'azadirachtine) sur un insecte parasite du riz. Le neem ou margousier a également été étudié sur d'autres espèces d'importance : les lymnées, les lépidoptères, les hémiptères, les tiques du genre *Hyalomma* (Singh G. et al, 1996; Abdel-Shafy S. et Zayed AA., 2002).

II.3.2- Avantages des biopesticides végétales

Les biopesticides présentent plusieurs avantages (Regnault-Roger, 2008):

II.3.2.1-La biodégradabilité :

Après leur application, de nombreux biopesticides ne persistent pas longtemps dans l'environnement; ils se détériorent et se dégradent rapidement. En termes techniques, ils sont « non persistants » dans l'environnement, ont des risques moindres d'exposition et sont potentiellement moins dangereux pour les humains et l'environnement.

II.3.2.2- La résistance :

Les ravageurs traités avec ces produits mettent en général plus de temps à développer une résistance, car les biopesticides ont souvent des modes d'action complexes.

II.3.2.3- La sélectivité

Les biopesticides visent souvent une gamme très étroite d'espèces cela signifie qu'en général ils tuent ou inhibent uniquement l'espèce cible (Chiasson et Beloin, 2007). Ils perturbent rarement les nombreux organismes avoisinants comme les insectes auxiliaires, les microbes, la végétation et la faune. En revanche, plusieurs pesticides chimiques usuels peuvent avoir une action qui ne se limite pas au ravageur ciblé et ils peuvent aussi avoir des effets sur l'écosystème environnant et les humains.

II.3.2.4- La biodisponibilité

Bien qu'elles soient prédisposées à plusieurs facteurs influençant leur biodisponibilité, ces molécules peuvent être disponibles en quantité suffisante.

II.3.3- Mode d'action des composés à effet insecticide

II.3.3.1- Action sur le système nerveux

De nos jours, les constituants de beaucoup d'huiles essentielles possédant des activités neurotoxiques pour les insectes sont connus (**Sanon et al., 2002**). Les huiles essentielles riches en monoterpènes provoquent la mort des insectes par inhibition de l'activité de l'acetylcholinestérase au niveau du système nerveux (**Houghton et al., 2006**), comme le cas du terpinène-4-ol et le 1.8-cineole (**Mills, 2004**). Le thymol perturbe le fonctionnement des synapses inhibitrices, il se fixe sur les récepteurs de l'acide gamma aminobutyrique (GABA) et perturbe l'activité régulatrice des neurones post-synaptiques (**Huignard et al, 2008**).

Cependant, les constituants de beaucoup d'huiles essentielles possédant des activités neurotoxiques pour les insectes sont connus (**Sanon et al., 2002**).

II.3.3.2- Action sur les récepteurs octopaminergiques

En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effets aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des arthropodes. L'octopamine est un neuro-hormone spécifique des invertébrés : cette molécule a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés.

Enan (2000) et Isman (2000), font le lien entre l'application de l'eugénol, de l'alpha-terpinéol et de l'alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine.

II.3.3.3- Action sur les stades de développement des insectes

De nombreuses études ont démontré que les HEs n'exercent pas le même effet sur les différents stades du développement de l'insecte. Les huiles essentielles de *Cymbopogon scheonanthus* présentent des propriétés insecticides, elles exercent un effet sur le potentiel de ponte et sur l'émergence des adultes (**Aous W, 2015**). Il y a eu également inhibition complète de la pénétration des larves dans les graines traitées de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s'est avéré inhibiteur de l'émergence des adultes (**Regnault-Roger et Hamraoui, 1995**).

II.3.4- Modes de pénétration des huiles essentielles dans l'insecte

II.3.4.1- Par contact:

Ce sont des produits pénétrant les tissus de l'insecte après avoir traversé la cuticule. De nombreux constituants terpénoïdes des HEs sont toxiques en contact contre plusieurs insectes.

II.3.4.2- Par inhalation:

Les huiles essentielles agissent comme des fumigants grâce à leur propriété volatile. Les études in vitro ont permis de mettre en évidence l'effet insecticide par fumigation des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et d'*Ocimum canum* sur e *Cylas puncticollis* et peuvent réduire, de façon importante, ces populations à la concentration minimale de 50 µL/L. (**Tia et al , 2019**).

II.3.4.3- Par ingestion:

L'ingestion de certains composés des huiles essentielles entraîne des signes d'intoxication (effet anti-appétant) chez l'insecte comme le cas de l'huile de *Juniperus phoenicea* testée contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum*, **Bouzouita et al , (2008)**. Les travaux du **Ducrot et al (2002)**, montrent que les composés terpéniques manifestent une activité anti-appétante contre les insectes.

II.3.5- Problème de résistance à l'égard des HEs

Les huiles essentielles peuvent générer des cas de résistance si elles sont utilisées d'une manière répétitive et sans appréciation. Comme solution, il faut varier les formulations en associant plusieurs matières actives et en appliquant une approche intégrée de différentes méthodes de lutte (**Regnault-Roger, 2008**).

CHAPITRE III:

Monographie des
espèces étudiées

Chapitre III. Monographie des espèces étudiées

III.1- Description des plantes choisies

III.1.1- Généralités sur la famille des lamiacées

La famille des Lamiacées a une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle en deux lèvres de ses petites fleurs (**Couplan, 2000**). Cette famille des plantes angiospermes dicotylédones à fleurs gamopétales irrégulières qui regroupe surtout des plantes herbacées et sous-arbustives réparties dans le monde entier **Dupont F., Guignard J.-L. (2007)**. Les thyms, les lavandes et les romarins sont surtout abondants dans les régions méditerranéennes. La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille (**Kaufmann et al., 1994**).

Elle est l'une des familles les plus utilisées comme extraits à fort pouvoir anti bactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Gherman et al., 2000; Bouhdid et al., 2006**). Les huiles essentielles extraites des plantes des Lamiacées, possèdent plusieurs propriétés : anti-infectieuses, antispasmodiques, digestives.... Les HEs de cette famille, par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (**Hilan et al., 2006; Bakkali et al., 2008**).

Les Lamiacées comptent plus de trois mille cinq cents espèces et quelque deux cents genres, répartis en sept sous-familles.

III.1.2- Caractéristiques du genre *Thymus*

Thymus provient du mot grec *thumon* qui signifie « offrande et parfum », raison de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait bruler (**Rey, 1992**).

Le genre *Thymus* (famille des Lamiacées), contient environ 400 espèces de plantes herbacées vivaces aromatiques, persistantes ou semi-persistantes avec de nombreuses sous-espèces, variétés, sous-variétés et formes (**De Martino et al., 2009**). C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Figure 11), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et l'Arabie de sud-ouest en passant par la péninsule de Sinaï en Egypte. Elle est trouvée également en Sibérie et même en Himalaya (**Dob et al., 2006**). Le genre *Thymus* est cultivé aussi dans le nord de la France, l'Europe centrale, Afrique orientale et l'Amérique du nord...etc. (**Wichtl et Anton, 2003**).

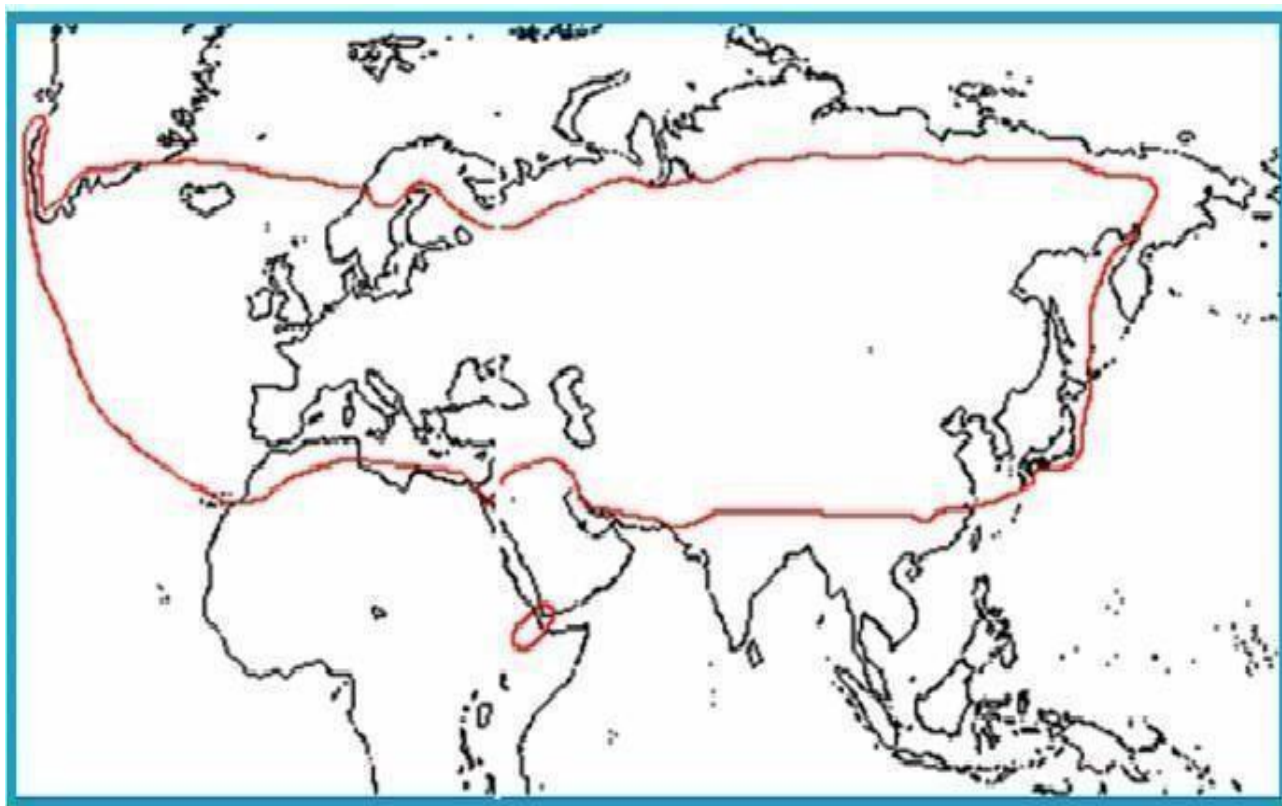


Figure 11: Distribution géographique du genre *Thymus* dans le monde (Morales, 2002).

Le contour en rouge représente la zone de distribution du genre *Thymus*.

Selon une étude menée par (Nickavar *et al* ; 2005), environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. 12 espèces de ce genre (Tableau 2) sont localisées en Algérie (Quezel et Santa, 1963) et 9 d'entre elles sont endémiques (Kabouche *et al.*, 2005), parmi ces espèces nous avons choisi deux pour cette étude: *Thymus algeriensis* et *Thymus guyonii*.

Tableau 2 : Localisation géographique des espèces de thym en Algérie (**Quezel et Santa, 1963**)

Espèces	Caractéristiques
<i>Thymus pallescens</i> de Noé (syn.	Commun dans le Tell et endémique en Algérie
<i>Thymus fontanesii</i> Boiss et et Reut.)	
<i>T. capitatus</i> L.	Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas tellien
<i>T. dreatensis</i> Batt.	Très rare dans le sous-secteur du Tell constantinois et de la petite Kabylie
<i>T. numidicus</i> Poiret	Assez rare dans le sous-secteur de l'Atlas tellien, dans le secteur du Tell constantinois et dans la petite et grande Kabylie
<i>T. guyonii</i> de Noé	Endémique en Algérie. Rare dans les Sahara Septentrional
<i>T. lanceolatus</i> Desf.	Endémique en Algérie. Rare dans le sous- secteur de l'atlas tellien et de l'Atlas saharien (Médéa), dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois (Sour El Ghozlane).
<i>T. pallidus</i> Coss	Très rare dans le sous- secteur de l'Atlas saharien constantinois.
<i>T. glandulosus</i> Lag	Très rare dans le sous- secteur des hauts plateaux algérois et oranais
<i>T. algériensis</i> Boiss. et Reuter	Espèce nord- africaine. Très commun dans toutes les régions montagneuses et rares ailleurs.
<i>T. munbyanus</i> Desf	Endémique dans le Nord du secteur algérois.
<i>T. hirtus</i> Wild.	Commun sauf sur le littoral

III.1.2.1-*Thymus algeriensis*

III.1.2.1.1-Description botanique de la plante

Thymus algeriensis (**Fig 12**) pousse dans toutes les régions montagneuses et sa longueur peut dépasser les 10 cm (**Quezel et Santa, 1963**). C'est une plante vivace avec des entre-nœuds de 4 à 7 mm de long ; les descendants naissent dans une touffe de la souche courte et ligneuse ; les tiges, au moins sur les jeunes rameaux, présentent une pilosité uniformément répartie sur les entre-nœuds (**Benabid, 2000**). Les fleurs, à bractées ovales et à corolle rose violacée ou violet blanchâtre, sont petites (5–7 mm) (**Ben El Hadj et al., 2015**). Ses tiges carrées, dressées sont courtes et velues. Ses petites feuilles vertes foncées de 4-10 mm de long, de forme elliptique à oblongue, sont cotonneuses et grisâtres en dessous et lisses en dessus, elles sont légèrement enroulées sur les bords. La plante toute entière a une odeur aromatique, la floraison a lieu de juin à septembre.



Figure 12 : *Thymus algeriensis* (Photo originale)

III.1.2.1.2-Position systématique

Selon Quezel et Santa (1963), la classification de *Thymus algeriensis* est la suivante :

Régne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Oredre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus algeriensis</i> (Boissier et Reuter)

III.1.2.1.3- Noms vernaculaires

Plusieurs appellations ont été données à cette plante dont les plus utilisées sont :

Nom arabe: Djert il

Noms en Algérie: Zaitra, Djertil, Khieta et Azoukni (Trabut, 1933)

III.1.2.1.4-Habitats et répartition géographique

Thymus algeriensis est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) (**Benkiniouar et al., 2007**). Il résiste bien à la sécheresse d'été et à des températures de moins de 10°C, ce qui explique sa croissance dans les endroits secs et humides (**Kothe, 2011**). En Algérie, cette plante fréquente les pelouses et rocailles des régions montagneuses (**Belouad, 2005**).

III.1.2.2- *Thymus guyonii***III.1.2.2.1-Description botanique de la plante**

T. guyonii (**Fig 13**) est une plante médicinale, aromatique. Son nom vernaculaire dans les régions où il pousse est « zaitra ». Elle se caractérise par des feuilles ovoïdes (5-7 mm) qui sont au plus deux fois plus longues que larges dont le calice est glabre. Les fleurs (5-6 mm) sont petites et blanches en courtes inflorescences (1-2 cm). Les tiges sont plus ou moins prostrées et rampantes (**Quezel et Santa, 1963**). Elle est utilisée par la population locale comme herbe

culinaire et en médecine traditionnelle comme expectorant, antitussif, antibroncholitique et comme puissant antimicrobien (**Barnes et al, 2007**).



Figure 13 : *Thymus guyonii* (Photo originale)

III.1.2.2.2- Position systématique

Selon Quezel et Santa (1963) la position systématique du *Thymus guyonii* est la suivante:

	Régne Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Oredre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thumus guyonii</i> de Noé

III.1.2.2.3-Habitats et répartition géographique

Thymus guyonii de Noé est une espèce rare et endémique au niveau du nord du Sahara Algérien, rare dans les hauts plateaux algérois, oranais et constantinois. (Quezel et Santa, 1963).

III.1.3- Domaines d'application du thym

Le thym est une plante médicinale recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires les palpitations, ainsi que les affections de la bouche (Djeroumi et Nacef, 2004 ; Mayer, 2012). Il est considéré aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Le thym est une herbe aromatique connue pour son agréable odeur, il entre dans la composition de beaucoup de produits cosmétiques. Plusieurs études ont montré que le thymol qui est le plus souvent le composé le plus abondant de son huile essentielle, possède de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antispasmodique, antimicrobienne, fongicide, insecticide, antioxydante, anticancérogène et anti-inflammatoire (Daoudi, 2016 ; Salehi et al, 2018).

Par ailleurs, les extraits de thym ont montré une large activité antibactérienne en inhibant la croissance des bactéries à Gram positif et Gram négatif. L'action bactéricide est plus prononcée pour les essences peroxydées et déterpénées que pour l'essence brute (Valnet, 1979). Ainsi, une activité antioxydante est due essentiellement à la présence de composés phénoliques (Ramarathnam et al., 1995).

Quant à l'activité antifongique, les phénols terpéniques causent de plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens et par conséquent des ruptures de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (Amarti et al., 2010).

Le genre *Thymus* a fait l'objet de nombreuses études phytochimiques et biologiques. L'investigation phytochimique extensive, a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpenoïdes, les huiles essentielles (Boros et al., 2010). Cependant, la composition chimique de l'HE de thym dépend d'un nombre de facteurs principalement d'origine génétique et édaphoclimatique, elle dépend aussi de la saison de cueillette (Hazzit et al., 2009).

III.1.4- Généralités sur la famille des Asteracées

Anciennement nommée « Compositae», c'est l'une des familles les plus importantes et les plus répandues dans le règne végétal en général et dans la classe des dicotylédones en particulier. La famille des Astéracées (Composées) est la plus vaste famille de la division des spermatophytes, elle comprend plus de 1600 genres et entre 20000 et 23000 espèces (**Jeffrey, C, 2007**). En Algérie, il existe 111 genres et 638 espèces (**Gaussen et Leroy, 1982**). Les plantes de cette famille poussant généralement dans les régions tempérées sont le plus souvent herbacées, rarement arbustives, arborées ou rampantes (**Bayer et Starr, 1998**). Ce sont des plantes importantes économiquement, puisqu'elles permettent de produire des huiles. Certaines espèces sont également importantes pour des raisons ornementales.

III.1.4.1- *Artemisia campestris*

III.1.4.1.1-Description botanique de la plante

Artemisia campestris est un sous-arbrisseau vivace, qui peut atteindre 30-150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées, dressées brun-rougeâtre (**Figure 14**). Les feuilles sont vertes ou vert-brunâtre, divisées en fines lanières, feuilles deux fois divisées, les supérieures sessiles, les inférieures pétiolées (**Baykanerel, 2011**).

Les feuilles basales sont serrées et mesurent de 2 à 10 cm alors que les feuilles caulinaires sont plus petites. Les fleurs brun-jaunâtres sont réunies en petites capitules, 1.5-4.5mm de diamètre avec la corolle de cinq pétales fusionnés. Le fruit est très petit cypsèle cylindrique de couleur marron clair. La floraison a lieu du mois d'août au mois d'octobre (**Bare et Janet, 1979**).

III.1.4.1.2-Position systématique

Selon Kindscher, (1992), l'armoïse rouge, *Artemisia campestris* est une plante steppique qui appartient au :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia campestris* L.



Figure 14 : *Artemisia campestris* (Photo originale)

III.1.4.1.3- Noms vernaculaires

La nomenclature de l' *Artemisia campestris* est la suivante: Nom scientifique: *Artemisia campestris*

Nom français : Armoise champêtre, Armoise des champs, Armoise rouge (**Trabut, 1933**).

Nom anglais : field wormwood - field sagewort

Nom arabe: Tgouft

Nomen Algérie: Dgouft, Tagouft et Tieredyli.

III.1.4.1.4-Habitats et répartition géographique

Le genre *Artemisia*, disposé autour du monde, pousse spontanément dans l'hémisphère nord ; onze espèces ont été recensées dans la flore de l'Algérie. L'armoise rouge (**Figure 15**) présente dans toute l'Europe, aussi en Sibérie, en Asie occidentale et au Maghreb. En Algérie, elle a une distribution inégale : assez bien représentée dans le sud et l'ouest, elle est plus rare dans les montagnes de l'est, et plus encore dans le nord, elle est très fréquente en zones arides et semi-arides (**Quezel et Santa, 1963**).

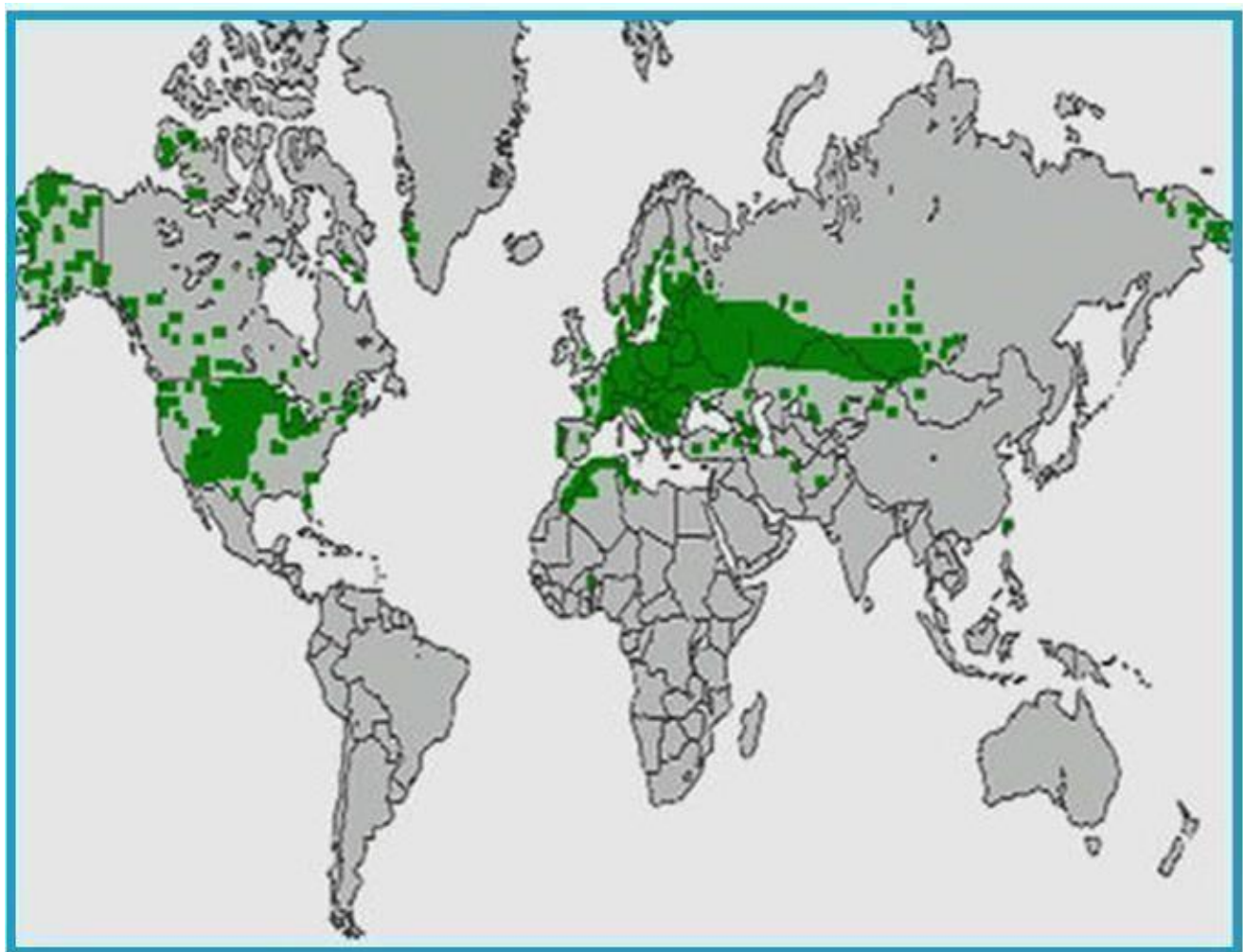


Figure 15: Répartition géographique globale d'*Artemisia campestris* L
(source : <http://wilde-planten.nl/wilde%20averuit.htm>)

III.1.4.1.5- Domaines d'application

Artemisia campestris ou armoise rouge est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies : les troubles digestives, les ulcères et le diabète (**Ould hadj didi et al., 2003**). La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie et le rhumatisme. *Artemisia campestris* L est utilisée

dans le traitement de fébrifuge, vermifuge et comme agent anticancéreux, anti-tumeur (**Dob et al., 2005; Akrouf et al., 2011**).

En plus de son utilisation traditionnelle, *Artemisia campestris* possède de nombreuses propriétés biologiques : antibactériennes, antifongiques, insecticide, antipoison et anti venimeux, (**Djeridane et al., 2007; Ben sassi et al., 2007**).

III.1.4.2- *Anacyclus valentinus*

III.1.4.2.1- Description botanique de la plante

Le genre *Anacyclus* regroupe des espèces à capitules composés principalement de fleurs extérieures et de fleurs intérieures tubulées. La principale particularité de ce genre est la présence d'ailes aplaties entourant les fruits et faisant penser à des paires d'oreilles. Ce sont des plantes annuelles, à feuilles alternes embarrassantes, profondément divisées. La tige portant le capitule s'épaissit en dessous de celui-ci. L'involucre est formé de bractées inégales, se recouvrant en partie, ne portant pas d'appendice terminal. Le taxon *Anacyclus*, tel que défini à l'origine par Linné :

Anacyclus valentinus (**Figures 16 et 17**), est une plante annuelle, à tige de 10 à 40 cm de hauteur, dressée et plus ou moins velue ou glabrescente, capitules hémisphériques larges de 10-15 mm de diamètre, terminant les rameaux à la fin épaissis au sommet.

Les feuilles de la plante sont bipennatiséquées à lobes étroites mucronulées et les fruits sont des akènes (**Julve, 2015**). Ces derniers sont entourés par des ailes aplaties ce qui caractérise le genre *Anacyclus*. Les fleurs jaunes sont toutes tubuleuses ou ligules de la circonférence, très courtes, peu apparentes. La période de floraison est comprise entre Juin et juillet.



Figure 16 : *Anacyclus valentinus* L (**Pleva, 2014**)

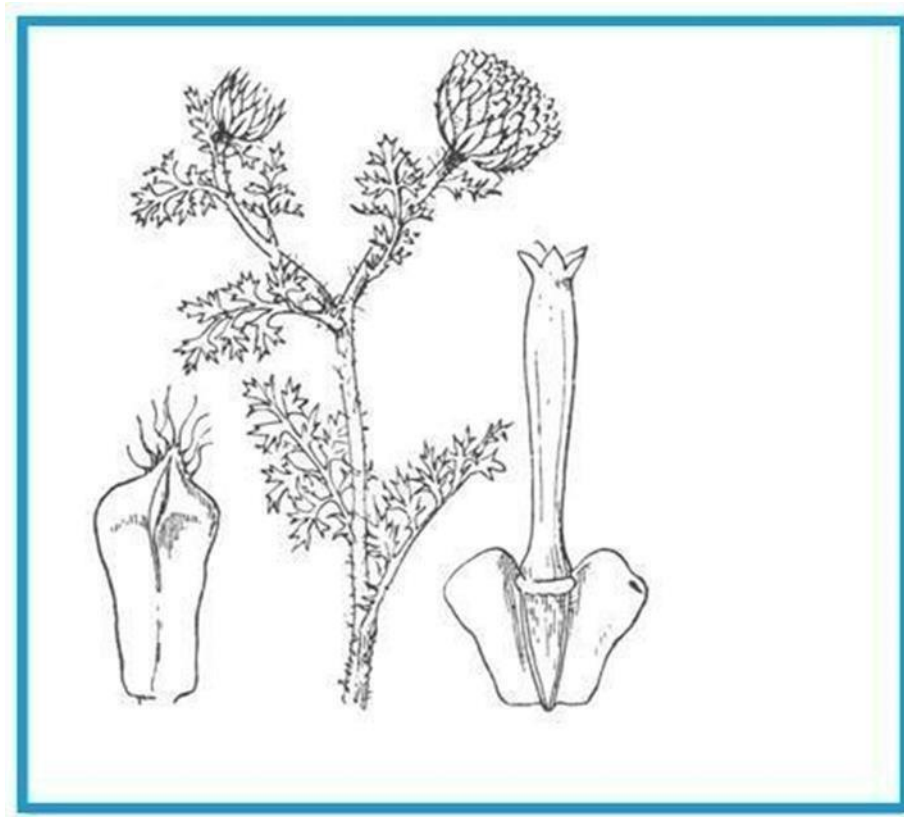


Figure 17 : *Anacyclus valentinus* (Coste, 1903)

II.1.4.2.2- Position systématique

Régne: Plantae

Embranchement: Spermaphytes

Sous-Embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotyledones

Sous classe: Gamopétales

Ordre : Astéales

Famille : Asteraceae

Genre : *Anacyclus*

Espèce: *Anacyclus valentinus* Linné

III.1.4.2.3- Noms vernaculaires

La dénomination de *Anacyclus valentinus* diffère d'un pays à l'autre. Elle est nommée en France anacycle de valence, en Italie camomilla de Valencia et en Espagne manzanilla corda.

En Algérie, la plante est connue sous le nom vernaculaire « Guertoufa » (**Maiza et al., 1993**). Plusieurs synonymes ont été donnés à cette plante : *Anacyclus dissimilis* Pomel, *Anacyclus hirsutus* L am, *Anacyclus lanuginosus* Moench.

III.1.4.2.4- Habitats et répartition géographique

L'anacycle de valence est commune dans le bassin méditerranéen et en Afrique septentrionale. Elle pousse spontanément sur les sols argileux des lieux incultes et sur les bords des chemins dans les Pyrénées (**Julve, 2015**).

III.1.4.2.5- Domaines d'application

Le genre *Anacyclus* a fait l'objet de quelques investigations chimiques, signalant la présence de plusieurs types de métabolites secondaires à savoir les triterpènes, les stéroïdes, les coumarines, les lignanes, les polyacétylènes (alkamides) et les flavonoïdes (**Harald G. 1978**). Cependant, *Anacyclus valentinus* est l'espèce la moins étudiée parmi celles du genre *Anacyclus*.

Les espèces appartenant au genre *Anacyclus* ont fourni de nombreuses propriétés telles que l'effet insecticide, antibactérien et antifongique ((**El Morsi et Hassanein, 1999**; **Boungab et al., 2011**). Chez la population indigène, *Anacyclus valentinus* est souvent utilisé dans les préparations culinaires, mais elle est également administrée pour les maux d'estomac (**Hamzi et Belhadj, 2008**).

III.2- Description de l'insecte étudiée

III.2.1-Caractères généraux des curculionidés

C'est la plus grande famille de coléoptères (environ 50000 espèces), et même la plus grande famille d'insecte (**Perrin, 1991**). La majorité de ces espèces sont des cléthrophages (**Cangardel, 1978**), qui désigne les insectes vivant à l'intérieur des graines (**Lepesme, 1944**). Actuellement ces insectes sont cosmopolites et leur répartition dans le monde entier à cause des échanges internationaux. La tête des curculionidés est munie par un rostre qui permet aux femelles de creuser le grain pour déposer les œufs (**Steffan, 1978**).

III.2.2- Etude bioécologique du charançon du riz

Parmi les insectes nuisibles des stocks, le charançon du riz est considéré comme l'ennemi le plus important des grains (**De-groot, 2004**), car il est capable de casser l'enveloppe dure des grains sains. En milieu tropical, ils sont essentiellement représentés par les espèces *Sitophilus oryzae* (Charançon du riz) et *Sitophilus zeamais* (Charançon du maïs).

III.2.2.1- Position systématique de *Sitophilus oryzae* L.

L'insecte étudié est un petit coléoptère classé comme suit (**Lepesme, 1944**):

Embranchement: Arthropoda.

Classe: Insecta

Ordre: Coleoptera

Sous ordre: Heterogastra.

Super-famille: Phytophagoidae.

Famille: Curculionidae.

Genre: *Sitophilus*.

Espèce: *Sitophilus oryzae* L.

Plusieurs appellations ont été attribuées à cet insecte (**Lepesme, 1944; Kranz et al., 1977**), dont les plus importants sont: *Calandra oryzae*, *Sitophilus sasakii* avec nom commun: charançon du riz.

III.2.2.2- Répartition géographique

Le charançon du riz est largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales (**Steffan, 1963 ; Kranz et al., 1977; Seck, 1994**). Il est transporté vers les régions tempérées parmi les matières premières d'importation. Selon **Lepesme (1944)**, *Sitophilus oryzae* est d'origine indienne et largement répandu dans le monde entier et plus particulièrement aux Indes, Australie, dans le sud des Etats-Unis et dans la région méditerranéenne (Afrique du nord).

III.2.2.3- Régime alimentaire

Les charançons du riz s'alimentent et se multiplient par de nombreuses céréales : avoine, blé, orge, seigle, riz, maïs...etc (**Fleurrat-Lessard, 1982; Cruz et Troude, 1988**) et peut même attaquer le pois chiche et le niébé (**Lepesme, 1944; Egbon et Ayertey, 2013**).

III.2.2.4- Biologie et cycle de développement de *Sitophilus oryzae*

La maturité sexuelle est obtenue dès les premiers jours de l'émergence des adultes. En effet les pontes, débutent quelques jours après l'accouplement et se poursuivent pendant quatre mois. Les femelles pondent leurs œufs à l'intérieur des grains de blé dans un trou perforé par le rostre. Ce trou est ensuite rebouché par une sécrétion mucilagineuse de l'oviducte qui durcit rapidement à l'air (**Lepesme, 1944; Paulian, 1988**).

L'incubation dure de 10 à 15 jours. La larve ronge l'intérieur du grain, et s'y nymphose. Après le stade nymphal l'adulte sort du grain par un trou (**Cruz et Diop, 1989**). La ponte persiste toute la vie de l'insecte, le nombre des œufs déposés par une femelle pouvant atteindre 200-400 œufs, selon **Steffan (1963)**, le nombre de génération est de 5-8 par an dans les régions méditerranéennes. Les facteurs du milieu jouent un rôle important sur la dynamique de population et la femelle peut pondre 10 œufs/ jour à 32°C (**Fleurrat-Lessard, 1982; Zaghloul et al., 2012**).

Les différents états de développement de *Sitophilus oryzae* présentés dans **la figure 18** sont les suivants :

- ❖ **L'œuf** : est de couleur blanc brillant avec une forme oblongue et mesure en moyenne 0.5 *0.3 mm. La durée de développement embryonnaire est 6 jour à 28°C, elle atteint 10 jours à 20°C et 15 jours à 16°C (**Lepesme,1944; Steffan, 1963**);
- ❖ **La larve** : elle mesure de 2.5 à 3mm, avec une couleur blanche. Elle est apode, très peu velue et tout à fait caractéristique, très épaisse avec un profil dorsal semi circulaire et un profil ventral presque rectiligne (**Lepesme, 1944**). Après l'éclosion, la jeune larve passe par quatre stades larvaires que l'on peut identifier par la longueur de la capsule céphalique (**Steffan, 1963**), dont le dernier stade est le stade prénymphe qui dure 20 à 50 heures avant de se transformer en nymphe. Elle cesse toute activité à des températures inférieures à 5°C ou supérieur à 35°C. On

outre, les larves ne peuvent pas se développer dans une graine contenant moins de 9.5-10 % d'eau (Steffan, 1963).

- ❖ **La nymphe** : elle est morphologiquement identique à l'imago, reste repliée à l'intérieur de la graine pendant 6 à 12 jours et sa couleur se brunissent avec le temps (Lepesme,1944; Steffan, 1963);
- ❖ **L'adulte** : L'adulte mesure 2.5 à 4.5 mm, de couleur brun à brun noirâtre avec quatre taches orangés sur les élytres qui sont ponctuées et striées et il possède des ailes postérieures membraneuses qu'ils lui permettent de voler (Kranz et al., 1977; Fleurat-Lessard, 1982). On peut distinguer le mâle de la femelle par plusieurs caractères. Le rostre du mâle est plus épais, plus court et plus fortement ponctué que celui de la femelle. La face ventrale de l'abdomen est concave à l'apex chez le mâle, et plane chez la femelle (Delobel et Tran, 1993). La longévité moyenne est d'environ 4 mois à 27°C 70% d'humidité relative.

Le cycle dure environ 26 à 30 jours dans les bonnes conditions (28 à 30°C ; 70% d'HR). Les larves vivant à l'intérieur de la graine, les dommages demeurent invisibles, d'après Paliwal et al., (2004), la détection des stades de développement du *Sitophilus oryzae* ne s'effectue que par la spectroscopie à infrarouge.

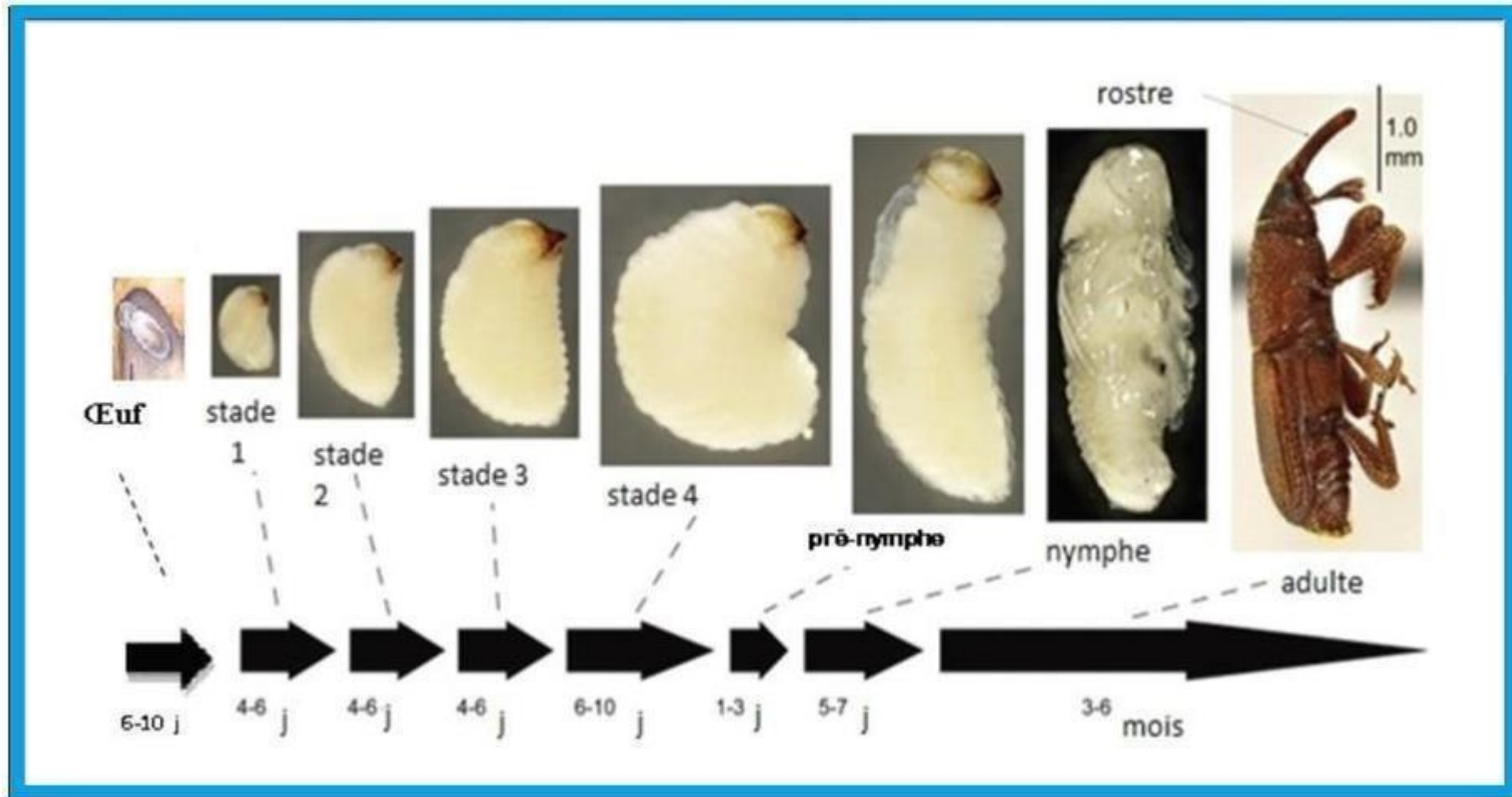


Figure 18: Les différents états de développement de *Sitophilus oryzae* L. (Davis, 2011)

III.2.3- Dégâts causées par *Sitophilus oryzae*

Le charançon du riz est l'un des ravageurs primaires pour les céréales stockées sur lesquelles il provoque une diminution du poids des graines, une détérioration de la qualité en favorisant le développement des champignons, permettent l'installation d'infections cryptogamiques et facilitent le développement des ravageurs secondaires (**Kranz et al., 1977; Appert, 1985; De-Groot, 2004**).

Les dégâts du *S.oryzae* sont surtout causés par les larves, qui peuvent consommer la moitié ou le tiers de l'endosperme d'un grain du blé (**Balachawsky, 1963**). Elle s'alimente régulièrement et consomme par semaine un poids de blé égal à son propre poids avec des chiffres des pertes effrayantes, il arrive qu'il atteigne 30 à 50% (**Lepesme, 1944; Becon et Fleurat-Lessard, 1989**).



Figure 19: Dégâts causés par *Sitophilus oryzae* L. (Photo originale)

III.2.4- Les moyens de lutte

Plusieurs méthodes de lutte ont été appliquées à l'égard de *Sitophilus oryzae* dont le but est de détruire les adultes et même les larves et d'empêcher toute réinfestation.

III.2.4.1- La lutte préventive

La sélection des variétés du blé résistant aux attaques des insectes, est très efficace ainsi l'application des méthodes mécaniques comme le tamisage et le nettoyage des grains pour prévenir l'apparition des insectes des denrées stockées (**Seck, 1989; Cruz et Diop, 1989**)

III.2.4.2- La lutte chimique

Les produits chimiques dits de synthèses, sont représentés par différentes formulations, qui agissent soit par contact soit par fumigation (**Fleurat-Lessard, 2011**). Les insecticides du contact tuent seulement l'insecte qui entre en contact avec eux, tandis que les insecticides de fumigation, peuvent pénétrer dans la graine et tuent les formes cachées de l'insecte (**De-Groot, 2004**). Selon le même auteur les principaux insecticides sont les organo-phosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse.

Toutefois, tous ces insecticides chimiques représentent plusieurs inconvénients sur les grains : la réduction de leur pouvoir de germination et la persistance des résidus sur les grains, ce qui provoque l'empoisonnement pour l'homme et les animaux domestiques (**Isman, 2006**).

III.2.4.3- La lutte physique

Plusieurs techniques physiques ont été pratiquées contre les insectes des denrées stockées plus spécifiquement le charançon du riz. D'après **Paulian (1988)**, l'irradiation des adultes fait varier le nombre des ovarioles par fusion de ceux-ci entre eux. D'autres auteurs, ont pratiqué des méthodes plus simples telles que : la désinsectisation par la chaleur 50-55°C pendant 12 heures, ou le contraire avec la diminution de la température (magasin réfrigéré) qui ralentit le développement des insectes. En outre, la modification de l'atmosphère du milieu par l'ensilage hermétique dans un silo diminue la concentration en O₂ qui provoque par la suite la mort des insectes (**Steffan, 1963; Cruz et Diop, 1989**).

III.2.4.4- La lutte biologique

Parmi les méthodes de lutte alternatives aux pesticides de synthèse, citons l'utilisation des biopesticides végétales et l'utilisation des ennemis naturels (**Haubruge et Amichot, 1998**). Une douzaine d'Hyménoptères, Chalcidiens et Bélylides, attaquent les larves et les nymphes des charançons, les plus communs appartenant aux familles des Spalangides et des Ptéronalides (**Lepesme, 1944; Steffan, 1963**). Les biopesticides végétales ont fait l'objet de plusieurs travaux. L'utilisation des extraits végétaux contre les insectes des stocks, est connue depuis longtemps, selon **Lippert (1988)**, la pulvérisation de l'infusion à base des têtes d'ail et de feuilles d'absinthe séchées sur les céréales stockées afin d'éloigner les charançons et les vers de la farine. Les travaux de **Devi et Devi, (2013)**, ont montré l'effet des extraits hexaniques des épices (le poivre, l'anis étoilé, le clou de girofle, la cannelle, la noix du muscade) à l'égard du charançon du riz. Ces épices ont été très efficaces entraînant une mortalité des adultes durant une semaine et ils ont complètement inhibé la descendance F1.

En outre, l'utilisation des médiateurs chimiques et l'utilisation des hormones, sont aussi appliquées comme alternatives des pesticides chimiques (**Picimbon, 2008; Mohandas et al., 2006**).

Les différentes méthodes alternatives aux pesticides chimiques, présentent chacune des avantages, mais aussi quelques limites (**Gueye et al., 2011**). Pour cela, une gestion intégrée basée sur la combinaison de plusieurs procédés est indispensable.

III.3- Description des souches microbiennes

III.3.1- Souches bactériennes

III.3.1.1- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques appartiennent à la famille de Micrococcaceae, ce sont des cocci à Gram positifs avec un diamètre de 0.5 à 1.5 µm, de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun

des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue, intoxication alimentaire (**Dworkin, 2006**). À l'hôpital, il est la cause la plus fréquente d'infections des plaies chirurgicales. Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, est un staphylocoque doré sur lequel certains antibiotiques ont perdu leur efficacité. (**Pharmacologie des anti-infectieux. Elsevier Masson; 2018**).

III.3.1.2- *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est une bactérie à gram positif, appartenant à la famille *Bacilliaceae*. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0.5 à 2 µm. Elle a une forme cellulaire comme bâtonnets droits à bout arrondis. Elle n'est pas considérée comme pathogène à l'homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut provoquer une intoxication alimentaire (**Bridier, 2011**).

III.3.1.3- *Escherichia coli*

Appartenant à la famille Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* est une bactérie à gram négatif, occupant le tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1.1 à 1.5µm. *Escherichia coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, les infections extra intestinales et diverses infections nosocomiales et même les intoxications alimentaires (**Nataro et Kaper, 1998**).

III.3.2- Souches fongiques

Un champignon appelé aussi mycète est un micro-organisme eucaryote, uni ou pluricellulaire. Sa structure est constituée d'un thalle ou mycélium. Il se nourrit par absorption. Sa paroi est riche en chitine, ce qui lui assure une certaine résistance aux contraintes du milieu externe (**Chabasse, 1999**)

Les mycètes se subdivisent principalement en deux formes (**Moulinier, 2003**)

- La forme moisissure : filaments longs, fins et ramifiés à structure cellulaire appelée hyphes formant un mycélium, souvent visibles à l'œil nu.

- La forme levure : champignons microscopiques unicellulaires possédant un seul noyau. elle provoque des affections cosmopolites atteignant la peau, les ongles, les cavités naturelles (Moulinier, 2003)

III.3.2.1- *Candida albicans*

C'est un champignon ovale, bourgeonnant ressemblant aux levures, qui produit un pseudo mycélium dans les cultures, appartenant à la famille Cryptococcaceae. Actuellement, le genre *Candida* comprend 81 espèces de champignons levuriformes. *C. albicans* est la plus souvent à l'origine de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme. Elle est responsable de plus de 80 % des infections connus sous le terme de candidose comme les infections superficielles cutanées ; des lésions cutanées; infections oesophagiennes et d'infection génitales (Pieri et kirkiacharian, 1992).

III.3.2.2- *Aspergillus brasiliensis*

Appartenant à la famille *Trichomaceae*, *Aspergillus brasiliensis* est une espèce relativement rare, elle est présente dans le sol et peut contaminer les aliments destinés aux humains et aux animaux (Schuster et al., 2002). Des travaux scientifiques ont montré que ce champignon peut causer des infections des oreilles et des yeux chez l'homme, ainsi que des maladies pulmonaires qui peuvent être mortelles dans le groupe des personnes vulnérables. *A. brasiliensis* est résistante à certains antifongiques cliniques. Ce champignon pousse mal à 15°C et sa température de croissance optimale est d'environ 35°C (Meijer et al., 2011).

Partie expérimentale

CHAPITRE I:

Matériel et méthodes

Chapitre I: Matériel et méthodes

I.1- Objectif

Ce chapitre porte sur la description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées dont l'objectif est :

- ❖ L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation et des extraits non volatils par macération au moyen d'éthanol ;
- ❖ Dosages des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits alcooliques des plantes ;
- ❖ Etude chimique des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse seule et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles de *Thymus algeriensis*, *Thymus guynii*, *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus*;
- ❖ Etude de l'activité antioxydante par l'étude du piégeage du radical ABTS^{•+} et du piégeage du radical DPPH[•];
- ❖ Etude de l'activité antimicrobienne des HEs extraites contre trois souches bactériennes, deux levures et un champignon ;
- ❖ Etude de l'activité insecticide des HEs à l'égard d'un ravageur primaire des denrées stockées *Sitophilus oryzae*.

I.2- Choix de matériel biologique

I.2.1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de quatre espèces de plantes appartenant à deux familles botaniques. Le tableau 3 consigne les données sur les plantes choisies.

Les deux plantes *Thymus guyonii* et *Thymus algeriensis* ont été récoltées en juin 2020 dans les montagnes Hawas et Charef (région de Djelfa : 283 Km au sud d'Alger, 34° 41' N, 3°, 13' E, 1150 m d'altitude). Cette région se caractérise par un climat semi-aride à hiver froid avec un sol calcaire et steppique et une altitude de plus de 1000m, ce qui lui donne une richesse énorme et très spécifique en plantes aromatiques et médicinales.

Tableau 3: Les espèces étudiées avec leurs provenances

Espèces	Famille	Provenance
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. et Reut.	Lamiacée	Charef (Djelfa)
<i>Thymus guyonii</i> de Noé	Lamiacée	Hawas (Djelfa)
<i>Artemisia campestris</i>	Asteracée	Charef (Djelfa)
<i>Anacyclus valentinus</i>	Asteracée	sud du Djelfa

L'authentification de la plante et de l'espèce ont été réalisées au département de botanique de l'ENSA par comparaison par rapport aux échantillons déposés dans l'herbier de l'école avec l'assistance du Professeur Hacem Abdelkrim.

I.2.2- Matériel entomologiques

Le charançon du riz (**Figure 20**) a été choisi en raison des dégâts qu'il cause sur le plan économique et dans sa considération comme ravageur primaire des denrées stockées.

L'élevage en masse des adultes du *S.oryzae* (**Figure 21**) a été réalisé sur des grains de blé tendre sains, au laboratoire de la phytopharmacie du département de Zoologie agricole de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique. La multiplication de cet insecte ravageur a été réalisée dans des bocaux en verre d'une capacité d'un litre contenant 250g du blé tendre, chaque bocal est infesté par une dizaine d'insectes adultes afin d'assurer une reproduction rapide. L'ensemble des bocaux sont placés dans une étuve obscure réglée à une température de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $70 \pm 5\%$; de telles conditions sont optimales pour un bon développement de cet insecte.



Figure 20: *Sitophilus oryzae* L



Figure 21: Elevage en masse de *Sitophilus oryzae* L. (Photo originale)

I.2.3- Matériel microbiologique

Nous avons choisi pour l'effet antimicrobien deux bactéries à Gram +, une bactérie à Gram -, deux levures et un champignon pour tester les huiles essentielles de *T. guyonii* et de *T. algeriensis*, et trois bactéries et une levure pour tester les HEs d *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus*.

Toutes les souches microbiennes testées sont pures et issues de la collection du CRD-SAIDAL. Elles sont représentées dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4: Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées par les huiles essentielles de *T. guyonii* et de *T. algeriensis*

Nom de la souche	N° ATCC	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+	Micrococcaceae
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+	Bacillaceae
<i>Escherichia coli</i>	4157	-	Enterobacteriaceae
<i>Candida albicans</i>	24433		Cryptococcaceae
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2601		Saccharomycetaceae
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404		Trichomaceae

Tableau 5: Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées par les huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus*.

Nom de la souche	N° ATCC	Gram	Famille	Principales infections
<i>Escherichia coli</i>	4157	-	Micrococcaceae	-Diarrhées dysentériques; -Gastro-entérites.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4352	-	Enterobacteriaceae	-Vasodilatation ; -Troubles neurologiques et gastro-intestinaux ; -Risque d'abcès pulmonaire.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-	Pseudomonadaceae	-Crampes abdominales ; -Troubles digestifs.
<i>Candida albicans</i>	24433		Cryptococcaceae	-Lésions cutanées ; -Infections oesophagiennes ; -Infections génitales.

I.3- Extraction des huiles essentielles

I.3.1- Hydrodistillation avec l'appareil de Clevenger

La matière végétale a été séchée à l'ombre à température ambiante jusqu'à poids constant puis les feuilles et les fleurs séchées ont été soumises à une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger (**Figure 22**).

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'opération consiste à immerger 100g de la matière végétale séchée dans un grand ballon de 2 litres contenant une quantité suffisante d'eau sans remplir

complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. La vapeur d'eau chargée de l'huile essentielle monte dans la colonne de récupération vers le réfrigérant où elle sera condensée. Le condensât recueilli se sépare en deux phases : une phase aqueuse (plus dense) constitue la phase inférieure et une phase organique (phase supérieure) constituant l'huile essentielle. Cette dernière est ensuite séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toutes traces d'eau. Les huiles essentielles sont conservées au réfrigérateur dans des flacons en verre brun, hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière et à une température de 0 à 4°C en vue de leurs utilisations.

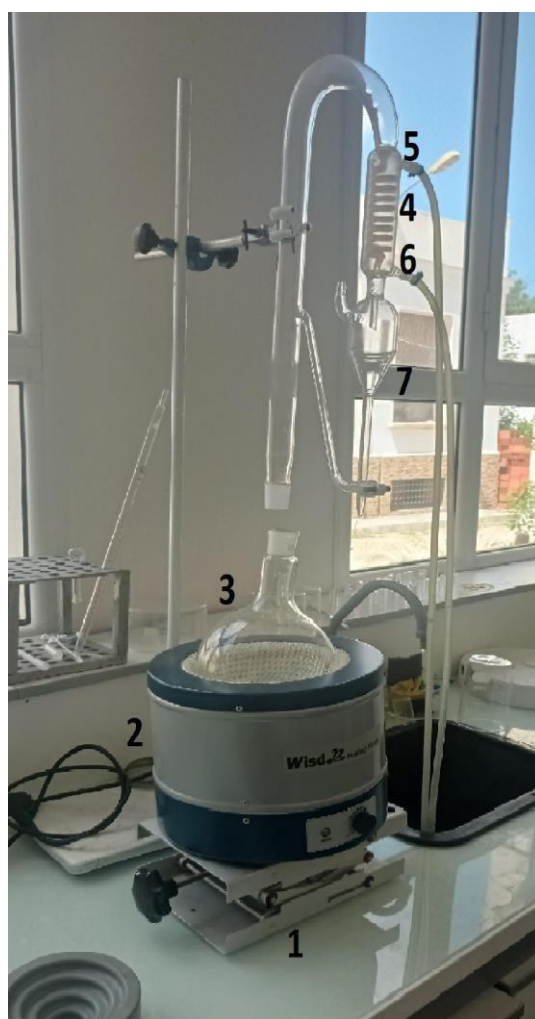


Figure 22: Appareil d'extraction d'huile essentielle type Clevenger

- | | | |
|---|----------------------------|-----------------------------|
| 1 : Support métallique | 4 : Réfrigérant | 6 : Arrivée de l'eau froide |
| 2 : Chauffe-ballon | 5 : Sortie de l'eau chaude | 7 : Distillat (eau + HE) |
| 3 : Ballon de 2 litre (eau+ matière végétale) | | |

I.3.2- Rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est exprimé en volume (millilitres d'huile) pour 100 g de matière végétale sèche. Le rendement en HE est donné par la relation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = V_{\text{HE}} / 100\text{g de matière végétale sèche}$$

Avec:

Rdt: Rendement en HE en pourcentage

V_{HE} : Volume de l' HE récupérée en ml

I.3.3- Analyse chimique par GC et GC/MS

Les huiles essentielles extraites des plantes choisies ont été soumises à des analyses qualitatives et quantitatives par chromatographie en phase gazeuse seule (GC) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Les analyses par CPG et CPG couplée à la spectrométrie du masse (CPG-MS) ont été réalisées au laboratoire d'analyse organique fonctionnelle de la faculté de chimie de l'USTHB.

I.3.3.1-Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (GC)

L'analyse par CPG a été réalisée au moyen d'un appareil du type Hewlett-Packard 6890 GC-FID, équipé d'une colonne capillaire HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm d'épaisseur du film).

Les conditions analytiques étaient les suivantes : La température de la colonne a été programmée à 60°C pendant 8 min, puis 2°C/min jusqu'à 280°C, puis laissée à 280°C pendant 15 min ; de l'azote a été utilisé comme gaz porteur (0,5 mL/min). Injection en mode split (split ratio 1:25), volume injecté 0,2 μL . L'injection a été réalisée à 250°C. La détection par ionisation de flamme a été effectuée à 320 °C. Les pourcentages de composés ont été déterminés à partir de leurs aires de pic dans les profils GC-FID.

I.3.3.2- Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été réalisée avec un système informatisé Hewlett-Packard comprenant un

chromatographe en phase gazeuse 6890 couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (modèle HP 5973) équipé d'une colonne capillaire HP5 MS. L'hélium était le gaz porteur (débit de 0,5 mL/min) ; 0,2 µL était le volume injecté en mode fractionné (1:25) à 250 °C comme température d'injection. Le programme de température du four est décrit ci-dessus pour l'analyse GC. Pour la détection, nous avons utilisé un mode d'ionisation avec impact électronique à 70 eV sur une plage de balayage de 30 à 550 unités de masse atomique.

I.3.3.3- Identification des composés

Les composés chimiques des différentes huiles essentielles étudiées ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (IR) à ceux cités par la littérature (**Adams et al., 2007**) et à ceux de certains étalons disponibles .

La confirmation de l'identification de chaque composant chimique a été faite en comparant leurs spectres de masse à ceux de la littérature (**Adams et al., 2007**) et à ceux des bases de données informatisées fournies par les logiciels NIST 2005 et Wiley7N.

Pour le calcul des indices de rétention un mélange d'alcane C₈-C₂₂ est injecté dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Ces indices sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{IR} = 100z + 100n \cdot \frac{t_{Rc} - t_{Rz}}{t_{Rz+n} - t_{Rz}}$$

t_{Rc} : temps de rétention du composé étudié ;

t_{Rz} : temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbones qui précède le composé étudié;

t_{Rz+n} : temps de rétention de l'alcane à z+n atomes de carbones qui suit le composé;

n : différence des nombres d'atomes de carbone (généralement n=1)

I.4- Elaboration des extraits végétaux

Les extraits alcooliques ont été obtenus à partir des feuilles des plantes choisies suivant la méthode décrite par TAQUET (1985).

I.4.1-- Mode opératoire

Les feuilles séchées ont été broyées jusqu'à obtention d'une poudre très fine conservée dans un flacon en verre étiqueté. Dans notre étude, la macération des poudres dans l'éthanol absolu a été réalisée au laboratoire à raison de 25 g de poudre / 200ml d'éthanol absolu. Après 24 heures de macération, on a obtenu un solvant riche en substances extraites, ce solvant a été filtré par un papier filtre Whatman puis transféré dans un ballon de 250 ml. La majorité du solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif (**Figure 23**) puis le mélange a été lyophilisé. L'extrait ainsi récupéré, a été placé dans un dessiccateur pendant 24 heures afin d'éliminer le reste du solvant, et puis il a été pesé et diluée encore dans du l'éthanol et enfin la solution obtenue a été conservée à 4°C jusqu'à l'utilisation.



Figure 23: Un évaporateur rotatif

I.4.2- Rendement en extrait

Le taux en extrait éthanolique est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Taux de la matière extraite (\%)} = [(P_1 - P_2) / E] \times 100$$

Avec

E: Poids de la matière végétale en gramme

P₁: Poids du ballon+ extrait après évaporation du solvant (g)

P₂: Poids du ballon vide (g).

I.4.3- Dosages des phénols totaux

I.4.3.1- Principe de dosage

Le dosage des composés phénoliques repose sur la méthode de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme standard (Singleton *et al.*, 1999). Le réactif de Folin est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique dont la formule chimique est représentée sur la figure 24.

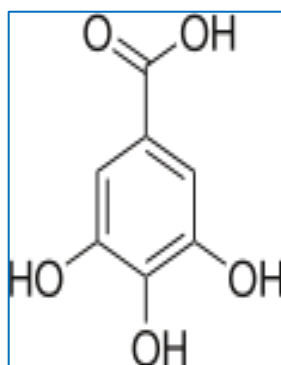


Figure 24: la formule de l'acide gallique

I.4.3.2- Préparation des réactifs

- Réactif de Folin-Ciocalteu: 1 mL du réactif de Folin à diluer avec 9 mL de l'eau distillée;
- Carbonate de Sodium (Na_2CO_3): Préparer une solution, en dissolvant 75 g du (Na_2CO_3) dans un litre d'eau distillée.

I.4.3.3- Mode opératoire

Un volume de 1.25 mL du réactif de Folin est mélangé avec 0.25 mL de l'échantillon d'extrait dilué dans l'éthanol (Chaque essai avec chaque concentration est répété trois fois). Après 3 minutes de réaction, on ajoute 1 mL de solution de carbonate de sodium. On agite et on laisse incuber le mélange pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et on mesure l'absorbance au spectrophotomètre à 765 nm. Un essai à blanc pour régler le zéro du spectrophotomètre est effectué sans ajouter l'échantillon (c'est-à-dire le remplacer avec le solvant).

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (**Figure 25**) de l'acide gallique et sera exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait.

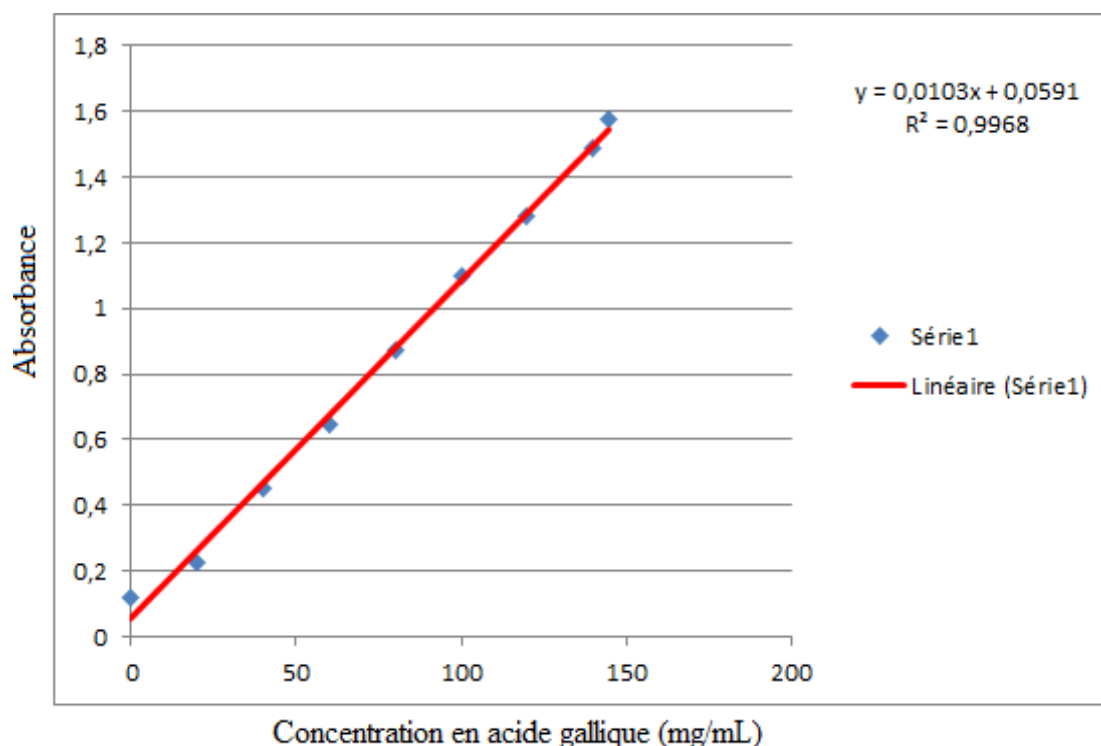


Figure 25 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

I.4.4-Dosages des flavonoïdes

I.4.4.1- Principe

La teneur en flavonoïdes est évaluée selon la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) modifiée (Lamaison et Carnet, 1990), où l' $AlCl_3$ forme un complexe jaune avec les flavonoïdes dont on dose l'absorbance à 420 nm. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la quercétine dont la formule chimique est la suivante:

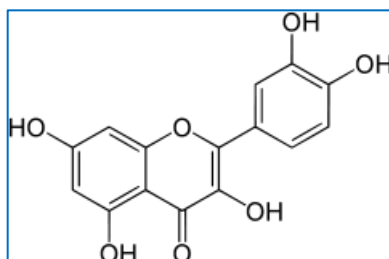


Figure 26: Formule chimique de la quercétine

I.4.4.2- Mode opératoire

- 1ml d'extrait dilué à une concentration donnée est ajouté à 1ml de la solution éthanolique de trichlorure d'aluminium (chaque essai avec chaque concentration est répété trois fois);
- Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420nm;
- La teneur en flavonoïde est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (**Figure 27**) et sera exprimée en mg équivalent de quercétine par g d'extrait.

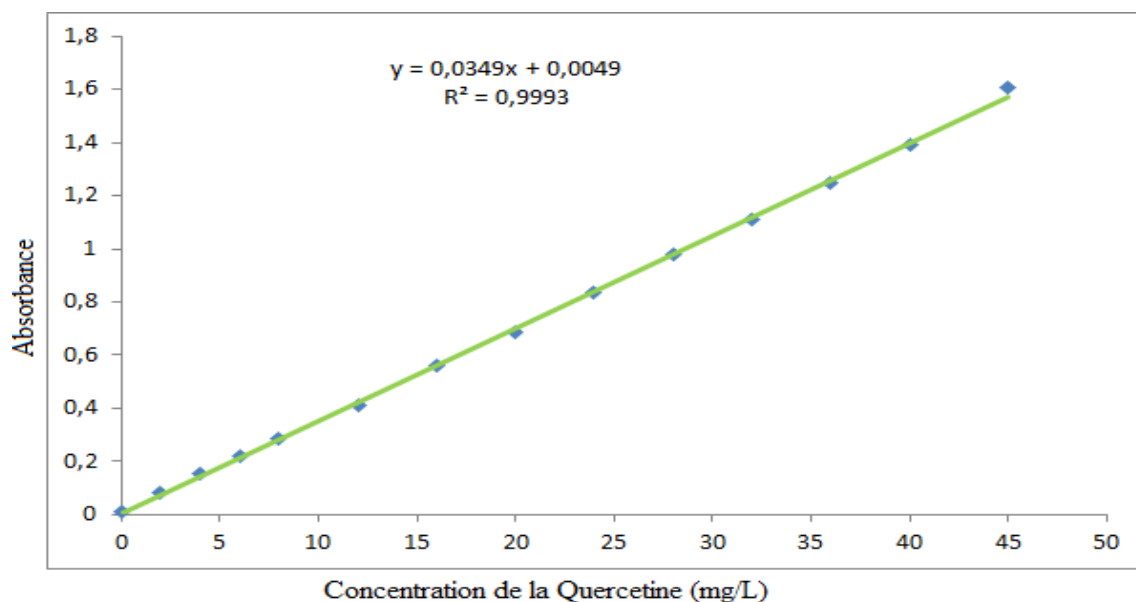


Figure 27 : Droite d'étalonnage de la quercétine

I.5- Evaluation de l'activité antioxydante

I.5.1- Pouvoir de piégeage du radical libre positif ABTS

I.5.1.1- Principe

En réagissant avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique)) de la couleur verte forme le radical $ABTS^{\cdot+}$, de couleur bleue. L'ajout d'antioxydants (AH) va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Figure 28**).

I.5.1.2- Mode opératoire

L'évaluation du piégeage des radicaux ABTS [acide 2,2-azino-bis(3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique)] a été réalisée selon la méthode décrite par **Kerbouche et al, (2021)**. Le cation radical ABTS ($ABTS^{\cdot+}$) a été préparé en faisant réagir une solution d'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium 2,45 mM et en laissant reposer le mélange dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 h. La solution d' $ABTS^{\cdot+}$ a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm.

Après l'ajout de 25 μL de solution d'échantillon à 1,0 mL de solution ABTS $\bullet+$, l'absorbance a été mesurée après 7 min à 734 nm.

Les tests ont été réalisés en triple exemplaire. La solution ABTS $\bullet+$ a été utilisée comme témoin négatifs, et le BHT et le Trolox ont été utilisés comme témoins positifs.

L'activité d'inhibition du radical ABTS est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = (1 - A_1 / A_0) * 100$$

Avec:

- A_1 Absorbance du radical l'ABTS $\bullet+$ et de l'échantillon à tester
- A_0 : Absorbance de l'ABTS (seul) (témoin négatif)
-

Les concentrations inhibitrices de 50% des radicaux ABTS (IC50), ont été déterminées à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile.

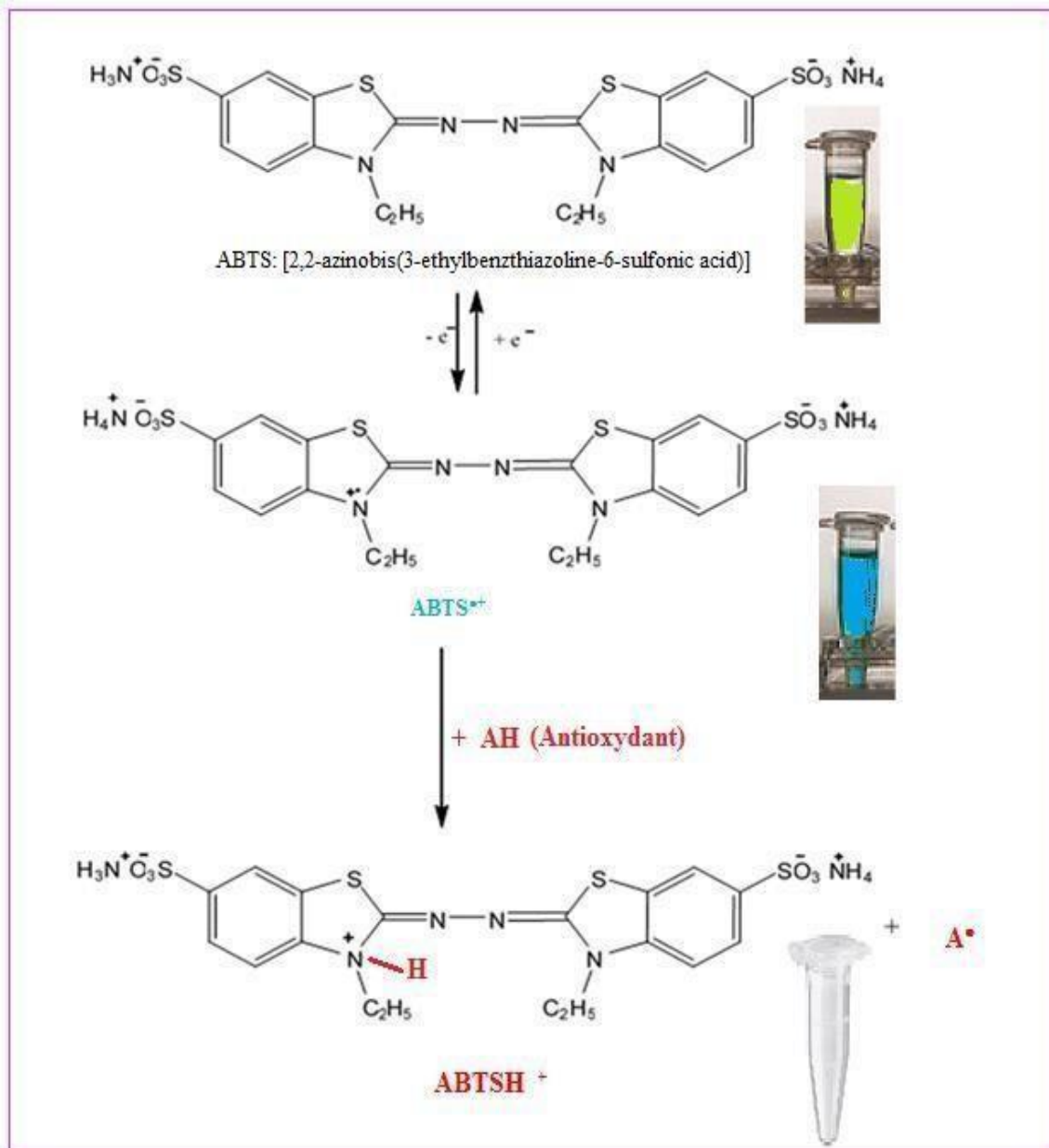


Figure 28: Formation et piégeage du radical ABTS $^{\bullet+}$ par un antioxydant AH

I.5.2- Pouvoir de piégeage du radical libre DPPH

I.5.2.1 Principe

Le test DPPH permet de mesurer le **pouvoir antiradicalaire** de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le **DPPH**, initialement violet, se transforme en **DPPH-H**, jaune pâle (**Figure 29**).

I.5.2.2- Mode opératoire

Un volume de 975 μL de solution éthanolique 60 μM de DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été mélangé avec 25 μL de chaque échantillon constitué d'huile essentielle ou de contrôle positif à différentes concentrations et incubé à l'obscurité pendant 30 min (**Hadjadj et Hazzit, 2020**). Les absorbances ont été mesurées à 517 nm par rapport à un témoin constitué d'une solution de DPPH sans échantillons testés. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les échantillons (HE et témoin positif) a été calculé selon la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = [1 - (\text{Ae} / \text{At})] \times 100$$

Avec: Ae est l'absorption de l'échantillon testé après 30 min d'incubation

At est l'absorption de l'échantillon témoin (t = 0 min).

La concentration de l'échantillon capable de fournir 50 % d'inhibition des radicaux (IC50) a été déterminée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile. Toutes les expériences ont été réalisées en triple exemplaire et le BHT (butylhydroxytoluène) et le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique) ont servi de témoins positifs.

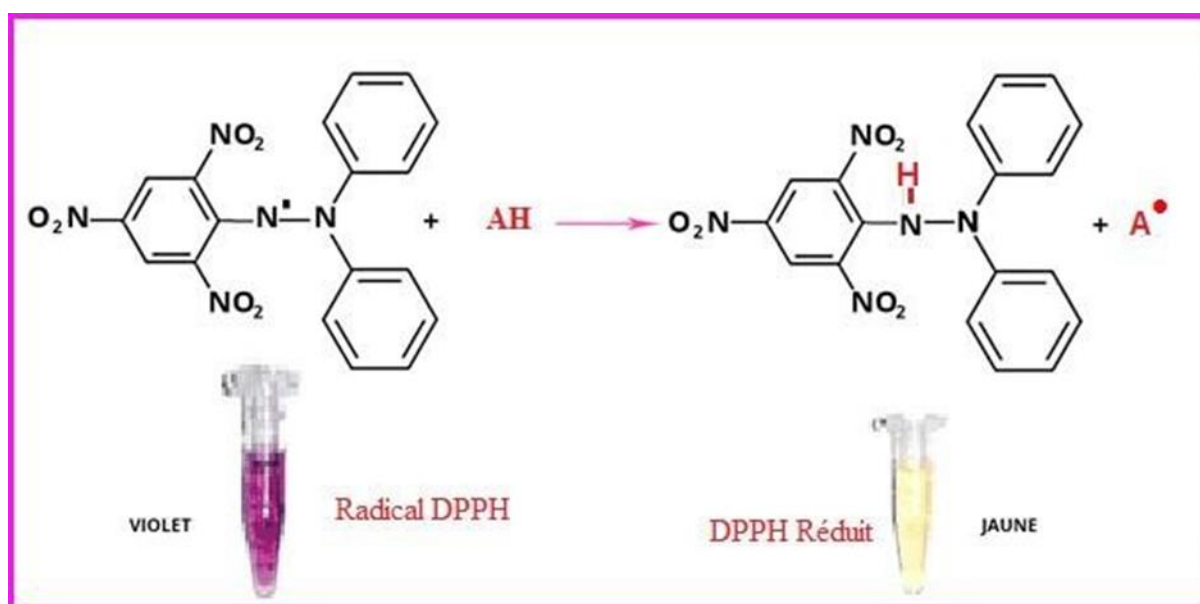


Figure 29: Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH

I.6- Evaluation de l'activité antimicrobienne

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé deux méthodes:

- Méthode qualitative: méthode de diffusion sur milieu gélosé ou méthode du disque. Cette méthode permet la détermination de la sensibilité des germes aux HEs
- Méthode quantitative ou CMI: Elle consiste à déterminer la concentration minimale des HEs testées.

I.6.1- Etude qualitative de l'effet antimicrobien

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour tester la sensibilité des souches microbiennes aux HE par rapport aux souches bactériennes obtenues auprès du CRD (Centre de Recherche et Développement, SAIDAL Alger). Les microorganismes utilisés sont constitués de : deux souches Gram + (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) une Gram – (*Escherichia coli*), deux levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*) et un champignon (*Aspergillus brasiliensis*).

I.6.1.1- Principe :

Le principe de cette méthode (**Figure 30**) consiste à déposer des disques Whatman stériles (6 mm de diamètre) imprégnés de 20 μ L de l'HE et placés sur les surfaces centrales de la gélose préalablement coulée dans une boîte de pétri et ensemencée avec le microorganisme à tester.

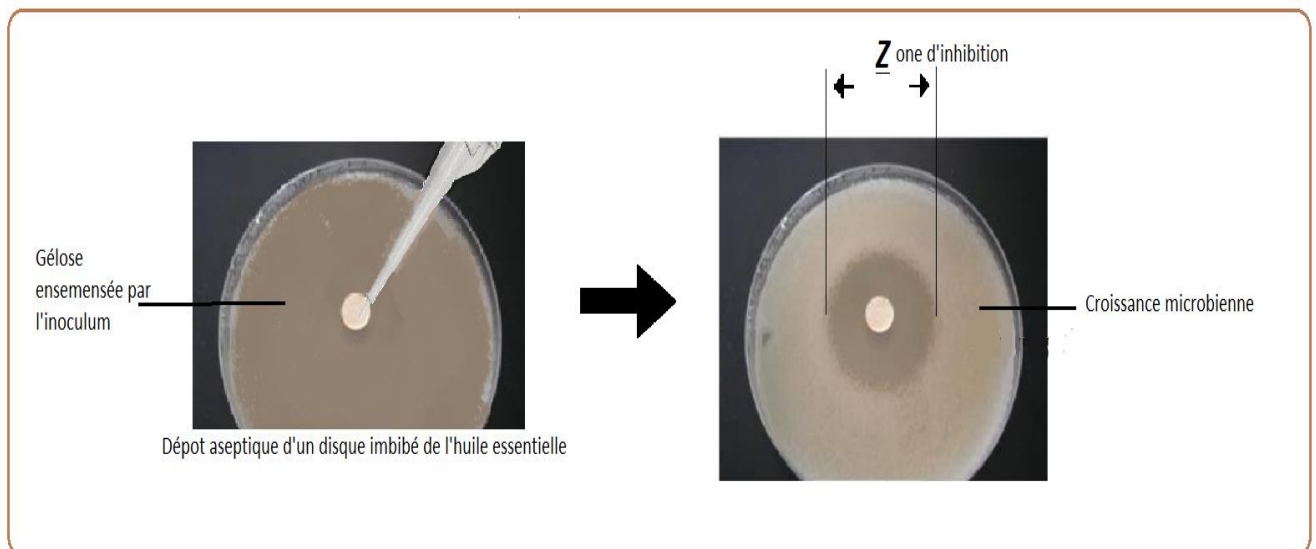


Figure 30: Principe de la méthode de diffusion des disques sur gélose

I.6.1.2- Préparation de l'inoculum

- Pour les bactéries: a partir d'une culture jeune de 18h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 5ml d'eau physiologique stérile, puis en agite au vortex pendant quelques secondes. Pour la lecture de la transmittance, on utilise un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. La transmittance doit être entre 22% et 32 %, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.
- Pour les levures: la préparation de l'inoculum est la même que celle des bactéries sauf que la culture doit être jeune de 48h et que la transmittance doit être entre 2% et 3% ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.

I.6.1.3- Préparation des milieux de culture

Afin d'étudier la sensibilité des bactéries aux HEs, on a préparé le milieu de Mueller-Hinton (ME). Pour 1L de ce milieu il faut: l'extrait de viande (2g), hydrolysate acide de caséine (17.5g), amidon (1.5g) et de la gélose. On mélange les différents ingrédients puis on autoclave pendant 15 min à 115°C. Par la suite, on répartit le milieu qui doit être de pH 7.4 dans des flacons de 250 ml. Pour les levures, on a préparé le milieu Sabourand (SAB) qui comme ingrédient: peptone de viande (5g), peptone de caséine (5g) et du glucose (20g) et la gélose.

Le milieu Sabourand est réparti en tubes à essais de 9 à 10 ml, ces derniers sont par la suite autoclavés pendant 20min à 120°C. Pour préparer la première couche de milieu de culture, on fait fondre les milieux MH et SAB dans un bain marie à 95°C, puis on verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de pétri à raison de 15ml par boîte avec trois répétitions par souche et les laisse refroidir et solidifier.

Une deuxième couche de milieux a été préparé comme suit: on fait fondre les milieux MH et SAB et on les laisse refroidir jusqu' à une température de 45°C et on les remplit dans des flacons de 50ml. On ensemence les milieux avec 200 µl de chaque suspension à l'aide d'une micropipette stérile et on agite manuellement puis on transvase 4ml de chaque milieu inoculé sur la première couche de gélose et enfin on laisse le tout se solidifier.

I.6.1.4- Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disque de cellulose stérile, on l'imbibe de l'HE à tester en mettant seulement en contact le bout de disque, celui-ci va absorber

progressivement jusqu'à imprégnation totale de disque qu'on dépose sur la surface de la gélose, puis on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à 37 °C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

I.6.1.5- Expression des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone claire (zone d'inhibition) autour du disque absorbant après l'incubation des plaques à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les levures. Tous les tests ont été effectués en triple.

L'estimation de l'activité antimicrobienne de l'HE fondée sur une échelle de mesure, citée par **Mutai et al (2009)**, ils ont estimé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibitions de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est ≥ 30 mm.
- Fortement inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est entre 21 et 29 mm.
- Modérément inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 16 et 20 mm.
- Légèrement inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition, est compris entre 11 -15 mm.
- Peu ou pas inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est ≤ 10 mm.

I.6.2- Etude quantitative de l'effet antimicrobien

I.6.2.1- Principe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée à l'aide d'une méthode de microdilution selon le NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2001). Pour les bactéries, les tests ont été effectués à partir des cultures jeunes du 18h à 24h et en milieu Muller-Hinton et tandis que pour les levures, ils ont été effectués à partir des cultures de 48h et en milieu Sabouraud.

L'huile essentielle a été dissoute dans 1% de diméthylsulfoxyde (DMSO). Dans une plaque de microtitration à puits, des dilutions en série d'huiles de *Thymus* ont été réalisées dans la plage de 0,2 à 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Des cultures de bouillon de nuit de chaque souche ont été générées, et la concentration finale dans chaque puits a été ajustée à 5×10^5 UFC/mL pour les

bactéries et $2,5 \times 10^6$ UFC/mL pour les levures et les champignons, et les bactéries ont été incubées pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures. Les valeurs de CMI sont les concentrations les plus basses des HEs testées auxquelles les bactéries ne montrent pas de signes de croissance (pas de turbidité visible). L'expérience a été menée deux fois de plus pour s'assurer que les valeurs de CMI étaient correctes. Le sulfaméthoxazole/triméthoprime et la terbinafine ont servi de témoins positifs pour les bactéries et pour les levures et les champignons, respectivement.

I.6.2.2- Expression des résultats

La lecture des résultats se fait à l'œil nu. La CMI représente ainsi la plus faible concentration d'HE inhibant toute croissance visible à l'œil nu après la période d'incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

La présence de deux colonies ou moins n'est pas prise en considération (**Hammer et al., 1999**).

I.7- Evaluation de l'activité insecticide

S. oryzae a été élevé sur des graines de blé dans des bocaux de 16 cm de hauteur et 9 cm de diamètre, avec un revêtement en tissu à mailles fines pour la ventilation. Les bocaux ont été conservés à l'obscurité dans une étuve réglée à $28 \pm 1^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de $70 \pm 5\%$. Nos expériences ont été menées dans les mêmes conditions de température et d'humidité. Des tests toxicologiques ont été effectués sur des insectes âgés de 1 à 14 jours.

I.7.1-Test du contact

Le contact de l'insecte s'effectue par méthode d'imprégnation de papier filtre avec la solution d'huile essentielle et après l'évaporation du solvant (acétone), les adultes de *Sitophilus oryzae* ont été déposés. Ces adultes ont un âge connu grâce au tamisage régulier des bocaux d'élevage.

Le choix des doses des huiles essentielles est basé sur plusieurs tests préliminaires. Quatre doses ont été choisies à partir d'une dose initiale et selon une progression géométrique de raison de 2 pour chaque plante ($D_1=1\mu\text{l}$ de l'HE/ml d'acétone ; $D_2= 2 \mu\text{l}$; $D_3= 4 \mu\text{l}$; $D_4= 8 \mu\text{l}$). Les huiles essentielles étudiées sont diluées dans un solvant organique constitué par l'acétone. Ce dernier est choisi pour son évaporation rapide à température ambiante et pour l'absence d'effet résiduel déjà démontrée.

Le protocole de l'évaluation de la toxicité des huiles par effet contact est le suivant:

- Quatre solutions ont été préparées à base des doses d'huile essentielle préalablement choisies.
- Des papiers filtres de 10 cm de diamètre, ont été placés dans des boîtes de Petri en verre de 10 cm de diamètre, puis ont été imprégnés chacun avec 1 ml de solution appropriée d'huile essentielle ou d'acétone pour le témoin. Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose de même que pour le témoin.
- Après évaporation du solvant, 20 adultes de *Sitophilus oryzae* âgés de 1-15 jours sont déposés sur le papier filtre traité. Les boîtes ainsi préparées sont fermées à l'aide d'une moustiquaire fine (**Figure 31**).

Enfin, La mortalité des insectes a été relevée quotidiennement pendant 8 jours.

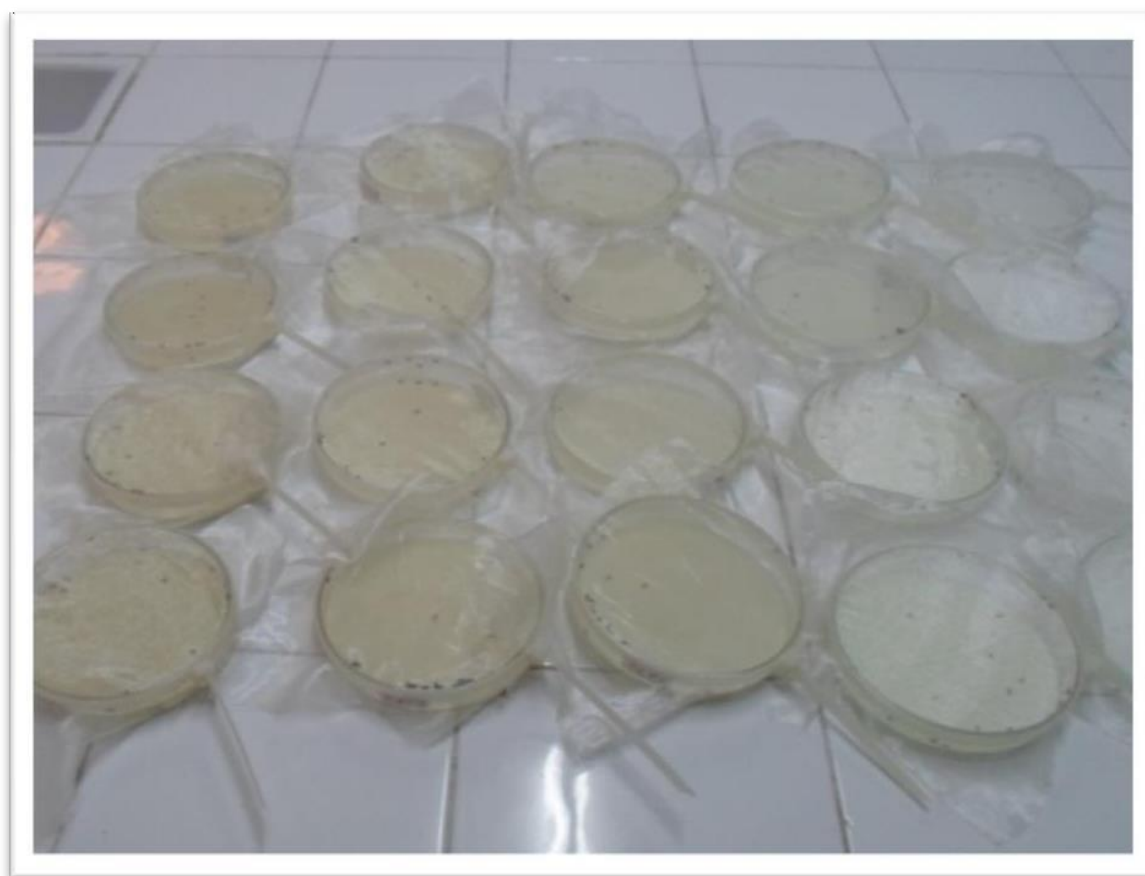


Figure 31: Dispositif expérimental adopté pour l'essai contact (Originale)

I.7.2- Test d'inhalation

La toxicité par inhalation ou fumigation (**Figure 32**) a été déterminée à l'aide de trois doses d'huiles essentielles pures (4,8 et 16 μ L). Un coton-tige de 2 cm de long a été imprégné de chaque dose d'HE et collé sous le bouchon du flacon en verre (Volume = 81,64 cm³). Le couvercle était fermement scellé sur le verre contenant 20 insectes non sexués. Les insectes témoins ont été maintenus dans les mêmes conditions sans aucune huile essentielle. La mortalité a été enregistrée toutes les 24 h pendant 4 jours. Chaque dose a été répétée cinq fois et les taux de mortalité (%) ont été corrigés par la formule **d'Abbot (1925)**:

$$Mc (\%) = 100 [(M - Mt)/(100 - Mt)]$$

Avec:

Mc est la mortalité corrigée des insectes,

M la mortalité des insectes dans la population d'insectes traités

Mt la mortalité des insectes dans le témoin.

La DL50 et la DL90 qui représentent respectivement les concentrations causant respectivement la mort de 50% et 90% des individus d'un même bocal en verre, ont été déterminées par analyse probit testée selon la méthode de (**Finney, 1971**).

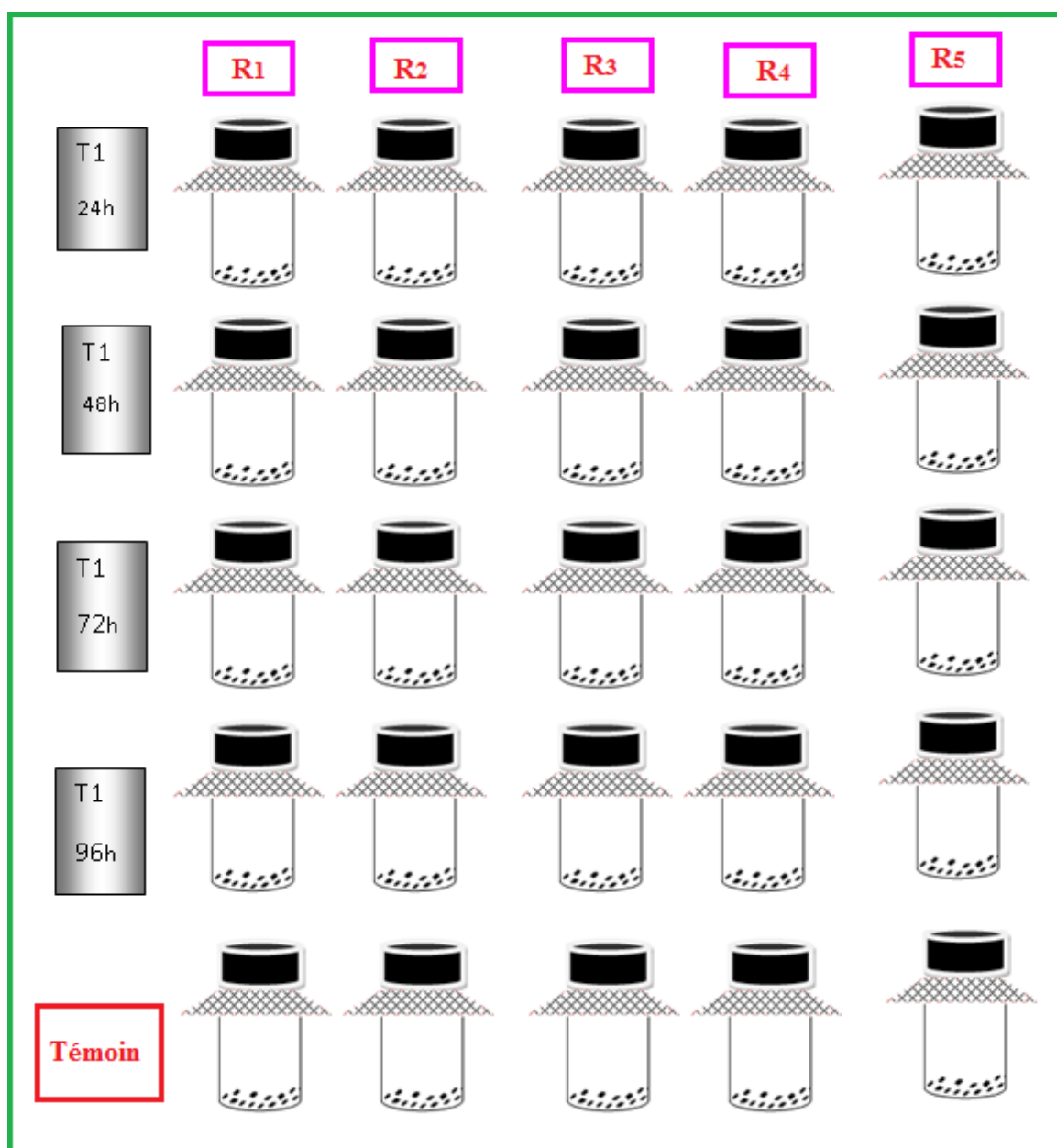


Figure 32: Dispositif expérimental adopté pour l'essai d'inhalation. R= Répétition ; T1=Durée d'incubation après laquelle est effectué l'enregistrement de la mortalité, Témoin : flacons contenant les insectes sans échantillon d'huile essentielle

I.8-Tests statistiques

Les différences statistiques ont été évaluées à l'aide d'une ANOVA à un facteur suivie d'un test à plages multiples de Duncan post-hoc ou d'un test Kruskal-Wallis H suivi d'un test post-hoc de Student-Newman-Keuls. Les différences étaient considérées comme significatives à $P < 0,05$. L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

CHAPITRE II:

Résultats et discussion

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1- Rendement et composition chimique des huiles essentielles des *Thymus*

II.1.1-Cas de *Thymus guyonii*

Le rendement d'extraction en huile essentielle de *Thymus guyonii* exprimé en pourcentage du volume (ml) par rapport au poids de la matière végétale sèche (g) est mentionné dans le **Tableau 6**.

Tableau 6: Rendement des HEs de *T.guyonii* de différentes régions en Algérie

Espèce	Lieu de récolte	Rendement en HE (ml/100g)	Référence
<i>Thymus Guyonii</i>	Djelfa	1±0.01	Ce travail
	Djelfa	1±0.01	Hazzit et al. (2006)
	Aflou	0.98±0.01	Boulaghmen et al (2018)
	Msila	1.5	Zeghib et al (2017)
	Zelfana (Ghardaia)	2	Lehbili et al. (2013)

Le rendement en HE de *Thymus guyonii* de ce travail appartient à l'intervalle des valeurs des rendements rapportées dans la littérature (0,98-2% v/w / w) (**Tableau 6**). Selon les résultats de ce tableau, il n'y pas une grande variation entre les rendements de différentes régions et cela peut s'expliquer par le fait que *T. guyonii* ne pousse que dans des endroits limités du nord du Sahara qui sont caractérisés par un climat plus ou moins similaire. Les résultats de l'identification par CPG et CPG/SM des huiles essentielles de *Thymus guyonii* et *Thymus algeriensis* sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Composition chimique (%) des HEs de *Thymus guyonii* (T.g) et *T. algeriensis* (T.a) de Djelfa

N°	Components ^a	Retention index		<i>Thymus</i>		Identification ^d
		ERI ^b	LRI ^c	<i>T. g</i>	<i>T. a</i>	
1	(E)-2-Hexenal	854	850	t	-	RI-MS
2	3-Heptanone	886	886	t	-	RI-MS
3	Heptanal	902	902	t	-	RI-MS
4	Tricyclene	924	925	0.1	0.2	RI-MS-Std
5	α -Thujene	928	926	1.0	0.1	RI-MS
6	α -Pinene	937	937	1.3	4.4	RI-MS-Std
7	2,4(10)-Thujadien	947	945	t	t	RI-MS
8	Camphene	951	952	2.1	2.5	RI-MS-Std
9	Benzaldehyde	960	962	-	t	RI-MS
10	Verbenene	965	963	t	0.3	RI-MS
11	Sabinene	974	973	0.1	0.5	RI-MS- Std
12	β -Pinene	978	976	0.3	1.0	RI-MS- Std
13	1-Octen-3ol	980	980	0.2	t	RI-MS
14	3-Octanone	985	985	0.3	-	RI-MS
15	6-Methyl-5-hepten-2-one	987	986	-	t	RI-MS
16	β -Myrcene	989	989	0.9	0.2	RI-MS- Std
17	Dehydro-1,8-cineole	990	991	-	1.2	RI-MS
18	3-Octanol	992	993	0.1	t	RI-MS
19	α -Phellandrene	1003	1004	0.3	0.1	RI-MS- Std
20	δ -3-Carene	1011	1011	0.1	t	RI-MS- Std
21	α -Terpinene	1017	1017	2.1	0.1	RI-MS- Std
22	p-Cymene	1024	1025	15.8	0.8	RI-MS- Std
23	Limonene	1030	1030	0.5	1.1	RI-MS- Std
24	1,8-Cineole	1033	1032	0.5	2.1	RI-MS- Std
25	cis- β -Ocimene	1041	1038	t	t	RI-MS
26	trans- β -Ocimene	1048	1048	0.1	0.1	RI-MS
27	γ -Terpinene	1059	1060	15.3	0.3	RI-MS- Std

28	cis-Sabinene hydrate	1068	1068	0.3	0.4	RI-MS
29	cis-Linalool oxide	1072	1074	t	0.1	RI-MS
30	1-Nonen-3-ol	1085	1085	0.1	-	RI-MS
31	Terpinolene	1088	1088	0.2	0.2	RI-MS- Std
32	p-Cymenene	1089	1089	0.2	0.2	RI-MS
33	trans-Sabinene hydrate	1092	1095	0.1	0.2	RI-MS
34	Linalool	1099	1099	2.5	-	RI-MS- Std
35	Hotrienol	1108	1107	0.1	-	RI-MS
36	1,3,8-p-Menthatriene	1112	1112	-	t	RI-MS
37	Fenchol	1113	1114	-	t	RI-MS
38	p-Menth-2-en-1-ol	1120	1122	0.1	0.5	RI-MS
39	α -Campholenal	1125	1125	0.1	0.7	RI-MS
40	trans-Pinocarveol	1136	1139	0.1	1.1	RI-MS
41	Camphor	1142	1144	0.4	4.6	RI-MS- Std
42	trans-Verbenol	1145	1144	0.1	2.6	RI-MS
43	Isoborneol	1156	1157	t	t	RI-MS
44	Pinocarvone	1163	1162	t	0.4	RI-MS
45	Borneol	1166	1166	5.2	3.2	RI-MS- Std
46	4-Terpineol	1174	1177	0.6	0.9	RI-MS- Std
47	p-Cymene-8-ol	1180	1183	0.3	0.7	RI-MS
48	α -Terpineol	1192	1189	0.8	3.7	RI-MS- Std
49	Myrtenol	1194	1194	-	0.5	RI-MS
50	trans-Dihydrocarvone	1200	1201	0.1	-	RI-MS
51	Verbenone	1206	1206	-	0.7	RI-MS
52	trans-Carveol	1214	1217	-	1.4	RI-MS
53	Bornyl formate	1221	1223	-	0.2	RI-MS
54	Nerol	1226	1228	-	0.7	RI-MS- Std
55	Thymol methyl ether	1232	1235	15.7	-	RI-MS
56	Cumin aldehyde	1236	1238	0.3	-	RI-MS- Std
57	Carvacrol methyl ether	1241	1243	0.3	-	RI-MS
58	Bornyl acetate	1285	1285	0.5	5.4	RI-MS- Std
59	p-Cymene-7-ol	1284	1287	-	0.1	RI-MS- Std
60	Thymol	1291	1291	19.1	-	RI-MS- Std

61	Carvacrol	1299	1299	2.1	-	RI-MS- Std
62	Terpinyl acetate	1352	1350	-	28.1	RI-MS- Std
63	Eugenol	1359	1357	t	0.1	RI-MS- Std
64	Neryl acetate	1363	1364	-	3.1	RI-MS
65	Carvacrol acetate	1370	1373	t	-	RI-MS
66	α -Copaene	1376	1376	t	t	RI-MS
67	Geranyl acetate	1380	1382	-	0.6	RI-MS- Std
68	β -Bourbonene	1384	1384	-	0.2	RI-MS
69	cis-Jasmone	1395	1394	t	-	RI-MS
70	Methyl eugenol	1399	1402	t	t	RI-MS
71	α -Gurjunene	1405	1409	t	0.1	RI-MS
72	β -Caryophyllene	1419	1419	2.1	0.2	RI-MS- Std
73	β -Gurjunene	1431	1432	t	t	RI-MS
74	Aromadendrene	1441	1439	0.1	-	RI-MS
77	α -Humulene	1452	1452	0.2	t	RI-MS
75	trans-Geranyl acetone	1455	1453	-	t	RI-MS
76	allo-Aromadendrene	1461	1461	0.1	0.4	RI-MS
78	γ -Muurolene	1478	1476	t	0.1	RI-MS
79	Germacrene D	1481	1480	t	0.4	RI-MS
80	β -Ionone	1483	1485	-	0.1	RI-MS
81	β -Selinene	1487	1486	t	-	RI-MS
82	Valencene	1490	1492	-	0.1	RI-MS
83	Bicyclogermacrene	1494	1494	0.5	0.1	RI-MS
84	α -Muurolene	1499	1499	0.1	-	RI-MS
85	β -Bisabolene	1509	1509	1.6	-	RI-MS- Std
86	γ -Cadinene	1511	1513	0.1	0.2	RI-MS
87	δ -Cadinene	1520	1523	0.2	0.3	RI-MS
88	β -Sesquiphellandrene	1524	1524	t	-	RI-MS
89	trans-Cadina-1,4-diene	1528	1526	t	-	RI-MS
90	α -Calacorene	1539	1540	t	-	RI-MS
91	(E) - α -Bisabolene	1544	1541	t	0.1	RI-MS
92	(E) - Nerolidol	1561	1561	-	3.9	RI-MS- Std
93	Palustrol	1567	1568	-	0.1	RI-MS

100	Spathulenol	1576	1576	0.7	0.1	RI-MS- Std
101	Caryophyllene oxide	1580	1581	1.2	2.3	RI-MS- Std
102	Viridiflorol	1589	1591	t	-	RI-MS
103	Caryophylla-4(12), 8(13)-dien-5.beta.-ol	1640	1640	0.2	-	RI-MS
104	t-Cadinol	1633	1635	0.2	-	RI-MS
105	β -Eudesmol	1649	1649	0.1	0.2	RI-MS
106	α -Cadinol	1652	1652	0.1	-	RI-MS
107	Hexahydrofarnesyl acetone	1845	1845	-	t	RI-MS
108	Phytol	2115	2114	t	-	RI-MS
Total identification (%)				97.9	84.3	
<i>Rendements (% v/w)</i>				1 \pm 0.01	1.1 \pm 0.02	
Monoterpènes				40.4	12.1	
Monoterpènes oxygénés				49.3	62.2	
Sesquiterpènes				5.0	2.2	
Sesquiterpènes oxygénés				2.5	6.6	
Autres				0.7	1.3	

^a Composés quantifiés sur la colonne capillaire HP 5MS et répertoriés par ordre d'élution à partir de la même colonne;

^b ERI: indices de rétention expérimentale: relative aux n-alcanes C8-C22 calculés et injectés sur la même colonne capillaire non-polaire HP 5MS;

^c LRI: indices de rétention de la littérature (Adams, 2007) ;

^d Identification : Std, comparaison des spectres de masse avec de ceux d'étalons purs (standards) ; MS, comparaison du spectre de masse à ceux des spectres des bibliothèques (NIST 2005 et Wiley 7N) ; RI, comparaison de l'indice de rétention avec la littérature ;

t = trace (concentration < 0.1%) ; principaux composés ($\geq 3.2\%$) indiqués en gras

La figure 33 illustre le chromatogramme GC-MS relatif à l'huile essentielle de *Thymus guyonii* et les figures 34, 35, 36 et 37 illustrent les spectres de masse et formule chimique des composés majoritaires qui caractérisent l'huile essentielle de *T.guyonii*.

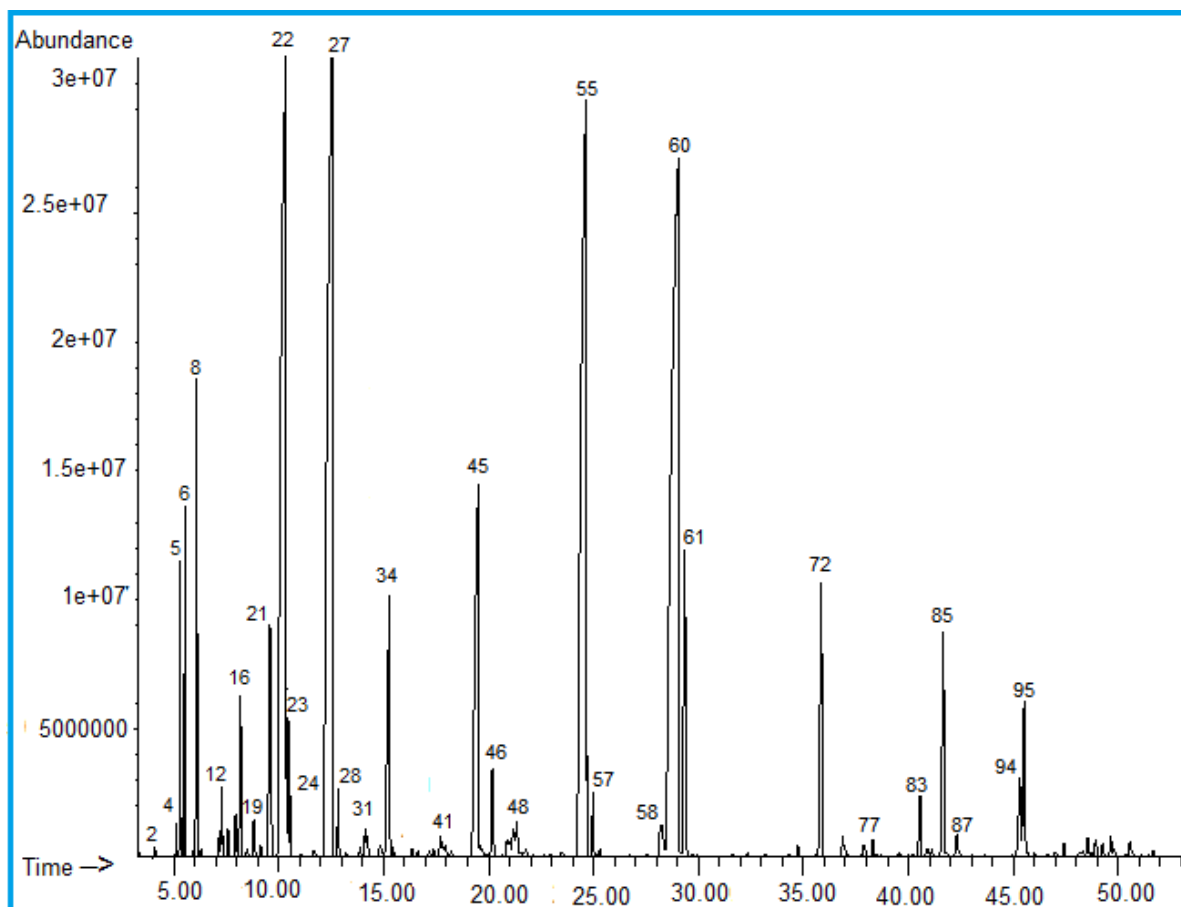


Figure 33: Chromatogramme (CG-MS) de l'huile essentielle de *T. guyonii*. Les nombres sur les pics correspondent à ceux de l'ordre des constituants du tableau.

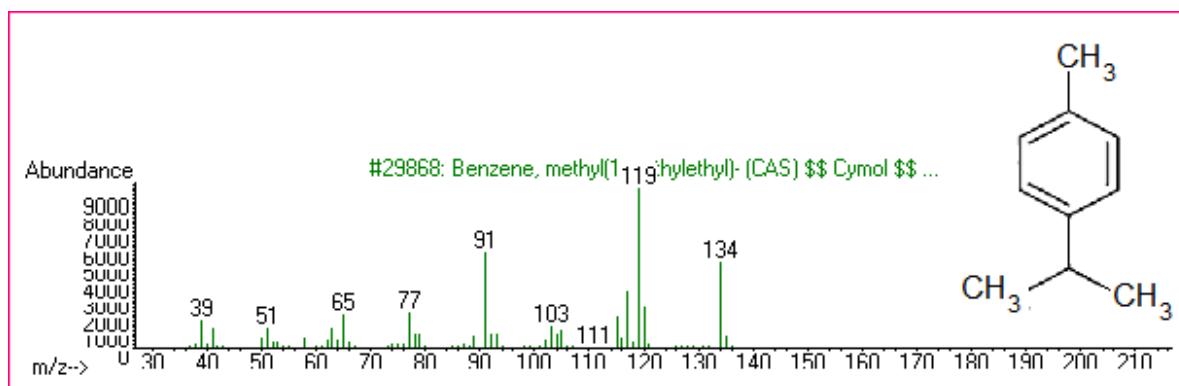


Figure 34 : Spectre de masse du p-cymene

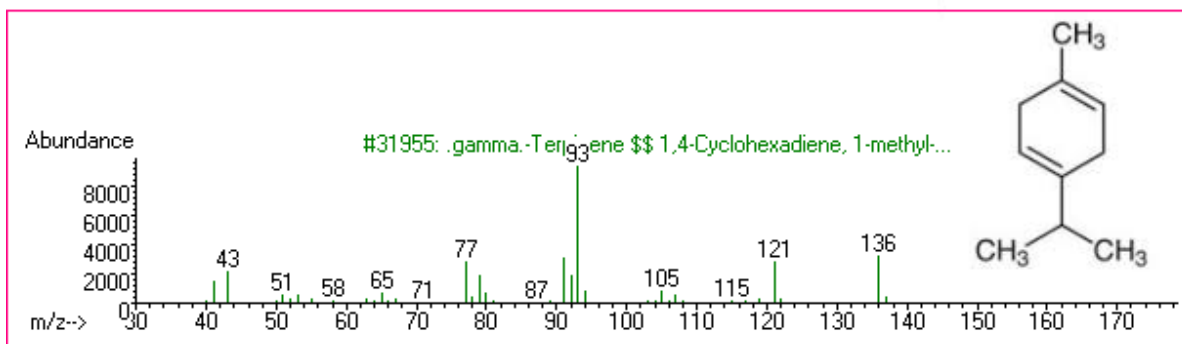
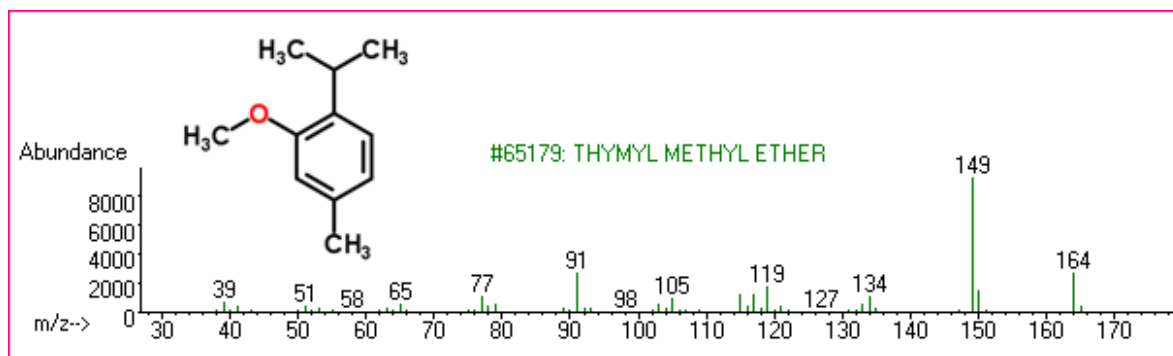
Figure 35 : Spectre de masse du γ -terpinene

Figure 36 : Spectre de masse du thymol methyl ether

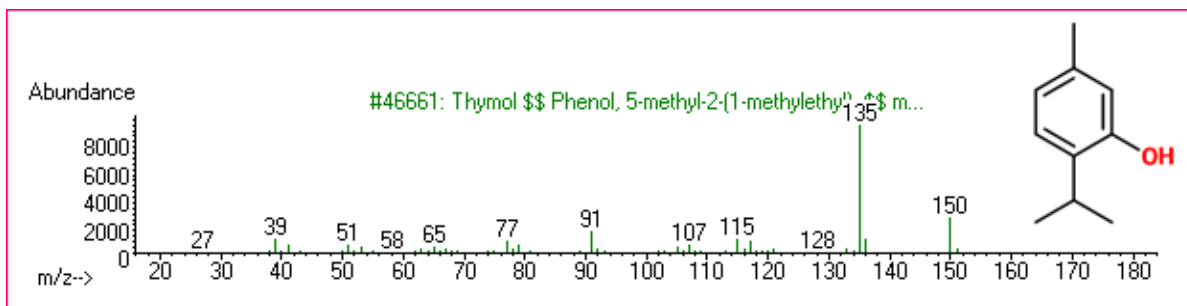


Figure 37: Spectre de masse du thymol

L'analyse chromatographique a permis d'identifier 97.9 % de la composition chimique de l'HE de *T. guyonii*. L'huile essentielle de cette espèce est caractérisée par des quantités à peu près équivalentes d'hydrocarbures monoterpéniques (40,4 %) et de monoterpènes oxygénés (49,3 %) (**Figure 38**) dans lesquels le p-cymène (15,8 %) et le γ -terpinène (15,3 %) sous forme de monoterpènes et d'éther méthylique de thymol (15,7 %) et de thymol (19,1 %) sous forme de monoterpènes oxygénés sont les principaux composés. Les données rapportées dans la littérature (**Tableau 8**) pour les huiles essentielles de *T. guyonii* montrent le carvacrol (55,6%), le thymol (10,9-35,8%), le p-cymène (15,5-18,6%) le γ -terpinène (13-18,7%) et le thymol

méthyl éther (10,7-15,2%) (Hazzit et al.,2006; Boulaghlem et al., 2018) comme principaux composés les plus communs aux différents échantillons mais avec des différences dans l'ordre de leur importance d'un échantillon à l'autre selon son origine.

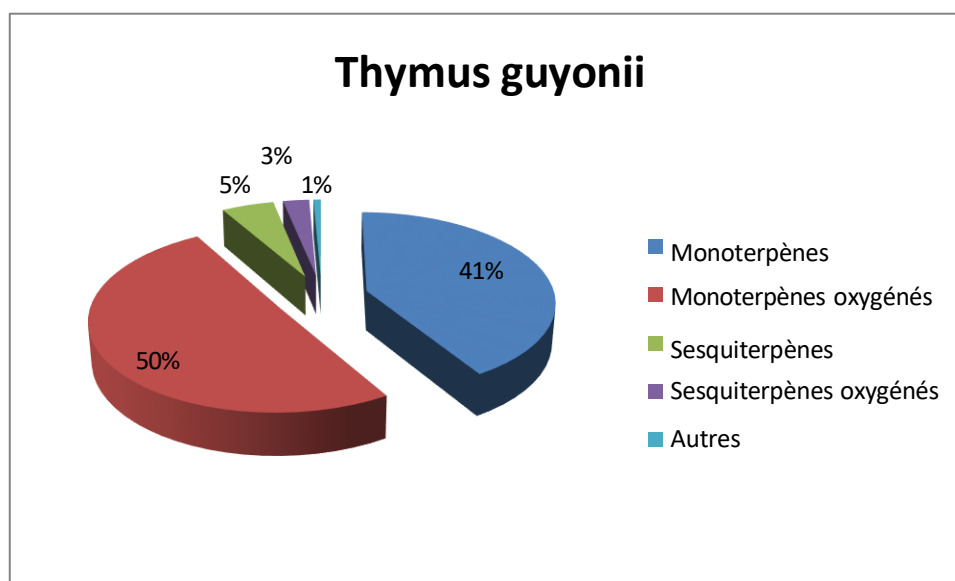


Figure 38: Familles chimiques de l'huile essentielle de *Thymus guyonii*

Tableau 8: Principaux composés des huiles essentielles de *Thymus guyonii* de différentes régions

Origine	Principaux constituants (%)	Référence
Djelfa	p-Cymene (18.6), γ -Terpinene (13), Thymol methyl ether (10.7), Thymol (10.9)	Hazzit et al (2006)
Zelfana (Ghardaia)	p-Cymene (6.3), Thymol (19.5), Carvacrol (55.6)	Lehbili et al (2013)
M'Sila	o-Cymene (9.7), δ -Terpinene (5.7), Thymol (21.2) Carvacrol (55.6)	Zeghib et al (2013)
Aflou (Laghouat)	p-Cymene (15.5), γ -Terpinene (18.7), Thymol methyl ether (15.2), Thymol (35.8)	Boulaghlem et al (2018)

*Djelfa: 300 Km Sud d'alger ; 3.25007 34° 402 03 N, 3° 152 03 E, 1140 m altitude.

Ghardaia : 660 Km Sud d'Alger; 32° 29' 24.809"N, 3° 40' 25.828" E, 489 m altitude

M'Sila: 238 Km Sud est d'Alger, 35° 42' 21" N, 4° 32' 31" E, 471 m altitude

Aflou: 400 Km Sud ouest d'Alger, 34° 6' 26.951" N 2° 6' 3.055" E, 1400 m altitude

Le composé majeur de l'HE étudiée est le thymol avec une valeur de 19.1 % , celui de Msila et Ghardaia est le carvacrol (55,5% et 55,55%). Par contre celui de Djelfa (**Hazzit et al., 2006**) est le p-cymene à 18,6% . L'HE étudiée possède les mêmes composants principaux que ceux rapportés par **Boulaghmen et al., (2018)** mais avec une différence très notable pour le thymol (19,1 vs-35,8%).

Les variations observées dans la composition chimique des HES, d'une manière qualitative et quantitative, peuvent être dues à l'âge de la plante, à la période du cycle végétatif, à la partie de la plante utilisée et à certains facteurs écologiques, ou même à des facteurs génétiques (**Senatore, 1996; Kokkini et al ., 1997; Thompson, 2003**).

II.1.2- Cas de *Thymus algeriensis*

Les rendements de l'extraction de l'HE de *Thymus algeriensis* de quelques régions et origines exprimés en pourcentage du volume (ml) par rapport au poids de la matière végétale sèche (g), sont regroupés dans le tableau 9.

Tableau 9: Comparaison des rendements (mL/100g MS) en huile essentielle de quelques échantillons de *Thymus algeriensis*

Espèce	Origine	Rendement	Référence
<i>Thymus algeriensis</i>	Djelfa	1.1	Echantillon étudié
	Sud-ouest d'Alger	0.4-1.45	Chemmat et al., (2012)
	Maroc	0.3±0.07	Amarti et al., (2010)
		2.8± 0.2	Kouache et al, 2017
	Médeaa	1.13	Dob et al, 2006

Les rendements en huile essentielle de *T. algeriensis* rapportées dans la littérature varient entre 0.03 et 2.8%. Le rendement de notre échantillon est plus élevé par rapport à celui de la même espèce originaire du Maroc ce qui explique l'influence des régions géographiques. Selon **Chemmat et al., (2012)**.

La variation de rendement est aussi influencée par la durée de conservation de la plante, après la récolte et peut varier de 0.4 % après 8 jours de récolte et à 1.45%. Si l'extraction des huiles essentielles, est effectuée le jour même de la récolte de la plante. Cette variation du rendement selon leur origine peut être s'expliquer par le fait que contrairement à *T. guyonii*, *T. algeriensis* pousse sur une vaste étendue de toutes les régions d'Afrique du Nord (du nord du Sahara à la mer Méditerranée) qui se distinguent par des sols et des climats différents.

Les analyses chromatographiques ont montré que l'huile de *T. algeriensis* est largement dominée par les monoterpènes oxygénés (62,2 %) répartis entre 25 composants. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages sont représentés dans le tableau 6, les familles chimiques sont mentionnées dans la figure 39 et le chromatogramme GC/MS relatif à l'huile essentielles illustré dans la figure 40.

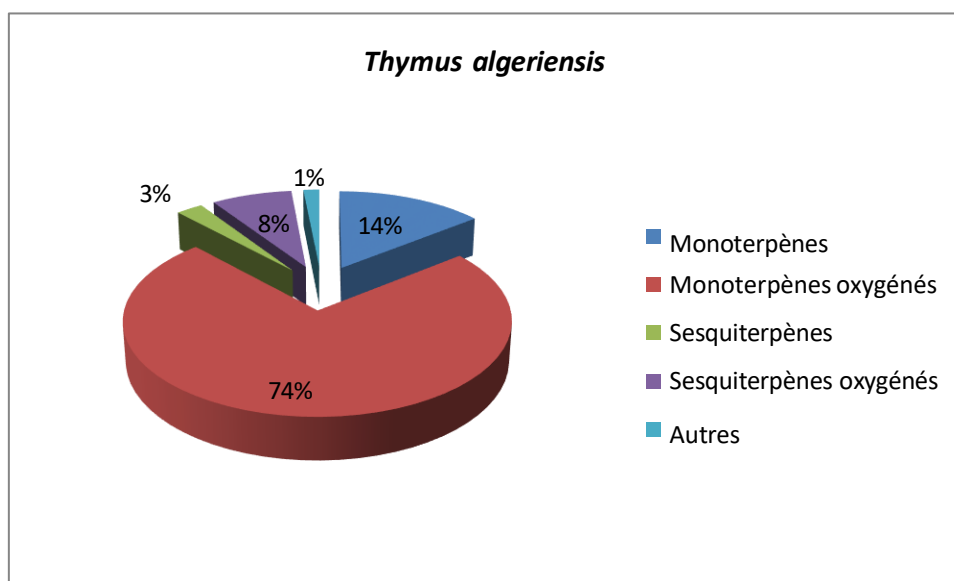


Figure 39: Familles chimiques de l'HE de *Thymus algeriensis*

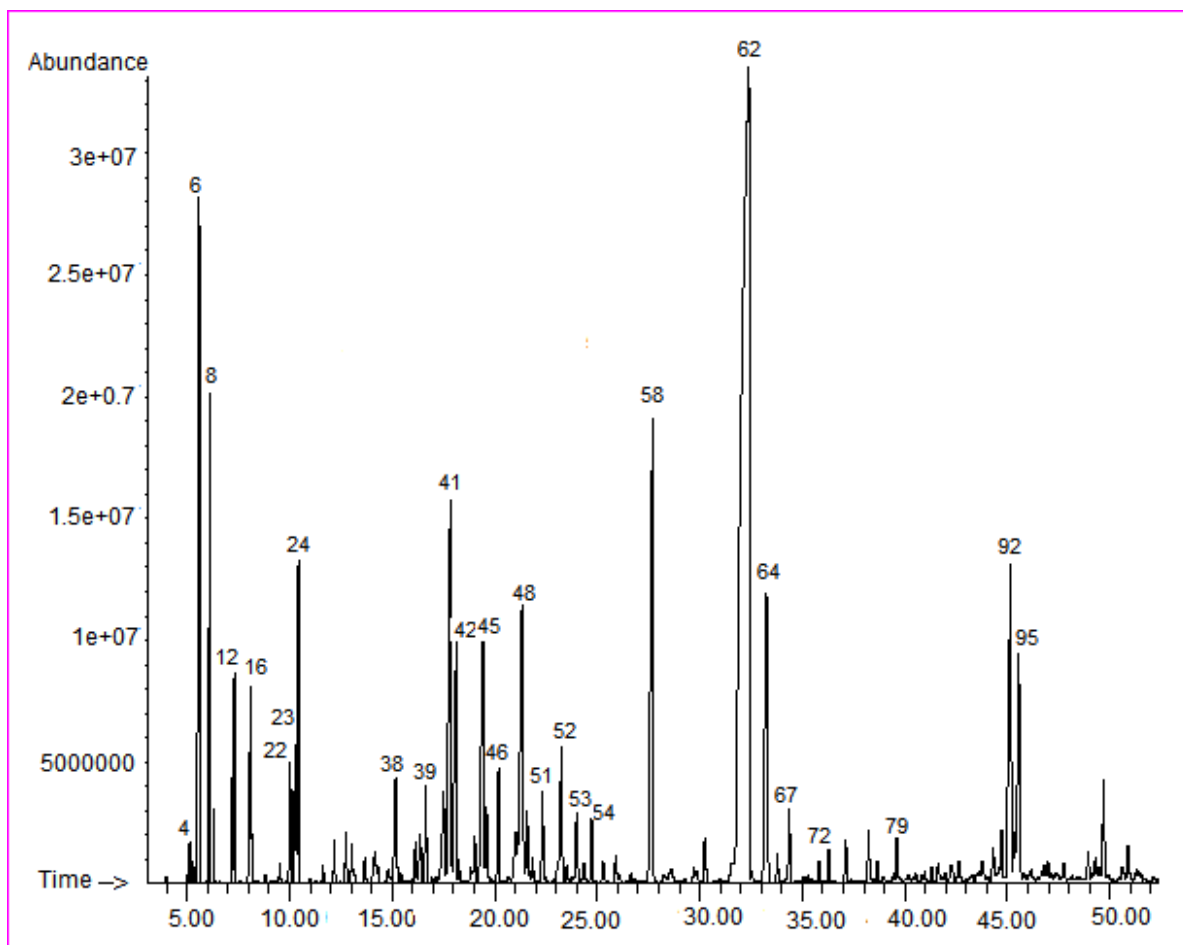


Figure 40 : Chromatogramme (G-MS) de l'huile essentielle de *T. algeriensis*. Les nombres sur les pics correspondent à ceux des composés de la composition chimique du tableau

Les composés les plus importants de l'HE étudiée sont : α -Pinene (4.4%), camphor (4.6%), bornyl acetate (5.4%) et le composé majeur le Terpinyl acetate (28.1 %) dont les spectres de masse et structures chimiques sont illustrés dans les figures 41 et 42.

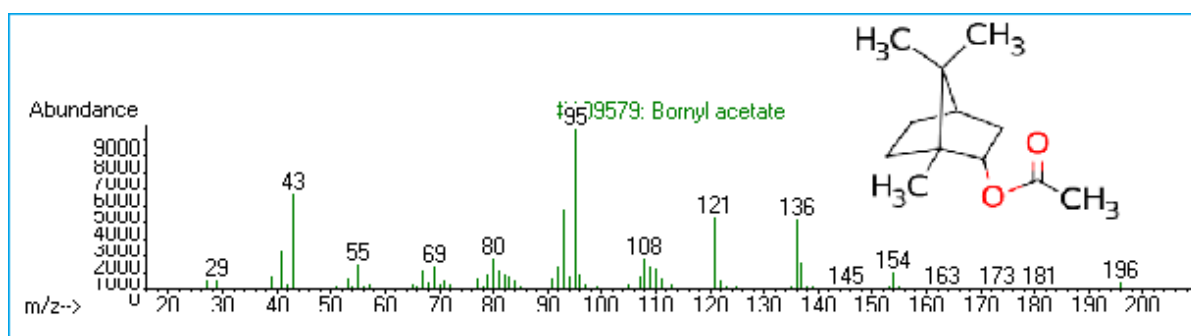


Figure 41: Spectre de masse du bornyl acetate

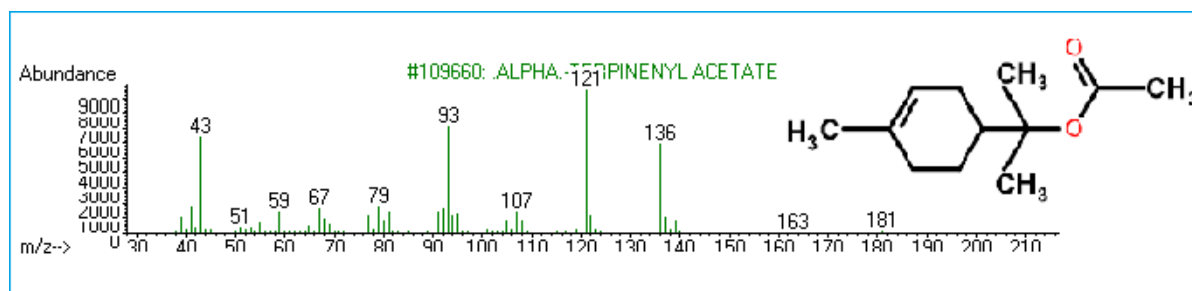


Figure 42: Spectre de masse du terpinyl acetate

L'huile essentielle de *T. algeriensis* riche en acétate de terpényle est rapportée ici pour la deuxième fois. En effet, **Rezzoug et al., (2019)** ont déjà signalé un échantillon de la région de Laghouat riche en acétate de terpinyle. Jusqu'à preuve du contraire, il semble qu'un tel chémotype soit caractéristique des régions sahariennes septentrionales algériennes.

La composition chimique de l'huile essentielle de *T. algeriensis* présente un niveau élevé de polymorphisme chimique. Selon le **tableau 10**, on peut observer que 22 composés sont engagés dans les groupes qui composent la majorité du contenu des différentes huiles, le camphre étant le plus fréquemment rapporté.

Les travaux de **Amarti et al., (2010)** indiquent que les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont permis d'identifier 48 composés qui représentent (98,87 %) pour *Thymus algeriensis* du Maroc, dont deux constituants chimiques dominants: le camphre (27,7 %) et l' α -pinène (20,5 %). Cependant, l'HE de *T. algeriensis* de la Lybie est dominé par le thymol (36,8%) et le myrcène (20,2%) (**Aboutabl et El-Dhamy, 1995**). Le grand polymorphisme chimique de cette essence a été confirmé par **Hazzit et al., (2009)** où pour deux échantillon d'un même lieu collectés à des altitudes différentes avaient une composition chimique différente. **Dob et al., (2006)**, ont trouvé que le *Thymus algeriensis* contient comme principaux constituants le linalol (47,3 %), le thymol (29,2 %), le p-cymène (6,8 %) et carvarol (1,7%). Par contre, **Ait-ouazzou et al., (2011)** ont constaté que cette plante est très riche en borneol (23,48 %).

La grande variabilité de la composition des huiles essentielles de *T. algeriensis* par rapport à celles de *T. guyonii* pourrait être attribuée à sa large distribution en Afrique du Nord dans des régions de climats, sols et altitudes différents. La variabilité de la composition chimique des huiles essentielles peut être causée par des facteurs biotiques et abiotiques qui agissent sur les gènes qui codent les voies de biosynthèse des terpènes (**Lee et al. 2016 ; Wahid et al. 2016 ; Pratt et al. 2014**).

Tableau 10 : Principaux composés (%) des l'HEs de *T. algeriensis* d'Algerie, de Tunisie, du Morocco et de Lybie

Origin	*Main components (%)																						**Ref.	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		
Morocco										49.3													(1)	
										-														(2)
										80.4														(3)
										14.4	22.8													(4)
										-	-70													(5)
										65.1														(6)
										37.8	8.1													(7)
										10	18.3											11.8		(8)
Algeria									20.5														(9)	
									7.2														(10)	
																							(11)	
																							(12)	
																							(13)	
																							(14)	
																							(15)	
																							(16)	
																							(17)	
																							(18)	
																							(19)	
	Tunisia																							(20)
																							(21)	
																							(22)	
																							(23)	
																							(24)	
																							(25)	
																							(26)	
																							(27)	
Libya																							(28)	
																							(29)	

*Main components ($\geq 6\%$): **1**: α -pinene, **2**: p-cymene, **3**: γ -terpinene, **4**: 1,8-cineole, **5**: linalool, **6**: 4-terpineol, **7**: Camphor, **8**: Borneol, **9**: thymol, **10**: carvacrol, **11**: Geraniol, **12**: Terpinenyl acetate, **13**: Nerylacetate, **14**: Geranyl acetate, **15**: Germacrene D, **16**: alpha-Caryophyllene, **17**: β -Caryophyllene, **18**: Elemol, **19**: β -Eudesmol, **20**: Camphene, **21**: Nerolidol : **22**: Caryophyllene oxide. Ref. : references.

Références: (1): Jaafari et al. (2007); (2) : W ; (3) : Zayaad et al., (2014) ; (4) : El Ouariachi et al. (2014) ; (5) : Amarti et al. (2010) ; (6) : Hamdani et al. (2015) ; (7) : Labiad et al. (2022) ; (8) : El Ouahdani et al. (2021) ; (9) : Benabdallah et al. (2017) ; (10) : Kouache et al. (2017) ; (11) : Kebbi et al. (2020) ; (12) : Douar-Latreche et al. (2018) ; (13) : Ouakouak et al. (2021) ; (14) : Rezzoug et al. (2019) ; (15) : Dob et al. (2006) ; (16) : Chemat et al. (2012) ; (17) : Ouakouak et al. (2015) ; (18) : Hazzit et Baaliouamer (2007) ; (19) : Hazzit et al. (2009) ; (20) : Bendjabeur et al. (2018) ; (21) : Zouari et al. (2012) ; (22) : Ben El Hadj Ali et al. (2015) ; (23) : Ben El Hadj Ali et al. (2010) ; (24) : Zouari et al. (2011) ; (25) : Megdiche-Ksouri et al. (2015) ; (26) : Giwelli et al. (2013) ; (27) : Aboutabl et El-dahmy (1995).

II.1.3- Cas d'*Artémisia campestris*

L'analyse chimique de l'HE d'*Artemisia campestris* dont le chromatogramme représentatif est illustré par la figure 44 nous a permis d'identifier 78 constituants (Tableau 11) de cette huile représentant 81% de sa totalité. Les principaux composés dont les spectres de masse ainsi que leurs structures chimiques sont représentés sur les figures 43 et 45 sont constitués par l' α -pinene (10.4%), le β -pinene (14.6%), le β -myrcene (8.3%), le cis- β -Ocimene (8%) et le capillene (7.4%). Ce dernier composé n'a été que identifié que par son indice de rétention seulement ce qui équivaut à une tentative d'identification.

L'huile essentielle de notre échantillon est constituée dans sa majorité par des monoterpènes (58.6%). Le tableau 12 dans lequel nous avons résumé les principaux composés ainsi que les rendements en huiles essentielles (mL/100 g MS) d'échantillons de différentes origines retrouvés dans la bibliographie montre une grande variabilité tant au niveau de la composition chimique de l'HE que celui du rendement. Le rendement obtenu dans ce travail (1.0 ml/100g) appartient à l'intervalle de la gamme des rendements de la bibliographie et qui s'échelonnent entre 0.03 et 1.5%. Si on compare les compositions chimiques des échantillons d'Algérie on constate qu'aucune composition n'est entièrement similaire à une autre tant du point de vue quantitatif.

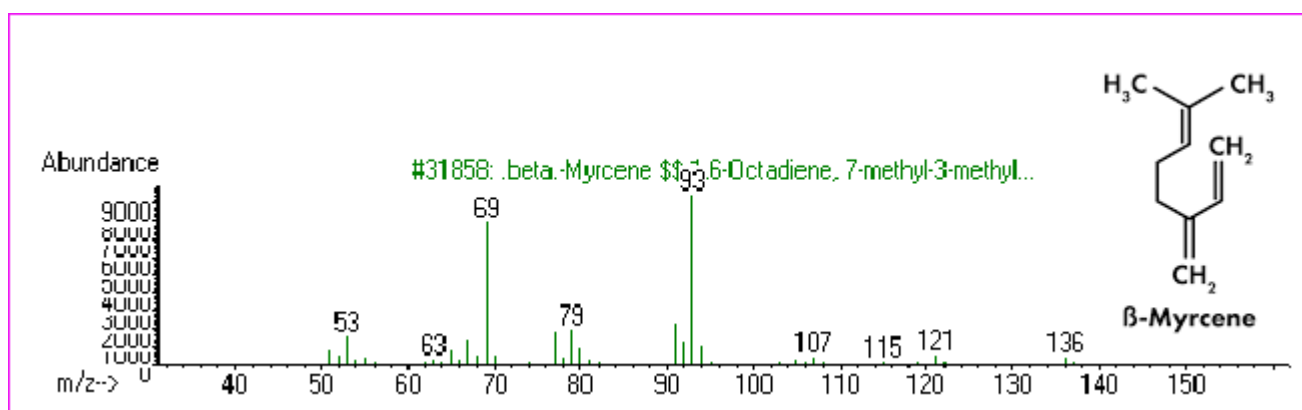


Figure 43 : Spectre de masse du β -myrcene

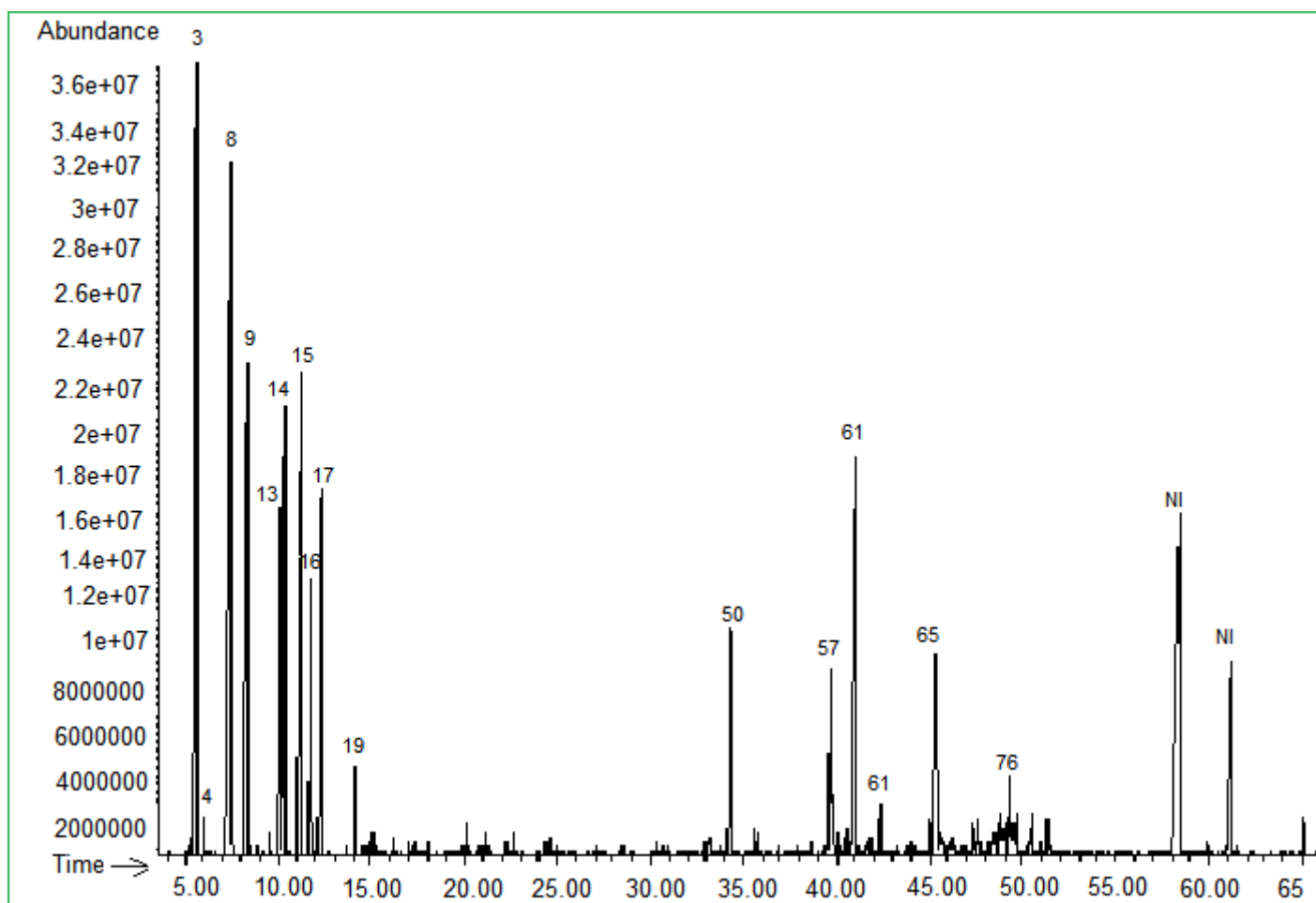


Figure 44: Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*. Les numéros sur les pics correspondent à ceux de l'ordre des composés du tableau de la composition chimique (Tableau 11) : NI= Non identifié.

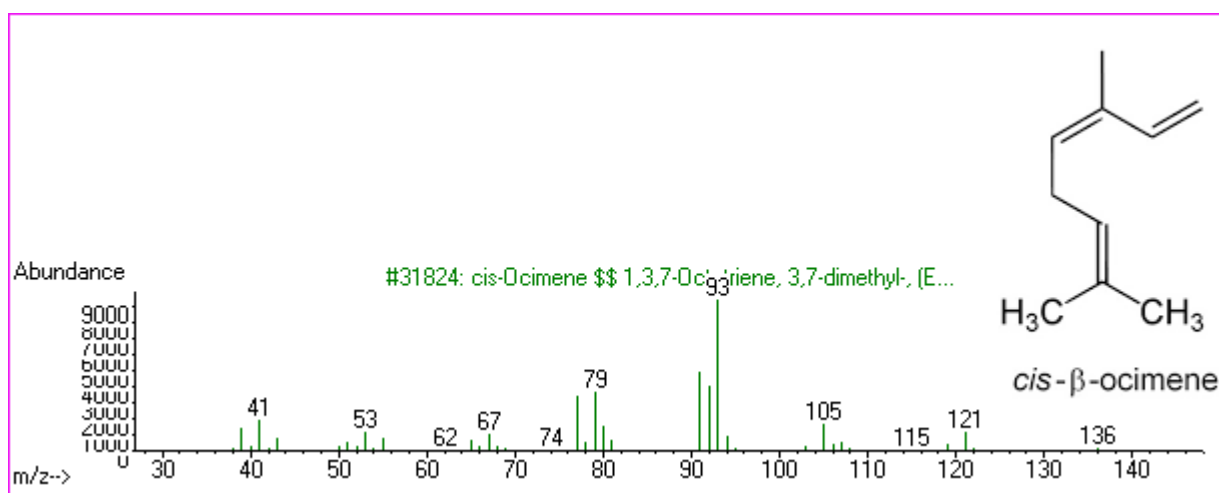


Figure 45 : Spectre de masse du *cis*-β-ocimène

Tableau11 : Composition (%) de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris*

N°	Composés	IR _E	IR _L	%	Identification
1	Tricyclene	921	923	t	IR-SM
2	α -Thujene	928	930	0.1	IR-SM
3	α -Pinene	936	937	10.4	IR-SM-Std
4	Camphene	952	952	0.2	IR-SM-Std
5	2,4 (10) Thujadien	955	957	t	IR-SM
6	Benzaldehyde	962	962	t	IR-SM
7	Sabinene	975	975	0.1	IR-SM-Std
8	β -Pinene	981	979	14.6	IR-SM-Std
9	β -Myrcene	990	991	8.3	IR-SM-Std
10	α -Phellandrene	1004	1004	0.1	IR-SM-Std
11	δ -3-Carene	1011	1011	t	IR-SM-Std
12	α -Terpinene	1018	1017	0.1	IR-SM-Std
13	p-Cymene	1023	1025	4.5	IR-SM-Std
14	Limonene	1030	1030	5.4	IR-SM-Std
15	cis- β -Ocimene	1037	1038	8.0	IR-SM
16	trans- β -Ocimene	1047	1049	2.6	IR-SM
17	γ -Terpinene	1061	1060	3.9	IR-SM-Std
18	cis-Sabinene hydrate	1066	1068	t	IR-SM
19	α -Terpinolene	1088	1088	0.2	IR-SM-Std
20	Rosefuran	1091	1092	0.1	IR-SM
21	Linalool	1100	1099	0.2	IR-SM-Std
22	4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene	1105	1106	0.2	IR-SM
23	α -Campholenal	1125	1125	t	IR-SM-Std
24	allo-Ocimene	1132	1132	0.1	IR-SM
25	trans-Pinocarveol	1137	1139	0.1	IR-SM
26	Camphor	1142	1143	t	IR-SM-Std
27	Verbenol	1144	1144	t	IR-SM
28	Pinocarvone	1161	1160	t	IR-SM
29	Pinocamphone	1162	1162	t	IR-SM
30	Umbellulone	1170	1171	0.1	IR-SM
31	4-Terpineol	1177	1177	0.3	IR-SM-Std

32	p-Cymen-8-ol	1180	1183	0.1	IR-SM-Std
33	α -Terpineol	1189	1189	0.2	IR-SM-Std
34	Myrtenal	1192	1193	0.1	IR-SM
35	Myrtenol	1194	1194	t	IR-SM
36	(E)-2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatriene	1209	1209	0.2	IR-SM
37	trans-Carveol	1219	1217	t	IR-SM
38	Citronellol	1228	1228	t	IR-SM-Std
39	Thymol methylether	1233	1235	0.1	IR-SM-Std
40	Hexyl 2-methyl butanoate	1236	1236	0.1	IR-SM
41	Piperitone	1250	1252	t	IR-SM
42	Bornylacetate	1285	1285	t	IR-SM-Std
43	Thymol	1288	1291	0.1	IR-SM-Std
44	Carvacrol	1300	1299	t	IR-SM-Std
45	cis-3-Hexenyl tiglate	1325	1325	0.1	IR-SM
46	α -Cubebene	1349	1351	t	IR-SM
47	Citronellyl acetate	1354	1354	0.1	IR-SM-Std
48	Neryl acetate	1364	1364	0.2	IR-SM-Std
49	α -Copene	1376	1376	0.2	IR-SM
50	Geranyl acetate	1381	1379	2.5	IR-SM-Std
51	Methyleugenol	1401	1402	0.2	IR-SM
52	trans-Caryophyllene	1418	1419	0.2	IR-SM
53	β -Gurjunene	1432	1432	t	IR-SM
54	α -Humulene	1451	1454	0.1	IR-SM
55	Allo-aromadendrene	1461	1461	t	IR-SM
56	γ -Gurjunene	1473	1473	t	IR-SM
57	Germacrene D	1480	1480	2.3	IR-SM
58	Ar-Curcumene	1483	1482	0.2	IR-SM
59	trans- β -Ionone	1484	1485	0.1	IR-SM
60	Bicyclogermacrene	1493	1493	0.3	IR-SM
61	Capillene	1495	1495	7.4	IR
62	Methylisoeugenol	1497	1498	t	IR-SM
63	γ -Cadinene	1512	1513	0.1	IR-SM

64	δ -Cadinene	1524	1524	0.5	IR-SM
65	α -Cadinene	1535	1537	t	IR-SM
66	Elemol	15450	1549	0.1	IR-SM
67	trans-Nerolidol	1564	1564	0.3	IR-SM-Std
68	Spathulenol	1576	1576	2.5	IR-SM
69	Caryophyllene oxide	1580	1580	0.1	IR-SM
70	Globulol	1580	1583	0.2	IR-SM
71	Viridiflorol	1589	1590	0.1	IR-SM
72	Salvial-4(14)-en-1-one	1595	1594	0.1	IR-SM
73	Geranyl isovalerate	1600	1600	0.4	IR-SM
74	Isospathulenol	1638	1637	0.5	IR-SM
75	α -Muurolol, epi-	1642	1642	0.4	IR-SM
76	β -Eudesmol	1652	1650	0.9	IR-SM
77	α -Cadinol	1655	1653	0.4	IR-SM
78	Phytol	2116	2114	t	IR-SM
	Total (%)			81.0	
	Monoterpènes			58.6	
	Monoterpènes oxygénés			4.3	
	Sesquiterpènes			11.3	
	Sesquiterpènes oxygénés			5.8	
	Autres			1.0	

Composés quantifiés sur la colonne capillaire HP 5MS et répertoriés par ordre d'éluion à partir de la même colonne. RIe : Indices de rétention expérimentaux relatifs aux n-alcanes C₈-C₂₂ sur colonne apolaire HP 5MS. RI_L : indices de rétention de la littérature. Identification : Std, comparaison avec des composés authentiques (étalons) ; SM, comparaison des spectres de masse avec les bibliothèques MS (NIST 2005 et Wiley 7N) ; IR, comparaison de l'indice de rétention avec la bibliographie (Adams, 2007). t = trace (concentration < 0,1 %). Principaux composants ($\geq 7\%$) indiqués en gras.

Tableau 12 : Principaux composés de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* de différentes origines.

Origine	Principaux composés (%)	Rt (%) (mL/100g)	Référence
Algérie	α -Pinene (10.4), β -Pinene (14.6), β -Myrcene (8.3), cis- β -Ocimene (8.0), Capillene (7.4)	1.0	Ce travail
	β -pinene (15.2%), α -pinene (11.2%), myrcene (10.3%), germacrene D (9.0%) (Z)- β -ocimene (8.1%) and γ -curcumene (6.4%),	-	Sassoui et al. (2020)
	α -Pinene (15.66), myrcene (18.19), trans- β -ocimene (13.93), m-cymene (9.00), camphor (6.46), γ - terpinene (5.32)	0.66	Ghorab et al., (2013)
	α -Terpenyl acetate (18.8%), α -pinene (18.4%), camphor (9.2%), camphene (7.7%)	0.1	Belhattab et al. (2011)
	(Z,E)-farnesol (10.3), cedrol (5.4), verbenone (3.8)	1	Dob et al. (2005)
	α -Pinene (9.9), sabinene (17.0), β -pinene (25.6), myrcene (3.3), p-cymene (4.1), limonene (6.6)	-	Bakchiche et al. (2014)
Tunisie	β -Pinene (24.0-49.8), α -pinene (5.9-12.5), p-cymene (3.4-9.4), limonene (4.9-9.3), spathulenol (1.2- 8.9), γ -terpinene (2.0-6.5), eudesmol (1.0-6.4), cis- β -ocimene (0.2-5.5)	0.65-1.2	Akrout et al. (2003)
	β -Pinene (41.0), p-cymene (9.9), α -terpinene (7.9), limonene (6.5), myrcene (4.1)	1.5	Neffati et al. (2008)
	β -Pinene (24.2-27.9), p-cymene (17.4-22.3) and α -pinene (4.1-11.0)	0.65	Akrout et al. (2001)
	β -Pinene (34.2), β -myrcene (6.0), limonene (8.2), ci- β -oe (4.6), trans- β -ocimene (4.3) γ - terpinene (6.1), germacrene D (7.3)	-	Akrout et al. (2011)
	α -Pinene (12.5), β -pinene (45.8), limonene (7.7), p-cymene (4.6)	1.0	Akrout et al. (2010)
France	γ -Terpinene (\leq 46.5), capillene (33.1), 1-phenyl-2,4-pen-tadiyne (\leq 29.7), spathulenol (\leq 11.3)	04-1.4	Juteau et al. (2002)

Italie	β -Pinene (6.9–57.2), germacrene D(0.4–28.6), bicyclogermacrene(1.0–14.5), myrcene (1.7–11.2)	0.2-0.6	Bellomaria et al. (2001)
	α -Pinene (≤ 16.5), β -pinene (≤ 10.7), caryophyllene oxide (≤ 18.2), spathulenol (≤ 18.7), epi-cubenol (≤ 14.2), 1,8-cineole (≤ 19.2)	-	Muciarelli et al. (1995)
Serbie	Spathulenol (9.2), β -pinene (9.1), α -pinene (3.4), limonene (2.5), germacrene D (3.3), 4-hydroxy-9-epi- β -caryophyllene (3.0)	0.2	Chalchat et al. (2003)
Iran	α -Pinene (23.9), spathulenol (23.9)	0.49	Kazemi et al. (2009)
Bashkortostan	α -Pinene (41.0), β -pinene (29.7), limonene (6.4) and sabinene (4.5)	-	Khalilov et al. (2001)
Lithuania	α -Pinene (tr- 6.8), β -pinene (tr-5.5), cis-pinane (0.8-6.0), β -caryophyllene (1.6–6.2), germacrene D (3.5–15.0), caryophyllene oxide (8.5–38.8), humulene epoxide II (0.7–8.1)	0.03-0.08	Judzentiene et al. (2010)
	α -Pinene (0.8–11.4), β -pinene (0.1–13.8), β -caryophyllene (0.7–10), γ -curcumene (0.5–14.8), germacrene D (1.2–31.2), caryophyllene oxide (0.8–16.1), humulene epoxideII (0.3–11.1)	0.03-0.08	Judzentiene et al. (2014)
Pologne	α -Pinene (4.5), (E)- β -caryophyllene (6.5), germacrene D (24.2), γ -humulene (4.9), (E,E)- α -farnesene (3.9), (Z)-falcarinol (1.3)	0.16	Lis et al. (2015)
Maroc	Spathulenol (10.19%), β -eudesmol (4.05%), p-cymene (3.83%), δ -cadinene (3.67%), β -pinene (2.82%), caryophyllene oxide (2.30%), salvial-4(14)-en-1-one (2.51%)	0.4	Dib et al. (2017)

II.1.4- Cas d'*Anacyclus valentinus*

Un rendement en huile essentielle de 0,3 % (v/w) a été obtenu à partir des parties aériennes d'*Anacyclus valentinus* par hydrodistillation. Plusieurs études ont analysé les huiles essentielles de différentes espèces d'*Anacyclus*. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur la caractérisation chimique des huiles essentielles obtenues à partir de l'espèce *A. valentinus*. Dans une étude de **Larbi et al., (2016)**, un rendement de 0,63 % a été obtenu à partir des parties aériennes d'*A. valentinus* cultivées en Algérie, ce qui est sensiblement supérieur à celui obtenu à partir de l'échantillon étudié dans ce travail. Cependant ce rendement est supérieur à celui rapporté par **Houicher et al. (2018)** (0.13 %). Le profil chromatographique de l'HE est représenté par la figure 46. Le tableau 13 montre également les compositions qualitatives et quantitatives de l'huile d'*A. valentinus*. L'analyse GC/MS nous a permis d'identifier 48 composants, correspondant à seulement 77.5 % de l'échantillon total. Le t-Muurolol (19.7%), le *cis*-8-Acetoxychrysanthenyl acetate (19.6%), le Chrysanthenyl acetate (16.1 %) et l' α -cadinol (9.6 %) étaient les principaux composés de l'huile d'*A. valentinus*. D'autres constituants ont également été identifiés dans cette huile avec des concentrations variant entre des traces (<0.05 %) et 5.3 %. Les principaux composés suscités sont couramment rencontrés dans les HEs à l'exception du *cis*-8-Acetoxychrysanthenyl acetate qui a été rapporté pour la première fois en 2012 par **Cristofari et al.**, qui ont élucidé sa structure chimique (figure 47) par spectroscopie RMN 1D et 2D.

Larbi et al ., (2016) a rapporté que les principaux composants d'*A. valentinus* cultivés en Algérie étaient le germacrène D (15,5%), le *trans*-chrysanthényle acetate (12,4%), la *trans*-thuyone (7,3%), l'eudesma-4(15),7-diène -1- β -ol (6,2 %) et le β -biotol (5,1 %). Par contre **Houicher et al. (2018)** ont rapporté le δ -3-carene (31 %) et le spathulenol (14.2 %) comme composés principaux. Il ressort de ce qui précède qu'il n'y a aucune similarité entre les compositions chimiques des échantillons trouvés dans la littérature ainsi que celle de notre échantillon. Ceci suggère que cette espèce d'*Anacyclus* se caractérise par une grande variabilité de sa composition chimique.

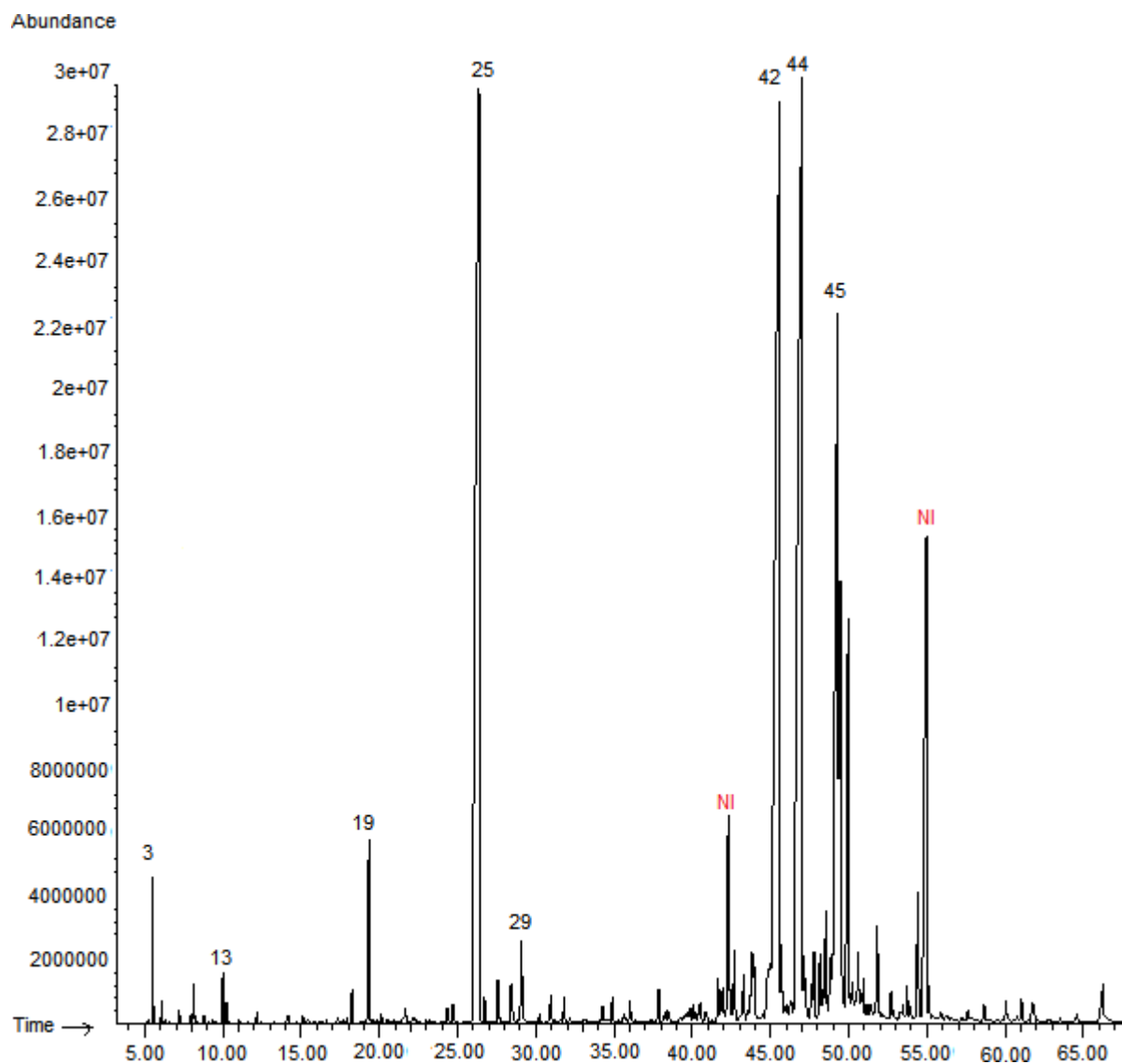


Figure 46 : Chromatogramme (CG-MS) de l'HE d'*Anacyclus valentinus*. NI : composé non identifié.

Tableau 13: Composition (%) de l'huile essentielle d'*Anacyclus valentinus*

N°	Composés	IR	%	Identification
1	Tricyclene	924	t	IR-SM
2	α -Thujene	928	t	IR-SM
3	α -Pinene	935	0.4	IR-SM-Sd
4	Camphene	950	0.1	IR-SM-Sd
5	Verbenene	967	t	IR-SM
6	Sabinene	975	0.1	IR-SM-Sd
7	β -Pinene	980	T	IR-SM-Sd

8	6-Methyl-5-hepten-2-one	986	0.1	IR-SM
9	β -Myrcene	990	0.2	IR-SM-Sd
10	α -Phellandrene	1003	0.1	IR-SM-Sd
11	δ -3-Carene	1010	T	IR-SM-Sd
12	α -Terpinene	1017	T	IR-SM-Sd
13	p-Cymene	1026	0.2	IR-SM-Sd
14	Limonene	1029	0.1	IR-SM-Sd
15	γ -Terpinene	1060	0.1	IR-SM-Sd
16	Terpinolene	1087	0.1	IR-SM-Sd
17	Linalool	1099	0.1	IR-SM-Sd
18	Verbenol	1144	T	IR-SM
19	trans-Crysanthenol	1163	1.2	IR-SM
20	4-Terpineol	1176	0.1	IR-SM-Sd
21	Myrtenol	1194	T	IR-SM
22	Methyl chavicol	1196	0.1	IR-SM
23	Pulegone	1235	0.1	IR-SM
24	Carvone	1241	0.1	IR-SM-Sd
25	Chrysantenyl acetate	1262	16.1	IR
26	Perillaldehyde	1272	0.1	IR-SM
27	Bornyl acetate	1283	0.3	IR-SM-Sd
28	2-Undecanone	1293	0.3	IR-SM
29	Carvacrol	1299	0.7	IR-SM-Sd
30	Terpinenyl acetate	1352	0.2	IR-SM-Sd
31	α -Copaene	1376	T	IR-SM
32	α -Humulene	1452	0.2	IR-SM
33	Allo-aromadendrene	1461	0.1	IR-SM
34	γ -Himachalene	1476	0.1	IR-SM
35	Germacrene D	1481	0.1	IR-SM
36	α -Amorphene	1482	0.1	IR-SM
37	β -Selinene	1486	0.1	IR-SM
38	β -Ionone	1487	0.1	IR-SM
39	Zingiberene	1495	0.1	IR-SM
40	α -Muurolene	1500	0.1	IR-SM
41	γ -Cadinene	1513	0.3	IR-SM

42	<i>cis</i> -8-Acetoxychrysanthenyl acetate	1563	19.6	IR
43	Spathulenol	1575	0.4	IR-SM
44	t -Muurolol	1636	19.7	IR-SM
45	α -Cadinol	1652	9.6	IR-SM
46	Bisabolone	1756	5.3	IR-SM
47	Hexahydrofarnesylacetone	1845	0.2	IR-SM
48	Palmitic acid	1968	0.5	IR-SM
Total (%)			77.5	
Monoterpènes			1.4	
Monoterpènes oxygénés			19.1	
Sesquiterpènes			1.2	
Sesquiterpènes oxygénés			54.8	
Autres			1.0	

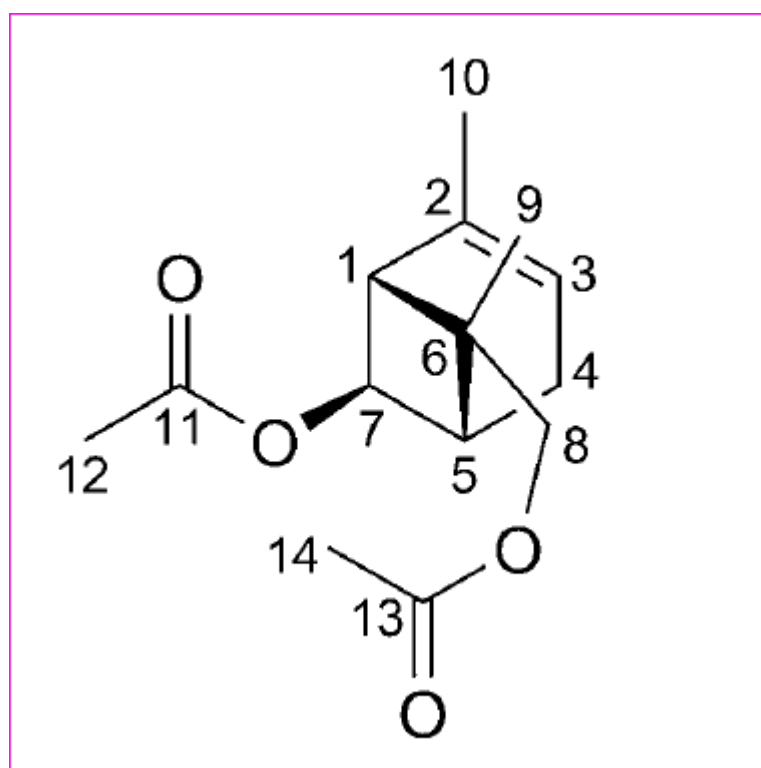


Figure 47: Structure du composé *cis*-8-Acetoxychrysanthenyl acetate

II.2-Rendement et estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

Le rendement (**Figure 48**) de l'extrait alcoolique (g extrait/100g de matière) de *Thymus algeriensis* est 5.6 %, de *T. guyonii* (18.2 %), d'*Artemisia campestris* (12.8 %) et d'*Anacyclus valentinus* (4.8 %) montre que le rendement le plus élevé est obtenu à partir de *T. guyonii* tandis que le plus faible est fourni par *Anacyclus valentinus*. Le rendement obtenu pour *T. algeriensis* est inférieur aux rendements des plantes de la même espèce issue d'autres régions et qui varient entre 14.4 % et 21.96 % (**Jawad, 2007**). Cette différence est due à la méthode d'extraction utilisée ou au type du solvant choisi. Nombreuses sont les études qui ont été consacrées aux extraits d'*A. campestris*, mais aucune n'a mentionné le rendement obtenu, par contre pour *T. guyonii* et *Anacyclus valentus* on n'a trouvé dans la littérature aucune étude sur leurs extraits.

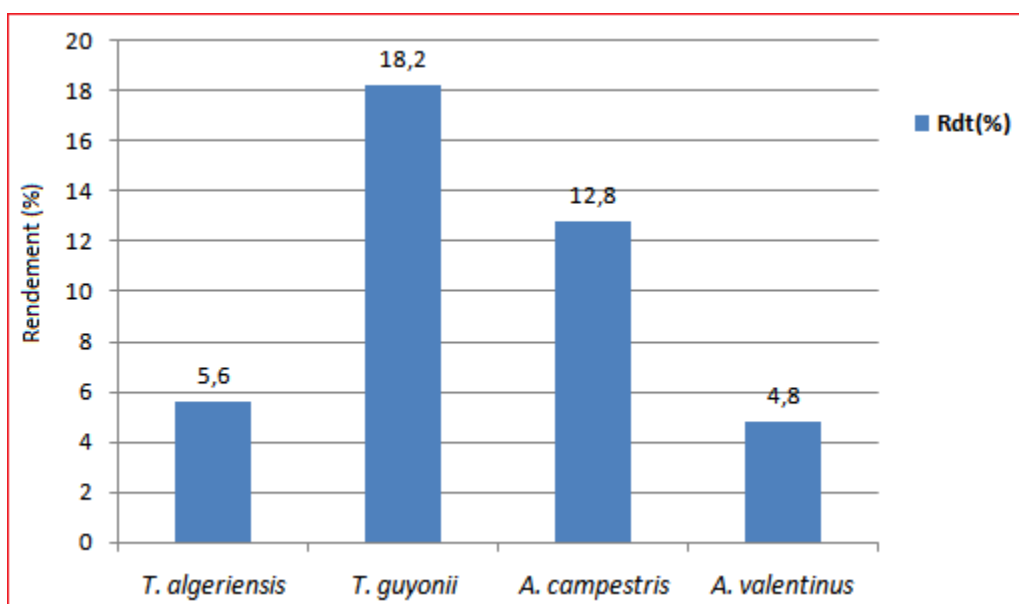


Figure 48: Rendement (%) de l'extrait éthanolique (g) à partir de *T. algeriensis*, *T. guyonii*, *Anacyclus valentinus* et *A. campestris*.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont largement distribués dans les plantes comestibles et non comestibles. Ces composés ont reçu une attention considérable en raison de leur activité antioxydante et de leurs capacités de piégeage des radicaux libres. Ils peuvent être extraits par différents solvants et méthodes. Les flavonoïdes, en tant que l'un des groupes de composés naturels les plus divers et les plus répandus, sont probablement les phénols naturels les plus importants.

Les valeurs des polyphénols totaux (PT) et des flavonoïdes totaux (FT) des extraits éthanoliques de *T. algeriensis*, *T. guyonii*, *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus* sont présentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : Phénols totaux et flavonoïdes des extraits éthanoliques de *T. guyonii*, *T. algeriensis*, *A. campestris* et d'*Anacyclus valentinus*.

Echantillon	Phénols totaux (mg EAG/100 g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/100g MS)
<i>T. guyonii</i>	225.73±4.31	72.54±2.37
<i>T. algeriensis</i>	38.21± 1.78	13±0.26
<i>A. campestris</i>	68.92 ±3	24,56±0.17
<i>Anacyclus valentinus</i>	47.31±0.97	21.07±0.57

Les résultats de ce tableau montrent que *T. guyonii* est environ 3 fois plus riche tant en polyphénols totaux qu'en flavonoïdes par rapport *A. campestris* qui est à son tour la plus riche en ces composés par rapport aux deux autres plantes étudiées (*T. algeriensis* et *Anacyclus valentinus*). Les faibles valeurs concernant *T. algeriensis* sont assez faibles par rapport à celles rapportées pour d'autres échantillons d'Algérie. Ainsi, **Douar-Latrèche et al., (2018)** ont rapporté des valeurs de 213 EAG/g et 52.25 EQ/g pour un échantillon du Nord d'Algérie tandis que **Rezzoug et al., (2019)** ont rapporté des valeurs de 125 mgEAG/g et 118 mgEQ/g pour un échantillon de Laghouat. Cependant, nos valeurs sont assez supérieures de celles rapportées pour différentes populations des zones arides de Tunisie et qui variaient entre 8 et 14.8 mg EAG/g et 2.8 et 9.3 EQ/g (**Jaouadi et al., 2019**). Cette variation en composés phénoliques des extraits végétaux dépend essentiellement de leur origine géographique, la méthode d'extraction et le type du solvant utilisé (**Hayouni, 2007; Ebrahimzadeh et al., 2008**). Pour cela, il est difficile de comparer les résultats obtenus avec ceux cités dans la littérature.

Concernant les trois autres plantes, nous n'avons trouvé : soit aucune étude antérieure concernant les extraits non volatils. Ce qui est le cas de *Thymus guyonii*, soit très peu d'études avec des solvants différents de celui que nous avons utilisé (éthanol) sans qu'il y ait une évaluation des PT ou FT ce qui est le cas d'*Anacyclus valentinus*, soit plusieurs études ce qui est le cas d'*Artemisia campestris* mais très souvent réalisées avec des solvants différents du nôtre soit avec un solvant similaire mais associé à un autre (eau). Dans le tableau 15 nous résumons quelques valeurs de travaux réalisés avec différents solvants pour l'extraction des composés non volatils d'*A. campestris*. qui montrent une variabilité selon l'origine, le solvant utilisé et le

mode d'extraction.

Tableau 15: Phénols totaux (mgEAG/g Extrait) et flavonoïdes (mg EQ/g extrait) d'*A. campstris* de différentes origines

Origine	Solvant(s)	Phénols totaux	Flavonoïdes	Référence
Boussaâda	Méthanol	88.61± 0.22	12.91±0.1	Boudjouref et <i>al.</i> , (2018)
Boussaâda	Acétate d'éthyle	481.25±0.026	22.11±0.013	Djidel and Khennouf, (2014)
Oum El Bouaghi	Méthanol	82.84± 0.05	13.72±0.0	Boudjouref et <i>al.</i> , (2018)
Tamanrasset	Methanol (80%)	135.37 ± 1.35	61.59±0.58	Zahnit et <i>al.</i> , (2022)
Tébessa	Eau	16.88 ±0.01	1.90 ± 0.108	Barkat et <i>al.</i> , (2015)
Tunisie	Ethanol + eau (50-50)	463.2	56.3*	Akrout et <i>al.</i> (2011)
	Acétate d'éthyle	94.17 ± 12.1	-	Megdiche-Ksouri et <i>al.</i> (2014)
	Butanol	345.8	-	Metoui et <i>al.</i> , (2022)
Bulgarie	Méthanol	164.7±0.5	118.2±3.0*	Karabegovićet <i>al.</i> , (2011)

*les valeurs suivies d'un astérisque sont exprimées en mg Equivalent Rutine/g extrait

II.3- Évaluation de l'activité antioxydante

L'objectif de cette partie est l'étude comparative de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques des quatre plantes étudiées (*T. guyonii*, *T. algeriensis*, *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus*) par deux méthodes à savoir le piégeage des radicaux libres DPPH• et ABTS•⁺.

II.3.1-- Cas des huiles essentielles

La méthode de mesure de l'activité antioxydante par les tests du piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS est largement utilisée pour sa fiabilité et sa simplicité (Sirivibulkovit et al, 2018). Les résultats obtenus lors des tests d'inhibition de ces radicaux par les huiles essentielles des 4 plantes ainsi que par le BHT et le Trolox sont reportés dans les tableaux 16 et 17 respectivement.

Concernant le radical DPPH le Trolox se distingue par une très forte activité au point où nous avons été obligés de considérer uniquement les faibles concentrations (0.5-10 mg/L) puisque à partir de 5 mg/L il arrive à dépasser 90% d'inhibition de ce radical. Ensuite, le BHT a montré une activité relativement forte et été testé pour des concentrations variant entre 10 et 1000 mg/L. Pour les autres échantillons, à l'exception de l'huile essentielle de *T. guyonii*, ayant constaté leur très faible activité pour les concentrations variant entre 10 et 100 mg/L nous les avons testés pour des concentrations variant entre 100 et 2000 mg/L dans le but de pouvoir atteindre une activité supérieure ou égale à 50% qui nous permettrait de calculer l'IC₅₀. Les résultats montrent que pour les HEs de *T. algeriensis*, *anacyclus valentinus* et *Artemisia campestris*, même pour une concentration de 2000 mg/L on arrivait dans le meilleur des cas (cas d'*A. campestris*) à dépasser 15% d'activité. Par contre, avec l'huile essentielle de *T. guyonii* il y avait une évolution ascendante de l'activité d'inhibition du radical DPPH. Ce comportement des huiles essentielles était plus ou moins prévisible étant donné que l'activité antioxydante est intimement liée à la composition chimique de ces huiles et particulièrement à leur contenance ou non de composés phénoliques (thymol, carvacrol, thymol methyl ether, carvacrol methyl ether, eugénol, iso et/ou méthyl eugenol) ainsi qu'à des composés contenant un noyau aromatique (p-cymène). Il est bien établi que la présence de ce type de composés est impliquée dans la quasi-totalité de l'activité antioxydante d'une huile essentielle. Ainsi, l'huile essentielle de *Thymus guyonii* est la seule à contenir la majorité des composés précédemment cités et par conséquent c'est cette huile qui a montré une bonne activité par rapport autres huiles.

Tableau 16 : Activité de piégeage du radical DPPH (%) du BHT, du Trolox et des huiles essentielles de *T. guyonii*, *T. algeriensis*, *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus*

Concentrations (mg/L)	Activité (%) de piégeage du radical DPPH (moyenne \pm ES)					
	<i>T. guyonii</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>A. valentinus</i>	BHT	Trolox
0.5	-	-	-	-	-	5.45 \pm 0.51
1	-	-	-	-	-	15.45 \pm 0.78
2.5	-	-	-	-	-	50.45 \pm 0.12
5	-	-	-	-	-	92.99 \pm 0.01
10	-	-	-	-	31.39 \pm 0.4	97.13\pm0.11
20	-	-	-	-	42.14 \pm 0.27	-
25	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	62.49 \pm 0.39	-
100	14.12 \pm 1.03	6.23 \pm 0.72	6.29 \pm 1.12	6.38 \pm 0.70	73.15 \pm 0.49	-
200	21.28 \pm 0.24	6.96 \pm 0.91	6.65 \pm 0.15	6.60 \pm 0.54	80.62 \pm 0.18	-
400	26.45 \pm 1.57	7.41 \pm 0.70	10.18 \pm 0.40	6.79 \pm 1.21	84.70 \pm 0.30	-
600	28.80 \pm 1.06	9.13 \pm 0.26	-	-	86.35 \pm 0.33	-
800	38.09 \pm 1.42	11.74 \pm 0.54	-	-	88.80 \pm 0.15	-
1000	53.94\pm0.29	11.79 \pm 2.01	14.04 \pm 1.26	7.30 \pm 0.48	91.07 \pm 0.07	-
2000	-	12.075 \pm 1.08	15.31 \pm 0.69	8.53 \pm 0.47	-	-

- : concentration non testée ; ES : Erreur standard

Concernant le radical ABTS (**Tableau 17**) la tendance générale d'évolution est la même que celle obtenue avec le radical DPPH, néanmoins avec certaines différences notables :

- 1) On parvient à atteindre pour chaque échantillon d'huile une activité supérieur à 50% ce qui nous permet de déterminer les IC₅₀ de tous les échantillons.
- 2) En comparaison avec le test du DPPH, pour une même concentration on obtient une activité supérieure avec le test d'inhibition du radical ABTS. Ainsi, nous avons été contraints de tester pour *T. guyonii* des concentrations différentes (inférieures) de celles du test DPPH variant entre 5 et 200 mg/L.

Tableau 17: Activité de piégeage du radical ABTS (%) du BHT, du Trolox et des HEs de *T. guyonii*, *T. algeriensis*, *Artemisia campestris* et *Anacyclus valentinus*

Concentrations (mg/L)	Activité (%) de piégeage du radical ABTS (moyenne \pm ES)					
	<i>T. guyonii</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>A. valentinus</i>	BHT	Trolox
1	-	-	-	-	36.5 \pm 1.39	25.34 \pm 0.38
2.5	-	-	-	-	74.46 \pm 1.40	65.29 \pm 0.28
5	25.18 \pm 3.18	-	-	-	94.28 \pm 0.97	76.26 \pm 0.68
10	32.80 \pm 0.48	-	-	-	96.08 \pm 2.07	98,14 \pm 0.77
20	36.08 \pm 1.03	-	-	-	-	-
25	40.30 \pm 0.52	-	-	-	-	-
50	64.42 \pm 0.78	-	-	-	-	-
100	96.09 \pm 1.00	17.83 \pm 1.35	15.95 \pm 0.97	20.86 \pm 0.97	-	-
200	96.84 \pm 0.22	24.95 \pm 1.19	18.68 \pm 0.92	25.29 \pm 0.96	-	-
400	-	34.61 \pm 2.19	22.27 \pm 1.03	31.25 \pm 0.79	-	-
600	-	43.87 \pm 1.01	30.59 \pm 1.64	36.14 \pm 1.26	-	-
800	-	56.49 \pm 0.76	35.75 \pm 0.09	37.08 \pm 0.77	-	-
1000	-	63.03 \pm 0.74	43.73 \pm 1.22	38.95 \pm 0.93	-	-
2000	-	-	57.86 \pm 3.30	50.50 \pm 0.33	-	-

- : concentration non testée, ES : Erreur standard entre les trois répétitions

La deuxième remarque suscitée n'est pas un cas particulier des HEs de nos échantillons. C'est un cas très courant avec toutes les huiles essentielles qui est expliqué par l'encombrement stérique de l'atome radicalaire dans chacun des deux radicaux libres. Ainsi, le radical ABTS est moins encombré que le radical DPPH ce qui lui confère une plus grande facilité de réaction c'est-à-dire que l'atome portant l'électron cible sera plus facilement accessible.

Les deux *Thymus* ont montré des activités très inférieures par rapport à celles des antioxydants de synthèse. Ainsi, l'activité enregistrée pour une concentration de 10 mg/L avec ces antioxydants de synthèse est à peu près équivalente à celle enregistrée pour 100 mg/L avec *T. guyonii* qui s'est distingué comme étant le plus performant des deux huiles.

II.3.2. Cas des extraits éthanoliques

Les extraits éthanoliques ont manifesté une forte activité par rapport aux huiles essentielles et les IC₅₀ ont été atteintes avec les extraits de toutes les plantes. Les résultats exprimés en termes d'IC₅₀ sont regroupés dans le tableau 18. Les résultats des EEs par rapport aux HEs sont logiques et ils étaient prévisibles. En effet, les extraits sont toujours plus actifs en tant qu'inhibiteurs des radicaux libres étant donné leurs richesses en polyphénols et en groupement hydroxyles (groupements –OH) qui sont impliqués dans la réduction des radicaux libres.

Tableau 18. Activités de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS exprimées en termes d'IC₅₀ (mg/L) du BHT, du Trolox, des extraits éthanoliques et des huiles essentielles de *T. algeriensis*, *T. guyonii*, *Anacyclus valentinus* et d'*Artemisia campestris*

Echantillons	ABTS ^{•+}	DPPH [•]
Huiles essentielles		
<i>Thymus algeriensis</i>	708.23±9.52g	ND
<i>Thymus guyonii</i>	31.02±0.50f	926.83±5.04f
<i>Artemisia campestris</i>	1473.05±5.98h	ND
<i>Anacyclus valentinus</i>	1980.37±12.84i	ND
Extraits éthanoliques		
<i>Thymus algeriensis</i>	28.97±0.24e	42.68±0.57e
<i>Thymus guyonii</i>	2.87±0.10a	13.27±0.72b
<i>Artemisia campestris</i>	12.25±0.88c	28.21±2.01c
<i>Anacyclus valentinus</i>	17.55±0.47d	32.73±3.27d
BHT	4.99 ± 0.02 b	28.0 ± 0.66 c
Trolox	2.72 ± 0.01 a	4.45 ± 0.02 a

*ND: Valeur de l'IC₅₀ non atteinte (non disponible). Dans chaque colonne, les données suivies de lettres distinctes indiquent des différences significatives entre les valeurs de la colonne par le test multiple de Tukey (p <0,05).

L'extrait éthanolique de *T. guyonii* s'est particulièrement distingué par rapport aux antioxydants de synthèse en fournissant une efficacité en termes d'IC₅₀ équivalente à celle du Trolox (test ABTS) et supérieure à celle du BHT (cas des tests ABTS et DPPH). L'extrait d'*A. campestris* s'est quant à lui distingué en exhibant une activité équivalente à celle du BHT dans le test du DPPH et une très bonne activité (12.25±0.88%) dans le test de L'ABTS. Il ya une corrélation entre les phénols totaux et flavonoïdes et l'activité antioxydante. Ainsi, cette activité varie dans le même sens que celui de la variation de ces composés Ces résultats suggèrent aussi que les extraits de *T. guyonii* et à un degré moindre celui d'*A. campestris* pourraient être envisagés dans des essais de protection ou de conservation d'aliments.

Les deux huiles étaient moins actives que les antioxydants synthétiques (BHT et Trolox). Pour le test ABTS, l'huile de *T. algeriensis* était environ 23 fois moins active que celle de *T. guyonii* tandis que pour le test DPPH, elle n'a pas pu atteindre 50% d'inhibition. Ce comportement est étroitement lié à la présence de certains composés dans l'une des huiles et à leur absence dans l'autre, notamment le thymol et/ou le carvacrol tel qu'il a précédemment signalé. Ces derniers sont réputés pour leurs rôles importants comme agents antioxydants (**Ruberto et Baratta, 2000 ; Chikhouné et al 2015**). Ainsi, selon certains auteurs la présence d'un hydroxyle substitué sur le cycle aromatique lui confère de fortes capacités de donneur d'hydrogène et par conséquent une puissance d'inhibition des radicaux libres (**Shimada et al., 1992**). Par ailleurs, la présence d'autres composés à noyau aromatique comme le thymol méthyl éther et le p- cymène semble jouer un rôle important dans la capacité inhibitrice des radicaux libres. En effet, **Daoudi-Merbahet et al., (2016)** a constaté que les échantillons d'*Origanum floribundum* riches en p-cymène étaient plus efficaces pour piéger les radicaux DPPH et ABTS que ceux riches en thymol ou carvacrol. Aussi, **Hadjadj et Hazzit (2000)** ont trouvé que les huiles essentielles d'*O. floribundum* riches en p-cymène (60,7- 73,4%) étaient assez actives pour inhiber ces radicaux. Comme mentionné précédemment dans l'introduction, *T. guyonni* est une espèce sous-étudiée. Quant à l'activité antioxydante de son huile essentielle, elle n'a été étudiée que pour sa capacité de piégeage des radicaux DPPH (**Hazzit et al., 2006; Zeghib et al., 2013**). Pour l'inhibition de ce radical notre résultat exprimé en IC₅₀ (926,83 µg/mL) est plus ou moins comparable à celui rapporté par **Hazzit et al., (2006)** (826,5 µg/mL) . En revanche, le résultat rapporté par **Lebhili et al.(2013)** exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH est très différent de notre résultat dans la mesure où ils rapportent une valeur maximale de 44,3 %, pour une concentration de 5000 mg/L ce qui implique que l'IC₅₀ si elle est atteinte est forcément supérieure à 5000 µg/mL.

En comparaison avec d'autres plantes dont les compositions chimiques en huiles essentielles sont plus ou moins proches de celle de *T. guyonii*, on peut citer le résultat rapporté par **Kerbouche et al. (2021)** pour *Origanum floribundum* dont l'activité de piégeage radicalaire du DPPH était égale à 65,8 % pour une concentration de 400 µg/mL, ce qui correspond nécessairement à une IC₅₀ inférieure à la moitié de celle de notre échantillon.

En revanche, **Labiad et al. (2022)** rapportent pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Maroc des valeurs d'IC₅₀ très inférieures à nos résultats pour la capacité à inhiber les radicaux libres DPPH (8,13 mg/L) et ABTS (7,39 mg/L). Dans ce dernier cas, les différences observées peuvent être en partie attribuées aux différences dans les protocoles utilisés où la concentration et les quantités relatives des réactifs sont très différentes de celles des auteurs précédents. Cependant, on peut dire que des différences dans les compositions chimiques des huiles essentielles, aussi minimes qu'elles puissent paraître, peuvent affecter de manière significative leurs activités antioxydantes.

En ce qui concerne *T. algeriensis*, **Rezzoug et al. (2019)** ont rapporté pour le test DPPH une IC₅₀ de 1437 mg/L pour un échantillon plus riche en acétate de terpinyle (47,4 %) que celui étudié ici (28,1 %) alors qu'ils ont trouvé moins d'activité dans le test ABTS (IC₅₀ = 896 mg/L vs 708,23 mg/L).

Compte tenu de la grande variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle de *T. algeriensis*, une large gamme d'activités biologiques en résulte et il est très difficile de comparer ces activités du fait de ce polymorphisme chimique. Cependant, sur la base des composés majoritaires, notamment l'acétate de terpinyle, nous avons essayé de comparer l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *T. algeriensis* avec celles d'autres espèces de *Thymus*. Bien que les espèces de *Thymus* riches en acétate de terpinyle soient disponibles dans la littérature, elles sont très souvent étudiées soit du point de vue de la composition chimique seule, soit en combinaison avec une activité antimicrobienne.

Concernant les HEs d'*A. campestris* et d'*A. valentinus*, l'absence de composés phénoliques est la principale source de leur faible activité antioxydante.

Akrout et al., (2011), en utilisant trois méthodes différentes : la méthode de DPPH, la technique de décoloration du β-carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6- sulphonic acid), ont trouvé que l'huile d'*Artemisia campestris* possède une faible activité antioxydante par rapport aux extraits, ce qui confirme notre résultat.

II.4- Évaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs testés précédemment a été faite sur des bactéries et des levures provenant de la collection du laboratoire de microbiologie du CRD-SAIDAL, ceci par deux méthodes : qualitative et quantitative

II.4.1- Étude qualitative de l'activité antimicrobienne de *Thymus algeriensis* et *Thymus guyonii*

L'activité antimicrobienne est évaluée de manière qualitative par la détermination des zones d'inhibition (mm) qui sont des zones claires autour du disque indemne de colonies.

L'efficacité antibactérienne des huiles essentielles des deux espèces de *Thymus* contre six micro-organismes, mesurée par le diamètre d'inhibition est présentée dans le tableau 19.

Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des HEs de *T. algeriensis* et *T. guyonii*

HE	Diamètre des zones d'inhibition (mm ; diamètre du disque compris=6mm)			
	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. guyonii</i>	Sulf/Trim*	Terbinafine
Microorganisme				
<i>Bacillus subtilis</i>	27.7±0.2 ^{a,B}	45±1.2 ^{c,B}	37.7±0.5 ^{b,A}	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	36.6±0.7 ^{a,C}	33.2±0.9 ^{a,A}	43.7±0.9 ^{b,B}	-
<i>Escherichia coli</i>	26.8±1.8 ^{a,B}	30.5±0.5 ^{b,A}	34.3±0.5 ^{c,A}	-
<i>Candida albicans</i>	19.1±0.3 ^{a,A}	28.53±1.5 ^{b,A}	-	27.3±0.4 ^{b,A}
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17.8±0.4 ^{a,A}	25.3±0.2 ^{c,A}	-	21.4±0.3 ^{b,A}
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	33.2±1.1 ^{a,C}	47.3±0.7 ^{b,B}	-	47.7±0.5 ^{b,B}

* Sulfaméthoxazole/ Triméthoprim; -: Non disponible; les données sont la moyenne de trois expériences ± écart type. Les données suivies de différentes lettres minuscules pour les lignes et différentes lettres majuscules pour les colonnes signifient des différences significatives entre les valeurs des différents groupes par le test Turkey ($p < 0.05$).

Les résultats ont révélé que sur l'ensemble des souches testés *Staphylococcus aureus* était le plus sensible aux huiles et aux antibiotiques avec des zones d'inhibition de 33,2 ; 36,6 mm et 43,7 mm pour *T. guyonii*, *T. algeriensis* et l'antibiotique, respectivement (**figure 49**).

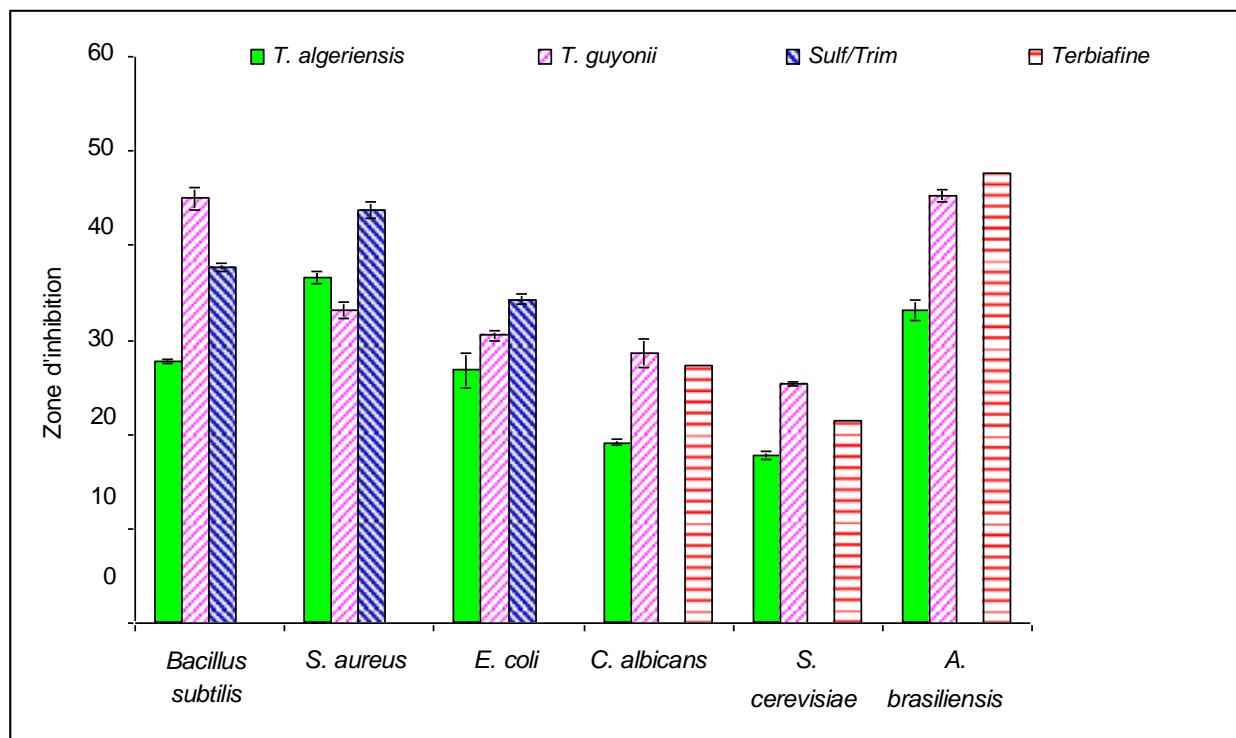


Figure 49 : Zone d'inhibition des huiles essentielles et des antibiotiques (mm)

Pour toutes les autres souches, *T. guyonii* se distingue par la plus forte activité, notamment vis-à-vis de *Bacillus subtilis* et *Aspergillus brasiliensis*.

En outre, on observe d'après ses résultats que *Candida albicans* et *saccharomyces cerevisiae* sont les moins sensibles à l'HE de *T. algeriensis* avec une zone inhibitrice égale à 19.1 et 17.8 mm, respectivement.

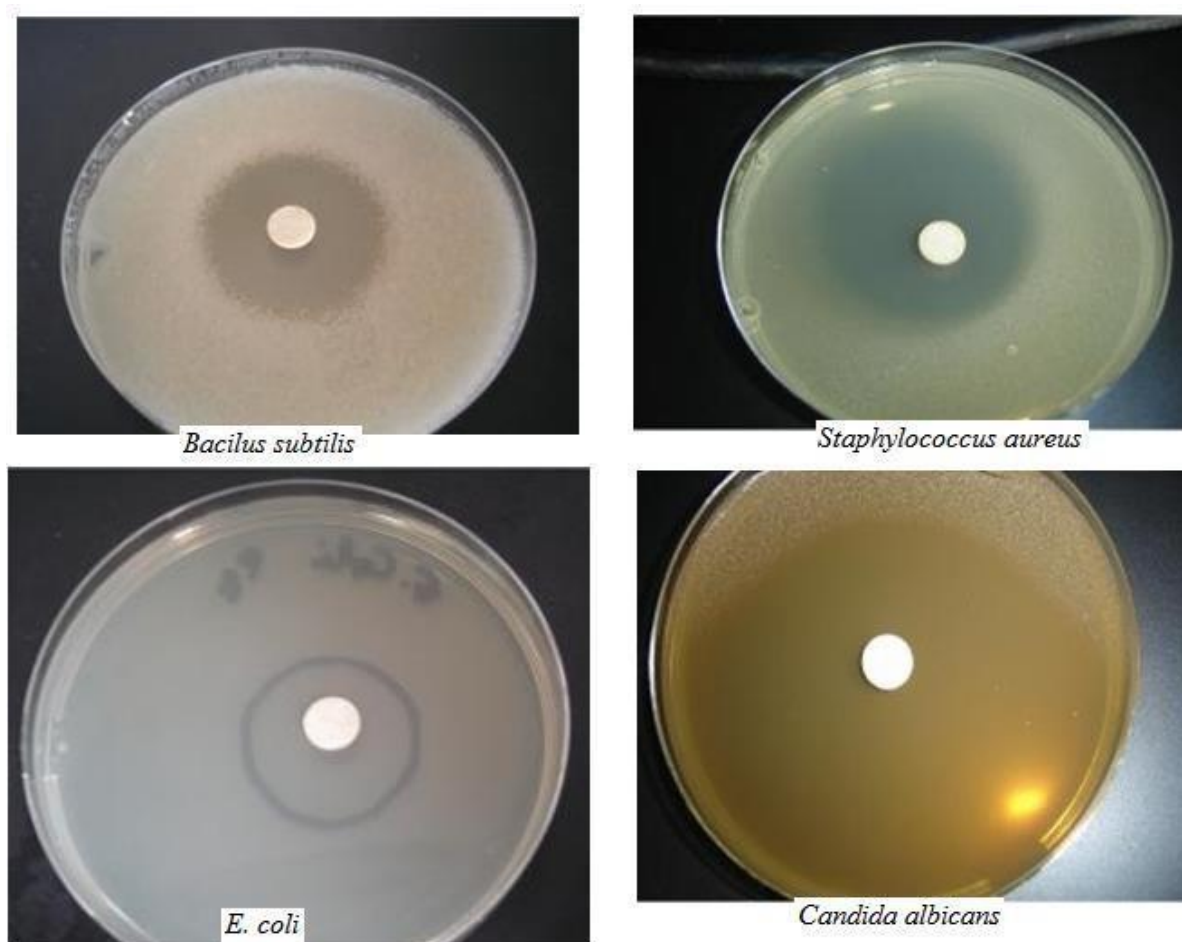


Figure 50 : Zones d'inhibition de l'HE de *T. guyonii* sur quelques microorganismes.

Afin de confirmer les résultats de l'étude qualitative, nous avons procédé à la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des deux espèces de *Thymus* contre six micro-organismes.

Les résultats des CMI varient d'un microorganisme à un autre, dans certains cas elles sont égales comme nos résultats (Tableau 13). Pour le cas de l'HE de *T.algeriensis*, une forte CMI est observée chez *E.coli* et *B.subtillis*, ces deux bactéries ont poussé à une concentration de 0.125% donc elles nécessitent une concentration plus forte que cette dernière en HE pour inhiber leur croissance, cette concentration est de 0.25%. La plus faible CMI a été observée chez *S.aureus* dont la valeur est de 0.125%. Une forte CMI est observée chez *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiaede*1%. Une faible CMI a été observée chez *Aspergillus brasiliensis* dont la valeur est de 0.125%.

En ce qui concerne l'HE de *T. guyonii*, la valeur CMI la plus élevée est celle de *Saccharomyces cerevisiae* et la plus faible est celle de *Aspergillus brasiliensis* et *Bacillus subtilis*.

Tableau 20 : Concentrations minimales inhibitrices des HEs (CMI) de *T. algeriensis* et *T. guyonii*

HE	CMI ($\mu\text{l/ml}$)			
	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. guyonii</i>	Sulf/Trim*	Terbinafine
Microorganisme				
<i>Bacillus subtilis</i>	2.5 ^{b,A}	0.3 ^{a,A}	1.25 ^{b,B}	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.25 ^{b,A}	0.6 ^{a,A}	0.3 ^{a,A}	-
<i>Escherichia coli</i>	2.5 ^{b,A}	0.6 ^{a,A}	0.6 ^{a,A}	-
<i>Candida albicans</i>	10 ^{b,B}	1.25 ^{a,B}	-	1.25 ^{a,A}
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10 ^{b,B}	1.25 ^{a,B}	-	1.25 ^{a,A}
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1.25 ^{b,A}	0.3 ^{a,A}	-	1.25 ^{b,A}

* Sulfaméthoxazole/ Triméthoprime; -: Not available; les données sont la moyenne de trois expériences \pm écart type. Les données suivies de différentes lettres minuscules pour les lignes et différentes lettres majuscules pour les colonnes signifient des différences significatives entre les valeurs des différents groupes par le test Turkey ($p < 0.05$).

Cependant, en comparaison avec les autres microorganismes étudiés, les bactéries Gram-négatives (*E. coli*) et les levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*) ont présenté une résistance modérée contre les deux huiles, notamment contre l'HE de *T. algeriensis*. Cette tendance de la sensibilité des micro-organismes vis-à-vis des deux huiles a été confirmée par les valeurs de CMI. La résistance des bactéries Gram-négatives aux HE est due en partie à la complexité de leurs enveloppes cellulaires, qui contiennent des lipopolysaccharides qui empêchent l'HE d'adhérer à la membrane cellulaire (Cosentino et al., 1999; Viuda-Martos et al., 2008). Chez les bactéries Gram-positives, l'absence de cette barrière permet à l'huile essentielle et aux composés hydrophobes pour entrer en contact direct avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, où ils exercent leur effet, provoquant soit une augmentation de la perméabilité ionique et une perte de constituants intracellulaires vitaux, soit une détérioration de l'enzyme bactérienne (Dorman et Deans, 2000).

La forte activité de l'essentielle l'huile de *T. guyonii* par rapport à celle de *T. algeriensis* pourrait être attribuée à sa richesse relative en thymol qui a été signalée dans plusieurs études comme le principal composé responsable de l'activité antimicrobienne (**Memar et al., 2017; Khoshbakht et al., 2020**).

Comme exemple, les monoterpènes phénoliques (thymol et carvacrol) se sont révélés les plus efficaces contre *E. coli* parmi 21 substances testées pour leur activité antibactérienne contre 25 agents pathogènes (**Dorman et Deans, 2000 ;Kerbouche et al., 2021**).

Pareillement, certains travaux ont démontré que la croissance mycélienne in vitro de *Botrytis cinerea* et la germination des spores étaient fortement inhibées par le carvacrol et le thymol, le composé principal de notre huile essentielle de *T. guyonii* (**Zhao et al., 2021**).

De plus, les huiles essentielles riches en phénols ont tendance à inhiber la croissance de tous les micro-organismes est conforme à celle rapportée par **Boulaghmen et al.(2018)** pour un échantillon d'Aflou (région de Laghouat) qui est environ deux fois plus riche en thymol que notre échantillon. En ce qui concerne le chémotype de l'acétate de terpinyle de *T. algeriensis*, les résultats modérés par rapport à ceux obtenus avec *T. guyonii* sont dans des composés comme le thymol et/ou le carvacrol qui provoquent une toxicité du phénol contre les champignons par l'inactivation des enzymes fongiques qui ont des groupes SH dans leurs sites actifs (**Aimed et al., 2022**). Pour l'huile de *T. guyonii*, à l'exception de *C. albicans*, l'huile essentielle de chémotype de *T. algeriensis* a une efficacité modérée comparée à celle de *T. guyonii*, elle a des effets antimicrobiens significatifs contre les micro-organismes pathogènes humains.

1.4.4. Activité antimicrobienne des Huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus*

L'activité antimicrobienne d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus* est présentée séparée de celle de *T. algeriensis* et *T. guyonii* parce que ces huiles n'ont pas été testées sur les mêmes microorganismes et elles ont été testées séparément dans le temps. Les résultats de l'analyse qualitative (Tableau 21 et Figure 51) montrent que *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* sont les plus sensibles aux deux huiles. Par contre, les deux autres bactéries qui sont des Gram négatives ont manifesté une résistance aux deux huiles.

Cependant, dans tous les cas l'huile essentielle d'*A. campestris* a été plus active que celle d'*Anacyclus valentinus* et que ces deux huiles sont moins sensibles que l'antibiotique (Gentamicine).

Tableau 21 : Zones d'inhibition des HEs d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus*

Diamètre des zones d'inhibition (mm) des HEs			
Microorganisme	<i>Artemisia campestris</i>	<i>Anacyclus valentinus</i>	Gentamicine
<i>Escherichia coli</i>	12±0.75 ^{cB}	9±0.08 ^{cB}	22±0.85 ^{cA}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13±0.08 ^{cB}	9±0.47 ^{cC}	20±0.49 ^{dA}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16±0.18 ^{bB}	12±0.07 ^{bC}	26±0.88 ^{bA}
<i>Candida albicans</i>	21±0.21 ^{aB}	14±0.45 ^{aC}	32±0.79 ^{aA}

Les données sont la moyenne de trois expériences ± écart type. Les données suivies de différentes lettres minuscules pour les colonnes et différentes lettres majuscules pour les lignes signifient des différences significatives entre les valeurs des différents groupes par le test Turkey ($p < 0.05$).

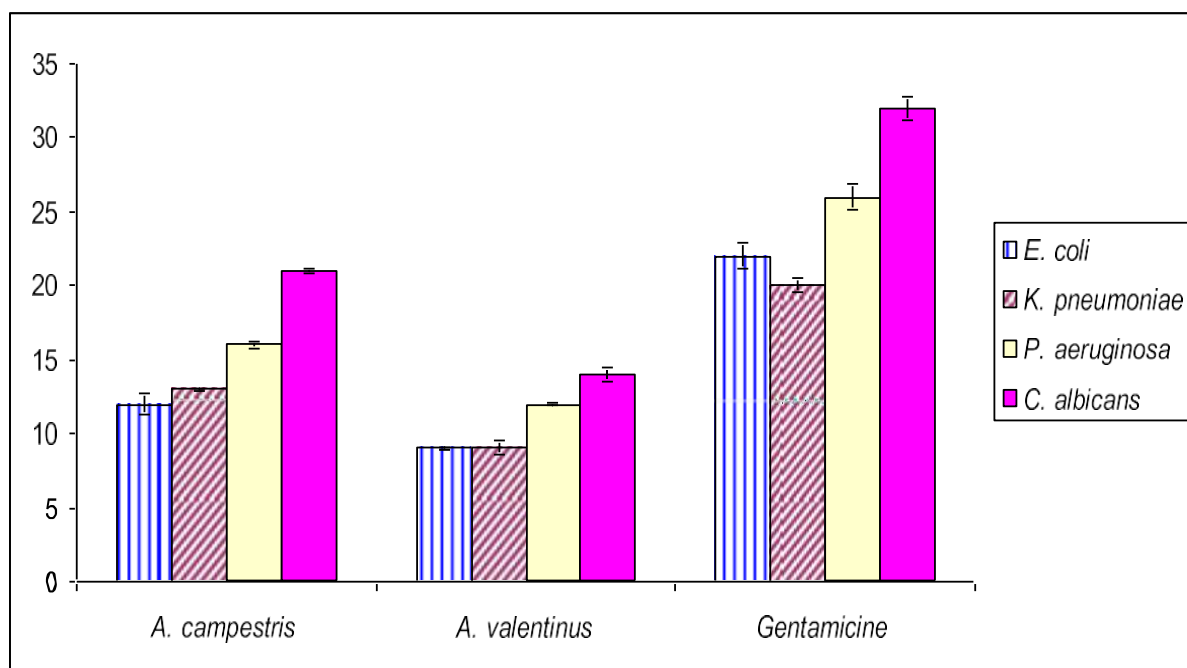


Figure 51: Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus*

Bendifallah, et Merah (2023) ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* contre quatre bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) et ils ont constaté que son efficacité est relativement faible avec des zones d'inhibition variant entre 8 et 14,1 mm ce qui est similaire à ce que nous avons obtenu.

Cependant, L'huile essentielle de parties aériennes d'*Artemisia campestris* L., récoltée à Khenchela (Est algérien), a montré une meilleure activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. Cet HE est principalement représenté par le β -myrcène, l' α -pinène, le trans- β -ocimène, le β -cymène et le camphre (**Ghorab et al., 2013**). Selon **Houicher et al., (2018)**, l'huile essentielle d'*Anacyclus valentinus* a donné un effet antifongique in vitro vis-à-vis de 7 souches fongiques toxigènes avec les composés majoritaires : δ -3-carène (31%), le spathuléol (14,2%), l'acide décanoïque (5,5%), le δ -cadinène (4,4%), l'anéthole (3,4%) et l'aromadendrène (3,3 %), cette composition chimique est différente de notre huile essentielle.

II.5- Évaluation de l'activité insecticide

Actuellement les plantes aromatiques réputées pour leurs richesses en huiles essentielles sont très utilisées comme des bio-pesticides dans le domaine agroalimentaire, notamment en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des denrées stockées. Deux espèces de *Thymus* ont été sélectionnées afin d'étudier leur activité insecticide en calculant la mortalité des adultes des insectes par deux modes de traitement : le contact et l'inhalation.

L'insecte choisi est le charançon du riz qui est l'un des ravageurs les plus nuisibles des cultures céréalières et des grains en silos. Dans les silos, la fumigation à la phosphine est généralement utilisée, mais le charançon devient de plus en plus résistant à cet insecticide qui attaquerait le système nerveux de l'insecte (**Parisot et al., 2021**) ou provoquerait la mort des insectes en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (**Houghtont et al., 2006**).

II.5.1- Test de l'effet des HEs par contact

L'évaluation de la toxicité des huiles essentielles se fait par le comptage des insectes morts et le calcul de la mortalité corrigée. Pour les deux plantes testées, l'efficacité augmente avec la dose d'HE déposée sur le papier filtre. Cette efficacité est basée sur la comparaison des DL_{50} et DL_{90} calculées à partir des courbes de régressions des probits en fonction des log-doses décrite par **Finney en 1971**. Quatre doses ont été choisies pour ce test:

$D1=0,0157\mu\text{l}/\text{cm}^2$, $D2=0,0314\mu\text{l}/\text{cm}^2$, $D3=0,0629\mu\text{l}/\text{cm}^2$ et $D4=0,126\mu\text{l}/\text{cm}^2$ et le comptage

des insectes morts se fait quotidiennement après 24 heures. Les résultats du test sont illustrés dans la figure 52.

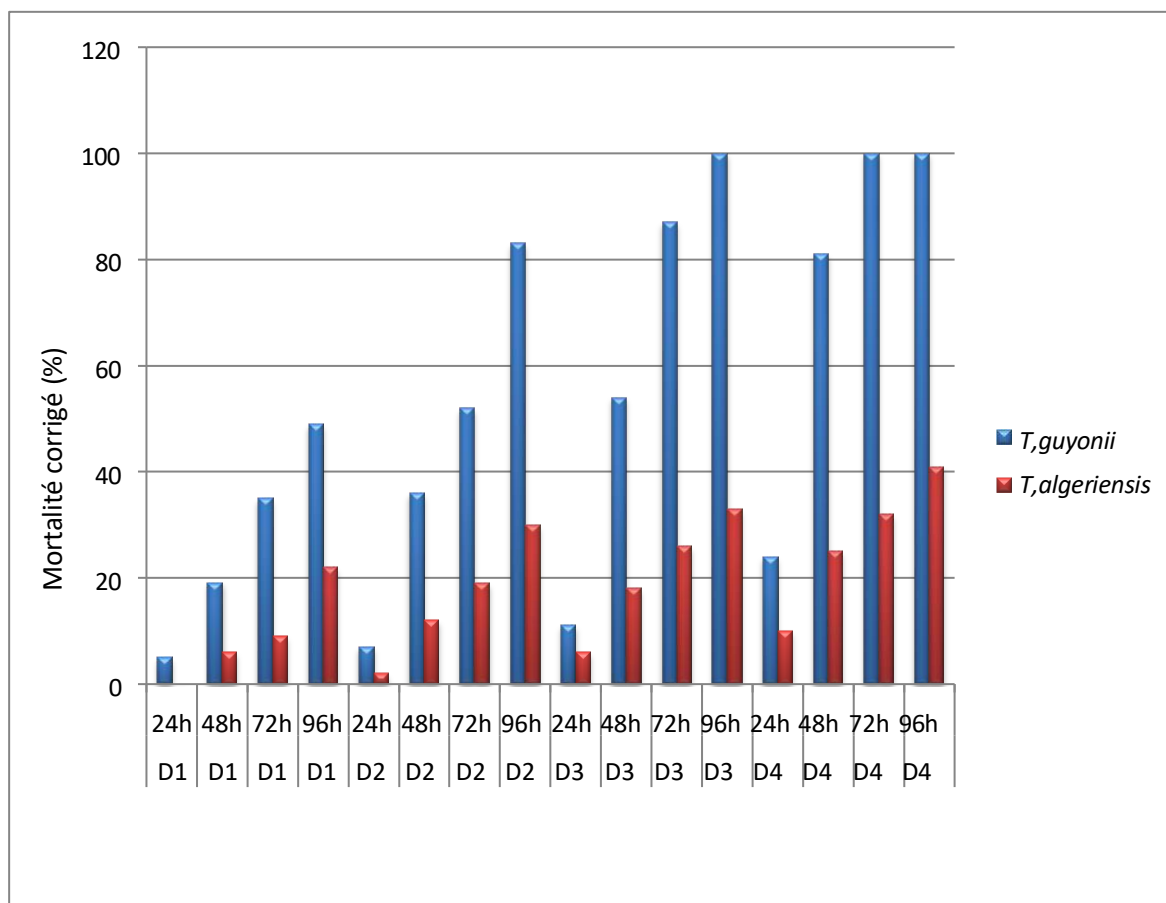


Figure 52: Pourcentage de mortalité de *Sitophilus oryzae* par l'effet des HEs (Test du contact)

D'après les résultats obtenus nous avons distingué que le taux de mortalité augmente avec l'augmentation de la dose de l'HE. Pour une dose de $0.0157\mu\text{l}/\text{cm}^2$ (D1= $1\mu\text{l}$ de l'HE/ml d'acétone), les pourcentages de la mortalité calculées après 96h sont de 49% et 22% respectivement pour *T.guyonii* et *T.algeriensis* et pour une dose de $0.032\mu\text{l}/\text{cm}^2$ (D2= $2\mu\text{l}$ /ml d'acétone). Pour les doses D2, D3 et D4, les mortalités provoquées par l'HE du *T.guyonii* sont respectivement 52%, 100% et 100%. Cependant, le taux de mortalité provoqué par l'HE de *T.algeriensis* n'a dépassé le 41 % pour la forte dose après quatre jours d'exposition.

L'efficacité d'une huile essentielle se mesurée par sa DL_{50} et DL_{90} qui représentent les quantités entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot, respectivement. Les

DL₅₀ et les DL₉₀ sont calculées après le traçage des courbes de régressions. Ces dernières sont créées par les probit en fonction des log doses (le probit est la transformation des mortalités corrigées) (Tableau 22 et Figure 53)

Tableau 22. Mortalités corrigées en fonction des doses d'HE du *T. guyonii* par effet de contact

Dose (µl/ ml)	Log dose (×100)	Mortalité moyenne	% Mortalité	Mortalité corrigée	Probit
témoin	/	0	0	0	/
D1 =1 0.0157 ul/cm ²	0,45	9.8	49	49	4,97
D2 =2 0.0314 ul/cm ²	1,144	16.6	83	83	5,95
D3 =4 0.0629 ul/cm ²	1,84	20	100	100	8,09
D4 =8 0.126 ul/cm ²	2,53	20	100	100	8,09

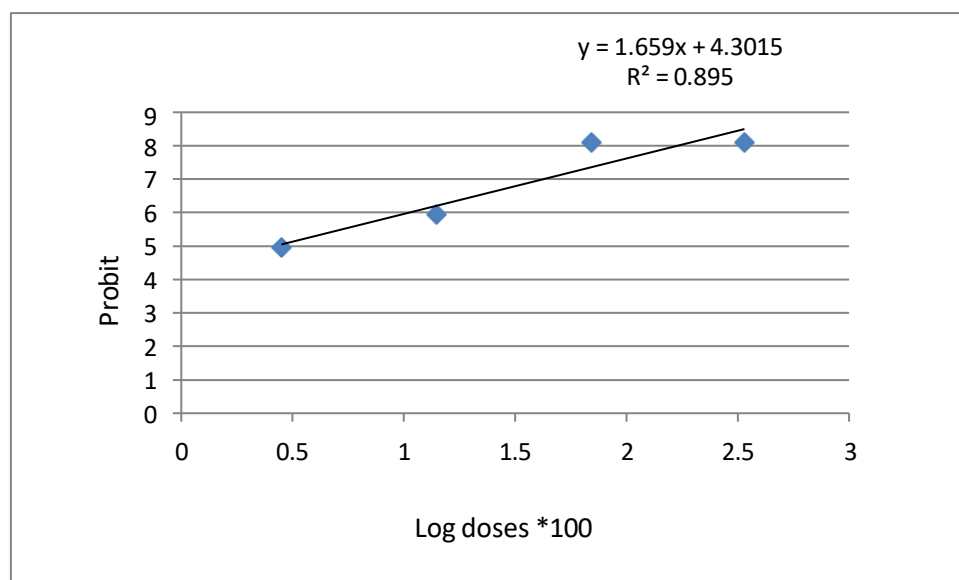


Figure 53: Régression linéaire de l'effet dose d'HE du *T. guyonii* sur la mortalité de *Sitophilus orysae*

Le tableau 23 présente les mortalités corrigées provoquées par les différentes doses d'HE de *T.algeriensis*. Ces pourcentages de mortalité sont transformés en probit à partir de tableau 1 (annexe) afin de tracer la droite de régression présentée dans la figure 54.

Tableau 23: Mortalités corrigées en fonction des doses d'HE du *T. algeriensis* par effet de contact

Dose ($\mu\text{l}/\text{ml}$)	Log dose ($\times 100$)	Mortalité moyenne	% Mortalité	Mortalité corrigée	Probit
témoin	/	0	0	0	/
D1 =1 0.0157 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$	0,45	4,4	22	22	4,23
D2 =2 0.0314 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$	1,144	6	30	30	4,48
D3 =4 0.0629 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$	1,84	6,6	33	33	4,56
D4 =8 0.126 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$	2,53	8,2	41	41	4,77

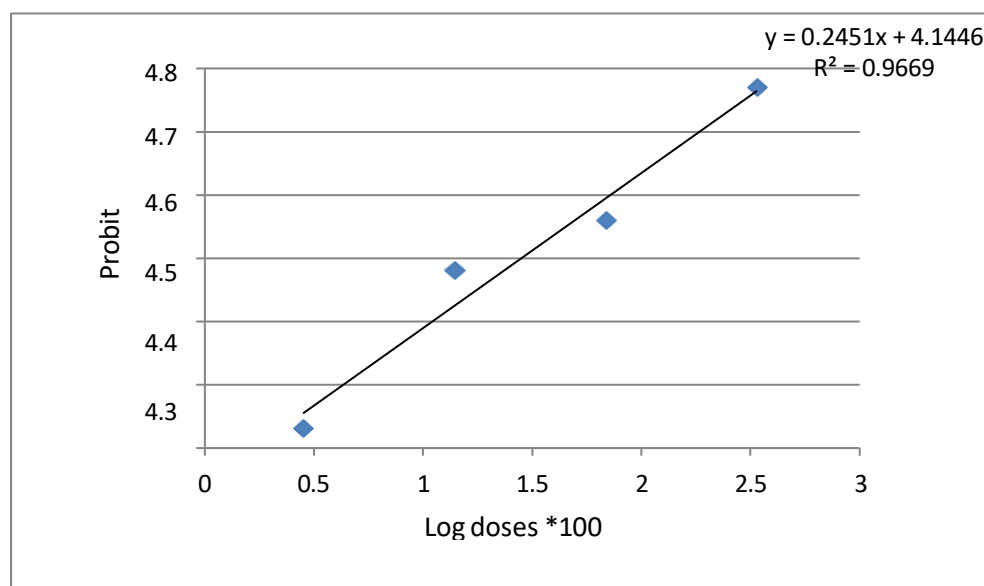


Figure 54: Régression linéaire de l'effet dose d'HE du *T. algeriensis* sur la mortalité de *Sitophilus oryzae*

Les doses létales d'HE du *T.guyonii*, qui provoquent la mortalité du 50% et 90% des adultes du *Sitophilus oryzae* sont respectivement 0.0152 ul/cm² et 0.033 ul/cm². Néanmoins, pour l'HE du *T.algeriensis* la mortalité n'a pas atteint la 50% pour cela nous avons essayé de calculer les doses létales à partir la droite de régression de la figure et les valeurs sont estimées à 0.515 ul/cm² et 61.24 ul/cm² pour les DL₅₀ et DL₉₀, respectivement.

Don Pedro (1989) indique que l'activité insecticide des huiles essentielles est essentiellement due à la toxicité directe des composés phénoliques présents dans leurs compositions. Comme le thymol qui est un constituant active de certains insecticides botaniques (**Isman, 2006**). Plusieurs études confirment que l'activité insecticide des monoterpènes, est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité cellulaire (**Huignard et al., 2008**). Selon **Séri- Kouassi (2004)**, la différence des degrés d'intoxication des insectes avec des huiles essentielles est en fonction de leur composition chimique qui est influencé beaucoup plus par la région géographique des plantes. L'action toxique par contact de certaines plantes sous formes d'huiles essentielles sur *Sitophilus oryzae* a été mise en évidence par plusieurs chercheurs. **Hashemi et Safavi (2012)**, ont étudié l'activité insecticide de *l'Artemisia haussknechtii* sur *Sitophilus oryzae* (LC₅₀ à 19.54 ul/L à 72h)

et contre *Callosobruchus maculatus* qui est plus sensible et les composés majoritaires de cette plante sont: Camphor (29.24 %), 1.8-cineole (27.62 %) Yomogi alcohol (5.23 %) et Camphene (4.8 %). En outre, **Ngassoum et al., (2007)**, ont testé l'efficacité des HEs de *Vepris heterophylla*, *ocimum canum* et *Hyptis spicigera* qui sont riches en monoterpènes. D'autres travaux ont affirmé l'efficacité de la plante *Lippia rugosa* (Verbenaceae) sur *Sitophilus oryzae* (**Ngamo et al., 2007**).

II.5.2- Test de l'effet des HEs par inhalation

Dans le test d'inhalation, l'huile essentielle se volatilise dans l'atmosphère confinée et atteint les insectes (*Sitophilus oryzae*) pour exercer son action. Aucune mortalité n'a été enregistrée dans le lot témoin pendant les durées d'exposition. Les taux de mortalité (%) des adultes de *S. oryzae* après exposition à diverses concentrations de vapeur des huiles essentielles de *Thymus* étudiées sont présentés dans le tableau 24. D1=0,049 $\mu\text{L}/\text{cm}^3$ D2=0,098 $\mu\text{L}/\text{cm}^3$ D3=0,196 $\mu\text{L}/\text{cm}^3$.

Tableau 24: Taux de mortalité (%), DL₅₀ et DL₉₀ ($\mu\text{L}/\text{L}$ air) de *Sitophilus oryzae* par les huiles essentielles de *T. guyonii* et *T. algeriensis* dans le test d'inhalation

HE	Temps (heure)	Doses ($\mu\text{L}/\text{L}$ air)			DL ₅₀	DL ₉₀
		49	98	196		
<i>T. guyonii</i>	24	39.1±0.1	81.3±0.8	100±0.0	55.8±3.1	105.5±4.3
	48	58.3±1.2	95.1±3.2	-		
	72	77.4±0.9	100±0.0	-		
	96	85.7±2.1	100±0.0	-		
<i>T. algeriensis</i>	24	1.0±0.0	28.3±1.5	28.6±0.2		
	48	12.2±0.1	38.5±1.7	58.1±0.0	126.5±5.2	ND*
	72	25.1±1.1	58.1±0.9	77.3±3.3		
	96	38.2±0.3	77.0±2.3	85.1±2.5		

ND* : valeur non atteinte (Non disponible).

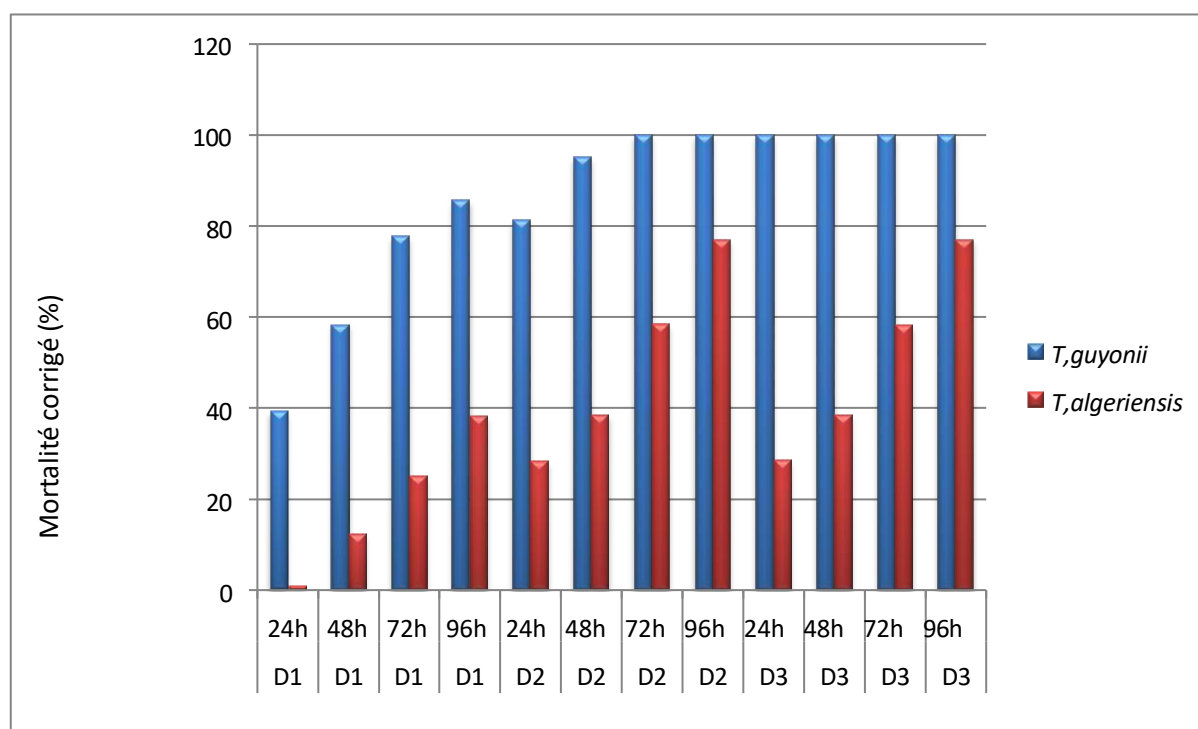


Figure 55 : Le pourcentage de mortalité du *Sitophilus oryzae* par l'effet des HEs (Test d'inhalation)

L'effet le plus élevé a été observé après 24 h d'exposition à 196 $\mu\text{L/L}$ d'air (équivalent à 16 $\mu\text{L}/81,64\text{ cm}^3$) pour l'HE de *T. guyonii* et après 96 h d'exposition 196 $\mu\text{L}/1\text{L}$ d'air (égal à 16 $\mu\text{L}/81,64\text{ cm}^3$) pour l'huile de *T. algeriensis*. On constate que l'effet maximal est obtenu avec l'huile essentielle de *T. algeriensis* pour une durée d'exposition des insectes quatre fois supérieure à celle requise pour l'huile essentielle de *T. guyonii*.

De plus, même pour cette durée d'exposition plus longue, l'huile essentielle de *T. algeriensis* ne parvient pas à atteindre le taux de mortalité atteint par *T. guyonii* (85,1 vs 100%). Les valeurs des concentrations létales (DL_{50} et DL_{90}) pour chaque huile essentielle calculées par analyse probit sont présentées dans le **tableau 24**. La DL_{50} pour *T. guyonii* était de $55,8 \pm 3,1$ $\mu\text{L/L}$ de volume après 24 h d'exposition par rapport à la DL_{50} de $126,5 \pm 5,2$ $\mu\text{L/L}$ air pour *T. algeriensis* après 48 h d'exposition. De plus, la DL_{90} pour *T. guyonii* était de $105,5 \pm 4,3$ $\mu\text{L/L}$ d'air tandis que *T. algeriensis* n'a pas atteint 90 % de mortalité pour toutes les doses testées et toutes les durées d'exposition testées. Cette efficacité puissante de l'huile essentielle de *T. guyonii* par rapport à celle de *T. algeriensis* pourrait être essentiellement due à sa richesse en thymol. En effet, ce résultat est en accord avec les données rapportées par

d'autres auteurs sur la toxicité des fumigants contre *S. oryzae* par les HE d'autres espèces de *Thymus* riches en thymol (**Ghasemi et al., 2020; Ainane et al., 2018**) ou d'autres plantes riches en thymol (**Singla et al., 2018**). Le Thymol et/ou son isomère (carvacrol) ont prouvé leur efficacité contre d'autres insectes tels que *Tribolium confusium* (**Benchabane et al., 2015**) ou *callosobrochus maculatus* (**Aimad et al., 2022; Abdelfattah et al., 2022**).

Cependant, d'autres composés devraient contribuer significativement à cette toxicité puisque plusieurs auteurs ont rapporté des activités insecticides remarquables d'huiles essentielles riches en composés autres que le thymol provenant de plantes comme *Cymbopogon schoenanthus* (**Aous et al., 2019**), (*Origanum vulgare*, *Citrus limon*, *Callistemon viminalis*, *Cupressus sempervirens* et *Citrus sinensis*) (**Abdelgaleil et al., 2016**) et *Lantana camara* (**Tawfeek et al., 2021**).

Aussi, **Rozman et al., (2007)** ont testé la toxicité individuelle par fumigation contre *S. oryzae* de certains composés généralement présents dans les huiles essentielles de plantes aromatiques (1,8-cinéole, camphre, eugénol, linalol, carvacrol, thymol, bornéol, acétate de bornyle et acétate de linalyle). Ils ont constaté que le 1,8-cinéole, le bornéol et le thymol étaient fortement efficaces lorsqu'ils étaient appliqués sur 24 h à la dose la plus faible (0,1 mL/720 mL de volume). Nous n'avons pas trouvé dans la littérature, de données concernant l'activité insecticide contre *S. oryzae* des HE de l'espèce *Thymus algeriensis* riche ou non en acétate de terpinyle ou celles d'autres plantes riches en acétate de terpinyle afin de comparer nos résultats.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes aromatiques et médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques et comme conservateurs alimentaires, ce qui nous amène à la conservation de la biodiversité végétale locale.

Ce travail a mis en évidence l'analyse phytochimique de quatre plantes locales y compris deux plantes endémiques en Algérie, en exploitant des techniques adéquates d'extraction et d'analyse. Les extraits végétaux et les huiles essentielles ont été valorisés au niveau biologique, notamment en tant qu'agents antioxydants, antimicrobiens et insecticides.

Thymus guyonii a fourni le rendement le plus important en extrait éthanolique non volatil (18.2%) par rapport aux autres plantes : *Artemisia campestris* (12.8%), *T. algeriensis* (5.6%) et *Anacyclus valentinus* (4.8%). Par ailleurs, l'extrait de *Thymus guyonii* était plus de trois fois plus riche en phénols totaux et flavonoïdes que celui d'*Artemisia campestris* qui à son tour était plus riche que *T. algeriensis* et *A. valentinus*.

Les résultats de cette étude ont montré que l'huile essentielle de *T. algeriensis* était caractérisée par l'acétate de terpinyle (28.1%) tandis que celle de *T. guyonii* par le thymol (19.1%), le thymol methyl ether (15.7%), le p-cymène (15.8%) et le γ -terpinène (15.3%) comme composants les plus importants. Pour *T. algeriensis*, un tel chémotype est signalé pour la seconde fois et semble être caractéristique des régions du Sahara septentrional algérien. L'HE d'*Artemisia campestris* était constituée principalement par des monoterpènes : α -pinene (10.4%), β -pinene (14.6%), β -myrcene (8.3%) et cis- β -Ocimene (8.0%). Cette composition n'est similaire à aucune de celles de la littérature qui se caractérisent par une grande dissimilitude ou variabilité chimique. L'huile essentielle d'*Anacyclus valentinus* est très peu étudiée et les données dans la littérature sont plutôt rares. Sa composition chimique est essentiellement constituée de chrysantényl acetate (16.1%), de t-muurolol (19.7%) et de cis-8-Acetoxychrysanthényl acetate (19.6%). Ce dernier composé est peu courant dans les HEs. Les variations observées dans la composition chimique des HEs, d'une manière qualitative et quantitative, peuvent être dues à l'âge de la plante, à la période du cycle végétatif, à la partie de la plante utilisée et à certains facteurs écologiques, ou même à des facteurs génétiques (Senatore, 1996; Kokkini et al., 1997; Thompson, 2003).

L'activité antioxydante évaluée en termes d'inhibition des radicaux DPPH \bullet et ABTS \bullet^+ , a montré une meilleure activité de réduction du radical DPPH (53.94% pour 1000

mg/L) de l'huile essentielle de *T. guyonii* par rapport aux autres huiles qui ont à peine pu dépasser 15% d'inhibition pour une concentration de 2000 mg/L. L'HE de *T. guyonii* a aussi étalé une très bonne activité d'inhibition du radical ABTS (96.09% pour 100 mg/L) avec un IC₅₀ égale à 31.02 mg/l tandis que l'IC₅₀ de l'HE de *T.algereinsis* égale à 708.23mg/l par rapport aux autres huiles qui n'ont pu atteindre 50% d'inhibition que pour des concentrations variant entre 1000 et 2000 mg/L. Ce comportement des huiles essentielles était plus ou moins probable étant donné que l'activité antioxydante est fortement liée à la composition chimique des ces huiles et particulièrement à leur contenance ou non de composés phénoliques.

Contrairement aux huiles essentielles, les extraits éthanoliques ont tous montré une bonne activité antioxydante avec des IC₅₀ variant entre 2.87 et 28.97 mg/L pour le test du DPPH et variant entre 13.27 et 42.68 mg/L pour le radical ABTS. L'activité antioxydante des extraits était en parfaite corrélation avec la richesse de chaque extrait en phénols totaux et flavonoïdes. Ainsi, l'extrait de *T. guyonii* a émergé du lot en fournissant une activité d'inhibition du radical DPPH, supérieure à celle du BHT et une activité équivalente à celle du Trolox par rapport à l'ABTS. Ce résultat est très intéressant et laisse augurer d'une possible utilisation de l'extrait de cette plante dans des applications de protection alimentaire.

L'activité antimicrobienne des HEs de *T. guyonii* et de *T. algeriensis* vis-à-vis de 6 micro-organismes pathogènes et celles d'*Artemisia campestris* et d'*Anacyclus valentinus* contre 4 microorganismes a été évaluée de manière qualitative (méthode des aromatoigrammes) et de manière quantitative par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Pour l'huile de *T. guyonii*, à l'exception de *C. albicans*, l'huile essentielle de chémotype de *T. algeriensis* a une efficacité modérée comparée à celle de *T. guyonii*, elle a des effets antimicrobiens significatifs contre les micro-organismes pathogènes humains. L'HE de *T. guyonii* s'est distinguée par la capacité inhibitrice la plus puissante des souches testées rapportées comme agents responsables de maladies d'origine alimentaire, suggérant la possibilité d'utiliser cette plante comme conservateur antimicrobien naturel dans les systèmes alimentaires et pharmaceutiques.

L'activité insecticide de l'HE de *T. guyonii* ainsi que celle du chémotype de *T. algeriensis* étudié dans ce travail est rapportée ici pour la première fois. L'HE de *T. guyonii* a exhibé une puissante activité insecticide contre le charançon du riz par rapport à celle de *T. algeriensis* soit par effet contact ou inhalation. Ainsi, l'effet maximal est obtenu avec l'huile essentielle de *T. algeriensis* pour une durée d'exposition aux insectes quatre fois supérieure à

celle requise pour l'huile essentielle de *T. guyonii*. De plus, même pour cette durée d'exposition plus longue, l'huile essentielle de *T. algeriensis* ne parvient pas à atteindre le taux de mortalité atteint par *T. guyonii* (85,1 vs 100%) cette efficacité pourrait être principalement attribuée à sa richesse en thymol. Ainsi, l'huile essentielle de cet endémisme Algérien peut être considérée comme un bon fumigant efficace qui pourrait être intégrée comme alternative dans la gestion des ravageurs post-récolte telle que le charançon du riz.

Enfin, les résultats de cette étude ont confirmé la possibilité d'employer les propriétés naturelles du thym dans la conservation des aliments, dont ils peuvent être utilisés pour stocker et protéger les produits alimentaires contre les microbes pathogènes et les insectes ravageurs.

A la lumière des résultats obtenus, nous essaierons de proposer quelques perspectives de recherche :

- Tester l'huile essentielle sur d'autres espèces d'insectes nuisibles et explorer d'autres activités biologiques.
- Effectuer une étude plus poussée sur les extraits de *T. guyonii* et identifier les composés responsables de sa forte activité antioxydante.
- A notre connaissance, aucune recherche approfondie n'a été entreprise concernant la caractérisation agronomique et l'effet de la culture sur le rendement et la composition des huiles essentielles de cette espèce de thym. Par conséquent, nous suggérons une étude pour évaluer les réponses agronomiques et chimiques de *T. guyonii* à travers au moins deux années d'expériences sur le terrain moyennant une culture expérimentale sur différents types de sols. Les informations qui seront recueillies seront d'une grande importance pour la sélection de génotypes supérieurs basés sur la productivité, le rendement et la composition chimique des huiles essentielles pour des programmes de domestication et d'amélioration. Cette étude pourrait aussi être menée conjointement avec des études d'activités biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbot, W.S. (1925). A method for computing effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-268.

Abdelfattah, E., Aimad, A., Bourhia, M., Chebbac, K., Mohammad Salamatullah, A., Soufan, W., Nafidi, H.-A., Aboul-Soud, Mourad A. M., Ouahmane, L., Bari, A. (2022). Insecticidal and Antifungal Activities of Chemically-Characterized Essential Oils from the Leaves of *Withania frutescens* L. *Life.* 12: 88, 1-14.

Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S., Abou-Taleb, H.K. (2016). Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J. Pest. Sci.* 89: 219-229.

Abdel-Shafy S. et Zayed AA., (2002). In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum* (Ixodoidea : Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 106: 89-96.

Aboutabl E.A, El-dahmy S.I. (1995). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 33: 8790.

Adams R.P. (2007). Identification of Essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th edn. Allured Publ. Corp., Carol Stream, USA.

AFNOR, 2000. Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.

Ahmed S., Khan M.A., Ahmad N. 2002) . Determination of susceptibility level of phosphine in various strains of *Callosobruchus maculatus*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 329-331.

Aimad, A., Youness, E.A., Sanae, R., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Salamatullah, A. M., Alzahrani, A., Khalil Alyahya, H., Albadr, N.A., Nafidi, H.-A., Ouahmane, L., Mohamed, F. (2022). Chemical composition and antifungal, insecticidal and repellent activity of essential oils from *Origanum compactum* Benth. used in the Mediterranean Diet. *Front. Plant Sci.* 13: 798259, 1-10.

Ainane, A., Khammour, F., Charaf, S., Elabboubi, M., Bennani, L., El Kouali, M., Talbi, M., Cherroud, S., Abba, E., Ainane, T. (2018). Chemical Composition and insecticidal activity of the essential oils of *Thymus* of Morocco: *Thymus capitatus*,

- Ait-Ouazzou, A.; Lorán, S.; Bakkali, M.; Laglaoui, A.; Rota, C.; Herrera, A.; Pagán, R.; Conchello, P (2011).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *J. Sci. Food Agric.* ,91, 2643–2651.
- Akroum S.(2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de Doctorat en Science de l'Université de Constantine.
- Akrouf, A., Chemli, R., Chreïf, I., Hammami, M., (2001).** Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour Fragrance Journal*,16: 337.
- Akrouf, A., Chemli, R., Simmonds, M., Kite, G., Hammami, M., Chreïf, I., (2003).** Seasonal Variation of the Essential Oil of *Artemisia Campestris* L. *Journal of Essential Oil Research* 15(5): 333-336.
- Akrouf, A., El Jani, H., Amouri, S. Neffati, M., (2010).** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba Alba* Asso, and *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Growing wild in the southern of Tunisia. *Recent Research in Science and Technology*, 2 (1): 29–39.
- Akrouf, A., Gonzalez, L.A., ElJani, H., Madrid, P.C., (2011).** Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food Chemical and Toxicology*, 49(2): 342-347
- Ali SS., Kasoju N., Luthr A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.
- Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah F, Aafi A, Aarab L, El Ajjouri M, Chaouch A., (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. de Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **14**(1), 141-148.
- Aous, W., Benchabane, O., Outaleb, T., Hazzit, M., Mouhouche, F., Yekkour, A., Baaliouamer, A. (2019).** Essential oils of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. from Algerian Sahara: chemical variability, antioxidant, antimicrobial and insecticidal properties, *J. Essent. Oil Res.* 31(6): 562-572.
- Bachelot C., Blaise A., Corbel T., Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France, 26 p.
- Bakchiche, B., Gherib, A., Maatallah, M., Miguel. M. G. (2014).** Chemical composition of essential oils of *Artemisia campestris* and *Juniperus phoenicea*. From Algeria. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9: 1434-1436.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2008).** Biological Effects of Essential Oils—A Review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.

- Balachowsky A.S., (1963).** Entomologie appliqué à l'agriculture. Traité, Tome I, Coléoptères. Ed. Masson et Cie. Paris. 874-1236.
- Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., & Gruzdiene, D. (2000).** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. Food Research International, 33, 785–791.
- Bare, Janet E. (1979).** Fleurs sauvages et mauvaises herbes du Kansas. Lawrence, KS : The Regents Press of Kansas. 509p.
- Barkat, L., Boumendjel, A., Saoudi, M., El Feki, A., Messarah, M. (2015).** *Artemisia campestris* leaf aqueous extract alleviates methidathion-induced nephrotoxicity in rats. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 32:2, 200-209.
- Barnes J., Anderson L. and Phillipson J.D. (2007).** Herbal Medecine. Edition Pharmaceutical press Ph P, third edition, 710p
- Basile, A., Jiménez-Carmona, M. M., & Clifford, A. A.)1998(.** Extraction of rosemary by superheated water. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(12), 5205-5209.
- Baudoux, D. (2008).** L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles. Bruxelles : Ed.
- Bayer RJ, Starr JR. (1998).** Tribal phylogeny of the Asteraceae based on two non-coding chloroplast sequences, the trnL intron and trnL/ trnF intergenic spacer. Annals of the Missouri Botanical Garden 85: 242–256.
- Baykanerel, S., Reznicek, G., Şenol, S.G., Karabay, Yavaşouğl, N. U., Konyalioğlu S., Zeybek, A. U. (2011).** “Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia”, Turkish Journal of Biology, n° 35: 1-10. Amyris, 254p.
- Behera J. N., Rao J., 2006.** A Ni²⁺ (S = 1) Kagome Compound Templated by 1,8-Diazacubane American of Chemistry Society 128 (29), 9334 -9335.
- Belaiche, P.(1979).** L'aromatogramme: Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1.M.S.A. éd., Paris, 204 p.
- Belhattab, R., Boudjouref, M., Barroso, J.G., Pedro, L.P., Figueiredo. A.C., (2011).** Essential oil composition from *Artemisia campestris* grown in Algeria. Advances in Environmental Biology, 5: 429-432.
- Bellomaria, B., Valentini, G., Biondi, E., (2001).** Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. and *A. campestris* L. ssp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) from Italy. Journal of Essential Oil Research, 13 (2) : 90-94.

- Beloued A., (2005).** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office Des Publications Universitaires, Alger. 284 P.
- Benabdallah, F. Z., Zellagui, A., Demirtas I. (2017).** Chemical composition of essential oils and antioxidant activities of extracts of two endemic plants from Algeria. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 8(1): 244-250.
- Benabid, A. (2000).** Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris: Édition Ibis Press, 159-161.
- Benchabane, O., Mohamed Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A. (2015).** Influence of extraction duration on the chemical composition and biological activities of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé. *Arab. J. Sci. Eng.* 40: 1855-1865.
- Bendifallah, L., Merah, O. (2023).** Phytochemical and biocidal properties of *Artemisia campestris subsp. campestris* L. (Asteraceae) essential oil at the southern region of Algeria. *Journal of Natural Pesticide Research.* Volume 4,
- Bendjabeur, S., Benchabane, O., Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Bitam, A. (2018).** Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *J. Food Meas. Charact.* 12(4): 2278-2288.
- Ben El Hadj Ali, I., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M., arzallahSkhiri, F. (2015).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Ind. Crops Prod.* 77: 631-639.
- Benhabiles, N. E. (1995).** Comparaison des huiles essentielles de deux espèces algériennes de romarin: extraction et étude analytique. Th, magister, ENP. Alger
- Benhalima, H.; Chaudhry, M.Q.; Mills, K.A.; Price, N.R. 2004) . Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. Journal of Stored Products Research, v.40, p.241-249.**
- Benhammou, N., (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en science biologique. Université Aboubakr Belkaid. Tlemcen.
- Benjlali, B., Tantaoui-Elaraki, A., Ismaïli, Alaoui M. Ayadi, A. (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie.* Tome XX : 155 - 167.

- Benjilali B. (2004).** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.
- Benkiniouar R, Rhouati S, Touil A, Seguin E et Chosson E., (2007).** Flavonoids from *Thymus algeriensis* chemistry of natural compounds, Vol 43, No 3. UDC 547, 972.
- Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. J. Pharmaco. Bio. 45 (5): 421–428.
- Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie.
- Berthod, A., Billardello, B., Geoffroy, S. (1999).** Polyphenols in counter current chromatography: An example of large-scale separation I. Analysis. EDP Sciences, Wiley-VCH, vol.27, p.750-757.
- Beta T., Nam S., Dexter J.E., Sapirstein H.D., 2005.** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. Journal of Cereal Science, 82(4): 390-393.
- Boros.B ,Jakabova.S , Dornyei.A , Horvath.G, Pluhar.Z , Kilar.F , Felinger.A, (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in *Thymus* species. Journal of Chromatography A, 1217 : 7972–7980.
- Bouchikhi tani, Z. (2011).** Lutte contre le bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. The Doctorat univ Telemcen , 189p
- Boudjouref, M., Belhattab, R., Bouteghrine, S. (2018).** Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria. World Journal of Environmental Biosciences, 7 :2, 61-66
- Bouhdid S, Idaomar M, Zihi A, et al. (2006).** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activity. Congrès international de biochimie, 9–12 mai 2006, Agadir, Maroc
- Boulaghmen, F., Chaouia, C., Hazzit, M., Nouas, M., Saidi, F. (2018).** Chemical composition and microbial activity of essential oil extract from *Thymus guyonii* de Noé from Aflou Algeria. Revue Agrobiologia. 8(1): 853-862.

Boungab K., Tadjeddine A., Belabid L., Fortas Z., Lazrag F. (2011). Activité antifongique des extraits d'*Anacyclus valentinus* L. sur des champignons phytopathogènes. 4ème Conférence Internationale sur les Méthodes Alternatives en Protection des Cultures. Evolution des cadres réglementaires européen et français. Nouveaux moyens et stratégies Innovantes, Nouveau Siècle, Lille, France, 230- 238.

Bousbia N. (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de Magister, Option Science Alimentaires, INRA. Algérie.

Bouzouita N, Kachouri a, F. Ben Halima a, M. Chaabouni b, M. M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* . Journal de la Société Chimique de Tunisie,, 10, 119-125 119

Bowles, B.L., Sackitey, S.K., and Willams, A.C. (1995). Inhibitory effects on flavor compounds on *Staphylococcus aureus* WRRC B 124. Journal of Food Safety, 15: 337-347.

Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxydant activity. Lebensm wiss Technology, 28: 25-30.

Brasseur, L., Yherond, P., Legrand, A. (1995). Pouvoir antioxydant total du plasma. Act. Pharm. Bid. Clin. 8: pp 239-244.

Bremness L. (2005). Plantes aromatiques et médicinales. Edition Larousse, Paris, 304p

Brouillard, R., Figueiredo, P., Elhabiri, M. et Dangles, O., (1997). Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruits and vegetables. In: Phytochemistry of fruit and vegetables Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. Oxford. Clarendon Press, 30 - 49.

Bruneton, J. (1995). Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants. Lavoisier Publishing, Paris, 265 p.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 3eme éd. Lavoisier. Paris: 585p.

Bruneton, J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 3eme éd. Paris : Edition médicales internationales. Edition Tec & Doc Lavoisier 1120p.

- Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier, 4^{ème} éd, Paris. 1292p.
- Buchbauer, G., Jirovetz, I, L., Jäger, W., Plank, C., Dietrich, H. 1993.** Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation *J Pharm Sci* . ;82(6):660-4.
- Burgot, G., BURGOT, J. L. (2006).** Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications: Méthodes chromatographiques, électrophorèses et méthodes spectrales. 2^{ème} éd, TEC et DOC. 320p.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Cavalli, J. F. (2002).** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar, Thèse université de Corse, France, p. 261.
- Cangardel H., (1978).** Facteurs favorables au développements des insectes et des acariens in BUQUET R et al., les insectes et les acariens des céréales stockées. AFNOR-ITCF. 237p.
- Chabasse D., Guiguen C et Contet-Audonneau N. (1999)..** Mycologie médicale, Masson, Paris. 324p.
- Chalchat, J.C., Cabassu, P., Petrovic, S.D., Maksimovic, Z.A., Gorunovic, M.S., (2003).** Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4): 251-253.
- Chami, F. (2005).** Évaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266 p.
- Chemat, S., Cherfouh, R., Meklati, B.Y., Belanteur, K. (2012).** Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil. *J. Essent. Oil Res.* 24(1): 5-11.
- Chiasson, H., Beloin, N. (2007).** Les huiles essentielles, des biopesticides "nouveau genre". *Antennae*, 14(1): 3-5.
- Chiej R., (1982).** Les plantes médicinales. Edition Solar, Paris, 442 p.
- Chikhoun, A., Stouvenel, L., Iguer-Ouada, M., Hazzit, M., Schmitt, A., Lorès, P., Wolf, J.P., Aissat, K., Auger, J., Vaiman, D., Touré, A. (2015).** In-vitro effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reprod Biomed Online* 31: 411-20.

Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi E., Palmas F., (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology, 29: 130-135.

Coste H, (1903). Flore descriptive et illustrée de la France de la Corsée et contrées limitrophes.vol 2

Couplan F, (2000). Dictionnaire d'étymologie de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques. Edition Lausanne : Delachaux et Niestlé, Paris, 238p.

Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, n.4, vol.12, p.564–582.

Cristofari, G., Znini, M., Majidi, L., Mazouz, H., Tomi, P., Costa, J., Paolini, J. (2012). Chemical Diversity of Essential Oils from *Asteriscus graveolens* (Forssk.) Less. : Identification of cis-8-Acetoxychrysanthenyl acetate as a new natural component. Chemistry & Biodiversity, 9, 727-738.

Cruz j f et troude f., (1988). Conservation des grains en régions chaudes.

Collection du Ministère de la Coopération et du Développement. Techniques rurales en Afrique. CEEMAT/CIRAD, Montpellier, 548 p.

Cruz J. F et Diop A., (1989). Génie agricole et développement : techniques d'entreposage.Bulletin des services agricoles de la FAO, 124p.

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Paris : Ed Yves Dacosta. P. 317.

Daferera D.J, Ziogas B.N, Polissiou M.G.2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection 22 (1) : 39 - 44.

Daoudi-Merbah, F., Hazzit, M., Dahmani Megrerouche M (2016). Influence of morphological variability and habitat on the chemical composition of essential oils of an Algerian endemic *Origanum* species (*Origanum floribundum* Munby). Chem. Biodivers. 13: 1088-1094.

Davidson P.M., and Parish M.E., (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. Food Technology, 43: 148-155.

Davis S R., (2011). Rostrum structure and development in the rice weevil *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionoidea: Dryophthoridae). Arthropod Structure and development Vol 40(6): 549–558.

De Billerbeck, V.G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5 (5): 249-253.

De-groot I., 2004-Protection des céréales et des légumineuses stockées. Agrodok 18, fondation Agromisa, Wageningen, 74p.

Delattre, J., Beaudeau, J. L., Bonnefont-Rousselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Edition Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales, Paris, p 14, 93, 94.

De Martino L, Bruno M, Formisano C, De Feo V, Napolitano F, Rosselli S, Senatore F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Thymus* growing wild in Southern Italy. *Molecules*. 14(11).

Devi KC et Devi SS, (2013).Insecticidal and oviposition deterrent properties of some spices against coleopteran beetle, *Sitophilus oryzae*. *J Food Sci Technol* 50: 600–604

Dib, I., Fauconnier, M-L., Sindic, M., Belmekki, F., Assaidi, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., Bnouham, M., Ziyat, A., (2017). Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17: 82.

Djeridane A ., Yousfi M ., Najemi B ., Vidal N ., Lesgards JF ., and Stocker P . (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity .*Eur. Food Res. Technol.*224: 801-809.

Djeroumi, A et Nacef, M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre, pp 135 -131.

Djidjel, S. and khennouf, S. (2014). Radical scavenging, reducing power, lipid peroxidation inhibition and chelating properties of extracts from *Artemisia campestris* L. aerial parts. *Annual Research & Review in Biology*, 4: 10, 1691-1702.

Dob, T., Dahmane, D., Berramdane, T., Chelghoum, C., (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris*. L. from Algeria. *Pharmaceutical Biology*, 43:6, 512-514.

Dob T, Darhmane D, Benabdelkader T et Chelghoum T.C., (2006). Studies on the essential oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *Int. J.Aromatherapy*, 16(2), 95-100.

Domar, A., Bourneuf, J. (1990). Nouveau Larousse médicale.

- Don Pedro, K. N. (1989).** Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Pest Management Science*, 26(2): 107-115.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Douar-Latreche, S., Benchabane, O., Sahraoui, S., Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A. (2018).** Effect of gamma irradiation on the chemical composition and antioxidant activity of *Thymus algeriensis* extracts, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:2, 449-461.
- Ducourthial, G (2016).** Flore médicale des signatures : xvie – xviii siècles, L'Harmattan, 2016, 670 p.
- Ducrot P H., 2002-** Contribution de la chimie à la compréhension de l'activité biopesticide de produits naturels d'origine végétale. In : *Biopesticides d'origines végétales.* . Ed. TEC & DOC. Paris, pp : 53-65.
- Dugo, G et Di Giacomo, A. (2004).** *Citrus: The genus Citrus.* Taylor and Francis Group, 656p.
- Dupont F., Guignard J.-L. (2007).** Botanique systématique moléculaire. 14e édition révisée. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, , 283p.
- Duquenois, P. (1968).** L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. *Parf. Cosm. Sav.*, p: 414-418.
- Edenharder, R. and Grünhage, D. (2003)** .Free Radical Scavenging Abilities of Flavonoids as Mechanism of Protection against Mutagenicity Induced by Tert-Butyl Hydroperoxide or Cumene Hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research*, 540, 1-18.
- Egbon I.N and Ayertey J.N., 2013-** Incidence of *Sitophilus oryzae* and Other Stored-product Pests on Cowpea in Local Markets in Accra: Management Strategies Employed by Retailers. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16: 435-438.
- El Bouzidi, L., Alaoui Jamali, C., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A. (2013).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Ind. Crop Prod.* 43: 450-456.

El Ouariachi, I., Hamdani, A., Bouyanzer, B., Hamouti, L., Lhou, M., Costa, J., Paolini, J., Chetouani, A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4(4): 281-286.

Elmorsi, M.A., Hassanein, A.M., (1999). Corrosion inhibition of copper by heterocyclic compounds. *Corros. Sci.* 41, 2337-. 2352

Enan, E. (2000). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology.* vol.130, p.325-337.

Eymard S., 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, Ecole polytechnique de l'Université de Nantes, France, 125 p.

Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd. Cambridge University Press, Cambridge 333.

Fleurat-lessard F., (1982). Les insectes et les acariens. In MULTON, J.L: Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés. Lavoisier, Paris, 2: 394-436.

Franchomme, P. et Pénéol D. (1990). Matière médicale aromatique fondamentale. L'aromathérapie exactement, Editeur Roger Jollois, Limoge, 4: 317-446

GAUSSEN H., LEROY H.,(1982). Précis de Botanique (végétaux supérieurs),2ème Ed:426.

Ghasemi, G., Alirezalu, A., Ghosta, Y., Jarrahi, A., Safavi, S. A., Abbas-Mohammadi, M., Barba, F. J., Munekata, P. E. S., Domínguez, R., Lorenzo, J. M. (2020). Composition, antifungal, phytotoxic, and insecticidal activities of *Thymus kotschyianus* essential oil. *Molecules.* 25: 1152-1170.

Gherman C., Culea M., Cozar O. (2000). Comparative analysis of some active principal of herb plants by GC/MS- *Talanta*, vol. 53: pp 253-262.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 4: 162-169.

Ghorab, H., Laggoune, S., Kabouche, A., Semra, Z., Kabouche, Z., (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 5 (2):189-192.

Gironde C., Rigal M., Dufour C., Furger C. (2020). AOP1, a new live cell assay for the direct and quantitative measure of intracellular antioxidant effects. *Antioxidants*, 9, 471.

Giweli, A. A., Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M. S., Marin, P. D. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild growing in Libya. Cent. Eur. J. Biol. 8(5): 504-511.

Glavind, J., Holmer, G. (1967). Thin-layer chromatographic determination of antioxidants by the stable free radical α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl. Journal of the American Oil Chemists' Society. 44(9): pp 539-542.

Guenther, E. (1972). The Essential Oils. Krieger Publishing Company, New York, p. 453-454.

Gueye M T., Seck D., Wathelet J-P et Lognay G., (2011). Lutte contre les ravageurs stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale: synthèse bibliographique. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 15(1): 183-194.

Guignard, J.L. (1996). Biochimie végétale. Masson, Paris, 255 p.

Guignard, J.L. (2000). Les composés aromatiques In : Biochimie végétal. Ed: Dunod. pp: 161-217.

Gupta, A.K., Behal, S.R., Awasthi, B.K., Verma, R.A. (1999). Screening of some maize genotypes against *Sitophilus oryzae*. Indian J. Entomol. 61:265-268.

Gustafson, J. E., Liew, Y.C., Chew, S., Markham, J., Bell, H.C., Wyllie, S. G. et Warmington, J. R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. Letters in Applied Microbiology, 26, 194 -198.

Hadi, M. (2004). La quercétine et ces dérivés : molécule à caractères pro oxydant ou capteur de radicaux libres ; étude et application thérapeutiques. Thèse de doctorat, Université de Louis Pasteur, domaine : Pharmacochimie, 155p.

Hadjadj, N., Hazzit, M. (2020). Analysis and antioxidant activity of essential oils and methanol extracts of *Origanum floribundum* Munby. J. Essent. Oil-Bear. Plants. 23(1): 85-96.

Hamdani, I., El Ouariachi, E., Mokhtari, O. Salhi, A., Chahboun, N., ElMahi, B., Bouyanzer, A., Zarrouk, A., Hammouti, B., Costa, J. (2015). Chemical constituents and corrosion inhibition of mild steel by the essential oil of *Thymus algeriensis* in 1.0 M hydrochloric acid solution. Der Pharma Chem. 7(8): 252-264.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV (1999) Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86(6): 985-990.

- Hamzi, S., Belhadj, K. (2008).** Contribution à l'étude de l'activité antifongique des polyphénols extraits de deux plantes médicinales (*Anacyclus valentinus* et *Anacyclus pyrèthum*).
- Harald, G. (1978).** Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6, 11–17.
- Harborne, J.B. (1989).** General procedures and measurement of total phénolics in: methods in Plant Biochemistry, p.1-28.
- Harborne, J.B. and Williams, C.A. (2000)** . Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Hashemi S. M and Safavi S. A., (2012).** Chemical Constituents and Toxicity of Essential Oils of Oriental Arborvitae, *Platycladus orientalis* (L.) Franco, against Three Stored-Product Beetles. *Chilean J. Agric. Res.* vol.72 no.2.
- Hayouni, E.K., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effect of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3): 1126-1134.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Leonor, M., Faleiro, M. et Graa. M. (2006).** Composition of essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17): 6314-6321.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem.* 116: 714-721.
- Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- Heller, W., Forkmann, G., 1993.** Biosynthesis of Flavonoids. In *The Flavonoids: Advances in research since 1986*.
- Hendrich, A.B. (2006).** Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 27: 27-40.

Hermal, C. (1993). Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Thèse, Faculté de pharmacie, Université Montpellier I, 87 p.

Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., Aitour, S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiaceae. *lebanese science journal*, vol. 7, no. 2.

Holley, R. A., Patel, D. (2005). Improvement in shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22: 273–292.

Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J. (2006). Acetyl-cholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Nat. Prod. Rep.* 23(2): 181- 199.

Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H., Ozogui, F. (2018). Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Bioscience*, 25: 26-31.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2006). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, n° 6, p. 1841-1856.

Huignard, J., Lapiéd, B., Dugravot, S., Magnin-Robert, M et Ketoh, G. K. (2008). *Modes d'action neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risque liés à leur utilisation in Biopesticide d'origine Végétale. Ed. Lavoisier, TEC & DOC, Paris, pp : 219-230.*

Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L., 1998 . Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.

Inouye, S., Tsuruoka, T., Watanabe, M., Takeo, K., Akao, M., Nishiyama, Y ., Yamaguchi H. (2000). Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses*. 43: 17–26.

Isman, (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* vol.19, p.603-608.

Isman M.B., (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.

Jaafari, A., Ait Mouse, H., Rakib, E.M, Ait M'barek, L., Tilaoui, M., Benbakhta, C., Boulli, A., Abbad, A., Zyad, A. (2007). Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. *Rev. Bras. Farmacogn.* 17, 477-491.

Jay, J.M., and Rivers, G.M. (1984). Antimicrobial activity of some food flavoring compounds. *Journal Food Safety*, 6: 129-139.

Jeffrey, C. (2007). Compositae: Introduction with key to tribes. In J. J. W. Kadereit, & C. Jeffrey (Eds.), *Flowering plants: Eudicots; asterales*, Vol. 8, p. 61–87

Judde A., 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanisme, conséquences, moyens de mesure. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 11(6): 414-418.

Judzentiene, A., Budiene, J., Butkiene, R., Kupcinskiene, E., Laffont-Schwob, I., Masotti, V. (2010). Caryophyllene oxide-rich essential oils of Lithuanian *Artemisia campestris ssp. campestris* and their toxicity. *Natural Products Communications*, 5: 1981- 1985.

Judzentiene, A., Budiene, J., (2014). Variability of *Artemisia campestris* L. essential oils from Lithuania, *Journal of Essential Oil Research*, 26:5, 328-333.

Julve, P.H. (2015). Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Institut de Lile.

Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J.M., Viano, J., (2002). Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30(11): 1065-1070.

Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., Weisslowicz, H. (1994). Factors that interate with the antibacterial

Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabed K., (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromathérapie*, 15: 129-133.

Kalembe, D., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10 (10): 813 - 829.

Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., Lazić, M. (2011). Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of the *Artemisia* sp. Recovered by Different Extraction Techniques. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 19:3, 504—511

Kauffmann, M., and M. Wink. (1994). Molecular systematics of the Nepetoideae (family Labiatae): phylogenetic implications from *rbcL* gene sequences. *Zeitschrift fur Naturforschung* 49 c: 635–645.

- Kazemi, M., Tabatabaei-Anaraki, M., Rustaiyan, A., Motevalizadeh, A., Masoudi, S., (2009).** Chemical composition of the essential oils obtained from the flower, leaf and stem of *Artemisia campestris* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 21, 197–199.
- Khoshbakht, T., Karami, A., Tahmasebi, A., Maggi, F. (2020).** The Variability of thymol and carvacrol contents reveals the level of antibacterial activity of the essential oils from different accessions of *Oliveria decumbens*. *Antibiotics*. 9(7): 409-410.
- Kellouche, A. (2005).** Etude de la bruche du pois-chiche, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte. Thèse. Doc d'état. Univ. Tizi-Ouzou, Algérie. P 154.
- 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. *Z.Naturforsch., C, J. Biosci.* 76: 153–160.
- Kindscher, K. 1992.** Medicinal wild plants of the prairie. An ethnobotanical guide. University Press of Kansas. 340 pp
- Khalilov, L., Paramonov, E., Khalilova, A., Odinokov, V., Muldashev, A., Baltaev, U., Dzhemilev, U. (2001).** Identification and biological activity of volatile organic compounds emitted by plants and insects. IV. Composition of vapor isolated from certain species of *Artemisia* plants. *Chemistry of Natural Compounds*, 37: 339–342
- Kokkini, S., Karousou, R., Dardioti, A., Krigas, N., Lanaras, T. (1997).** Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44 (5): 883-886
- Koffi e., Sea t., Dodehe Y and Soro S. (2010).** Effect of solvant type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Ani. Plan.Sci.*, 5(3): 550-558.
- Kothe H. W., (2011).** Encyclopédie essentielles des herbes: plantes aromatiques. KOMET éd, 256p.
- Kouache, B., Brada, M., Saadi, A., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Heuskin, S. (2017).** Chemical composition and acaricidal activity of *Thymus algeriensis* essential oil against *Varroa destructor*. *Nat. Prod. Commun.* 12(1): 135-138.
- Kranz J., Schmutierer H and Koch W., 1977-** Diseases Pest and Weeds in tropical crops. V. Parey. Berlin., 666 p.
- Kruger NJ, von Schaewen A. 2003.** The oxidative pentose phosphate pathway: structure and organisation. *Current opinion in plant biology* 6(3):236-246.

- Kumar, S. and Pandey, A.K. (2013)** . Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal.
- Labiad, M.H., Belmaghraoui, W., Ghanimi, A., El-Guezzane, C., Chahboun, N., Harhar, H., Egea-Gilabert, C., Zarrouk, A., Tabyaoui, M. (2022)**. Biological properties and chemical profiling of essential oils of *Thymus* (*vulgaris*, *algeriensis* and *broussonettii*) grown in Morocco. Chem. Data Collect. 37:1-10.
- Lahlou, M. (2004)**. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research, 18: 435-448.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P., Nychas, G. J. E. (2001)**. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, 91: 453-462.
- Lamaison J. L.C., and Carnet A., 1990**. Contents in main flavonoid compounds of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. flowers at different development stages. Pharmaceutica Acta Helvetica, 65: 315-320.
- Larbi, K. S., Meddah, B., Meddah, A. T. T., Sonnet, P. (2016)**. The antibacterial effect of some medicinal plants (*Inula viscosa*, *Anacyclus valentinus*) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 8:2,244-255.
- Lboumhamdi, L., Znini, M., Paolini, J., Costa, J et Majidi, (2018)** . Composition chimique et biocontrôle de l'huile essentielle des graines de celeri (*Apium graveolens* L.) contre *Botrytis cinerea* après la récolte des pommes. Amer J of I R and A Scie. ; 2(9): 292-300.
- Lee Y L., Ding, P. (2016)**. Production of essential oil in plants: Ontogeny, secretory structures and seasonal variations. PJSRR. 2(1): 1-10.
- Legast E, Peyron L. (1983)**. Congrès. International des huiles essentielles. Singapour, p.63.
- Lehbili, M., Chibani, S., Kabouche, A., Semra Z., Smati F., S. Abuhamdah, Touzani R., Kabouche, Z. (2013)**. Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus guyonii* de Noé from Algeria. Der Pharm. Lett. 5(2): 306-310.
- Lepesme, P. (1944)**. Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels enreposés. Encyclopédie entomologique. Ed. Le chevalier, Paris.

- Li, P., Hopia, A., Jaris, S., Teijo, Y., Heikki, V. (1999).** TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistry and Nutrition*, 10: pp 123-187.
- Lippert F., (1988).** Utilisation des plantes aromatiques et médicinales en agriculture. Guy TREDANIEL.150p.
- Lis, A., Kowal, M. (2015).** Constituents of the essential oils from different organs of *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*. *Journal of Essential Oil Research*. 27(6): 545-550.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4): 119-125.
- Maamri, S. (2008).** Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien: dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Thèse de Magister, Université M'Hamed Bougara Boumerdes, p 108.
- Macheix, J.J., Fleuriet, C., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Italie. Presses polytechniques et universitaires romandes, 192p.
- Madhavi DL, Deshpande S, Salunkhe DK (1995)** Antioxydants alimentaires : Technologiques : Perspectives toxicologiques et sanitaires. Presse CRC,
- Maiza, K., Brac de la Perrière, R. A., Hammiche, V.** Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. *In: Schröder, E., Balansard, G., Cabalion, P., Fleurentin, Mazars, G. (1993).* Médicaments et aliments : L'approche ethnopharmacologique. Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11ème Conférence internationale d'Ethnomédecine. Heidelberg, pp. 169-171.
- Mamoudou, D., GRUPPEN, H., TRAORE, H., BERKEL, A. S and VORAGEN, A. G. J. (2006).** Review: phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 1: 20-37.
- Manach, C. Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. et Jimenez, L., (2004).** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79(5): pp 727-747.
- Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. et Fritsch, P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S: médecine sciences*, 20: pp 458-463.

Martínez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie.* 77: 147-161.

Mayer, F. (2012).Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, p 17.

Meda et al., 2005. *Tropical Medicine & International Health*, Blackwell Synergy. Volume 11 Issue 2 pp 136- 143.

Megdiche-Ksouria, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., Barbria, R., Tebourbi, O., Ksouri, R. (2015). *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 63 : 104-113.

Meijer, M; Houbraken, J.A.M.P., Dalhuijsen1 , S; Samson, R. A and R.P. de Vries R. (2011). Growth and hydrolase profiles can be used as characteristics to distinguish *Aspergillus niger* and other black aspergilla, *Studies in Mycology* 69: 19–30.

Memar, M.Y., Raei, P., Alizadeh, N., Aghdam, M.A., SamadiKafil, H. (2017). Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. *Rev. Med. Microbiol.* 28: 63-68.

Metoui, R., Mighri, H., Bouajila, J., Znati, M., El-Jani, H., Akrou, A. (2022). *Artemisia campestris* dried leaves extracts: Effects of different extraction methods and solvents on phenolic composition and biological activities. *South African Journal of Botany*, 151: 288-294.

Mills, C., Cleary, J. B., Gilmer, J. F and Walsh, J., (2004). Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree Oil. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.*, 56: 375-379.

Mohammedi, Z. (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat." Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses", Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 152p.

MOHANDAS S.M., ARTHUR F.H., ZHUA K.Y and THRONEET J.E., (2006). hydroprene: mode of action, current status instored-product pest management, insect resistance, and future prospects. *crop prot.*, 25: 902-909.

Möller, K. (2008). La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNISCO.152p.

- Morales R. (2002).** Thyme: The genus *Thymus*. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. London and New York, Medical and Aromatic Plants – Industrial Profiles, 330p.
- Morelle, J. (2003).** L'oxydation des aliments et la santé. Ed Impression Librairie F-X. de Guibert, 257 p.
- Moure A, Cruz JM, Franco D. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*; 72: 45–171.
- Mucciarelli, M., Caramiello, R., Maffei, M., Chialva, F. (1995).** Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North West Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 10: 25-32.
- Moulinier, (2003).** Parasitologie et mycologie médicales : Eléments de morphologie et de biologie. Editions médicales internationales, Paris ; 796 p.
- Mutai C., Bii C., Vagias C., Abatis D. et Roussis V. (2009).** Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpènes. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1): 143-148
- Nataro J.P., and Kaper J.B., (1998).** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11: 142-201.
- Nathan, S., Kalaivani, K. et al., (2006).** The toxicity and behavioral effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée), the rice leaf folder. *Chemosphere* 62: 1381-1387.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2001).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: 11th informational supplement, M100-S11. Wayne, PA: NCCLS.
- Neffati, A., Skandrani, I., Ben-Sghaier, M., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K., Neffati, M., Chraief, I., Hammami, M., Chekir-Ghedira, L. (2008).** Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*. *Journal of Essential Oil Research* 20(5):471-477.
- Newman, D. J., Cragg, G. M. (2012).** Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod*, 75: 311–335.
- Ngamo L.S.T et Hance, Th., 2007-** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura.*, 25 (4): 215-220.

- Nickavar B, Mojab F, Dolat-Abadi R (2005).** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. Food Chemistry 90: 609-611.
- Li, H. B., Wong, C.C., et Cheng, K.W., Feng, C. (2008).** Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology. 41(3), 385–390.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 49, 4619 – 4626.
- Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). Courrier du savoir. n°3, pp. 47-51.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006).** Mechanism of action of Spanish oregano, *Chinese cinnamon*, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 69 (5):1046-1055.
- Padin, S.B., Dal Bello, G.M., Vasicek, A.L. (1997).** Pathogenicity of *Beauveria bassiana* for adults of *Tribolium castaneum* (Col.: Tenebrionidae) in stored grains. Entomophaga 42, 569–574.
- Padrini, F., Lucheroni, M. T. (1996).** Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi.
- Pandel A. K., Kumar, 1. P., Saxena, I. M., Maurya, P.)2020(.** Chapter 6 - Distribution of aromatic plants in the world and their properties. Feed Additives, Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health,. Pages 89-114.
- Paris, R., Godon, M. (1979).** Chromatographie en couche mince et sur papier des huiles essentielles. Ed. Masson, Paris
- Paris, M et Hurabielle, M. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. pp: 102-103-104-107. 1981.
- Paradiso A., Cecchini C., De Gara L. & D'Egidio M.G., 2006.** Functional, antioxidant and rheological properties of meal from immature durum wheat. Journal of Cereal Science, Vol. 43, n. 2, pp. 216-222.

- Park, I.K., Lee, S.G., Choi, D.H., Park, J.D., Ahn, Y.J. (2003).** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 39: 375-384.
- Parisot, N., Vargas-Chávez, C., Goubert, C., Baa-Puyoulet, P., Balmand, S., Beranger, L., Blanc, C., Bonnamour, A., Boulesteix, M., Burley, N., Calevro, F., Callerts, P., Chancy, T., Charles, H., Collela, S., Da Silva Barbosa, A., Dell'Aglio, E., Di Genova, A., Febvay, G., Gabaldon, T., Ferrarini, M.G., Gerber, A., Gillet, B., Hubley, R., Hughes, S., Jacquin-joly, E., Maire, J., Hubley, R., Hughes, S., Jacquin-Joly, E., Maire, J., Marcet-Houben, M., Masson, F., Meslin, C., Montagné, N., Moya, A., Ribeiro de Vasconcelo, A.T., Richard, G., Rosen, J., Sagot, M-F., Smit, Arian F. A., Storer, J.M., Vincent-Monegat, C., Vallier, A., Vignerou, A., Zaidman-Rémy, A., Zamoum, W., Vieira, C., Rebollo, R., Latorre, A., Heddi, A. (2021).** The transposable element-rich genome of the cereal pest *Sitophilus oryzae*. *BMC Biology.* 19: 241-28.
- Pasquier C.1995,** Stress oxydatif et inflammation, *Revue française des laboratoires.* N ° 276.
- Paulian R. 1988-** *Biologie des coléoptères.* Lechevalier, Paris, 720 p.
- Perrin, H (1991).** *Bio systématique et écologie évolutive des Curculio (Coleoptera : Curculionidae) double radiation sur Ficus (Moraceae) et sur fagales.* Thèse : Sci. : Université Paris VI, 265 p.
- Pharmacopée européenne, 2008.** *Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.* ‘ Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), Mai 2008.
- Philogene, B.J.R., Regnault-Roger, C et Vincent C. (2008).** *Biopesticides d'origine végétale: bilan et perspectives, In Regnault-Roger, c., Philogène, B.JR., Vincent, C.(éds) Biopesticides d'origine végétale, 2^{ème}, Lavoisier, Paris. p.I-24.*
- Philogene B.J.R., Regnault-Roger C., Vincent C., 2002.** *Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. Biopesticide d'origine végétale, Technique & Documentation Éditions, Lavoisier, France, p.p. 1-16.*
- Pibiri M. C., 2006.** *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles.* Thèse de Doctorat, école polytechnique fédérale, Lausanne, 161 p.
- Picimbon J. F et Regnault-roger C., 2008-** *Composés sémiochimiques volatils, phytoprotection et olfaction: cibles moléculaires pour la lutte intégrée in Biopesticide d'origine Végétale édition. Lavoisier, TEC & DOC, Paris, pp: 383-415.*

- Pietta, P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.
- Pieri F., Kirkiacharian S., 1992.** *Pharmacologie et Thérapeutique*. Editions Ellipses, Paris, 463 p.
- Piochon, M. (2008).** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université de Québec, Chicoutimi. 213 p.
- Pisoschi, A.M., Cheregi, M.C., Danet, A.F. (2009).** Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. *Molecules*, 14: 480-493.
- Porter, L.J. (1988).** Flavans and proanthocyanidins. *The Flavonoids Edition* J.B. Harborne Chapman and Hall, London, p. 21.
- Pradeau, D., Cohenn Y. (1992).** L'analyse pratique du médicament. *Médecines internationales*, p.418-428.
- Pratt, J. D., Keefover-Ring, K., Liu, L.Y., Mooney, K.A. (2014).** Genetically based latitudinal variation in *Artemisia californica* secondary chemistry. *Oikos*, 123: 953-963.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005).** Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290-4302.
- Priscilla, C., Veggi, Julian Martinez et M. Angela A. Meireles. (2013).** Chapter 2 Fundamentals of Microwave Extraction, Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds Theory and Practice.
- Quezel, P., Santa, S. (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques*. CNRS, Paris, France.
- Ramarathnam N., Osawa T., Ochi H., Kawakishi S., (1995).** The contributions of plant food antioxidants to humans health. *Trends in Food Science & Technology*, 6(3): 75-82.
- Regnault-Roger, C., Hamraoui, A., Holeman, M., Theron, E., Pinet, R. (1993).** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: bruchidae), a pest of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Chemical Ecology*, Vol.19, pp.1233-1244.

- Regnault-Roger, A., et Hamraoui A. (1995).** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored Prod. Res.* 31: 291-299.
- Regnault-Roger, C. (2008).** *Recherche de nouveaux biopesticides d'origine végétale à caractère insecticides: démarche méthodologiques et application aux plantes aromatiques méditerranéennes* in *Biopesticides d'origines végétales*. Tec & Doc Eds. Paris, pp : 25-49.
- Rey, A. (1992).** Dictionnaire historique de la langue française. In : Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Coridothymus capitatus* (L.) Reichenb. Fil. Robert.
- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A. Guido, F., Kiliñarslan, Ö., Mammadov, R., Bardaweel, S. K. (2019).** Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *Complementary and Alternative Medicine*, 19:146
- Richard, H., Multon, J. L. (1992).** Les arômes alimentaires. Ed Lavoisier, Paris. 438p.
- Roeding-Penman, A., Gordon, M. H. (1998).** Antioxidant properties of Myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of American Oil Chemist's Society*, Vol 75. pp: 169-180
- Rozman, V., Kalinovica, I., Korunic, Z. (2007).** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 43: 349-355.
- Ruberto, G., Baratta, M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69: 167-74.
- Salehi, B., Mishra, A.P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contrera, M.M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasri Nasrabadi, N., Farzad Kobarfard, F. (2018).** Thymol, thyme, and other plant sources: health and potential uses. *Phytother. Res.* 32: 1688-706.
- Sallé, Jean-Luc. (1991).** Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Paris: Frison-Roche.
- Sanchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology.* 8: pp 121-137.
- Sanon, A, Garba, M., Auger, I. et Huiganrd, J. (2002).** Analysis of insecticidal activity of methylisocyanate on *Callosobrutus maculatus*, and its parasitoid *Dimarmus basalis*». *J. Stored Prod. Res.*, 38:129-138.

Sartori-Thiel, A. (2003). Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Science et Agronomie ED 380 Doctorat: p 177.

Sassoui, A., Hendel, N., Sarri, D., Sarri, M., Filippo, M., Maurizio, B., Donato, R., Angelo, C., Roman, P., Giovanni, B. (2020). Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicariaarabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides? Environmental Science and Pollution Research, 27(21): 26594-26604.

Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J.F., et P. van Dijck (2002). On the safety of *Aspergillus niger*: a review. Appl Microbiol Biotechnol 59, 426-435.

Seck D., (1989)- Importance et développement d'une approche de lutte intégrée contre les insectes ravageurs des stocks de Mais de mil et de niébé en zone sahélienne.

Rev. sénégal des recherches agric, vol: 2, n°3-4.

Senatore, F. (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). » Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44 (5): 1327-1332.

Senhaji, O., Faid, M. et Kalalou, I. (2006). Étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de cannelle. *Phytothérapie* 4, 24–30.

Seri-kouassi, P.B., Kanko, C., Aboua, N.L.R., Bekon, A.K., Glitho, I.A., Koukoua, G. et N'guessan, T.Y. 2004- Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* Fab. du niébé». C. R Chimie, 7: 1043-1046.

Servais, S. (2004). Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse l'ozone : Effet de l'âge et d'une supplémentation en omega-3. Thèse de doctorat : Université Claude Bernard. Lyon. 164 p.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. (1992). Antioxydative properties of xanthan on the autooxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40: 945-948.

Sikkema J., De Bont J. A. M., Poolman B. (1995). Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews, 59: 201–22.

Singh, A. K., Dikshit, A., Dixit, S. M. (1983). Fungitoxic properties of essential oil of *mentha arvensis varpepiraxens*. Perfumer and flavorist, p: 55-58.

- Singh, G. et al, (1996).** Bioefficacy and mode-of-action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* A. Juss and their role in a multicomponent system against *lepidopteran larvae*. *J Biosci.* 29(4):409-16.
- Singla, N., Chahal, K. K., Kumar, A., Bhardwaj, U., Kang, B. K. (2018).** Ajwain, *Trachyspermum ammi* (L.) Constituents/ some derivatives as stored grain protectant against *Sitophilus oryzae*. *Pestic. Res. J.* 30(2): 188-199.
- Singleton, V.L., Ortofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology.* 299: 152-178.
- Srivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018).** Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences,* 34(7), 795-800.
- Slamenova, D., Masterova, I., Labaj, J., Horvathova, E., Kubala, P., Jakubikova, J., Wsolova, L. (2004).** Cytotoxic and DNA-Damaging Effects of Diterpenoid Quinones from the Roots of *Salvia officinalis* L. on colonic and hepatic human cells cultured in vitro. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology,* 94: 282–290
- Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L.,)2001(.** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology,* 18(4): 463-70.
- Souza, E. L., Guerr, N. B., Stamford, T. L. M., Lima E. O. (2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Revista Brasileira de Farmacognasia,* 87 (1): 22-25.
- Steffan J.R., (1963) .** Tribu des Calandriini. Les Calandres des grains (*Sitophilus*). In BALACHOWSKYA.S., *Entomologie appliquée à l'Agriculture.* Paris, Masson éd 1, 2: 1070-1099.
- Steffan J R., (1978)-** Description et biologie des insectes in buquet r et al., *les insectes et les acariens des céréales stockées.* afnor-itcf. 237p.
- Suthisut, D., Fields, P.G., Chandrapatya. A. (2011).** Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (*Zingiberaceae*) and their major compounds against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and two parasitoids. *Journal of Stored Products Research.* vol.47, p-222- 230.

- Tapondjou, L.A., Adler, C., Bouda, H., Fontem, D.A., (2003).** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de “*Chenopodium ambrosioides*” et “*Eucalyptussaligna*” à l’égard de la bruche du niébé, “*Callosobruchus maculatus*” Fab. (Coleoptera, Bruchidae). Cahiers Agricultures 12, 401-407.
- Tawfeek, M.E., Ali, H.M., Akrami, M., Salem, M.Z.M. (2021).** Potential Insecticidal Activity of Four Essential Oils against the Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). BioResources. 16(4): 7767-7783.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry, 90: 333–340.
- Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, Paris, 522 p.
- Tia, E, V., Cisse, M., Douan, G. B., Kone, A. (2019).** Etude comparée de l’effet insecticide des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* DC et d’*Ocimum canum* Sims sur *Cylas puncticollis* Boheman, un charançon de la patate douce. J. Biol. Chem. Sci. 13(3): 1789-1799.
- Thiam, B. et Ducommun, G. (1993).** Protection naturelle des végétaux en Afrique. ENDA, Tiers monde, Dakar. 213p.
- Thompson, J.D., Chalchat, J.C., Michet, A., Linhart, Y.B. and Ehlers, B.(2003).** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes, J chem. Ecol. 29: 859-880.
- Trabut., (1933).** Flore du nord de l’Afrique: répertoire des noms indigènes des plantes spontanés, cultivées et utilisées dans le nord de l’Afrique.335p.
- Trouillas, P., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C .,Duroux, J.L. (2003).** Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. Food Chemistry, 80: 399-407.
- Turgeon, M. (2001).** Profil des produits forestiers - première transformation des huiles essentielles. Ministère des Ressources naturelles - Direction du développement de l’industrie des produits forestiers, Québec, 16 p.
- Uddin, TM., et al (2021).** Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. J Infect Public Health, 14(12):1750-1766.

- Ultee, A., Kets, E.P.W., Smid, E.J. (1999).** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10): 4606-4610.
- Ultee, A., Bennik, M.H., Moezelaar, R. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.68, p.p. 1561-1568
- Uwineza, M. S., EL yousfi, B., Lamiri, A. (2018).** Antifungal activities of essential oils of *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* and *Cedrus atlantica* on *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana* in vitro. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, N° 12: 19-32.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007) .** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Biocell.* 39: 44 , 84.
- Valnet, J. (1984).** Aromathérapie- Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S. A., n°10.
- Valnet J., (1979).** Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes. Brodar et Taupin, France, p. 525.
- Vernin, G. (1982).** Arômes alimentaires et développements récents. Ed. Appria.
- Vincent, C., Panneton, B., Fleurat-Lessard, F. (2000).** La lutte physique en phytoprotection. INRA, Paris. 347p.
- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, PérezÁlvarez J. (2008).** Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), Mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Contr.* 19: 1130-1138.
- Wahid, N., Chkichekh, A., Bakry, M. (2016).** Morphological traits and essential oil yield variation of three myrtus communisL. populations: implication for domestication. *Direct Res. J. Agric. Food. Sci.* 4(8): 199- 207
- Walker, R. B., Everette, J. D. (2009).** Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, n° 4, 25 , p. 1156-1161 .
- Wichtl, M., Anton, R. (2003).** Les plantes thérapeutiques. Tradition, pratiques officinales, sciences et thérapeutiques. Ed TEC et DOC. Lavoisier.

- Xia, E. Q., G. F. Deng, Y. J. Guo et H., (2011)** .Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): 622-646.
- Zaghloul O. A., El-kady M.B., El-wakil H. F., Ahmed S.M.S et Mackled M.) I., 2012-** Biological and genetical studies on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Curculionidae: Coleoptera), Egypt. *Research Journal of Agriculture and biological Sciences*, 8(2) : 92-97.
- Zahnit, W., Smara, O., Bechki, L., Bensouici, C., Messaoudi, M., Benchikha, N., Larkem, I., Godswill Awuchi, C., Sawicka, B., Simal-Gandara, J. (2022).** Phytochemical profiling, mineral elements, and biological activities of *Artemisia campestris* L. grown in Algeria. *Horticultrae*, 8: 914-936.
- Zambonelli, A., Zechini d'Aulerio, A., Bianchi, A., Albasini, A.(1996).** Effects of essential oil on phytopathogenic fungi. *Phytopathol.* 144: 491-494.
- Zhao, Y., Yang, Y. H., Ye, M., Wang, K. B., Fan, L. M., and Su, F. W. (2021).** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Origanum vulgare* against *Botrytis cinerea*. *Food Chem.* 365:130506.
- Zayyad, N., Farah, A., Bahhou, J. (2014).** Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*. *Bull. Soc. R. Sci. Liège.* 83: 118-132.
- Zeghib, A., Kabouche, A., Laggoune, S., Calliste, C.-A., Simon, A., Bressolier, P., Aouni, M., Duroux J.-L., and Kabouche, Z. (2013).** Antibacterial, antiviral, antioxidant and antiproliferative activities of *Thymus guyonii* essential oil. *Nat. Prod. Commun.* 12(10): 1651-1654.
- Zheng, W.; Wang, S.W. (2001).** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5165-5170.
- Zouari, N., Ayadi, I., Fakhfakh, N., Rebai, A., Zouari, S. (2012).** Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic species. *Lipids Health Dis.* 11(28): 1-12.

Annexes

Tableau: Table de transformation du pourcentage des mortalités en probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
%	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09



Chemical Constituents, Antioxidant, Antimicrobial and Insecticidal Activities of the Essential Oils Extracted from *Thymus guyonii* de Noé and *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.

Fatiha Heffaf, Sabrina Douar-Latreche, Lamia Kerbouche, Mohamed Hazzit & Fazia Mouhouche

To cite this article: Fatiha Heffaf, Sabrina Douar-Latreche, Lamia Kerbouche, Mohamed Hazzit & Fazia Mouhouche (2023) Chemical Constituents, Antioxidant, Antimicrobial and Insecticidal Activities of the Essential Oils Extracted from *Thymus guyonii* de Noé and *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., Journal of Essential Oil Bearing Plants, 26:1, 61-78, DOI: [10.1080/0972060X.2023.2182705](https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2182705)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2182705>



Published online: 03 Apr 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Article

Chemical Constituents, Antioxidant, Antimicrobial and Insecticidal Activities of the Essential Oils Extracted from *Thymus guyonii* de Noé and *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.**Fatiha Heffaf^{1,4}, Sabrina Douar-Latreche², Lamia Kerbouche³, Mohamed Hazzit^{1*}, Fazia Mouhouche⁴**¹ Department of Technology and Human Nutrition, High National School of Agronomy (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria² High School of Food Sciences and Food Industries (ESSAIA), Algiers, Algeria³ Laboratory of Industrial Process Engineering Sciences, Faculty of Mechanical and Process Engineering, University of Sciences and Technology Houari Boumediene (USTHB), Bab Ezzouar, Algiers, Algeria⁴ Department of Agriculture and Forestry Zoology, High National School of Agronomy (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria* Corresponding Author: mhazzit@yahoo.fr (Mohamed Hazzit)

Received 13 January 2022; Received in revised form 06 February 2023; Accepted 09 February 2023

Abstract: This study was designed to determine the chemical composition, antioxidant, antimicrobial and insecticidal activities of essential oils of *Thymus guyonii* and *Thymus algeriensis*. The essential oils (EOs) were isolated by hydrodistillation and analyzed by GC and GC-MS. The leading components of the oils were p-cymene (15.8%), γ -terpinene (15.3%), thymol methyl ether (15.7%) and thymol (19.1%) for *T. guyonii* and α -pinene (4.4%), camphor (4.6%), bornyl acetate (5.4%) and terpinenyl acetate (28.1%) for *T. algeriensis*. The antioxidant activity was evaluated in terms of scavenging of free radicals DPPH[•] and ABTS^{•+}. The essential oil of *T. guyonii* was the most efficient in inhibiting free radicals but less active compared to synthetic antioxidants (Trolox and BHT). Also, *T. guyonii* essential oil showed the highest effectiveness against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) as well as against five microorganisms, two gram-positive (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), one gram-negative (*Escherichia coli*), one yeast (*Candida albicans*) and one fungus (*Aspergillus brasiliensis*). The results suggest that the EO of *T. guyonii* could be considered in pharmaceutical and food fields as well as for preservation of stored products from *S. oryzae* damage.

Keywords: Chemical composition, *Thymus guyonii*, *T. algeriensis*, Biological activity, *Sitophilus oryzae*.**Introduction**

The genus *Thymus* (Lamiaceae family), contains about 400 species of perennial aromatic, evergreen, or semi-evergreen herbaceous plants with many subspecies, varieties, subvarieties and forms¹. *T. algeriensis* is the most widespread

North African species, endemic to Algeria, Tunisia, Libya and Morocco. It is a perennial plant with internodes 4 to 7 mm long; the offspring are born in a tuft of the short, woody stump; the stems, at least on the young twigs, show hairiness distributed uniformly throughout the

internodes². The flowers, with ovate bracts and pink purplish or whitish purple corolla, are small (5-7 mm)³. It is an herbaceous annual fragrant plant that is essentially used as a culinary herb.

T. guyonii is endemic to the Northern Algerian Sahara. It is characterized by ovoid leaves (5-7 mm) which are at most twice as long as wide. The calyx is glabrous. The flowers (5-6 mm) are small and white in short inflorescences (1-2 cm). The stems are more or less prostrate and creeping

⁴. It is used by the local population as a culinary herb and in folk medicine for various purposes such as expectorant, antispasmodic and against cough.

Sitophilus oryzae L. (Coleoptera: Curculionidae), the rice weevil, is one of the most significant and damaging pests found in stored cereals around the world^{5,6}. Gupta *et al.*⁷ reported that it causes considerable loss in cereals, affecting the quantity and quality of grains and grain products, as well as seed viability. Fumigation is still one of the most effective methods for controlling stored-products insects. Resistance has developed as a result of the widespread use of synthetic pesticides and fumigants to combat stored-product insects. Essential oils derived from aromatic plants may give effective alternatives to insecticides now in use. All living things regulate their energy through oxidation processes, which are tightly controlled by a number of cellular systems⁸. However, excessive production of free radicals and unbalanced antioxidant defence mechanisms hasten the aging process and the development of many diseases. Antioxidant chemicals, which scavenge free radicals and cleanse the body, can prevent the damaging effects of free radicals. It has been demonstrated that a variety of phytochemical classes and plant extracts exhibit antioxidant activity⁹. Some synthetic antioxidants used in food processing, such as butylated hydroxytoluene (BHT) and butyl hydroxyanisole (BHA), have already been linked to adverse consequences^{10,11}. Since then, several aromatic and therapeutic plants have caught the attention of researchers as potential natural sources of substances that could be safer than those derived from synthetic sources. Numerous reported studies have evaluated and

well-documented the antimicrobial capabilities of specific plant EOs and/or their constituents toward human and animal diseases¹²⁻¹⁴. Due to their advantageous natural qualities and perceived absence of side effects, plants are one of the more widely used traditional antibacterial sources in many countries. This is because they are advertised as a healthy alternative to antibiotics. Consequently, the use of EOs as antimicrobial agents has grown in popularity during the past few years. There are several causes of food poisoning, but microorganisms account for a sizable portion of cases. Major food-poisoning bacteria include *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus spp.*

¹⁵. *T. algeriensis* is one of the most reported species of thyme in the literature from the point of view of yields, chemical compositions and biological activities of its essential oils showing great variability¹⁶⁻⁴². On the other hand, studies on the E.Os of *T. guyonii* are rather scarce and lead sometimes to quite different compositions⁴³⁻⁴⁶. So, the aim of this study is to enrich the data on the chemical composition of this species as well as to evaluate for the first time, the insecticidal activity of the essential oil of this species against the rice weevil (*Sitophilus oryzae*). In addition, the antioxidant activity of the essential oils as well as their antimicrobial activity against certain foodborne pathogens will be evaluated.

Materials and methods

Plant material and essential oils extraction

Aerial parts of *T. guyonii* and *T. algeriensis* were collected in June 2020 from Hawas mountain and Charef mountain (Djelfa region: 283 Km south Algiers, 34° 41' N, 3°, 13' E, 1150 m altitude), respectively. The taxonomic identity of the plants was established by comparison with voucher specimens of known identity already deposited with the Herbarium of the Higher National School of Agronomy, Algiers (ENSA). The authentication of the plants was made by Pr. Hacem Abdelkrim, professor of plant ecology in the Botany Department of the previous school. The plant material was shade-dried at room temperature for two weeks and then the dried leaves and flowers (100 g) were submitted

to hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus. The oils were dried over anhydrous sodium sulphate and stored at 4 °C in a sealed vial until required.

Gas chromatography (GC) and GC-mass spectrometry analysis

Gas chromatographic (GC) analyses were run on a Hewlett-Packard 6890 GC-FID chromatograph

equipped with HP-5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm film thickness). Analytical conditions were as follows: The column temperature was programmed at 60°C for 8 min, then 2°C/min to 280°C, and then left at 280°C for 15 min; nitrogen was used as carrier gas (0.5 mL/min). Injection in split mode (split ratio 1:25), injected volume 0.2 µL. The injection was performed at 250°C. Flame ionization detection was performed at 320°C. Percentages of compounds were determined from their peak areas in the GC-FID profiles.

A Hewlett-Packard computerized system that consists of a 6890 gas chromatograph connected to a quadrupole mass spectrometer (model HP 5973) outfitted with an HP5 MS capillary column was used to conduct the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. Helium served as the carrier gas (flow rate: 0.5 mL/min); injection volume: 0.2 L in split mode (1:25); injection temperature: 250 °C. The oven's temperature program is described above for GC analysis. Electronic impact ionization mode at 70 eV with a scan range of 30-550 atomic mass units was employed for detection.

Identification of essential oils components

The identification was based on comparing the retention indices of the EOS components relative to C₈-C₂₂ n-alkanes with those found in the literature⁴⁷⁻⁴⁹ and comparing their mass spectra with those of the Wiley 7N and NIST 2005 data libraries as well as those of Adams's spectral data⁴⁷.

Antioxidant activity

Free radical scavenging activity (DPPH)

Essential oil samples or positive controls at diverse concentrations were added to 975 µL

of a 60 mM ethanolic solution of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and incubated for 30 minutes in the dark⁵⁰. At 517 nm, absorbances were evaluated in comparison to a DPPH solution without any test samples. The formula: Percentage inhibition = $[(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}}] \times 100$, was used to calculate the proportion of the DPPH• radical that the samples (EOs and positive controls) inhibited. Where A_{control} denotes the

absorption of the control sample (DPPH solution alone), and A_{sample} denotes the absorption at t = 30 minutes (DPPH solution and tested samples). From the graph plotting the inhibition percentage against concentration, the sample concentration that may give 50% inhibition of radicals (IC₅₀) was calculated. BHT (butyl hydroxytoluene) and Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) were used as positive controls in all tests, which were performed in triplicate.

ABTS^{•+} Free Radical Scavenging Activity

The procedure outlined by Kerbouche *et al.*⁵¹ was used to evaluate ABTS radical scavenging. ABTS radical cation (ABTS^{•+}) was generated by mixing an ABTS solution (7 mM) with potassium persulphate (2.45 mM) and letting the mixture stand in the dark at room temperature for 12 to 16 h. The ABTS^{•+} solution was diluted with ethanol to the absorbance of 0.7 (± 0.02) at 734 nm. After adding 25 µL sample solution to 1 mL ABTS^{•+} solution, decreasing in absorbance was measured after 7 min at 734 nm. Tests were performed in triplicate. The ABTS solution served as the blank, and the controls included BHT and Trolox. Percentages of inhibition and IC₅₀ values were determined as previously indicated for the DPPH test.

Antimicrobial activity

The disc diffusion method⁵² was used to test microbial strains' susceptibility to EOs against bacterial strains obtained from the CRD (Research and Development Center, SAIDAL Algiers). The microorganisms used consist of two Gram + strains (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) one Gram – (*Escherichia coli*), two yeasts (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*) and one fungus

Fumigant toxicity

(*Aspergillus brasiliensis*). Sterile Whatman discs (6 mm in diameter) were impregnated with 20 μL of the EO, and placed on the center surfaces of the inoculated Mueller-Hinton agar (for bacteria) and Sabouraud agar (for yeasts and fungus).and placed on the center surfaces of inoculated Mueller-Hinton agar (for bacteria) and Sabouraud agar (for yeasts and fungus). The sizes of the obviously clear zones were measured after the plates were incubated at 37°C for 24 hours for bacteria and at 25°C for 48 hours for yeasts. All tests were done in triplicate, and antibacterial activity was calculated as the average of inhibition diameters (in mm).

The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using a microdilution method according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards⁵³. For bacteria, the tests were done in Muller–Hinton Broth, while for yeasts, they were done in Sabouraud. The essential oil was dissolved in 1% dimethyl sulfoxide (DMSO). In a well microtiter plate, serial dilutions of *Thymus* oils were made in the range of 0.2-20 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Overnight broth cultures of each strain were generated, and the final concentration in each well was adjusted to 5×10^5 CFUs/mL for bacteria and 2.5×10^6 CFUs/mL for yeasts and fungus, and the bacteria were incubated for 24 hours for bacteria and 48 hours for yeasts. The MIC values are the lowest concentrations of the tested EOs at which the bacteria do not show signs of growth (no visible turbidity). The experiment was conducted twice more to ensure that the MIC values were correct. Sulfaméthoxazole /Triméthoprime and Terbiafine acted as positive controls for bacteria and for yeasts and fungus, respectively.

Insecticidal activity***Insect rearing***

S. oryzae was bred on wheat seeds in jars of 16 cm in height and 9 cm in diameter, with a fine mesh cloth covering for ventilation. The jars were stored in the dark in an oven set to $28 \pm 1^\circ\text{C}$ with a relative humidity of $70 \pm 5\%$. Our experiments were conducted under the same temperature and humidity conditions. Toxicology tests were performed on insects aged 1-14 days.

The fumigant toxicity was determined using three doses of pure essential oils (4,8 and 16 μL). Acotton bud of 2 cm in length was impregnated with each dose of EO and glued under the cap of the glass vial (Volume = 81.64 cm^3). The cover was firmly sealed onto the glass containing 20 unsexed insects. Control insects were kept under the same conditions without any essential oil. The mortality was recorded each 24 h for 4 days. Each dose was replicated five times and mortalities rates (%) were corrected by Abbot formula⁵⁴:

$$M_c (\%) = 100 [(M - M_t)/(100 - M_t)]$$

where M_c is the corrected insect mortality, M is the insect mortality in the treated insect population and M_t is the insect mortality in the control.

LC_{50} and LC_{90} which represent, respectively, the concentrations causing the death of 50% and 90% of individuals of the same glass jar, were determined by probit analysis tested using the method of Finney⁵⁵.

Statistical analysis

Statistical differences were assessed using one-way ANOVA followed by posthoc Duncan multiple range test or the Kruskal-Wallis H test followed by the posthoc Student-Newman-Keuls test. Differences were considered significant at $P < 0.05$. Statistical study was carried out using IBM SPSS 25.0 software (SPSS Inc., Chicago, USA).

Results and discussion***Yield and chemical composition***

Table 1 shows the yields, chemical classes, and GC data of the identified components of *T. algeriensis* and *T. guyonii* essential oils. The essential oil yields of *T. guyonii* (1% v/w) and *T. algeriensis* (1.1% v/w) belong to the ranges of the values of the yields of these two species reported in the literature (0.98-2% v / w)⁴³⁻⁴⁶ and (0.03-2.8%)¹⁶⁻⁴², respectively. The essential oil yield of *T. guyonii* varies little while that of *T. algeriensis* varies over a wider range. This can be explained by the fact that *T. guyonii* grows only in limited locations of the northern Sahara which

Table 1. Chemical composition (%) of essential oils of *Thymus guyonii* (T.g) and *T. algeriensis* (T.a) from Djelfa

No.	Components ^a	Retention index		<i>Thymus</i>		Identification ^d
		ERI ^b	LRI ^c	<i>T. g</i>	<i>T. a</i>	
1	(E)-2-Hexenal	854	850	t	-	RI-MS
2	3-Heptanone	886	886	t	-	RI-MS
3	Heptanal	902	902	t	-	RI-MS
4	Tricyclene	924	925	0.1	0.2	RI-MS-Std
5	α -Thujene	928	926	1.0	0.1	RI-MS
6	α -Pinene	937	937	1.3	4.4	RI-MS-Std
7	2,4(10)-Thujadien	947	945	t	t	RI-MS
8	Camphene	951	952	2.1	2.5	RI-MS-Std
9	Benzaldehyde	960	962	-	t	RI-MS
10	Verbenene	965	963	t	0.3	RI-MS
11	Sabinene	974	973	0.1	0.5	RI-MS- Std
12	β -Pinene	978	976	0.3	1.0	RI-MS- Std
13	1-Octen-3ol	980	980	0.2	t	RI-MS
14	3-Octanone	985	985	0.3	-	RI-MS
15	6-Methyl-5-hepten-2-one	987	986	-	t	RI-MS
16	β -Myrcene	989	989	0.9	0.2	RI-MS- Std
17	Dehydro-1,8-cineole	990	991	-	1.2	RI-MS
18	3-Octanol	992	993	0.1	t	RI-MS
19	α -Phellandrene	1003	1004	0.3	0.1	RI-MS- Std
20	δ -3-Carene	1011	1011	0.1	t	RI-MS- Std
21	α -Terpinene	1017	1017	2.1	0.1	RI-MS- Std
22	p-Cymene	1024	1025	15.8	0.8	RI-MS- Std
23	Limonene	1030	1030	0.5	1.1	RI-MS- Std
24	1,8-Cineole	1033	1032	0.5	2.1	RI-MS- Std
25	<i>cis</i> - β -Ocimene	1041	1038	t	t	RI-MS
26	<i>trans</i> - β -Ocimene	1048	1048	0.1	0.1	RI-MS
27	γ -Terpinene	1059	1060	15.3	0.3	RI-MS- Std
28	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1068	1068	0.3	0.4	RI-MS
29	<i>cis</i> -Linalool oxide	1072	1074	t	0.1	RI-MS
30	1-Nonen-3-ol	1085	1085	0.1	-	RI-MS
31	Terpinolene	1088	1088	0.2	0.2	RI-MS- Std
32	p-Cymenene	1089	1089	0.2	0.2	RI-MS
33	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1092	1095	0.1	0.2	RI-MS
34	Linalool	1099	1099	2.5	-	RI-MS- Std
35	Hotrienol	1108	1107	0.1	-	RI-MS
36	1,3,8-p-Menthatriene	1112	1112	-	t	RI-MS
37	Fenchol	1113	1114	-	t	RI-MS
38	p-Menth-2-en-1-ol	1120	1122	0.1	0.5	RI-MS
39	α -Campholenal	1125	1125	0.1	0.7	RI-MS
40	<i>trans</i> -Pinocarveol	1136	1139	0.1	1.1	RI-MS
41	Camphor	1142	1144	0.4	4.6	RI-MS- Std
42	<i>trans</i> -Verbenol	1145	1144	0.1	2.6	RI-MS

table 1. (continued).

No.	Components ^a	Retention index		<i>Thymus</i>		Identification ^d
		ERI ^b	LRI ^c	<i>T. g</i>	<i>T. a</i>	
43	Isoborneol	1156	1157	t	t	RI-MS
44	Pinocarvone	1163	1162	t	0.4	RI-MS
45	Borneol	1166	1166	5.2	3.2	RI-MS- Std
46	4-Terpineol	1174	1177	0.6	0.9	RI-MS- Std
47	p-Cymene-8-ol	1180	1183	0.3	0.7	RI-MS
48	α -Terpineol	1192	1189	0.8	3.7	RI-MS- Std
49	Myrtenol	1194	1194	-	0.5	RI-MS
50	<i>trans</i> -Dihydrocarvone	1200	1201	0.1	-	RI-MS
51	Verbenone	1206	1206	-	0.7	RI-MS
52	<i>trans</i> -Carveol	1214	1217	-	1.4	RI-MS
53	Bornyl formate	1221	1223	-	0.2	RI-MS
54	Nerol	1226	1228	-	0.7	RI-MS- Std
55	Thymol methyl ether	1232	1235	15.7	-	RI-MS
56	Cumin aldehyde	1236	1238	0.3	-	RI-MS- Std
57	Carvacrol methyl ether	1241	1243	0.3	-	RI-MS
58	Bornyl acetate	1285	1285	0.5	5.4	RI-MS- Std
59	p-Cymene-7-ol	1284	1287	-	0.1	RI-MS- Std
60	Thymol	1291	1291	19.1	-	RI-MS- Std
61	Carvacrol	1299	1299	2.1	-	RI-MS- Std
62	Terpinyl acetate	1352	1350	-	28.1	RI-MS- Std
63	Eugenol	1359	1357	t	0.1	RI-MS- Std
64	Neryl acetate	1363	1364	-	3.1	RI-MS
65	Carvacrol acetate	1370	1373	t	-	RI-MS
66	α -Copaene	1376	1376	t	t	RI-MS
67	Geranyl acetate	1380	1382	-	0.6	RI-MS- Std
68	β -Bourbonene	1384	1384	-	0.2	RI-MS
69	<i>cis</i> -Jasmone	1395	1394	t	-	RI-MS
70	Methyl eugenol	1399	1402	t	t	RI-MS
71	α -Gurjunene	1405	1409	t	0.1	RI-MS
72	β -Caryophyllene	1419	1419	2.1	0.2	RI-MS- Std
73	β -Gurjunene	1431	1432	t	t	RI-MS
74	Aromadendrene	1441	1439	0.1	-	RI-MS
75	α -Humulene	1452	1452	0.2	t	RI-MS
76	<i>trans</i> -Geranyl acetone	1455	1453	-	t	RI-MS
77	<i>allo</i> -Aromadendrene	1461	1461	0.1	0.4	RI-MS
78	γ -Muurolene	1478	1476	t	0.1	RI-MS
79	Germacrene D	1481	1480	t	0.4	RI-MS
80	β -Ionone	1483	1485	-	0.1	RI-MS
81	β -Selinene	1487	1486	t	-	RI-MS
82	Valencene	1490	1492	-	0.1	RI-MS
83	Bicyclogermacrene	1494	1494	0.5	0.1	RI-MS
84	α -Muurolene	1499	1499	0.1	-	RI-MS
85	β -Bisabolene	1509	1509	1.6	-	RI-MS- Std

table 1. (continued).

No.	Components ^a	Retention index		<i>Thymus</i>		Identification ^d
		ERI ^b	LRI ^c	<i>T. g</i>	<i>T. a</i>	
86	γ -Cadinene	1511	1513	0.1	0.2	RI-MS
87	δ -Cadinene	1520	1523	0.2	0.3	RI-MS
88	β -Sesquiphellandrene	1524	1524	t	-	RI-MS
89	<i>trans</i> -Cadina-1,4-diene	1528	1526	t	-	RI-MS
90	α -Calacorene	1539	1540	t	-	RI-MS
91	(E)- α -Bisabolene	1544	1541	t	0.1	RI-MS
92	(E)-Nerolidol	1561	1561	-	3.9	RI-MS- Std
93	Palustrol	1567	1568	-	0.1	RI-MS
94	Spathulenol	1576	1576	0.7	0.1	RI-MS- Std
95	Caryophyllene oxide	1580	1581	1.2	2.3	RI-MS- Std
96	Viridiflorol	1589	1591	t	-	RI-MS
97	Caryophylla-4(12), 8(13)-dien-5.beta.-ol	1640	1640	0.2	-	RI-MS
98	τ -Cadinol	1633	1635	0.2	-	RI-MS
99	β -Eudesmol	1649	1649	0.1	0.2	RI-MS
100	α -Cadinol	1652	1652	0.1	-	RI-MS
101	Hexahydrofarnesyl acetone	1845	1845	-	t	RI-MS
102	Phytol	2115	2114	t	-	RI-MS
	Total identification (%)			97.9	84.4	
	Yields (% v/w)			1 ±0.01	1.1±0.02	
	Monoterpenes hydrocarbons			40.4	12.1	
	Oxygen-containing monoterpenes			49.3	62.2	
	Sesquiterpene hydrocarbons			5.0	2.2	
	Oxygen-containing sesquiterpenes			2.5	6.6	
	Others			0.7	1.3	

^aComponents quantified on the HP 5MS capillary column and listed in order of elution from the same column

^bERI: Experimental retention indices relative to n-alkanes C8-C22 on non-polar column HP 5MS

^cLRI: Literature retention indices. ^d Identification

Std, comparison with authentic compounds (standards)

MS, comparison of mass spectra with MS libraries (NIST 2005 and Wiley 7N)

RI, comparison of retention index with bibliography ¹²

t = trace (concentration < 0.1%)

Main components ($\geq 3.2\%$) marked in bold

are characterized by the same climate, while *T. algeriensis* grows in all regions of North Africa (from the northern Sahara to the Mediterranean sea) which are distinguished by different soils and climates. Chromatographic profiles showed that *T. algeriensis* oil is extensively dominated by oxygenated monoterpenes (62.2%) distributed among 25 components, the most important of which are terpinyl acetate (28.1%) and bornyl acetate (5.4%). In contrast, the chemical

composition of *T. guyonii* EO is characterized by roughly equivalent amounts of monoterpenes hydrocarbons (40.4%) and oxygen-containing monoterpenes (49.3%) in which p-cymene (15.8%) and γ -terpinene (15.3%) as monoterpenes and thymol methyl ether (15.7%) and thymol (19.1%) as oxygenated monoterpenes are the leading compounds. The data reported in the literature (Table 2) for essential oils of *T. guyonii* show carvacrol (55.6%), thymol (10.9-35.8%),

Table 2. Main components (%) of *T. guyonii* essential oils from different locations of Algeria

Origin from Algeria*	Major constituents (%)	Yield % (v/w)	Reference
Djelfa	p-Cymene (18.6), γ -Terpinene (13), Thymol methyl ether (10.7), Thymol (10.9)	1	(43)
Zelfana (Ghardaia)	p-Cymene (6.3), Thymol (19.5), Carvacrol (55.6)	2	(44)
M'Sila	o-Cymene (9.7), δ -Terpinene (5.7), Thymol (21.2) Carvacrol (55.6)	1.5	(45)
Aflou (Laghouat)	p-Cymene (15.5), γ -Terpinene (18.7), Thymol methyl ether (15.2), Thymol (35.8)	0.98	(46)

*Djelfa: 300 Km south Algiers; 3.25007 34° 40' 03 N, 3° 15' 03 E, 1140 m altitude.

Ghardaia : 660 Km south Algiers ; 32° 29' 24.809"N, 3° 40' 25.828" E, 489 m altitude

M'Sila: 238 Km south East Algiers, 35° 42' 21" N, 4° 32' 31" E, 471 m altitude

Aflou: 400 Km south west of Algiers, 34° 6' 26.951" N 2° 6' 3.055" E, 1400 m altitude

p-cymene (15.5-18.6%) γ -terpinene (13-18.7%) and thymol methyl ether (10.7-15.2%)⁴³⁻⁴⁶ as the main compounds most common to the different samples but with differences in the order of their importance from one sample to another according to its origin. The EO herein studied has the same main components as those reported by Bouleghmane *et al.*⁴⁶ but with a very noticeable difference for thymol (19.1 vs 35.8%).

Regarding *T. algeriensis* of which the most prominent components are listed in table 3, the chemical composition of its essential oil is one of the most reported in the literature¹⁶⁻⁴² for the genus *Thymus* species. The essential oils of *T. algeriensis* show a high level of chemical polymorphism. Indeed, we can observe that 22 compounds are engaged in the groups that make up the majority of the content of the various oils, with camphor being the most frequently reported. The great variability in the composition of essential oils of *T. algeriensis* compared to those of *T. guyonii* could be attributed to its wide distribution in North Africa across regions of different climates, soils and altitudes. The variability in the chemical composition of essential oils can be caused by biotic and abiotic factors which act on the genes that code the biosynthetic pathways terpenes⁵⁶⁻⁵⁸. *T. algeriensis* essential oil rich in terpenyl acetate

is herein reported for the second time. Indeed, Rezzoug *et al.*²⁹ have already reported a terpenyl acetate-rich sample from Laghouat region. Until proven otherwise, it seems that such a chemotype is characteristic of the northern Algerian Sahara regions.

Antioxidant activity

The antioxidant activities of the essential oils and control samples were assessed using the capacities of scavenging the free radicals DPPH[•] and ABTS^{•+}. Table 4 shows the results expressed as the sample concentration required to reduce the initial radical concentrations to 50% (IC₅₀). The two oils were less active than the synthetic antioxidants (BHT and Trolox). For the ABTS test the oil of *T. algeriensis* was about 23 times less active than that of *T. guyonii* while for the DPPH test, it was unable to achieve 50% inhibition. This behavior is closely linked to the presence of certain compounds in one of the oils and their absence in the other, particularly thymol and/or carvacrol whose preponderant role in antioxidant activity is quite often reported in the literature⁵⁹⁻⁶². Thus, according to some authors, the presence of a substituted hydroxyl on the aromatic ring gives it strong hydrogen donating capacities and consequently a potent free radical inhibition⁶³. Moreover, the presence of other

Table 3. Main components (%) of *T. algeriensis* essential oils from Algeria, Tunisia, Morocco and Libya

Origin	*Main components (%)																						**Ref
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Morocco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(16)
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.4	22.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	65.1	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	11.7	15.1	-	-	-	-	-	37.8	8.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	10	18.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.8	-	-
	20.5	-	-	7.7	-	-	-	27.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7.2	-	-	-	-	-	-	10.9	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.1	-	-
Algeria	-	13.9	25.2	-	-	-	-	-	33.2	7.96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	20.4	46.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	14.2	6.4	-	-	-	-	-	-	-	9.7	-	18.4	11.5	-	-	-	
	-	14.7	14.9	-	-	-	-	-	-	-	48.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29.6	-	11	-	-	-	-	
	-	6.9	6.1	-	-	-	-	-	-	65.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	7.9	-	-	32.6	17.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.9	-	
	6.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47.7	9.6	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	6.8	-	-	47.3	-	-	-	29.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	7.9	-	-	-	71.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	22.6	11.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.8	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.4	-	-	-	-	-	-	-	
	6.5-11.1	9.9	-	6.5	30.4	10.6	10.1	-	20.2	-	19.6	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.6	
	Tunisia	-	18.7	14.8	-	-	-	-	-	-	43.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.4		-	-	7.6	-	8.3	6.6	-	-	-	-	-	8.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13.9		-	-	22.1	-	11.9	19.9	-	-	-	-	-	14.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13.6		-	-	7.4	-	-	4.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.3-25.3	-	
23.2		-	-	17.8	-	-	14.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9.3		10.1	-	-	22.4	-	8.2-14	18.4	54.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.8	
25.2		24.1	-	-	-	-	-	24.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6.8		-	-	-	-	7.4	7.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Libya	13.6	-	-	13.9	-	-	16.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.2	-	-	-	6.8	
	-	8.9	7.2	-	-	-	-	-	38.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20.2	-	-	-	-	-	-	36.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

*Main components ($\geq 6\%$): **1:** α -Pinene, **2:** p-Cymene, **3:** γ -Terpinene, **4:** 1,8-Cineole, **5:** Linalool, **6:** 4-Terpineol, **7:** Camphor, **8:** Borneol, **9:** Thymol, **10:** Carvacrol, **11:** Geraniol, **12:** Terpinenyl acetate, **13:** Nerylacetate, **14:** Geranyl acetate, **15:** Germacrene D, **16:** α -Caryophyllene, **17:** β -Caryophyllene, **18:** Elemol, **19:** β - Eudesmol, **20:** Camphene, **21:** Nerolidol : **22:** Caryophyllene oxide. Ref. : References.

Table 4. Radical scavenging activity expressed in term of IC₅₀ (mg/L) of the essential oils of *T. algeriensis* and *T. guyonii*

Samples	ABTS ^{•+}	DPPH [•]
<i>Thymus algeriensis</i>	708.23±9.52 ^d	NA
<i>Thymus guyonii</i>	31.02±0.40 ^c	926.83±5.04 ^c
BHT	4.99±0.02 ^b	28.0±0.66 ^b
Trolox	2.72±0.01 ^a	4.45±0.02 ^a

NA: The value is not available in the concentration range tested (1-1000 mg/L).

In each column, data followed by distinct letters indicates significant differences between values of the column by the Tukey's multiple range test ($p < 0.05$)

compounds containing an aromatic nucleus such as thymol methyl ether and p-cymene appear to play a large role in the inhibitory capacity of free radicals. Indeed, Daoudi-Merbah *et al.*⁶⁴ found that *Origanum floribundum* samples p-cymene rich were more effective in scavenging DPPH and ABTS radicals than those rich in thymol or carvacrol. Also, Hadjadj and Hazzit⁵⁰ found that the essential oils of *O. floribundum* rich in p-cymene (60.7-73.4%) were quite active in inhibiting these radicals. As previously mentioned in the introduction, *T. guyonii* is an understudied species. With regard to the antioxidant activity of its essential oil, it has been studied only for its DPPH radical scavenging capacity^{43; 45}. For the inhibition of this radical our result expressed in terms of IC₅₀ (926.83 µg/mL) is more or less comparable to that reported by Hazzit *et al.* (826.5 µg/mL)⁴³. On the other hand, the result reported by Lebhili *et al.*⁴⁵ expressed as percentage inhibition of the DPPH radical is very different from our result insofar as they report a maximum value of 44.3%, for a concentration of 5000 µg/mL which implies that the IC₅₀ if it is reached, is necessarily greater than 5000 µg/mL.

In comparison with other plants whose chemical compositions of essential oils are more or less close to that of *T. guyonii*, we can cite the result reported by Kerbouche *et al.*¹⁵ for *Origanum floribundum* whose radical scavenging activity of DPPH[•] was equal to 65.8% for a concentration of 400 µg/mL, which necessarily corresponds to an IC₅₀ less than half that of our sample. On the other hand, Labiad *et al.*²²

reported for the essential oil of *Thymus vulgaris* from Morocco IC₅₀ values much lower than ours for the ability to inhibit free radicals DPPH[•] (8.13 µg/mL) and ABTS^{•+} (7.39 µg/mL). In this last case, the differences observed can be partly attributed to the differences in the protocols used where the concentration and relative quantities of the reagents are very different from those of the previous authors. However, it can be said that differences in the chemical compositions of essential oils, as slight as they may seem, can significantly affect their antioxidant activities. With regard to *T. algeriensis* Rezzoug *et al.*²⁹ reported for DPPH test an IC₅₀ of 1437 µg/mL for a sample richer in terpinyl acetate (47.4%) than that herein studied (28.1%) while they found less activity in the ABTS test (IC₅₀ = 896 µg/mL vs 708.23 µg/mL). Given the great variability of the chemical composition of the essential oil of *T. algeriensis*, a wide range of biological activities results and it is very difficult to compare these activities due to this chemical polymorphism. However, based on the majority of compounds, especially terpinyl acetate, we tried to compare the antioxidant activity of *T. algeriensis* essential oil with those of other species of *Thymus*. Although the terpinyl acetate-rich *Thymus* species are available in the literature, they are very often studied either from the standpoint of chemical composition alone or in combination with antimicrobial activity.

Antimicrobial activity

The antibacterial efficacy of essential oils from both *Thymus* species against six microorganisms,

as measured by the diameter of inhibition and minimal inhibitory concentration (MIC) are presented in table 5. *Staphylococcus aureus* was the most sensitive to both oils and antibiotics with inhibition zones of 33.2, 36.6 mm and 43.7 mm for *T. guyonii*, *T. Algeriensis* and the antibiotic, respectively. Of all the other strains, *T. guyonii* is distinguished by the strongest activity, especially towards *Bacillus subtilis* and *Aspergillus brasiliensis*. However, in comparison with the other microorganisms studied, the Gram-negative bacteria (*E. coli*) and the yeasts (*Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*) exhibited moderate resistance against the two oils, especially against *T. Algeriensis* EO. This tendency of the sensitivity of the micro-organisms towards the two oils was confirmed by the MIC values. Gram-negative bacteria's resistance to EOs is due in part to the intricacy of their cell envelopes, which contain lipopolysaccharides that prevent the EO from adhering to the cell membrane^{65,66}. In Gram-positive bacteria, the absence of this barrier allows essential oil hydrophobic compounds to make direct contact with the phospholipids bilayer of the cell membrane, where they exert their effect, causing either an increase in ion permeability and loss of vital intracellular constituents or a deterioration of the bacterial enzyme⁶⁷. The potent activity of the essential oil of *T. guyonii* compared to that of *T. Algeriensis* could be ascribed to its relative richness in thymol which has been reported in several studies as the main compound responsible for antimicrobial activity^{68,69}. For instance, phenolic monoterpenes (thymol and carvacrol) were shown to be the most efficient against *E. coli* among 21 substances tested for antibacterial activity against 25 pathogens^{51,67}. Also, some works revealed that *Botrytis cinerea* *in vitro* mycelial growth and spore germination were strongly inhibited by carvacrol and thymol, the main compound of our *T. guyonii* essential oil⁷⁰. Furthermore, essential oils rich in phenolic compounds like thymol and/or carvacrol have been reported to cause phenol toxicity against fungi by the inactivation of fungal enzymes that have SH groups in their active sites⁷¹. For *T. guyonii* oil, except for *C. albicans*, the

Table 5. Diameter of microbial inhibition zone (mm) and minimal inhibitory concentration ($\mu\text{L}/\text{mL}$) of *T. Algeriensis* and *T. guyonii* essential oils and positive controls (Sulfaméthoxazole /Triméthopriane and Terbiatine)

Microorganism	Inhibition zone (mm)			MIC ($\mu\text{L}/\text{mL}$)		
	<i>T. Algeriensis</i>	<i>T. guyonii</i>	Sulf/Trim*	<i>T. Algeriensis</i>	<i>T. guyonii</i>	Sulf/Trim*
<i>Bacillus subtilis</i>	27.7 \pm 0.2 ^{aB}	45 \pm 1.2 ^{cB}	37.7 \pm 0.5 ^{bA}	2.5 ^{bA}	0.3 ^{aA}	1.25 ^{bB}
<i>Staphylococcus aureus</i>	36.6 \pm 0.7 ^{aC}	33.2 \pm 0.9 ^{aA}	43.7 \pm 0.9 ^{bB}	1.25 ^{bA}	0.6 ^{aA}	0.3 ^{aA}
<i>Escherichia coli</i>	26.8 \pm 1.8 ^{aB}	30.5 \pm 0.5 ^{bA}	34.3 \pm 0.5 ^{cA}	2.5 ^{bA}	0.6 ^{aA}	0.6 ^{aA}
<i>Candida albicans</i>	19.1 \pm 0.3 ^{aA}	28.53 \pm 1.5 ^{bA}	-	10 ^{bB}	1.25 ^{aB}	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17.8 \pm 0.4 ^{aA}	25.3 \pm 0.2 ^{cA}	-	10 ^{bB}	1.25 ^{aB}	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	33.2 \pm 1.1 ^{aC}	47.3 \pm 0.7 ^{bB}	-	1.25 ^{bA}	0.3 ^{aA}	-

* Sulfaméthoxazole /Triméthopriane;

- : Not available ; Data are the mean of three independent experiments \pm standard deviation.

Data followed by different lower case letters for lines and different capital letters for columns mean significant differences between values of different groups by the Tukey's multiple range test ($p < 0.05$)

trend to inhibit the growth of all the microorganisms is in accordance with that reported by Boulaghmen *et al.*⁴⁶ for a sample from Aflou (Laghout region) which is about twice richer in thymol than our sample. With regard to *T. algeriensis* terpinyl acetate chemotype, the moderate results compared to those obtained with *T. guyonii* are in accordance with those reported for *T. pulegioides* terpinyl acetate-rich EO from Lithuania⁷² as well as for *T. algeriensis* from Algeria, particularly when tested against *C. albicans*²⁹. Also, it was shown that the essential oil of *Elettaria cardamomum*, whose most prominent compound is terpinyl acetate (47.5%), demonstrated moderate effectiveness against Gram-positive (*B. subtilis*, *S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli*) bacteria and the fungus *C. albican*⁷³. Overall, the results of this study showed that although the terpinyl acetate chemotype essential oil of *T. algeriensis* has moderate efficacy compared to that of *T. guyonii* it has significant antimicrobial effects against human pathogenic microorganisms.

Insecticidal activity

The rice weevil is one of the most damaging pests of cereal crops and grain in silos. In silos, phosphine fumigation (known to leave no residue on the grain) is generally used, but the weevil is becoming increasingly resistant to this insecticide, which is believed to attack the insect's nervous system⁷⁴ and/or cause insect

mortality by inhibiting acetylcholinesterase enzyme activity⁷⁵. In the fumigation test, the essential oil volatilizes in the confined atmosphere and reaches the insects (*S. oryzae*) to exert its action. No mortality was recorded in the control batch during the exposure durations. Mortality rates (%) of *S. oryzae* adults after exposure to various concentrations of vapour of the studied *Thymus* essential oils are shown in table 6. The highest effect was observed after 24 h exposure to 196 µL/L air (equivalent to 16 µL/81.64 cm³) for *T. guyonii* EO and after 96 h exposure 196 µL/1L air (equal to 16 µL/81.64 cm³) for *T. algeriensis* oil. It is noted that the maximum effect is obtained with the essential oil of *T. algeriensis* for the duration of exposure to the insects four times greater than that required for *T. guyonii* essential oil. Moreover, even for this longer duration of exposure, the essential oil of *T. algeriensis* does not manage to reach the mortality rate achieved by *T. guyonii* (85.1 vs 100%). The lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) values for each essential oil as calculated by probit analysis are shown in table 6. LC₅₀ for *T. guyonii* was 55.8 ± 3.1 µL/L air after 24 h exposure compared to LC₅₀ of 126.5 ± 5.2 µL/L air for *T. algeriensis* after 48 h of exposure. Moreover, the LC₉₀ for *T. guyonii* was 105.5 ± 4.3 µL/L air while *T. algeriensis* failed to reach 90% mortality for all tested doses and all tested times of exposure. This potent efficiency of *T. guyonii* essential oil compared to that of *T. algeriensis*

Table 6. Mortalities rates (%), DL50 and DL90 (µL/L air) of *Sitophilus oryzae* by *T. guyonii* and *T. algeriensis* essential oils in fumigant toxicity test

Samples	Exposure time (hours)	Doses (µL/L air)			DL50	DL90
		49	98	196		
<i>T. guyonii</i>	24	39.1±0.1	81.3±0.8	100±0.0	55.8±3.1	105.5±4.3
	48	58.3±1.2	95.1±3.2	-		
	72	77.4±0.9	100±0.0	-		
	96	85.7±2.1	100±0.0	-		
<i>T. algeriensis</i>	24	1.0±0.0	28.3±1.5	28.6±0.2		
	48	12.2±0.1	38.5±1.7	58.1±0.0	126.5±5.2	NR
	72	25.1±1.1	58.1±0.9	77.3±3.3		
	96	38.2±0.3	77.0±2.3	85.1±2.5		

NR: Value not reached

could be essentially due to its richness in thymol. Indeed, this result is in agreement with data reported by other authors for fumigant toxicity against *S. oryzae* by EOs of other thymol-rich *Thymus* species^{76,77} or other plants rich in thymol⁷⁸. Thymol and/or its isomer (carvacrol) have proven their effectiveness against other insects such as *Tribolium confusum*⁷⁹ or *callosobrochus maculatus*^{71,80}. However, other compounds should contribute significantly to this toxicity since several authors have reported remarkable insecticidal activities of essential oils rich in compounds other than thymol from plants like *Cymbopogon schoenanthus*⁸¹, (*Origanum vulgare*, *Citrus limon*, *Callistemon viminalis*, *Cupressus sempervirens* and *Citrus sinensis*)⁸² and *Lantana camara*⁸³. Also, Rozman *et al.*⁸⁴ tested the individual toxicity by fumigation against *S. oryzae* of certain compounds generally present in essential oils of aromatic plants (1,8-cineole, camphor, eugenol, linalool, carvacrol, thymol, borneol, bornyl acetate and linalyl acetate). They found that 1,8-cineole, borneol and thymol were strongly effective when applied over 24 h at the lowest dose (0.1 mL /720 mL volume). We have not found in the literature, data concerning the insecticidal activity against *S. oryzae* of EOs from *Thymus algeriensis* species-rich or not in terpinyl acetate or those from other plants terpinyl acetate-rich in order to compare our results.

Conclusion

The results of this study showed that the essential oils of *T. algeriensis* and *T. guyonii* were characterized by terpinyl acetate and thymol as the most important components, respectively. For *T. algeriensis*, such a chemotype is reported for the second time and seems characteristic of the Algerian northern Saharan regions. The insecticidal activity of such an essential oil chemotype of *Thymus algeriensis*, as well as that of the essential oil of the species *T. guyonii* is reported here for the first time. Of the three biological activities tested, *T. algeriensis* showed weak antioxidant and insecticidal activities and moderate to good antimicrobial activity. On the other hand, the EO of *T. guyonii* was more effective

as an antioxidant, antimicrobial and insecticide than that of *T. algeriensis*. This effectiveness could be mainly attributed to its richness in thymol, an oxygenated monoterpene whose biological activities are widely reported and well-established. *T. guyonii* EO was characterized by the most potent inhibitory capacity of tested strains reported as causative agents of foodborne illnesses, suggesting the possibility of using this plant as a natural antimicrobial preservative in food and pharmaceutical systems. On the other hand, the essential oil of this Algerian endemism can be considered as a good efficient fumigant and could be integrated as an alternative in the management of post-harvest pests such as the rice weevil. Given the fact that there is no evidence of a potential clinical use of these EOs or use as food additives, further research is needed to determine if they could effectively replace synthetic antibiotics or antioxidants. Further *in vivo* studies and clinical trials as well as toxicity studies would help substantiate and assess the potential of these oils.

Disclosure statement

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors are grateful to Prof. H. Abdelkrim for his help in plant identification.

References

1. **De Martino L, Bruno M, Formisano C, De Feo V, Napolitano F, Rosselli S, Senatore F. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Thymus* growing wild in Southern Italy. *Molecules*. 14(11): 4614-4624.
2. **Benabid A. (2000).** Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.
3. **Ben El Hadj Ali, I., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F. (2015).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. Ind.

- Crops Prod. 77: 631-639.
4. **Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques. CNRS, Paris, France.
 5. **Park, I.K., Lee, S.G., Choi, D.H., Park, J.D., Ahn, Y.J. (2003).** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). J. Stored Prod. Res. 39: 375-384.
 6. **Yoon, C., Kang, S.H., Jang, S.A., Kim, Y.J., Kim, G.H. (2007).** Repellent efficacy of caraway and grapefruit oils for *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). J. Asia-Pacific Entomol. 10: 263-267.
 7. **Gupta, A.K., Behal, S.R., Awasthi, B.K., Verma, R.A. (1999).** Screening of some maize genotypes against *Sitophilus oryzae*. Indian J. Entomol. 61:265-268.
 8. **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2007).** Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford.
 9. **Zheng, W.; Wang, S.W. (2001).** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chem. 49: 5165-5170.
 10. **Ames, B.M. (1983).** Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. Science. 221: 1256-1263.
 11. **Baardseth, P. (1989).** Effect of selected antioxidants on the stability of dehydrated mashed potatoes. Food Addit. Contam. 6: 201-207.
 12. **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
 13. **Carson, C.F., Hammer, K.A., Riley, T.V. (2006).** *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. Clin. Microbiol. Rev. 19: 50-62.
 14. **González-Lamothe, R., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., Malouin, F., Bouarab, K. (2009).** Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. Int. J. Mol. Sci. 10: 3400-3419.
 15. **Jeon, Y.H., Sun, X., Kim, M. (2012).** Antimicrobial activity of the ethanol extract from *Rubus coreanum* against microorganism related with foodborne illness. Korean J. Food Cook. Sci. 28(1): 9-15.
 16. **Jaafari, A., Ait Mouse, H., Rakib, E.M, Ait M'barek, L., Tilaoui, M., Benbakhta, C., Boulli, A., Abbad, A., Zyad, A. (2007).** Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. Rev. Bras. Farmacogn. 17, 477-491.
 17. **Benjilali, B., Hammouni, M., M'Hamedi, A., Richard H. (1987).** Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. Sci. Aliments. 7: 275-299.
 18. **Zayyad, N., Farah, A., Bahhou, J. (2014).** Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*. Bull. Soc. R. Sci. Liège. 83: 118-132.
 19. **El Ouariachi, I., Hamdani, A., Bouyanzer, B., Hamouti, L., Lhou, M., Costa, J., Paolini, J., Chetouani, A. (2014).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. Asian Pac. J. Trop. Dis. 4(4): 281-286.
 20. **Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, G., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Chaouch, A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 14(1): 141-148.
 21. **Hamdani, I., El Ouariachi, E., Mokhtari, O. Salhi, A., Chahboun, N., ElMahi, B., Bouyanzer, A., Zarrouk, A., Hammouti, B., Costa, J. (2015).** Chemical constituents and corrosion inhibition of mild steel by the essential oil of *Thymus algeriensis* in 1.0 M hydrochloric acid solution. Der Pharma Chem. 7(8): 252-264.
 22. **Labiad, M.H., Belmaghraoui, W., Ghanimi, A., El-Guezzane, C., Chahboun, N., Harhar, H., Egea-Gilabert, C., Zarrouk, A., Tabyaoui, M. (2022).** Biological properties and chemical profiling of essential

- oils of *Thymus (vulgaris, algeriensis* and *broussonettii*) grown in Morocco. Chem. Data Collect. 37: 100797, 1-10.
23. **El Ouahdani, K., Es-safi, I., Mechchate, H., Al-zahrani, M., Qurtam, A. A., Aleissa, M., Bari, A., Boustia, D. (2021).** *Thymus algeriensis* and *Artemisia herba-alba* essential oils: Chemical analysis, antioxidant potential and in vivo anti-inflammatory, analgesic activities, and acute toxicity. Molecules. 26: 6780, 1-12.
 24. **Benabdallah, F. Z., Zellagui, A., Demirtas I. (2017).** Chemical composition of essential oils and antioxidant activities of extracts of two endemic plants from Algeria. Int. J. Pharm. Sci. Res. 8(1): 244-250.
 25. **Kouache, B., Brada, M., Saadi, A., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Heuskin, S. (2017).** Chemical composition and acaricidal activity of *Thymus algeriensis* essential oil against *Varroa destructor*. Nat. Prod. Commun. 12(1): 135-138.
 26. **Kebbi, S., Fadel, H., Chalchat, J.C., Figueredo, G., Chalard, P., Hazmoune, H., Benayache, F., Benayache, S., Seghiri, R. (2020).** Chemical composition of Algerian *Thymus algeriensis* Boiss.et Reut. and *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) essential oils from the Aures region. Acta Scientifica Naturalis. 7(2): 1-14.
 27. **Douar-Latreche, S., Benchabane, O., Sahraoui, N., Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A. (2018).** Effect of gamma irradiation on the chemical composition and antioxidant activity of *Thymus algeriensis* extracts. J. Essent. Oil-Bear. Plants. 21(2): 449-461.
 28. **Ouakouak, H., Benarfa, A., Messaoudi, M., Begaa, S., Sawicka, B., Benchikha, N., Simal-Gandara, J. (2021).** Biological properties of essential oils from *Thymus algeriensis* Boiss. Plants. 10: 786, 1-21.
 29. **Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Guido, F., Kiliçarslan, Ö, Mammadov, R., Bardaweel, S. K. (2019).** Chemical composition and bioactivity of essential oils and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. BMC Complement Altern. Med. 19: 146, 1-10.
 30. **Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C. (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. Int. J. Aromather. 16: 95-100.
 31. **Chemat, S., Cherfouh, R., Meklati, B.Y., Belanteur, K. (2012).** Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil. J. Essent. Oil Res. 24(1): 5-11.
 32. **Ouakouak, H., Abdellatif, F., Hassani, A. (2015).** Chemical composition, antioxidant activity of the essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss, north Algeria. Int. Lett. Chem. 59: 72-80.
 33. **Hazzit, M., Baaliouamer, A. (2007).** Essential oil composition of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. and *Thymus numidicus* Poirlet from Algeria. Rivista Italiana EPPOS, 43: 11-18.
 34. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. Food Chem. 116: 714-721.
 35. **Bendjabeur, S., Benchabane, O., Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Bitam, A. (2018).** Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. J. Food Meas. Charact. 12(4): 2278-2288.
 36. **Zouari, N., Ayadi, I., Fakhfakh, N., Rebai, A., Zouari, S. (2012).** Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic species. Lipids Health Dis. 11(28): 1-12.
 37. **Ben El Hadj Ali, I., Chaouach, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F. (2015).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. Ind. Crops Prod. 77: 631-639.
 38. **Ben El Hadj Ali, I., Zaouali, Y., Bejaoui,**

- A., Boussaid, M. (2010).** Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chem. Biodivers.* 7: 1276-1289.
39. **Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Karray, A., Neffati, M., Ayadi, M.A. (2011).** Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food Bioprod. Process.* 87: 257-265.
40. **Megdiche-Ksouri, W., Saada, M., Soumaya, B., Snoussi, M., Zaouali, Y., Ksouri, R. (2015).** Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *J. New Sci.* 23(4): 1046-1056.
41. **Giweli, A. A., Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M. S., Marin, P. D. (2013).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Cent. Eur. J. Biol.* 8(5): 504-511.
42. **Aboutabl E.A, El-dahmy S.I. (1995).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 33: 87-90.
43. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M. L., Miguel, M.G. (2006).** Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem.* 54: 6314-6321.
44. **Lehbili, M., Chibani, S., Kabouche, A., Semra Z., Smati F., S. Abuhamdah, Touzani R., Kabouche, Z. (2013).** Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus guyonii* de Noé from Algeria. *Der Pharm. Lett.* 5(2): 306-310.
45. **Zeghib, A., Kabouche, A., Laggoune, S., Calliste, C.-A., Simon, A., Bressolier, P., Aouni, M., Duroux J.-L., and Kabouche, Z. (2013).** Antibacterial, antiviral, antioxidant and antiproliferative activities of *Thymus guyonii* essential oil. *Nat. Prod. Commun.* 12(10): 1651-1654.
46. **Boulaghmen, F., Chaouia, C., Hazzit, M., Nouas, M., Saidi, F. (2018).** Chemical composition and microbial activity of essential oil extract from *Thymus guyonii* de Noé from Aflou Algeria. *Revue Agrobiologia.* 8(1): 853-862.
47. **Adams R.P. (2007).** Identification of Essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th edn. Allured Publ. Corp., Carol Stream, USA.
48. **Babushok, V.I., Linstrom, P.J. and Zenkevich, I.G. (2011).** Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 40: 43101-1-43101 47.
49. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L. and Miguel, M.G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem.* 116: 714 -721.
50. **Hadjadj, N., Hazzit, M. (2020).** Analysis and antioxidant activity of essential oils and methanol extracts of *Origanum floribundum* Munby. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 23(1): 85-96.
51. **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. *Z. Naturforsch., C, J. Biosci.* 76(3-4): 153-160.
52. **Kerbouche, L., 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. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 18: 1197-208.
53. **National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2001).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. In: 11th informational supplement, M100-S11. Wayne, PA: NCCLS.
54. **Abbot, W.S. (1925).** A method for computing effectiveness of an insecticide. *J. Econ.*

- Entomol. 18: 265-268.
55. **Finney, D.J. (1971).** Probit Analysis. 3rd. Cambridge University Press, Cambridge 333.
56. **Lee Y L., Ding, P. (2016).** Production of essential oil in plants: Ontogeny, secretory structures and seasonal variations. PJSRR. 2(1): 1-10.
57. **Wahid, N., Chkichekh, A., Bakry, M. (2016).** Morphological traits and essential oil yield variation of three *myrtus communis*L. populations: implication for domestication. Direct Res. J. Agric. Food. Sci. 4(8): 199-207.
58. **Pratt, J. D., Keefover-Ring, K., Liu, L.Y., Mooney, K.A. (2014).** Genetically based latitudinal variation in *Artemisia californica* secondary chemistry. Oikos, 123: 953-963.
59. **Ruberto, G., Baratta, M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chem. 69: 167-74.
60. **El Bouzidi, L., Alaoui Jamali, C., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A. (2013).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. Ind. Crop Prod. 43: 450-456.
61. **Salehi, B., Mishra, A.P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contrera, M.M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasri Nasrabadi, N., Farzad Kobarfard, F. (2018).** Thymol, thyme, and other plant sources: health and potential uses. Phytother. Res. 32: 1688-706.
62. **Chikhoun, A., Stouvenel, L., Iguer-Ouada, M., Hazzit, M., Schmitt, A., Lorès, P., Wolf, J.P., Aissat, K., Auger, J., Vaiman, D., Touré, A. (2015).** *In-vitro* effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. Reprod Biomed Online 31: 411-20.
63. **Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. (1992).** Antioxidative properties of xanthan on the autooxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40: 945-948.
64. **Daoudi-Merbah, F., Hazzit, M., Dahmani-Megrerouche, M. (2016).** Influence of morphological variability and habitat on the chemical composition of essential oils of an Algerian endemic *Origanum* species (*Origanum floribundum* Munby). Chem. Biodivers. 13: 1088-1094.
65. **Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G, Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F. (1999).** *In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus essential* oils. Lett. Appl. Microbiol. 29: 130-135.
66. **Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, PérezÁlvarez J. (2008).** Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), Mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Food Contr. 19: 1130-1138.
67. **Dorman, H.J., Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88: 308-316.
68. **Memar, M.Y., Raei, P., Alizadeh, N., Aghdam, M.A., SamadiKafil, H. (2017).** Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. Rev. Med. Microbiol. 28: 63-68.
69. **Khoshbakht, T., Karami, A., Tahmasebi, A., Maggi, F. (2020).** The Variability of thymol and carvacrol contents reveals the level of antibacterial activity of the essential oils from different accessions of *Oliveria decumbens*. Antibiotics. 9(7): 409-410.
70. **Zhao, Y., Yang, Y. H., Ye, M., Wang, K. B., Fan, L. M., and Su, F. W. (2021).** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Origanum vulgare* against *Botrytis cinerea*. Food Chem. 365:130506.
71. **Aimad, A., Youness, E.A., Sanae, R., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Salamatullah, A. M., Alzahrani, A., Khalil Alyahya, H., Albadr, N.A., Nafidi, H.-A., Ouahmane, L., Mohamed, F. (2022).** Chemical composition and antifungal, insecticidal and repellent activity of essential oils from *Origanum compactum* Benth. used in the Mediterranean Diet. Front. Plant Sci. 13: 798259, 1-10.
72. **Vaiculyte, V., Ložiene, K., Švediene, J.,**

- Raudoniene, V., Paškevičius, A. (2021). α -Terpinyl acetate: Occurrence in essential oils bearing *Thymus pulegioides*, phytotoxicity, and antimicrobial effects. *Molecules*. 26: 1065, 1-16.
73. Alam, A., Singh Majumdar, R., Alam, P. (2019). Systematics evaluations of morphological traits, chemical composition, and antimicrobial properties of selected varieties of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. *Nat. Prod. Commun.* 14(12): 1-7.
74. Parisot, N., Vargas-Chávez, C., Goubert, C., Baa-Puyoulet, P., Balmand, S., Beranger, L., Blanc, C., Bonnamour, A., Boulesteix, M., Burley, N., Calevro, F., Callerts, P., Chancy, T., Charles, H., Collela, S., Da Silva Barbosa, A., Dell'Aglio, E., Di Genova, A., Febvay, G., Gabaldon, T., Ferrarini, M.G., Gerber, A., Gillet, B., Hubley, R., Hughes, S., Jacquín-joly, E., Maire, J., Hubley, R., Hughes, S., Jacquín-Joly, E., Maire, J., Marcet-Houben, M., Masson, F., Meslin, C., Montagné, N., Moya, A., Ribeiro de Vasconcelo, A.T., Richard, G., Rosen, J., Sagot, M-F., Smit, Arian F. A., Storer, J.M., Vincent-Monegat, C., Vallier, A., Vignerón, A., Zaidman-Rémy, A., Zamoum, W., Vieira, C., Rebollo, R., Latorre, A., Heddi, A. (2021). The transposable element-rich genome of the cereal pest *Sitophilus oryzae*. *BMC Biology*. 19: 241-28.
75. Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J. (2006). Acetyl-cholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Nat. Prod. Rep.* 23(2): 181-199.
76. Ghasemi, G., Alirezalu, A., Ghosta, Y., Jarrahi, A., Safavi, S. A., Abbas-Mohammadi, M., Barba, F. J., Munekata, P. E. S., Domínguez, R., Lorenzo, J. M. (2020). Composition, antifungal, phytotoxic, and insecticidal activities of *Thymus kotschyanus* essential oil. *Molecules*. 25: 1152-1170.
77. Ainane, A., Khammour, F., Charaf, S., Elabboubi, M., Bennani, L., El Kouali, M., Talbi, M., Cherroud, S., Abba, E., Ainane, T. (2018). Chemical Composition and insecticidal activity of the essential oils of *Thymus* of Morocco: *Thymus capitatus*, *Thymus Bleicherianus* and *Thymus Satureioides*. *Organic & Medicinal Chem. IJ*. 6(3): 555687.
78. Singla, N., Chahal, K. K., Kumar, A., Bhardwaj, U., Kang, B. K. (2018). Ajwain, *Trachyspermum ammi* (L.) Constituents/ some derivatives as stored grain protectant against *Sitophilus oryzae*. *Pestic. Res. J.* 30(2): 188-199.
79. Benchabane, O., Mohamed Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A. (2015). Influence of extraction duration on the chemical composition and biological activities of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé. *Arab. J. Sci. Eng.* 40: 1855-1865.
80. Abdelfattah, E., Aimad, A., Bourhia, M., Chebbac, K., Mohammad Salamatullah, A., Soufan, W., Nafidi, H.-A., Aboul-Soud, Mourad A. M., Ouahmane, L., Bari, A. (2022). Insecticidal and Antifungal Activities of Chemically-Characterized Essential Oils from the Leaves of *Withania frutescens* L. *Life*. 12: 88, 1-14.
81. Aous, W., Benchabane, O., Outaleb, T., Hazzit, M., Mouhouche, F., Yekkour, A., Baaliouamer, A. (2019). Essential oils of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. from Algerian Sahara: chemical variability, antioxidant, antimicrobial and insecticidal properties, *J. Essent. Oil Res.* 31(6): 562-572.
82. Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S., Abou-Taleb, H.K. (2016). Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J. Pest. Sci.* 89: 219-229.
83. Tawfeek, M.E., Ali, H.M., Akrami, M., Salem, M.Z.M. (2021). Potential Insecticidal Activity of Four Essential Oils against the Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *BioResources*. 16(4): 7767-7783.
84. Rozman, V., Kalinovic, I., Korunic, Z. (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 43: 349-355.

Glossaire

Akène : Fruit sec monosperme (formé d'une seule graine), indéhiscent (demeure clos).

Alambic : appareil permettant la distillation

Antibactérien : qui détruit les bactéries

Antifongique : qui détruit les champignons **Anti-inflammatoire** : qui élimine l'inflammation

Antioxydant : produit qui empêche l'oxydation

Antiparasitaire : qui détruit les parasites

Antirhumatismale : qui guérit le rhumatisme

Antiseptique : qui détruit tous les germes

Antispasmodique : qui empêche l'action des spasmes

Antitoxique : qui élimine les toxines

Antiviral : qui détruit les virus

Aseptisation aérienne : stérilisation de l'air

Bactéricide : qui tue les bactéries

Bactériostatique : qui inhibe la multiplication et croissance des bactéries

Biofilm : formation d'un film pelliculaire de résistance chez certaines bactéries

Bractée : est une pièce florale en forme de feuille faisant partie de l'inflorescence **Catarrhe**: inflammation des muqueuses s'accompagnant d'une hypersécrétion des glandes de la région enflammée.

Chromatographie préparative : la chromatographie préparative est considérée, dans une large mesure, comme un processus de purification utilisant la chromatographie en phase liquide.

Décanté : la décantation est une opération de séparation mécanique, sous l'action de la gravitation, de plusieurs phases non-miscibles et de densités différentes.

Décombante : qui, s'élevant d'abord, retombe ensuite vers la terre comme Tige décombante.

Diurétique : qui augmente la sécrétion de l'urine.

DL50 : dose létale à 50 %, Cet indicateur mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée dans des conditions d'expérimentation précises.

DL90 : dose létale à 90 %, Cet indicateur mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée dans des conditions d'expérimentation précises.

Emarginée : qualifie une feuille très légèrement échancrée au sommet.

Essence : substance volatile et aromatique extraite des plantes par distillation

Exserte : qualifie un organe qui dépasse largement, qui fait saillie hors de la structure dans laquelle il est inséré.

Flétan : stimulant cellulaire

Fleurs disjointes : fleurs détachées

Fongicide : qui tue les champignons

Fongistatique : qui inhibe la croissance des champignons

Génotoxique : se dit d'une substance ou d'un rayonnement qui peut compromettre l'intégrité du génome.

Halo d'inhibition : zone entourant le disque d'aromatogramme marquant l'inhibition de croissance des microorganismes étudiés.

Hermaphrodite : se dit d'un être vivant portant les organes reproducteurs des deux sexes, mâle et femelle

Histamine : est une molécule de signalisation du système immunitaire, c'est un médiateur chimique synthétisé

Hydrolat : appelé aussi eau de distillation ou eau florale, obtenu par distillation de la plante aromatique et séparé d'huile essentielle surnageant

Létale : qui peut provoquer la mort

Microbiocide : qui tue les microorganismes

Miscible : désigne usuellement la capacité de divers liquides à se mélanger.

Ovaire supère : les pièces florales sont insérées en dessous de l'ovaire dans ce cas la fleur est hypogyne. Dans le cas contraire l'Ovaire infère: les pièces florales sont insérées au-dessus de l'ovaire, la fleur est alors épigyne.

Papille : désigne une petite excroissance charnue, la plupart du temps formée par un tissu épithélial

Pauciflores: Qualifie une plante qui a peu de fleurs ou d'inflorescences

Plante annuelle : est une plante herbacée qui vit moins d'un an, et qui accomplit donc son cycle de vie en une seule année

Plante bisannuelle : est une plante qui accomplit son cycle de vie en deux années

Prostrée : étant couchée sur le sol

Rameuse : qui est partagé en branches

Sédatif : qui a une action dépressive sur le système nerveux central et qui entraîne un apaisement, une relaxation, une réduction de l'anxiété et une somnolence

Sessile : en botanique, lorsqu'une feuille, une fleur ou un fruit sont directement attachés à la tige, sans pétiole ou pédoncule

Sous-ligneuse : se dit d'une plante dont la tige n'est ligneuse qu'à la base

Stimulus : désigne tout ce qui est de nature à déterminer une excitation chez un organisme vivant

Suint : matière animale grasse qui sort du corps des moutons et qui s'attache à leur laine.

Synergie : un phénomène par lequel plusieurs facteurs agissant ensemble créent un effet plus grand que la somme des effets attendus s'ils avaient opéré indépendamment, ou créent un effet que chacun d'entre eux n'aurait pas pu obtenir en agissant isolément.

Toxicité aiguë : est la toxicité induite par l'administration d'une dose unique et massive de toxique, décrite comme la dose qui risque à 50% de tuer un être vivant. Elle est parfois notée LD₅₀, de l'anglais Lethal Dose 50%

Toxicité chronique : désigne un effet nocif (chronique) résultant de doses répétées d'une substance, ou d'expositions à celle-ci, au cours d'une période relativement longue. S'emploie ordinairement pour décrire les effets observés chez des animaux d'expérience.

Toxinogénèse : production de toxines

Usage topique : utilisation locale

Vivace : ou plante pérenne, est une plante vivant plus de deux ans, mais qui vit souvent beaucoup plus longtemps, la limite de deux ans étant fixée pour séparer les vivaces des bisannuelles

Volatil : qui s'évapore facilement

Abstract

This study was designed to determine the chemical composition and biological activity (antimicrobial and insecticidal and/or antioxidant activity) of essential oils (EOs) and ethanolic extracts (EEs) of some plants growing in the Djelfa region. The EOs were isolated by hydrodistillation and analyzed by GC and GC-MS. The main components of the oils were p-cymene (15.8%), γ -terpinene (15.3%), thymol methyl ether (15.7%) and thymol (19.1%) for *T. guyonii*, terpinenyl acetate (28.1%) for *T. algeriensis*, β -Pinene (14.6%) and α -Pinene (10.4%) for *Artemisia campestris* and Chrysantenyl acetate (16.1%), cis-8-Acetoxychrysanthenyl acetate (19.6%) and t-Muurolol (19.7%) for *Anacyclus valentinus*. Antioxidant activity was assessed in terms of DPPH \bullet and ABTS \bullet^{+} free radical scavenging. *T. guyonii* EO was the most effective in inhibiting free radicals but less active compared to synthetic antioxidants (Trolox and BHT). Additionally, *T. guyonii* EO showed the highest efficacy against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) as well as an antimicrobial agent against the microorganisms tested. In addition, *T. guyonii* EE was the richest in total phenols and flavonoids and exhibited potent antioxidant activity, equivalent to superior to synthetic antioxidants. The results suggest that EO and/or EE of *T. guyonii* could be considered for applications in the pharmaceutical and food fields as well as for the preservation of stored products against damage caused by *S. oryzae*.

Keywords: Essential oil, ethanolic extract, chemical composition, *Thymus guyonii*, *Thymus algeriensis*, *Artemisia campestris*, *Anacyclus valentinus*, *Sitophilus oryzae*, biological activity.

Résumé

Cette étude a été conçue pour déterminer la composition chimique et l'activité biologique (antimicrobienne et insecticide et/ou activité antioxydante) des huiles essentielles (HEs) et des extraits éthanoliques (EEs) de quelques plantes poussant dans la région de Djelfa. Les HEs ont été isolées par hydrodistillation et analysées par GC et GC-MS. Les principaux composants des huiles étaient le p-cymène (15,8 %), le γ -terpinène (15,3 %), l'éther méthylique de thymol (15,7 %) et le thymol (19,1 %) pour *T. guyonii*, l'acétate de terpinényle (28,1 %) pour *T. algeriensis*, β -Pinene (14.6%) et α -Pinene (10.4%) pour *Artemisia campestris*, et Chrysantenyl acetate (16.1%), cis-8-Acetoxychrysanthenyl acetate (19.6%) et t-Muurolol (19.7%) pour *Anacyclus valentinus*. L'activité antioxydante a été évaluée en termes de piégeage des radicaux libres DPPH \bullet et ABTS \bullet^{+} . L'HE de *T. guyonii* était la plus efficace pour inhiber les radicaux

libres mais moins active par rapport aux antioxydants synthétiques (Trolox et BHT). De plus, l'HE de *T. guyonii* a montré la plus grande efficacité contre le charançon du riz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) ainsi que comme antimicrobien contre les micro-organismes testés. De plus, l'EE de *T. guyonii* a été le plus riche en phénols totaux et flavonoïdes et a exhibé une puissante activité antioxydante, équivalente à supérieure par rapport aux antioxydants de synthèse. Les résultats suggèrent que l'HE et/ou l'EE de *T. guyonii* pourraient être envisagés pour des applications dans les domaines pharmaceutique et alimentaire ainsi que pour la préservation des produits stockés contre les dommages causés par *S. oryzae*.

Mots clés : Huile essentielle, extrait éthanolique, composition chimique, *Thymus guyonii*, *Thymus algeriensis*, *Artemisia campestris*, *Anacyclus valentinus*, *Sitophilus oryzae*, activité biologique.

ملخص

صممت هذه الدراسة لتحديد التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي (نشاط مضاد للميكروبات ومبيد حشري و نشاط مضاد الأكسدة) للزيوت الأساسية (EOs) والمستخلصات الإيثانولية (EEs) لبعض النباتات النامية في منطقة الجلفة. تم عزل EOs

بواسطة التقطير المائي وتحليلها بواسطة GC و GC-MS. المكونات الرئيسية للزيوت هي p-cymene (15.8%) و thymol methyl ether (15.7%) و terpinene (15.3%) و thymol (19.1%) و أسيتات terpinenyl (15.3%)

و أسيتات *Artemisia campestris* (28.1%) و *T. algeriensis* (14.6%) و α -Pinene (14.4%) و أسيتات

الكريستينيل (16.1%) و cis-8 -Acetoxychrysanthenyl acetate (19.6%) و t-Muurolol (19.7%)

Anacyclus valentinus. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من حيث DPPH و ABTS + • لتنظيف الجذور الحرة. كان

EO *T. guyonii* الأكثر فاعلية في تثبيط الجذور الحرة ولكنه أقل نشا ^{نظّم} حؤارنة بمضادات الأكسدة الصطناعية (Trolox

و BHT). بالإضافة إلى ذلك، أظهر EO *T. guyonii* أعلى فعالية ضد سوسة الأرز، *Sitophilus oryzae* L.

(Coleoptera: Curculionidae) وكذلك مضاد للميكروبات ضد الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها. بالإضافة إلى

ذلك، كان EE *T. guyonii* الأغنى في إجمالي الفينولات والفالفونويدات وأظهر نشا ^{نظّم} حؤارنا مضادا للأكسدة، مكافئا

لمضادات الأكسدة الصطناعية. تشير النتائج إلى أنه يمكن النظر في HE و / أو EE *T. guyonii* للتطبيقات في المجالات

الصيدلانية والغذائية وكذلك للحفاظ على المنتجات المخزنة ضد التلف الذي تسببه *S. oryzae*.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري، المستخلص الإيثانولي، التركيب الكيميائي، *Thymus*، *Thymus guyonii*

Artemisia campestris، *Anacyclus valentinus*، *Sitophilus oryzae*، النشاط

البيولوجي.