



PROJET DE FIN D'ÉTUDES
PRÉSENTÉ EN VUE D'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER SCIENCES ET TECHNIQUES
GESTION ET CONSERVATION DE LA BIODIVERSITÉ

Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant et
antibactérien des huiles essentielles de six
populations de *Thymus broussonetii* Boiss

Présenté par : **ETTIR Hanae**

Encadré par : **Pr. MIKOU Karim**

Mme. BELMAHI Zoubida

Soutenu le : **18/07/2022**

Devant le jury composé de :

- | | | |
|-------------------------------|------------|--------------|
| - Mme. BELMAHI Zoubida | INRA Rabat | Encadrante |
| - Pr. MIKOU Karima | FST | Encadrante |
| - Pr. HALOTI Said | FST | Examineur |
| - Pr. SQALLI HOUSSAINI Hakima | FST | Examinatrice |

Liste des abréviations

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CI50 : Concentration inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

GC : Chromatographie phase gazeuse

HE : Huiles essentielles

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAM : plantes aromatiques et médicinales

PE : Perkin-Elmer

RHE : Rendement en HE

TSB : Bouillon Tryptone-Soja

UFC : Unités formant colonie

Résumé

Cette étude vise l'extraction et la détermination du rendement en huiles essentielles de six populations d'une plante aromatique et médicinale endémique du Maroc de la famille des Lamiaceae, *Thymus broussonetii* Boiss. Elle vise également la mise en évidence et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ces huiles extraites. Les six populations de *Thymus broussonetii* proviennent de six régions différentes : Rabat chtatba, Rabat oumazza, khémisset houdrane, khémisset tafilalt, Méknes walili et Essaouira bounouh. et cultivées dans la région de l'khemisset.

Le rendement en HE diffère selon l'origine de la population. Ce rendement varie entre 1,90% pour la population provenant de Rabat Chtatba et 1,00% pour la population provenant de Essaouira Bounouh. La composition chimique des HE, analysée par GC-MS, varie quantitativement et qualitativement entre les populations étudiées ; cependant c'est le carvacrol qui représente le composé majoritaire des huiles de *T. broussonetii* Boiss le taux variait de 39,22% à 74,33%

L'activité antioxydante des HE, déterminée par la méthode DPPH, a montré que nos échantillons sont doués d'une activité antioxydante. Les IC50 sont, cependant, variables selon la population. C'est la population provenant de khemisset qui est la plus active avec une IC50 faible de l'ordre 1,05 mg/ml.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE par micro-méthode en milieu liquide a révélé une forte activité inhibitrice de l'HE sur tous les micro-organismes étudiés (*Echerchia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeroginosa*). Les HE de d'Essaouira Bounouh, et Rabat oumazza ont montré une activité moins important avec des CMI 18.75 µl/ml et 37.5 µl/ml, En revanche les HE de khémisset houdrane, khémisset tafilalt et Méknes walili ont une forte activité antibactérienne avec une CMI de 9.75 µl/ml. Ces deux activités biologiques mises en évidence chez *T. broussonetii* Boiss est liée à leur composition chimique, en particulier, présence des phénols. L'étude a également montré que la composition chimique et l'activité biologique dépendent de l'origine de la population.

Mots clés : Activité antioxydante, Activité antibactérienne, composition chimique, Huiles essentielles, *Thymus broussonetii* Boiss. Population

Abstract

This study aims at extracting and determining the yield of essential oils from six populations of an aromatic and medicinal plant endemic to Morocco of the Lamiaceae family, *Thymus broussonetii* Boiss. It also aims to highlight and evaluate the antioxidant and antibacterial activity of these extracted oils. The six populations of *Thymus broussonetii* come from six different regions: Rabat chtatba, Rabat oumazza, khémisset houdrane, khémisset tafilalt, Méknes walili and Essaouira bounouh. And grown in the region of l'khemisset.

The yield of EO differs according to the origin of the population. This yield varies between 1.90% for the population from and 1.00% for the population from. The chemical composition of the EOs, analyzed by GC-MS, varies quantitatively and qualitatively between the populations studied; however, carvacrol is the major compound in the oils of *T. broussonetii* Boiss, and its level varied from 39.22% to 74.33%. The antioxidant activity of the EOs, determined by the DPPH method, showed that our samples are endowed with antioxidant activity. The IC₅₀s are, however, variable depending on the population. The population from khemisset is the most active with a low IC₅₀ of about 1.05 mg/ml.

The antioxidant activity of EOs, determined by the DPPH method, showed that our samples are endowed with antioxidant activity. The IC₅₀ are, however, variable according to the population. The population from khemisset is the most active with a low IC₅₀ of about 1.05 mg/ml.

The evaluation of the antibacterial activity of EO by micro-method in liquid medium revealed a strong inhibitory activity of EO on all studied microorganisms (). The most active population is with a MIC of. These two biological activities highlighted in *T. broussonetii* Boiss is related to their chemical composition, in particular, presence of phenols. The study also showed that the chemical composition and biological activity depend on the origin of the population

The evaluation of the antibacterial activity of EO by micro-method in liquid medium revealed a strong inhibitory activity of EO on all studied microorganisms (). The most active population is with a MIC of. These two biological activities highlighted in *T. broussonetii* Boiss is related to their chemical composition, in particular, presence of phenols. The study also showed that the chemical composition and biological activity depend on the origin of the population.

Key words : Antioxidant activity, Antibacterial activity, Chemical composition, Essential oils, *Thymus broussonetii* Boiss. Population.

Dédicace

Je dédie ce travail

**A l'âme de mon cher père, à ma chère mère tu es un symbole de bonté, de responsabilité
et de courage.**

**Tes prières, ta patience et tes sacrifices ont été pour moi le principal soutien qui m'a
permis d'atteindre mon but, que Dieu te garde, te remplisse de santé et**

te donne une longue vie.

A mes très chères et adorables sœurs : Fatimazouhra, Rabab, Hind, Amel et Aya

A mes frères Mohammed et Abdelmoughit

A mes chères amies Wiam, Kaoutar, Bahija, Maryam

A mon ami Jbilou

Merci pour votre soutien et votre amour.

Remerciement

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer par ces quelques lignes de remerciements ma gratitude envers tous ceux qui grâce à leur présence, leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils, j'ai eu le courage d'accomplir ce travail. Je tiens tout d'abord à remercier **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir donné la foi, la santé et le courage qui m'ont permis d'accomplir cette étude.

Toute mon estime et ma respectueuse gratitude vont à Mme **BELMAHI** Zoubida, Mme **BENALI** Aouatif pour avoir encadré ce travail, Je tiens à vous remercier pour votre accueil, votre disponibilité, vos précieux conseils, votre rigueur scientifique ainsi que pour le temps que vous m'avez accordé tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à présenter mes sincères reconnaissances au Professeur **MIKOU** Karima, enseignante la Faculté des Sciences et techniques de Fès, pour encadrer ce projet de fin d'étude, ainsi que pour votre aide précieuse, votre objectivité et vos conseils qui ont fait progresser ce travail.

J'adresse aussi ma plus grande reconnaissance et mes plus sincères remerciements aux membres du jury Professeur **HALOTI** Said, Professeur **SQALLI** Hakima à la Faculté des Sciences et techniques de Fès, je suis très honorée que vous ayez accepté d'être membres du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je tiens également à remercier toutes les personnes du Laboratoire de technologie alimentaire, Plantes médicinales et aromatiques au centre régionale des recherches agronomiques, pour leur accueil. Mes sentiments de reconnaissance vont aussi à toute personne qui a participé de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Liste des Figures

Figure. 1 Structures des terpènes (a), des terpénoïdes (b) et des phénylpropanoïdes (c) (da Silva et al., 2021).....	9
Figure. 2 Photo de <i>Thymus broussonetii</i> Boiss.....	19
Figure. 3 profil chromatographie en phase gazeuse	21
Figure. 4 Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.	22
Figure. 5 Souches bactériennes.....	23
Figure. 6 Bactéries sur milieu TSB	23
Figure 7. Plan d'une microplaque pour la réalisation de la micro-méthode en milieu liquide(Deyra et al., 2017)	24
Figure. 8 Profil chromatographique d'HE de TBRCP1.....	29
Figure. 9 Profil chromatographique d'HE de TBROP2	29
Figure. 10 Profil chromatographique d'HE de TBKHP3	29
Figure. 11 Profil chromatographique d'HE de TBKTP4.....	30
Figure. 12 Profil chromatographique d'HE de TBMWP5	30
Figure. 13 Profil chromatographique d'HE de TBEBP1.....	30
Figure 14. % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBRCP1	31
Figure 15. % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBROP2.....	32
Figure. 16 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBKHP3	32
Figure. 17 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBKTP4	32
Figure. 18 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBMWP5	33
Figure. 19 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE TBKTP4	33
Figure.20 Croissance bactériens présenter par des troubles visibles.....	35

Liste des Tableaux

Tableau. 1 Usages des PAM (Ouziki & Taiqui, 2016).	6
Tableau. 2 Populations de <i>Thymus broussonetii</i>	19
Tableau 3. Rendements de l'extraction des différentes huiles essentielles par hydrodistillation	27
Tableau 4. Composés majoritaires des différentes populations de <i>Thymus broussonetii</i>	28
Tableau 5. Concentrations Inhibitrices 50	34
Tableau 6. Évaluation de l'activité antibactérienne	38

Liste des abréviations

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CI50 : Concentration inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

GC : Chromatographie phase gazeuse

HE : Huiles essentielles

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAM : plantes aromatiques et médicinales

PE : Perkin-Elmer

RHE : Rendement en HE

TSB : Bouillon Tryptone-Soja

UFC : Unités formant colonie

Table des matières

Revue bibliographique	4
I. Généralités sur les Plantes aromatiques et médicinales.....	4
1. Biodiversité des Plantes aromatiques et médicinales au Maroc	4
1.1 Définition et historique	4
1.2 Importance socio-économique de la filière des PAM au Maroc	5
1.3 Usage des PAM	5
II. Généralités sur l'espèce <i>Thymus broussonetii</i> . Boiss	6
1. Description botanique et répartition géographique	7
2. Usages traditionnels de <i>Thymus broussonetii</i> Boiss.....	7
III. Généralités sur les Huiles essentielles.....	7
1. Principaux constituants des huiles essentielles	9
1.1 Groupe des terpènes.....	10
1.2 Monoterpènes.....	10
1.3 Sesquiterpènes	10
1.4 Groupe des composés aromatiques.....	10
2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	11
3. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.	12
4. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	14
4.1 Extraction à froid	14
4.2 Entraînement à la vapeur d'eau	14
4.3 Extraction par le CO ₂ à l'état supercritique	14
4.4 Extraction par solvants volatils.....	15
4.5 Macération	15
4.6 Hydrodistillation.	15
5. Activités biologiques des huiles essentielles.....	16
5.1 Activité antioxydante	16
5.2 Activité antibactérienne	16
5.3 Activité antifongique	17
5.4 Activité anti-inflammatoire	17
Matériel et méthodes	18
IV. Matériel végétal	19
V. Méthodes expérimentales	20
2. Extraction des huiles essentielles.....	20
3. Calcul de rendement	20

4.	Composition chimique des huiles essentielles.....	20
5.	Détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	21
5.1	Technique de DPPH.....	21
6.	Évaluation de l'activité antibactérienne des HE.....	23
6.1	Choix des souches.....	23
6.2	Microméthode en milieu liquide.....	24
7.	Analyses statistiques.....	25
	Résultats et discussion.....	27
1.	Rendement des huiles essentielles.....	27
2.	Composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées.....	27
3.	Evaluation des propriétés antioxydantes des huiles essentielles.....	31
4.	Activité antibactérienne.....	35
	Conclusion et perspectives.....	36
	Références bibliographiques.....	1

Introduction générale

Au cours de ces dernières années, l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits « bio » naturels, a conduit l'industrie à envisager l'incorporation de substances considérées comme « non synthétiques ». Ainsi de nombreux composés phytochimiques y compris les huiles essentielles, commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles ont fait l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et anticancéreux (Benyahia, 2015).

Les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont été reconnues depuis longtemps, mais n'ont été confirmées scientifiquement qu'avec l'évolution des moyens techniques et analytiques. Parmi ces plantes on note le thym qui possède des atouts considérables grâce à la découverte progressive de leurs applications dans les soins et beauté, ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêts économiques selon l'OMS. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur le marché mondial (Walter et al., 2004). Elles ont un potentiel thérapeutique énorme pour guérir plusieurs maladies infectieuses (Janovska et al., 2003). De ce fait, depuis deux décennies des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans différents domaines. Leur production et leur pouvoir antimicrobien a pris une place importante dans la recherche scientifique (Belaqiz et al. 2002).

L'utilisation d'huiles essentielles est aujourd'hui d'actualité. Le nombre de produits et d'indications s'est multiplié. Exemple : les huiles essentielles peuvent assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation dans le milieu hospitalier pour limiter la propagation des germes microbiens (De Billerbeck, 2007). Les huiles essentielles ont également un grand potentiel en tant que conservateurs alimentaires, en raison de leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Nieto, 2017). Les huiles essentielles des plantes de la famille des Lamiaceae ont fait l'objet d'études approfondies quant à leur utilisation en tant que bio-conservateurs alimentaires (Falleh et al., 2020).

Le Thym, une plante aromatique spontanée appartenant à la famille des Lamiaceae, se retrouve principalement dans la région méditerranéenne, l'Asie, l'Europe du Sud et l'Afrique du Nord (Maksimovic et al. 2008). Au Maroc, il y a vingt et une espèces de thym dont 15 sont endémiques (Fennane et al., 2007), parmi lesquelles on trouve (*Thymus maroccanus*, *Thymus satéroïdeses*.) appelée communément Zaâitra par les populations locales. La plante entière est très utilisée en médecine traditionnelle, son huile essentielle sont largement utilisée dans la

médecine alternative grâce à leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiennes (Panizzi et al. 1993 ; Van Den Broucke et al., 1981).

Le présent travail a pour objectif la détermination du rendement, de la composition chimique ainsi que l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle extraite dans les parties aériennes de six populations de *Thymus broussonetii* endémique du Maroc. Ces thymus sont collectés respectivement dans les régions de Rabat chtatba, Rabat oumazza, khémisset houdrane, khémisset tafilalt, Méknes walili et Essaouira bounouh à géographie et conditions climatiques différentes.

Le présent manuscrit sera divisé en trois parties ; dans une première partie, une étude bibliographique synthétique sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM) et sur les huiles essentielles (HE). Les activités biologiques de ces HE, en général, et l'activité antioxydante et antibactérienne en particulier seront traitées. La deuxième partie concernera des données sur le matériel végétal utilisé et la méthodologie du travail adoptée, suivie par les résultats trouvés et leur discussion. Enfin, dans une dernière partie, nous allons présenter la conclusion générale et les perspectives du travail.

Revue bibliographique

I. Généralités sur les Plantes aromatiques et médicinales

1. Biodiversité des Plantes aromatiques et médicinales au Maroc

Le bassin méditerranéen est l'une des régions les plus riches en plantes médicinales et aromatiques, il comprend les plus grandes zones de plantes endémiques. Le Maroc est l'un des centres importants de biodiversité dans le bassin méditerranéen (Bouiamrine et *al.*, 2017), sa position biogéographique offre une très riche diversité écologique et floristique, constituant une véritable réserve génétique végétale, avec environ 4500 espèces appartenant à 940 genres et 135 familles (Chaachouay et *al.*, 2020).

Le Maroc est caractérisé par une flore aromatique et médicinale riche et variée avec des niveaux élevés de plantes endémiques appartenant à différentes familles botaniques (Lamiaceae, Asteraceae, Rosaceae, Chenopodiaceae, Papaveraceae, Caryophyllaceae, Cupressaceae, Rutaceae, Anacardiaceae, Zygophyllaceae, etc.) (Ait-Sidi-Brahim et *al.*, 2019). Cette biodiversité de plantes médicinales permet au Maroc d'occuper une place privilégiée parmi les pays méditerranéens (Chaachouay et *al.*, 2020)

1.1 Définition et historique

Les PAM jouent un rôle essentiel dans la santé et le bien-être des personnes en fournissant de nombreux produits de santé d'origine végétale. Les PAM peuvent être définis comme suit (Saha & Basak, 2020):

- ✚ Les plantes médicinales : sont des plantes qui jouent un rôle spécifique dans la prévention ou la guérison des maladies et dans le maintien ou l'amélioration de la santé des personnes.
- ✚ Les plantes aromatiques : Est une classe spéciale de plantes utilisées pour leur arôme et leur saveur. L'arôme est dû à la présence d'HE riche en composés terpéniques. Beaucoup d'entre elles sont utilisées exclusivement à des fins médicinales en aromathérapie.

La thérapie par les PAM est aussi vieille que l'humanité elle-même. Le lien entre l'homme et sa recherche de médicaments dans la nature remonte à un passé lointain, comme en témoignent de nombreuses sources : documents écrits, monuments préservés (Petrovska, 2012). La plus ancienne preuve écrite de l'utilisation de plantes médicinales pour la préparation de médicaments a été trouvée sur une dalle d'argile sumérienne de Nagpur, qui a environ 5000 ans. Elle comprenait 12 recettes pour la fabrication de médicaments à partir de

plus de 250 plantes différentes. À chaque époque, chaque siècle successif du développement de l'humanité et des civilisations avancées, les propriétés curatives de certaines plantes médicinales ont été identifiées, constatées et transmises aux générations successives (Petrovska, 2012).

1.2 Importance socio-économique de la filière des PAM au Maroc

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans l'économie marocaine. En effet, le secteur des PAM joue un rôle socio-économique très important (Bouiamrine et *al.*, 2017). Le secteur marocain des PAM fournit des emplois aux communautés locales et rurales, générant environ 500000 jours de travail par an (Bachiri, 2017).

La production marocaine d'herbes et d'extraits provient à la fois d'espèces sauvages et d'espèces cultivées. Près de 100 espèces sont exportées sous forme d'herbes séchées pour le commerce des herbes alimentaires. Plus de 20 espèces sont utilisées pour la production d'HE ou d'autres extraits aromatiques destinés principalement à l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, à la préparation de produits d'hygiène... (ZRIRA, 2017).

La valeur de la chaîne des PAM au Maroc est l'une des activités les plus riches en raison de son potentiel de développement, notamment à l'exportation. Aujourd'hui, le pays est classé le 12^{ème} exportateur international de PAM, que ce soit sous forme de matière sèche ou de produits extraits comme les HE, avec près de 87 millions de dollars provenant d'espèces cultivées et indigènes. Le Maroc possède encore un potentiel important pour un marché international croissant estimé à 15 milliards de dollars (Lamrani-Alaoui & Hassikou, 2018).

1.3 Usage des PAM

L'usage des PAM recensées dans la Péninsule Tingitane touche des domaines très variés. On note à ce propos celles utilisées en phytothérapie moderne, en pharmacopée locale traditionnelle, en exploitation industrielle comme bois d'œuvre, liège et goudrons, en artisanat pour la fabrication de petits objets domestiques, outillages et bois de feu, en alimentation pour assaisonnement des plats ou comme épices et en utilisations cosmétiques et hygiéniques. D'autres espèces de PAM sont utilisées comme aromates dans les boissons et autres, pour les soins vétérinaires, en tant que plantes fourragères et à utilisation pastorale, pour les rites funéraires, en sorcellerie et magie ou comme drogue. Des espèces de PAM sont butinées par les abeilles, et sont de ce fait, des plantes mellifères alors que d'autres sont toxiques (Ouziki & Taiqui, 2016). Le tableau 1 illustre ces différentes utilisations.

Tableau. 1 Usages des PAM (Ouziki & Taiqui, 2016).

Types d'usages	Nombre d'espèces
Usage en Médecine traditionnelle	330
Usage en Médecine moderne	308
Usages Alimentaires, Epices, Additifs	127
Usage Ornemental	93
Toxique	70
Usages Pastoraux et fourragers	59
Usages Artisanaux (vannerie, tannerie, menuiserie...)	50
Usages Aromatiques, boissons, condimentaires	48
Usages cosmétiques et hygiéniques	46
Usages Industriels	29
Mellifère	28
Usages Vétérinaires	17
Usage en sorcellerie, magie et encens	10
Drogue	8

Il faut noter que plusieurs taxons sont à utilisation multiple. Néanmoins, dans le lot des 308 PAM recensées en phytothérapie moderne, 109 sont exclusives pour cet usage. Ceci nous amène à dire que des opportunités réelles de développement pour au moins une partie de ces espèces existent. Les centres de recherche et de développement sont, de ce fait, interpellés pour cette mise en valeur. Aussi, des efforts doivent être consentis en termes de promotion et de valorisation notamment pour les PAM d'industrie cosmétique et alimentaire (Ouziki & Taiqui, 2016).

II. Généralités sur l'espèce *Thymus broussonetii*. Boiss

Depuis des siècles, le genre *Thymus* de la famille des lamiaceae est connu dans plusieurs pays comme une épice et un conservateur alimentaire ainsi qu'un remède protecteur et curatif pour de nombreuses affections. Il a été rapporté que le thym possède de nombreuses activités biologiques, y compris antispasmodiques (Van Den Broucke and Lemli, 1983), antimicrobienne (Marino et al., 1999), antioxydante (Miura et al., 2002), et pour la protection de l'environnement. (Miura et al., 2002) et antifongique (Soliman et Badeaa, 2002).

1. Description botanique et répartition géographique

Thymus broussonetii est une plante à feuilles persistantes qui atteint une hauteur d'environ 5 centimètres. Ses fleurs sont groupées vers le sommet des tiges en une inflorescence dense ovale cylindrique avec des feuilles florales plus larges que les feuilles, souvent de couleur violette, atténuées-aiguës à l'extrémité, ciliées sur les marges et cachant les calices, ceux-ci à deux lèvres, la supérieure faiblement dentée ; la corolle est rose de 2 à 3 fois la longueur du calice, avec un tube étroit nettement proéminent. *T. broussonetii* est une plante endémique du Maroc, on la trouve dans le Moyen-Atlantique, le Haut-Atlas, et dans le nord du royaume (Naceiri Mrabti et *al.*, 2021a)

2. Usages traditionnels de *Thymus broussonetii* Boiss

Thymus broussonetii Boiss (*T. broussonetii*) est une plante médicinale et aromatique rare. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, notamment la diarrhée, la fièvre, la toux, les irritations, les maladies de la peau, les rhumatismes, les affections respiratoires, la grippe et les problèmes de digestion.

D'autres chercheurs ont rapporté l'utilisation de cette plante dans l'alimentation comme un assaisonnement de recettes traditionnelles (seasoning) et pour aromatiser le thé ou le lait. Les enquêtes ethnobotaniques sont la première étape pour identifier les utilisations de la plante pour chaque trouble.(Naceiri Mrabti et *al.*, 2021b).

III. Généralités sur les Huiles essentielles

Les HE sont des liquides visqueux de couleur jaune pâle à orange et d'une odeur aromatique, épicée au fond avec une odeur aldéhydée montante de tête. Ce sont des produits de composition généralement complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et qui sont plus au moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. La distillation à la vapeur d'eau est la plus utilisée. De par ce procédé sont séparées les molécules aromatiques volatiles de l'hydrolat généralement plus lourd (Satrani, 2010). Les HE comprenant principalement les composés aromatiques et volatils naturellement présents dans toutes les parties des plantes. Ils sont largement utilisés dans divers pays comme médicaments, parfums, cosmétiques et comme conservateurs alimentaires (Bhavaniramy et *al.*, 2019). Les HE sont des métabolites

secondaires, et sont importantes pour le mécanisme de défense des plantes, elles ont donc diverses propriétés médicinales. Les principaux composés volatils tels que les alcools et les esters sont caractérisés comme les principaux constituants des HE montrant des effets pharmacologiques significatifs (Bhavaniramya et *al.*, 2019).

1. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces, leurs rôles sont multiples, ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Les travaux de Croteau en 1977 puis ceux de Croteau et Hooper en 1978 ont montré que, bien qu'étant des produits du métabolisme secondaire, les composants volatils auraient en fait un rôle mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Certains terpènes jouent un rôle important et varié dans la relation des plantes avec leur environnement (MAHMOUT, 1992). Ainsi le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes responsables de la prolifération des infections ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (RAZAFINDRAKOTO, 1988).

Pour certains auteurs, les huiles essentielles constitueraient « les déchets » du métabolisme cellulaire de la plante (SALLE, 1991). Pour d'autres, elles serviraient à attirer les insectes pour permettre la fécondation ou alors à les éloigner de la plante. L'attrait des insectes pour les plantes à fleurs en vue de la pollinisation est également crédité aux huiles essentielles que ces plantes contiennent. Les huiles essentielles constitueraient enfin un moyen de défense de la plante vis-à-vis des prédateurs tels que les microorganismes (bactéries et champignons) et les herbivores (BRUNETON, 1999). Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antiviral, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi des insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (BAKKALI, 2008).

1. Principaux constituants des huiles essentielles

Les HE sont un mélange plusieurs composés différents, principalement constitués de composés volatils de faible poids moléculaire. Fondamentalement, quelques composés sont présents en tant que principaux à environ 20-70% par rapport aux autres composés, qui sont présents à l'état de traces. Par exemple, *Origanum compactum* contient (30 %) du carvacrol et (27 %) de thymol comme principaux composants chimiques. Ces composants majeurs sont responsables des diverses activités biologiques des HE. Généralement, ces composants majeurs sont classés en deux groupes d'origines biosynthétiques distinctes, comme les terpènes terpénoïdes et les composants aromatiques/aliphatiques (**figure 1**) (Bhavaniramya et al., 2019), tous deux caractérisés par leur poids moléculaire (Kar et al., 2018). Les composés volatils sont principalement classés en différentes classes chimiques telles que les aldéhydes, les cétones, les alcools, les amines, les amides, les phénols et surtout les terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes). Parmi ceux-ci, les alcools, les aldéhydes et les cétones offrent une grande variété d'effets aromatiques aux fruits et aux autres parties de certaines plantes (Bhavaniramya et al., 2019).

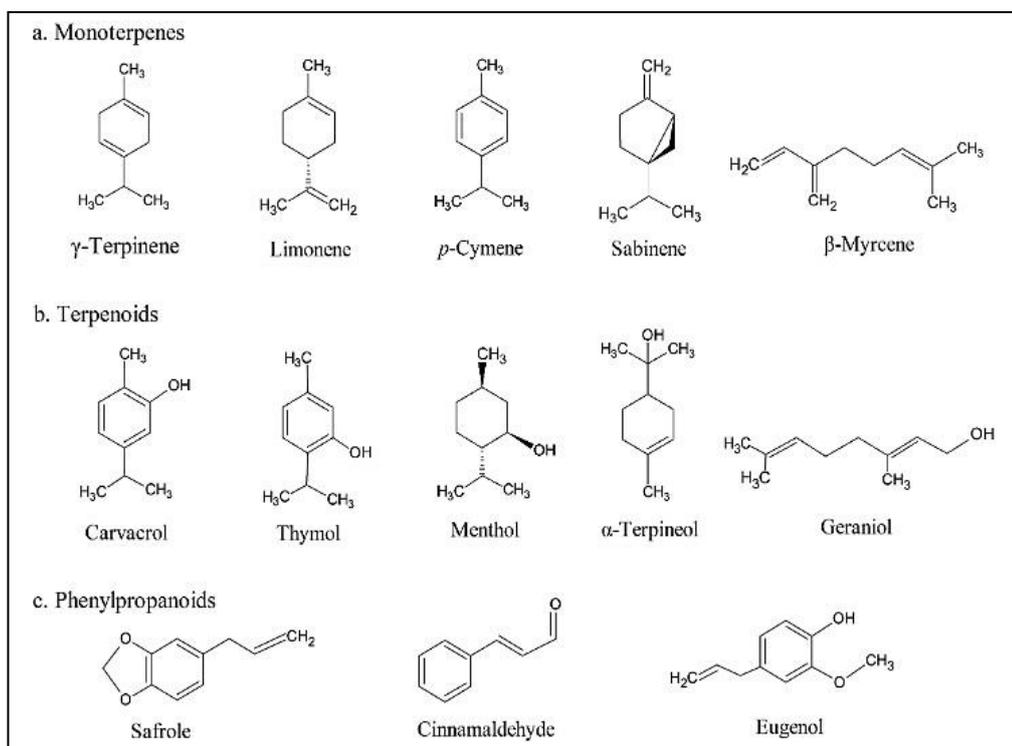


Figure. 1 Structures des terpènes (a), des terpénoïdes (b) et des phénylpropanoïdes (c) (da Silva et al., 2021).

1.1 Groupe des terpènes

Les terpènes sont l'un des principaux groupes de composants chimiques, qui sont à la fois structurellement et fonctionnellement différents. Les structures de base des terpènes sont des unités à 5 atomes de carbone, connues sous le nom d'isoprènes (Bhavaniramy et al., 2019). Les composés terpéniques, quelle que soit leur provenance, sont issus de métabolites secondaires de l'acide mévalonique (Endrias, 2006).

1.2 Monoterpènes

Les monoterpènes sont des structures à 10 carbones qui peuvent être acycliques (myrcène, ocimènes), monocycliques (α et γ -terpinène, ρ -cimène) ou bicycliques (pinènes, sabinène, camphène). Ce sont des composés anti-infectieux : bactéricides, virucides et fongicides. Ils peuvent être utilisés lors d'une infection en parallèle aux phénols qui sont plus délicats à manipuler. Ils sont également utilisés comme antalgiques cutanés (para Cyrène), lors de douleurs localisées. Ce sont d'excellents immunostimulants, ainsi que des toniques généraux (Nicolas, 2017).

1.3 Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes formés de trois unités isopréniques et donc ils contiennent 15 carbones.

Les sesquiterpènes ont de très larges applications. La plupart d'entre eux présentent des propriétés antiseptiques et bactéricides. Certains sesquiterpènes comme le germacrène sont de puissants anti-inflammatoires. Ils sont employés dans les pathologies artériocapillaires comme les artérites (Nicolas, 2017).

1.4 Groupe des composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les HE que les monoterpènes et sesquiterpènes (Couic-Marinier and Lobstein, 2013). Ils présentent également une grande variabilité et peuvent être regroupés sur la base des groupes fonctionnels, par exemple les aldéhydes comme le cinnamaldéhyde, les phénols comme le chavicol et l'eugénol ; alcool comme l'alcool cinnamique.

Ces composés sont principalement enrichis dans les épices et les plantes aromatiques comme la cannelle l'anis, le clou de girofle, le fenouil, la noix de muscade, le persil (Kar et al., 201

2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées. (BRUNETON, 1999). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vetiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade). (SANGWAN, 2001).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauracées ou des Zingibéracées, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées. La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (BRUNETON Jean, 2009)

Il existe en fait quatre structures sécrétrices :

- Les cellules sécrétrices : Chez les Lauracées et les Zingibéracées.
- Les poils glandulaires épidermiques : Chez les Lamiacées, Géraniacées... etc.
- Les poches sphériques schizogénèse : Les glandes de type poche se rencontrent chez les familles des : Astéracées, Rosacées, Rutacées, Myrtacées, etc.
- Les canaux glandulaires lysigènes : On les retrouve chez les Conifères, Ombellifères.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (BRUNETON, 1993) ; (TEUSCHER, 2005)

La mise en évidence de l'huile essentielle dans les coupes d'organes s'effectue à l'aide de colorants lipophiles comme le noir Soudan III qui colore en rouge les gouttelettes essence. Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. À l'exception de celle du bouton

floral du giroflier où le rendement en huile essentielle atteint largement les 15% (MAKHLOUF,2002).

3. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie, et en pharmacie (BAHORUN, 1997). Il a eu donc un réveil vers un intérêt progressif de l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles substances naturelles est un choix normal (scientific correspondance, 2003).

Quatre domaines principaux exploitent les diverses potentialités qu'offrent les huiles essentielles.

- ✚ **Médecine** : en tant que médicament pour l'homme ; exemple : contre le diabète (AMJAD, 2005) contre les maladies de stress (LEE et al, 2003) Contre le Malaria (DASTIDAR et al, 2004).
- ✚ **Pharmacie** : Les huiles essentielles peuvent avoir un intérêt médicamenteux, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, comme par exemple : *Thymus vulgaris* (Thym), *Satureja montana* (Sariette). Elles sont aussi employées pour aromatiser des formulations médicamenteuses destinées à la voie orale. Elles constituent par ailleurs le support de l'aromathérapie. Les plantes aromatiques sont aussi utilisées à l'état brut, en particulier pour les préparations d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples. (RANDRIANARIVELO, 2010).
- ✚ **Parfumerie** : C'est le débouché principal des huiles essentielles où la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène en sont les marchés principaux. On note aussi l'utilisation des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bain « calmant » ou « relaxant ») avec la possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques.
- ✚ **Industrie Agro-alimentaire** : Certains plantes sont utilisées brutes (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes. Tous les secteurs alimentaires en utilisent : boissons alcooliques ou non, confiserie, produits laitiers, produits, carnés, soupes, sauces, boulangerie, snacks, la nutrition animale. (RANDRIANARIVELO, 2010).

- ✚ **Agriculture** : pour lutter contre les insectes et les nématodes par exemple (AMJAD, 2005).
- ✚ **Diverses industries** : L'industrie chimique est le principal utilisateur des isolats issus des huiles essentielles comme matières premières pour la synthèse de principe actifs, médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, exemple : pinènes, sclaréol, linalol, citronellal, citral eugénol, safrol, etc.... Ces isolats sont également utilisés en parfumerie. (RANDRIANARIVELO, 2010).

3. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits que l'on peut utiliser sans risque. Comme tous les produits naturels. Les huiles essentielles contenant principalement des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. En particulier les huiles de : Cannelle de Ceylan, Basilic exotique, Menthe, Girofle, Niaouli, Thym, Marjolaine, Sarriette, Citronnelle. Par ailleurs, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions allergiques cutanées (MEYNADIER, et al 1997). C'est notamment le cas des huiles essentielles de Cannelle de Ceylan, Menthe, Listée, Mélisse, Pin.

La proportion de la population développant des allergies cutanées dues aux parfums augmente en même temps que l'utilisation des parfums contenant ces huiles essentielles et des produits parfumés (HAYAKAWA, 1987) est en constante augmentation. Il a été démontré que les allergènes aéroportés jouent un rôle évident dans la formation de l'eczéma, que ce soit par inhalation ou par contact avec la peau (SCHNUCH, 2006).

Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter comme irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques (ELBERLING et al., 2007). Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont neurotoxiques (romarin, sarriette, cèdre, camphre, thuya, aneth, hysope).

4. Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction est l'un des principaux facteurs qui déterminent la qualité de l'HE. Une procédure d'extraction inadaptée peut entraîner des dommages ou une altération de la composition chimique de l'HE (Tongnuanchan & Benjakul, 2014). Les HE peuvent être extraites de plusieurs plantes de différentes parties par diverses méthodes :

4.1 Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

4.2 Entraînement à la vapeur d'eau

Ce procédé consiste à placer la matière végétale dans une cuve et faire traverser celle-ci par de la vapeur d'eau, à la sortie de la cuve et sous pression contrôlée, la vapeur d'eau enrichie en huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense, un essencier appelé autrefois vase florentin récolte l'eau et l'huile essentielle, la différence de densité entre ces deux liquides permet une séparation aisée.

4.3 Extraction par le CO₂ à l'état supercritique

Ce procédé est basé sur le fait que le CO₂ dans des conditions dites critiques présente un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers composés tels que les huiles essentielles, les arômes et les colorants... (Mayer, 1989). Cette méthode utilisée d'abord en brasserie pour obtenir des extraits de houblon, semblait à priori intéressante d'une part pour augmenter le rendement d'extraction, d'autre part le CO₂ s'évaporant complètement ne laissait aucune trace toxique dans l'huile essentielle. Elle trouve un intérêt tout particulier au niveau des produits naturels, car elle conduit à des extraits « cœur de la nature » souvent très proches de l'odeur de la matière première traitée et exempts de solvants organiques (Pellerin, 2001).

4.4 Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction par solvant est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide : extraction par Soxhlet : L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion de solvant pur, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. De plus, elle ne nécessite pas de filtration après extraction et peut être utilisée quelle que soit la matière végétale. Ses inconvénients les plus significatifs sont la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée (devant être ultérieurement évaporé), ce qui limite sa rentabilité économique. Il n'y pas de possibilité de travailler à froid, ce qui peut entraîner la dégradation des substances sensibles à la chaleur.

4.5 Macération

Ce procédé exige que les graisses utilisées soient chaudes (40-60°C), ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant. Cette technique est rapide et s'applique aux fleurs dont l'activité physiologique cesse à la cueillette. L'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisses chaudes jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse (Blakeway et Salerno, 1987).

4.6 Hydrodistillation.

La méthode d'hydrodistillation est considérée comme la méthode d'extraction de l'huile la plus simple et la plus ancienne. Dans cette méthode, les échantillons frais récoltés et coupés sont immergés dans l'eau et hydrodistillés dans un appareil de Clevenger pendant 3 à 6 heures pour l'extraction des HE. Le dispositif comprend une source de chauffage, un récipient, un condenseur pour convertir la vapeur du récipient sur le liquide, et un décanteur pour recueillir le condensat et séparer les HE avec une petite quantité d'eau (liquide non miscible) de la partie supérieure du condensateur. Les huiles extraites sont collectées, mesurées et séchées sur du sulfate de sodium anhydre. Cette méthode est le moyen le plus facile d'extraire les HE, car elle prend moins de 4 heures (Bhardwaj et *al.*, 2020).

5. Activités biologiques des huiles essentielles

5.1 Activité antioxydante

Le progrès de l'oxydation a comme conséquence la détérioration complète des aliments. La dégradation oxydative des constituants de nature lipidique de nos aliments présente des inconvénients à la fois aux plans organoleptique, nutritionnel, fonctionnel, économique et hygiénique (Alais *et al.*, 2008 ; Rashid *et al.*, 2010). La lutte contre l'oxydation des lipides représente donc un enjeu considérable pour les industriels alimentaires. Pour supprimer ou ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables : tenter de réduire les facteurs favorables à cette oxydation et ou trouver un réactif qui ralentit l'oxydation : c'est le rôle de l'antioxydant (Jeantet *et al.*, 2006). L'anhydride sulfureux et ses combinaisons minérales ont été utilisés comme premiers antioxydants, mais ces composés possèdent un caractère fortement allergisant (Portes, 2008). Quelques récentes publications ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques (Dashti *et al.*, 2015 ; Hussain *et al.*, 2010). Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (Hussain *et al.*, 2010).

5.2 Activité antibactérienne

L'importance de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle dépend de sa composition chimique et des groupes fonctionnels des principaux composés (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) (Dorman et Deans, 2000), phénols, composés terpéniques et cétoniques) (Dorman et Deans, 2000).

Les phénols sont responsables de dommages irréversibles à la membrane et aux parois cellulaires des bactéries. C'est le cas du thymol, qui est considéré comme un bactéricide (Aligiannis *et al.*, 2001 ; Friedman *et al.*, 2002 ; Zohary et Davis, 2004), ceci est dû à ses activités telles que l'inhibition des processus de transport d'électrons, de transport de protéines intracellulaires, et autres protéines, et dans d'autres réactions enzymatiques (Burt, 2004 ; Ultee *et al.*, 1999). En ce qui concerne le bornéol, c'est sa grande solubilité dans l'eau qui lui confère une grande capacité d'adhésion aux membranes des cellules bactériennes (Tabacana *et al.*, 2001).

Les composants minoritaires jouent également un rôle important dans l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, agissant en synergie avec les principaux composés (Zhiri, 2006). Exemples des plantes et des composés

5.3 Activité antifongique

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent être utilisés comme agents protecteurs contre les champignons (Juarez et al., 2016) et les micro-organismes invasifs dans les aliments (Lisbalchin, 2002).

Il a été démontré que l'activité antifongique augmente avec le type de produit chimique : Phénols> Alcools> Aldéhydes> Cétones> Éthers> Hydrocarbures. Parmi les Aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé être le plus actif (Yen et Chang, 2008).

5.4 Activité anti-inflammatoire

Les HE sont également utilisés en milieu clinique pour traiter les maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Inouy et Abe, 2007). Le large spectre du potentiel thérapeutique des HE a attiré l'attention des chercheurs ces dernières années sur leur possible activité contre le cancer. Ainsi, les HE et leurs constituants volatils sont maintenant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007).

Matériel et méthodes

IV. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour cette étude est constitué de six populations de *Thymus broussonetii* (**figure 2**) provenant de différentes régions du Maroc. La collecte de ces populations a été réalisée en 2018 au niveau de six régions (**Tableau 2**). La culture de ces populations a été effectuée dans la région de l'khémisset, La partie aérienne, au stade reproducteur, est récoltée au mois d'avril 2022 ; elle servira à l'extraction des huiles essentielles et à l'étude de leurs activités biologiques après séchage des plantes.

Tableau. 2 Populations de *Thymus broussonetii*

Populations	Code	Région
P1	TBRCP1	Rabat Chtatba
P2	TBROP2	Rabat Oumazza
P3	TBKHP3	Khémisset Houdarrane
P4	TBKTP4	Khémisset Tafilalt
P5	TBMWP5	Meknès Walili
P6	TBEBP6	Essaouira Bounouh

L'espèce étudiée appartient à :

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce : *T. broussonetii* Boiss



Figure. 2 Photo de *Thymus broussonetii* Boiss

V. Méthodes expérimentales

1. Séchage des plantes

Après récolte, la partie aérienne de chaque population est séchée à l'étuve. Les plantes séchées sont conservées dans des sachets à l'abri de la lumière et de l'humidité.

2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des HE a été réalisée au Centre Régional de Recherche agronomique de Rabat à l'unité des plantes aromatiques et médicinales (PAM). 150g de chaque échantillon sont mis en présence de 1 litre d'eau puis soumises à une extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger avec une colonne de 60 cm de longueur connectée à un réfrigérateur, la procédure d'extraction dure 3h. Ensuite, les HE obtenues ont été récupérées à l'aide d'une micropipette et stockées dans des flacons en verre et bien fermés au réfrigérateur à une température de 4°C pour une analyse ultérieure (détermination du rendement et de la composition chimique).

3. Calcul de rendement

Le rendement en HE a été estimé sur la base de la matière végétale sèche à l'aide de l'équation suivante (Boutekedjiret et al., 2003) :

$$R_{HE} (\%) = m_{HE}/m_S \times 100 \%$$

m_{HE} = masse d'HE (g),

m_S = masse de matière végétale sèche (g),

R_{HE} = rendement en HE (%).

4. Composition chimique des huiles essentielles

L'analyse qualitative et quantitative de la composition chimique des HE a été effectuée à l'unité de Technologie alimentaire au Centre de Rabat, L'analyse de la composition chimique a été réalisée sur une série PE 580 de type Perkin-Elmer GC. La colonne capillaire Restek 5MS (30m x 0,25mm, épaisseur de film 0,25µm) a été couplée à un spectromètre de masse série SQ8S, le gaz porteur est l'hélium avec un débit de 1ml/min. La température du four a été programmée de 60 à 280°C à 5°C/min. Le spectromètre de masse fonctionnait dans un mode

électronique d'impact dans un domaine de 70 eV. Le volume injecté dans un mode divisé était de 1 μ l ; il est injecté à une température de 250°C. La détection a été effectuée en mode full scan (50-550) m/z en 0,2s. la figure 3 montre le dispositif utilisé L'identification de chaque composé a été réalisée en comparant les spectres de masse et les indices de rétention avec ceux des composés de la bibliothèque standard ou ceux rapportés dans la littérature (Benyoucef et al., 2018).



Figure. 3 Profil chromatographie en phase gazeuse

5. Détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles

5.1 Technique de DPPH

5.1.1 Principe

L'activité de piégeage des radicaux libres des HE de certaines espèces de Lamiaceae a été évaluée par la méthode DPPH couramment utilisée. Ce test permet de mettre en évidence de manière simple la capacité antiradicalaire d'un antioxydant. Cette méthode consiste à mesurer le pouvoir réducteur d'un antioxydant en présence d'un radical libre, le DPPH (Lee et al., 2001).

Le DPPH est un radical libre stable dont l'absorption est caractéristique à une longueur d'onde de 517 nm. Les antioxydants, lorsqu'ils interagissent avec le DPPH, transfèrent un électron ou un atome d'hydrogène au DPPH, neutralisant ainsi son caractère de radical libre. (**Figure 4**).

La couleur du mélange réactionnel passe du violet au jaune, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance. Le degré de décoloration indique le potentiel de piégeage des antioxydants (Vladimir-Knezevic et al., 2014).

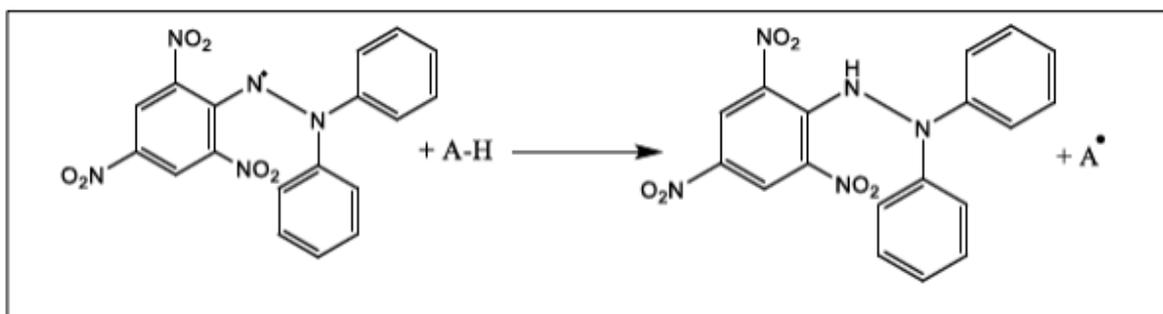


Figure. 4 Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.

5.1.2 Protocole expérimental

Le DPPH est solubilisé dans du méthanol absolu, pour avoir cette solution, Une quantité de 4 mg de DPPH a été solubilisée dans 100ml de méthanol. Le mélange a été agité et laissé pendant 1h dans l'obscurité à température ambiante. Une série de dilutions de l'HE dans le méthanol a été réalisée. 1ml de solution de DPPH a été ajouté à chaque 1ml des solutions méthanoliques de l'HE.

On utilise un vortex pour homogénéiser le mélange, on place les mélanges dans l'obscurité pendant 30 minutes et on mesure la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement le DPPH avec du méthanol. L'absorbance de mélange réactionnel est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Un témoin positif est également utilisé, il est composé de l'acide ascorbique, antioxydant synthétique, en présence du DPPH.

Les échantillons sont testés en trois répétitions pour chaque concentration. La valeur de la concentration inhibitrice 50 (IC50) représente la dose d'HE qui neutralise 50 % des radicaux DPPH. La CI50 est utilisée comme une estimation de l'activité antioxydante par DPPH, et a été estimée par extrapolation en traçant le pourcentage d'inhibition (I %) en fonction des concentrations (C) (Vladimir-Knežević et al., 2014).

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH (I%) a été calculé comme suit (Ghazanfari et al., 2020) :

$$I (\%) = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

6. Évaluation de l'activité antibactérienne des HE

6.1 Choix des souches

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, on a choisi des souches bactériennes lactiques pathogènes qui ont été entretenues par repiquage sur milieu TSB (bouillon Tryptone-Soja) annexe ? pendant vingt-quatre heures à 37°C. Il s'agit de deux bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus* CIP 483 et *Bacillus subtilis* CIP 5262) et trois bactéries Gram négatives (*Escherichia coli* CIP 53126, *Salmonella enterica* CIP 8039 et *Pseudomonas aeruginosa* CIP 82118). Ces différentes souches ont été fournies par l'institut Pasteur de Casablanca (figure 5, 6).



Figure. 5 Souches bactériennes

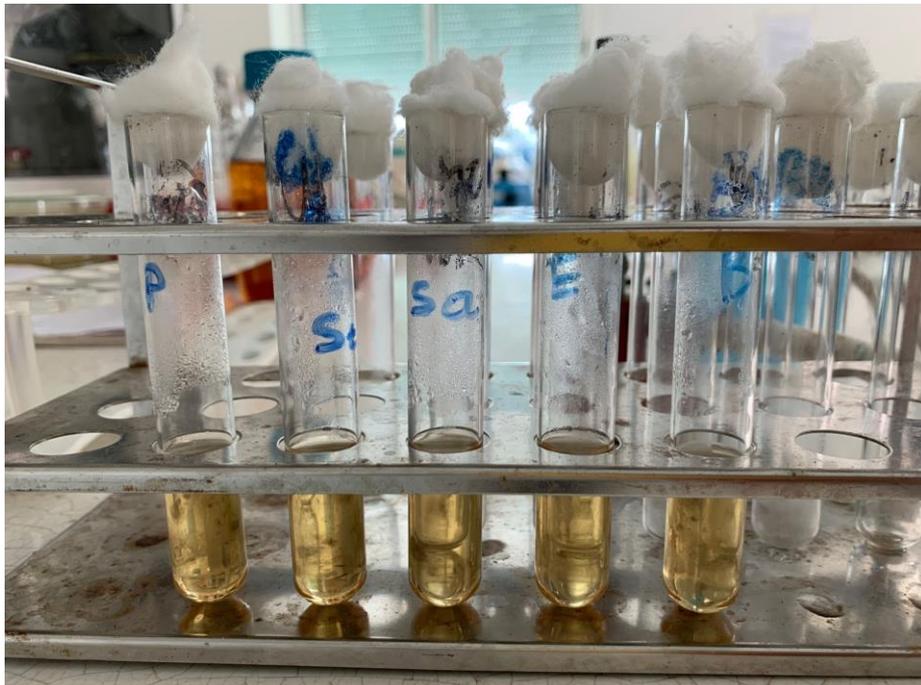


Figure. 6 Bactéries sur milieu TSB

6.2 Microméthode en milieu liquide

La Microméthode en milieu liquide ou bien la méthode en plaque à 96 puits est utilisée pour l'étude de l'activité antibactérienne, le plan des plaques est présenté dans la figure (7) (Fontanay et al., 2015).

15g de TSB est dilué avec 0.5L d'eau distillée le pH est ajusté à 7.3 ; le mélange est bien agité puis mis avec le matériel utilisé dans l'autoclave pendant vingt minutes à 121 °C et refroidi à 45°.

Après avoir déposé 100 µl de milieu de culture liquide TSB dans chacun des 96 puits d'une microplaque stérile, 300 µl de chaque huile essentielle ont été ajoutés dans un premier puits et Une série de dilutions de l'HE dans du DMSO avec un facteur de dilution de 1/2 a été réalisée. Les puits ont ensuite été inoculés avec des suspensions de chaque bactérie préparée extemporanément dans du TSB à une concentration d'environ 5×10^5 unités formant colonie (UFC)/ml. Les microplaques ainsi préparées ont été incubées pendant 24h à 37°C (Deyra et al., 2017). Les CMI ont été définies comme la dilution la plus élevée avec absence de croissance visible.

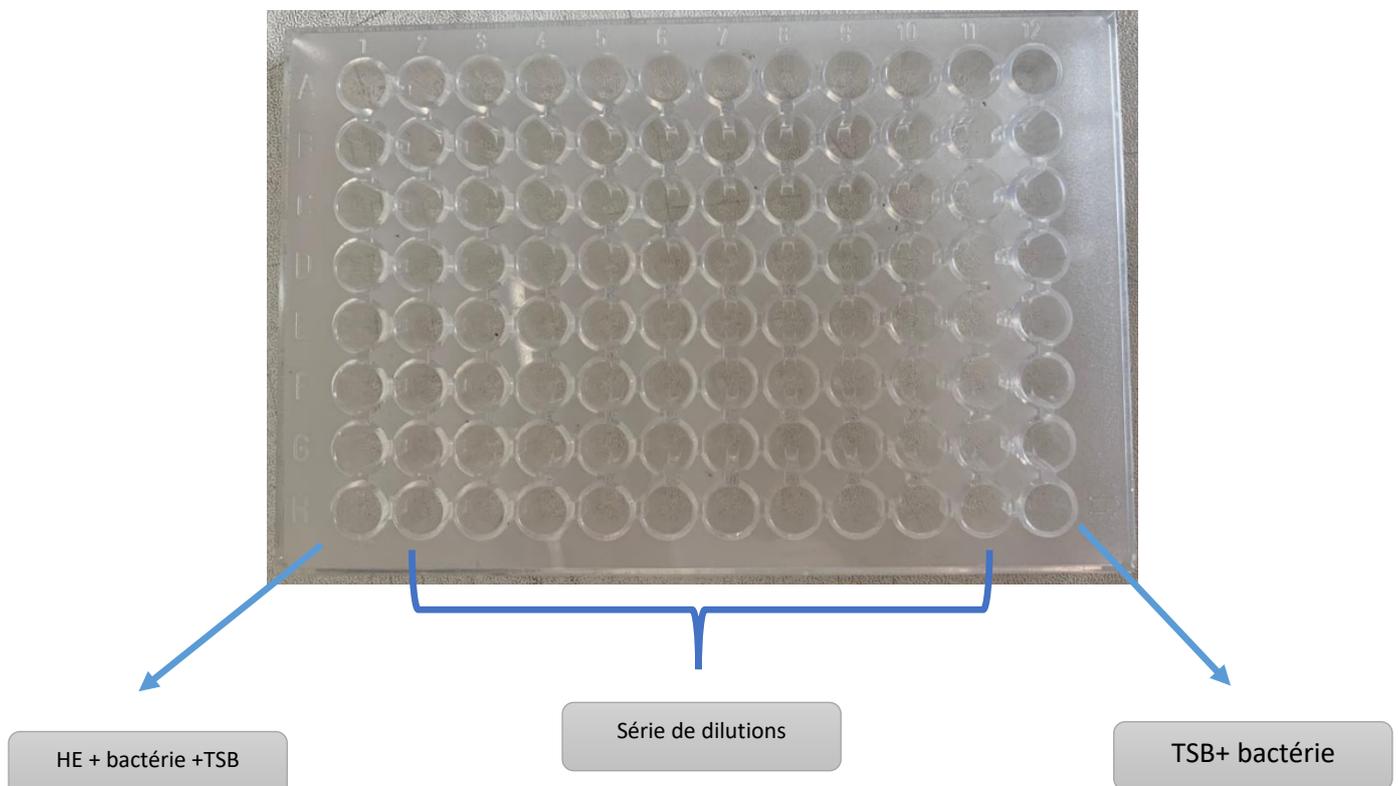


Figure 7. Plan d'une microplaque pour la réalisation de la micro-méthode en milieu liquide (Deyra et al., 2017)

- **La colonne 1** contient du milieu TSB et HE à sa plus forte concentration. Ce témoin permet de mettre en évidence une interaction éventuelle entre un ou des composants du TSB et notre HE. Si l'absorbance est modifiée dans ce témoin, il faudra en tenir compte dans la détermination de la CMI.
- **La colonne 12** contient seulement du TSB et l'inoculum et permet de vérifier que l'absence de croissance dans les autres colonnes n'est pas due à de mauvaises conditions de culture, mais bien à une action de HE sur les bactéries.
- **Les colonnes 2 à 11** correspondent à des concentrations de HE 300 μ l suite à la réalisation d'une gamme de dilution d'ordre 2 et ce pour un volume final de 9.37 μ L.

7. Analyses statistiques

- Les données de l'expérimentation collectées ont été saisies moyennant le tableur Excel ;
- L'ANOVA a été faite par le logiciel SPSS version 21 elle permet de déterminer si les valeurs diffèrent significativement avec un p de 5%.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Rendement des huiles essentielles

Le Tableau (3) représente les résultats des rendements des HE de six populations de *Thymus broussonetii*. Le rendement en HE des différentes accessions ne dépasse pas 1,9%. C'est TBRCP1 qui présente le rendement le plus élevé en comparaison avec les autres accessions. Alors que TBEBP6 est l'accession la moins pourvue en huiles essentielles avec un rendement de 1%. Néanmoins, la plupart des valeurs obtenues sont plus élevées comparées à celles fournies par Ouariachi et al. (2014) qui est de 1,5%.

Ces différences rendements en huiles essentielles peuvent être causées par plusieurs facteurs, à savoir : les conditions climatologiques, les facteurs génétiques, la distribution géographique, la période de collecte et de la méthode d'extraction (Bouyahya and Jamal, 2016). Dans notre cas la différence de rendement observée chez les différentes populations ne peut être attribuée qu'à la région de provenance des échantillons étudiés du fait que toutes les autres conditions sont les mêmes pour l'ensemble des échantillons.

Tableau 3. Rendements de l'extraction des différentes huiles essentielles par hydrodistillation

Accessions	Rendement en %
TBRCP1	1.9
TBROP2	1.64
TBKHP3	1.44
TBKTP4	1.58
TBMWP5	1.8
TBEBP6	1.00

2. Composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées

Les différentes analyses chromatographiques des HE ont permis de quantifier et de détecter les constituants des HE des différents échantillons. Les principaux constituants identifiés et le profil chromatographique de chaque HE sont illustrés par le tableau 4 et les figures (8,9,10,11,12 et 13) et les annexes (1 et 3). On constate que le carvacrol, le o-Cymène sont présents chez les 6 populations avec un pourcentage différent selon les populations. La TBKTP4 est la plus riche en carvacrol avec un pourcentage de 74,33%. La TBEBP6 est la

plus riche en o-Cymène avec un pourcentage de 19,49%. Par ailleurs, d'autres produits ne sont présents que chez certaines accessions c'est le cas du Bornéol et du Gamma Terpinène. Le Thymol Methyl Ether n'a été détecté que chez la population TBRCPI. Enfin, l'Alpha-Pinène est retrouvé chez 5 accessions ; il n'est absent que chez la TBKTP4.

Tableau 4. Composés majoritaires des différentes populations de *Thymus broussonetii*

Huiles essentielles	Composés majoritaires
TBRCPI	Carvacrol (57,08%), o-Cymène (10,28%), Thymol Methyl Ether (8,98%), Gamma-Terpinène (4,30%), Alpha-Pinène (4,45%).
TBROP2	Carvacrol (39,22%), o-Cymène (29,63%), Bornéol (6,50%) et Alpha-Pinène (5,81%).
TBKHP3	Carvacrol (64,03%), GammaTerpinène (7,37%), o-Cymène (5,96%) et Alpha-Pinène (5,41%).
TBKTP4	Carvacrol (74,33%), o-Cymène (6,20%) et Gamma-Terpinène (4,30%).
TBMWP5	Carvacrol (60,93%), o-Cymène (10,70%), Alpha-Pinène (5,40%) et Gamma-Terpinène (3,85%).
TBEBP6	Carvacrol (49,45%), o-Cymène (19,49%), Alpha-Pinène (6,04%) et Bornéol (4,79%).

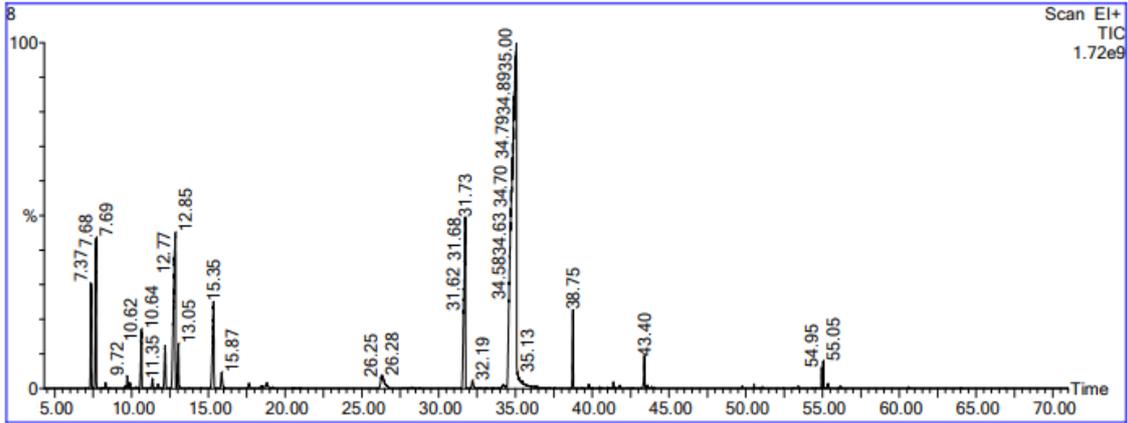


Figure. 8 Profil chromatographique d'HE de TBRCPI

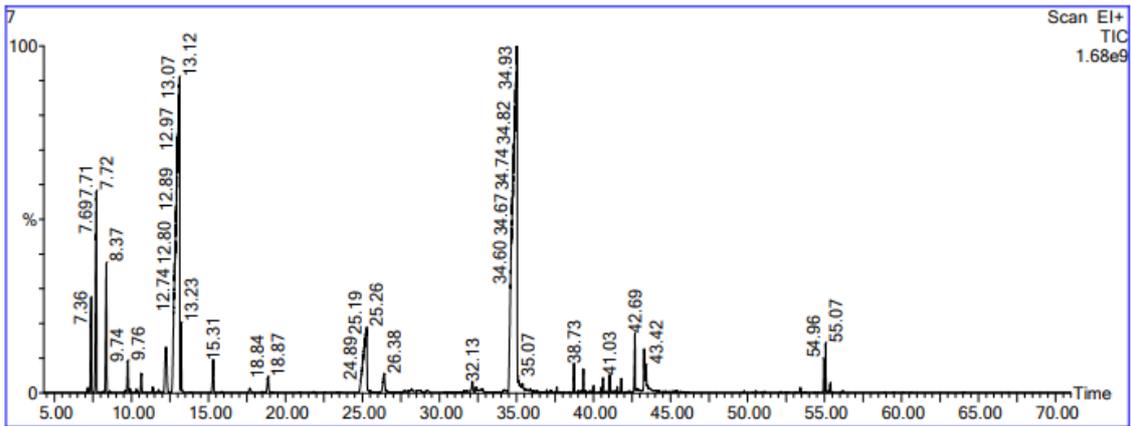


Figure. 9 Profil chromatographique d'HE de TBROP2

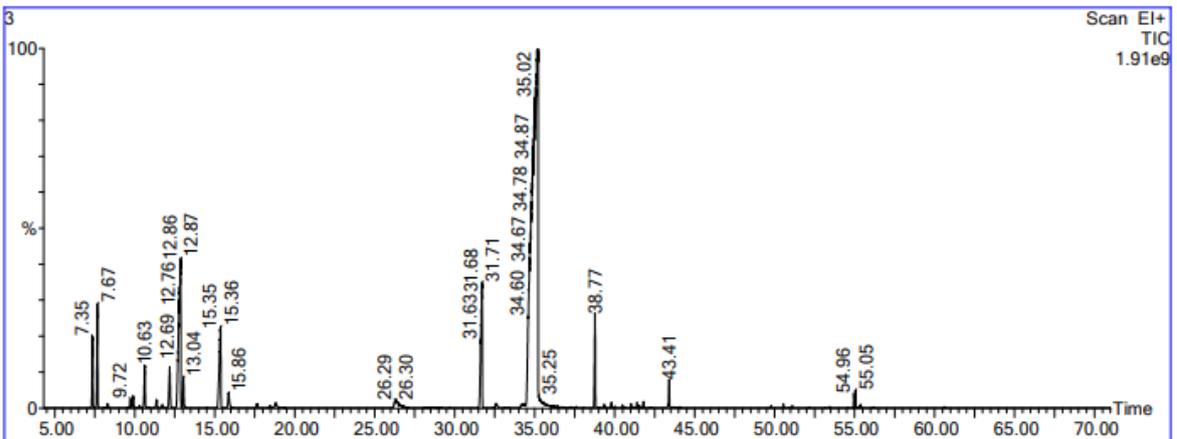


Figure. 10 Profil chromatographique d'HE de TBKHP3

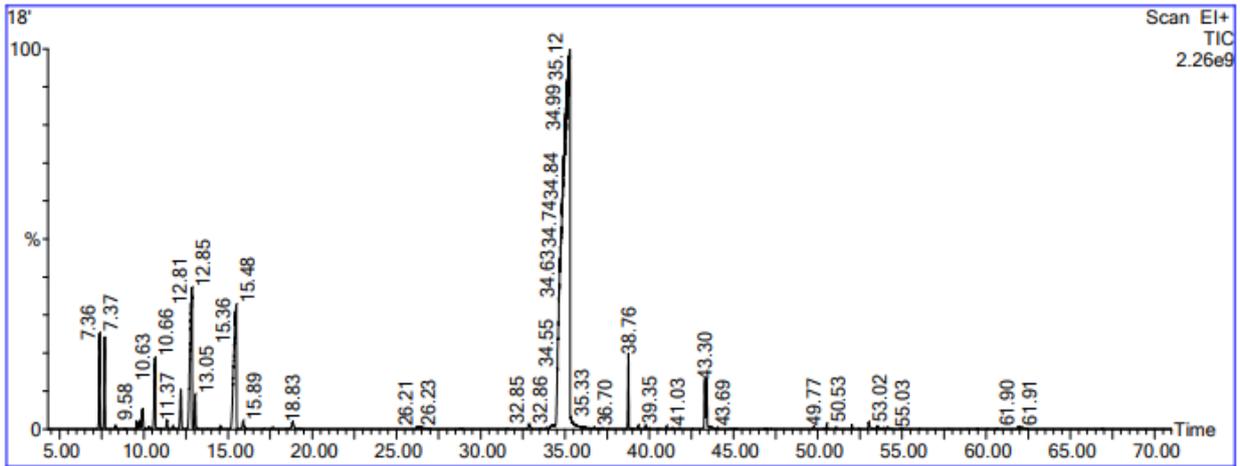


Figure. 11 Profil chromatographique d'HE de TBKTP4

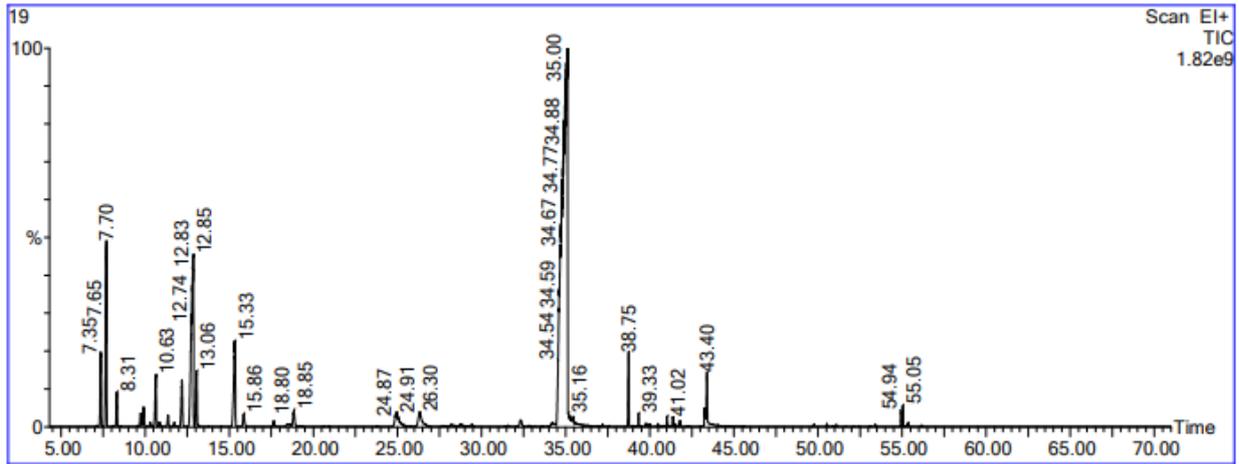


Figure. 12 Profil chromatographique d'HE de TBMWP5

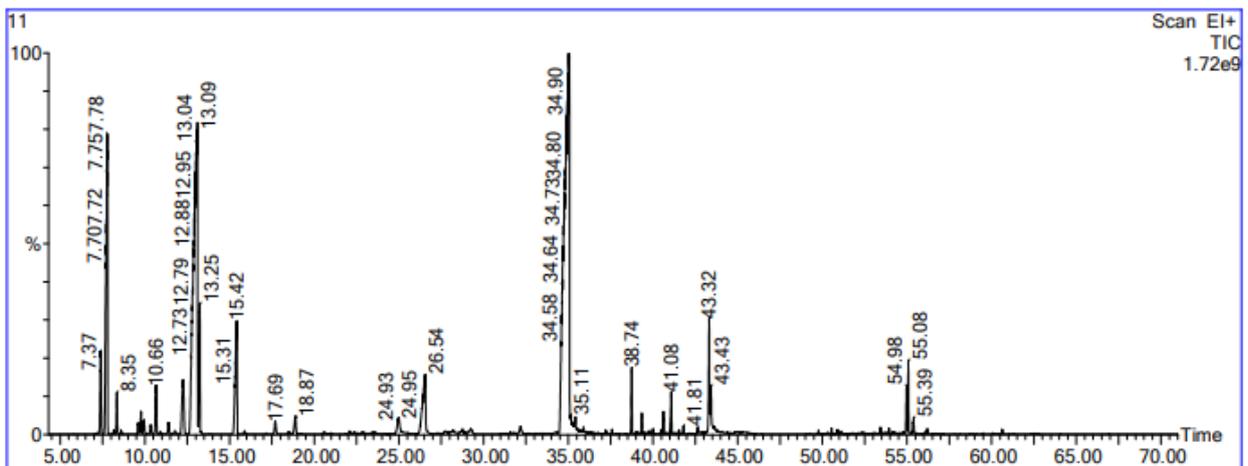


Figure. 13 Profil chromatographique d'HE de TBEBP6

Ces résultats trouvés montrent une diversité importante des différents constituants de ces huiles. Cette diversité est aussi bien qualitative que quantitative. L'analyse chimique de l'HE de *Thymus broussonetii* de ces différentes accessions a montré que le composé majoritaire est le carvacrol avec des pourcentages importants, suivi par l'o-cymène et l'alpha-pinène. Les mêmes résultats ont été trouvés par Tantaoui-Elaraki et al. (1993) carvacrol (53,3%), p-cymène (13,5 %) et de l'a-pinène (8,6 %). Cependant, les travaux de Ouariachi et al. (2014) ont montré une dominance du bornéol (27,6%), p-cymène (20,9%) et carvacrol (15,7%). L'ensemble de ces composés rencontrés chez les accessions étudiées pourront leur attribuer des activités biologiques importantes.

3. Evaluation des propriétés antioxydantes des huiles essentielles

Les activités anti-radicalaires ou les capacités de piégeage des radicaux libres des huiles correspondantes ont été mesurées par la méthode au DPPH. La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition du DPPH par les différentes huiles essentielles extraites des six populations testées. Les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile essentielle. A partir de cette courbe nous avons déterminé la concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC50) qui constitue l'activité antioxydante des huiles essentielles étudiées. Les résultats des activités antiradicalaires sont présentés par les figures (15-20).

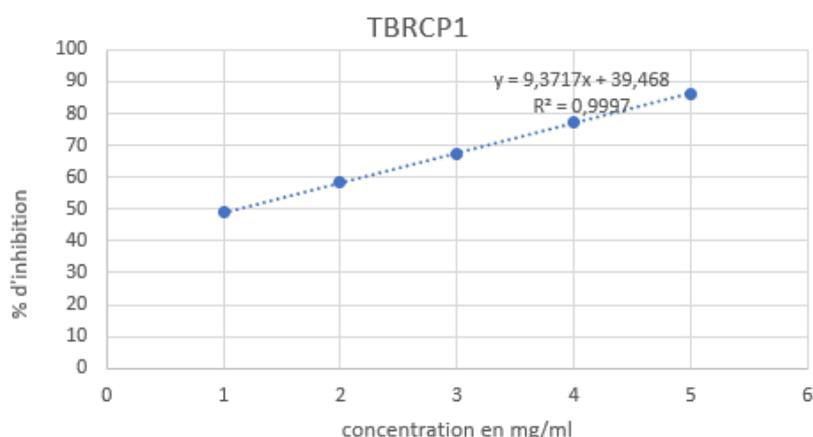


Figure 14. % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBRC1

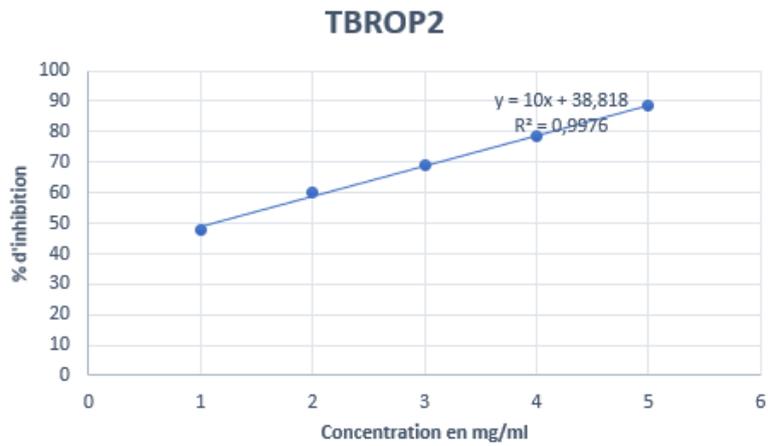


Figure 15. % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBROP2

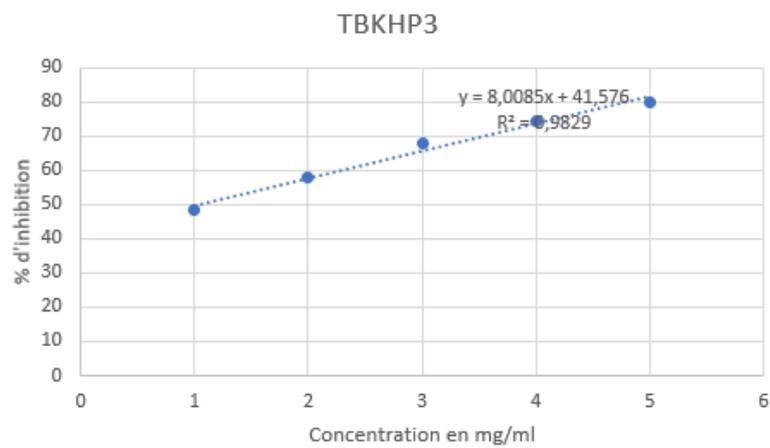


Figure. 16 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBKHP3

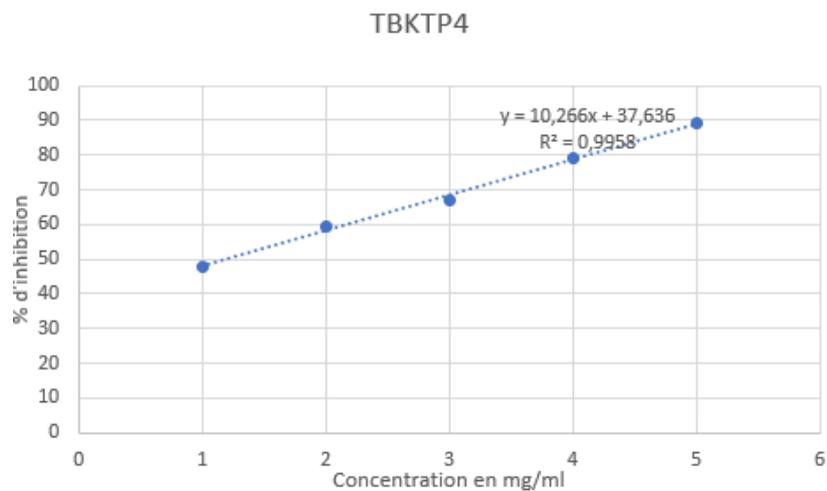


Figure. 17 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBKTP4

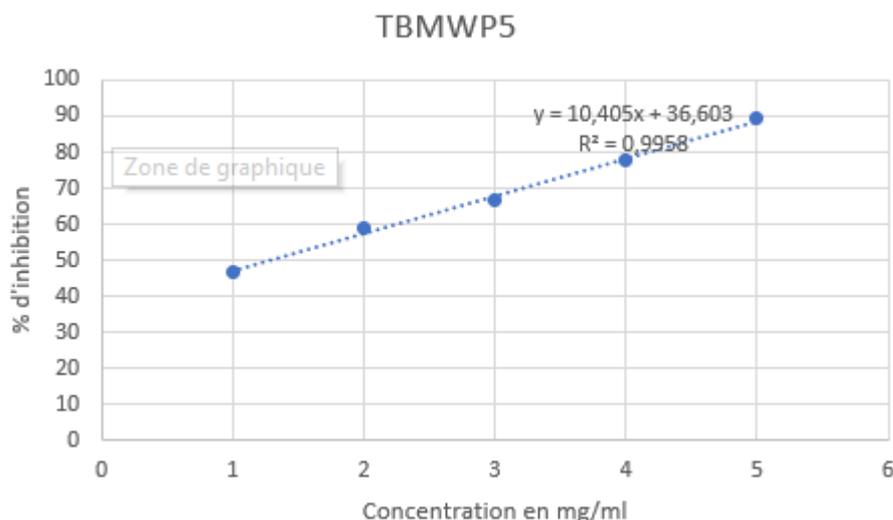


Figure. 18 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE de TBMWP5

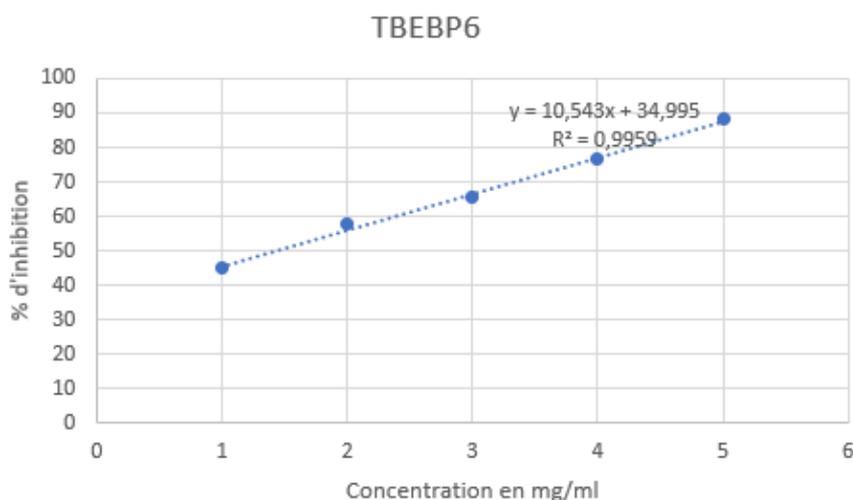


Figure. 19 % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE TBKTP4

Le test a permis de mettre en évidence une activité antioxydante des six populations étudiées avec des valeurs d'IC50 différentes qui sont respectivement TBKHP3 (1,05 mg/ml), TBROP2 (1,11mg/ml), TBRCPI (1,12mg/ml), TBKTP4 (1,21 mg/ml), TBMWP5 (1,29 mg/ml) et TBEBP6 (1,42 mg/ml). Tableau 5 L'analyse statistique (ANOVA) a montré une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents échantillons étudiés (annexe 2). La population qui a montré l'activité la plus importante est TBKHP3 avec un IC50 faible en comparaison avec les autres populations. Cependant, l'ensemble des valeurs trouvés reste supérieur à celle de l'acide ascorbique (antioxydant de référence : 0.13 mg/ml) et aux valeurs données par

Bouzidi et al., (2013) qui ont trouvé que le *Thymus broussonetii* a une IC50 égale à 0,15 mg/ml.

Les HE	IC50
TBKHP3	1,05 mg/ml
TBROP2	1,11mg/ml
TBRCP1	1,12mg/ml
TBKTP4	1,21 mg/ml
TBMWP5	1,29 mg/ml
TBEBP6	1,42 mg/ml

Tableau 5. Concentrations Inhibitrices 50

Il a été déjà démontré que le carvacrol a une activité scavenger de radical DPPH• importante (Aeschbach et al. 1994). Les travaux effectués par Mastelic et al. (2008), ont montré également que le thymol (isomère du carvacrol) qui est un composé de nature phénolique possède une capacité anti-radicalaire importante. De plus, Tepes et ses collaborateurs (2007), ont prouvé que l'un des principaux constituants responsables de l'activité antioxydante des huiles essentielles est le thymol qui est capable de piéger significativement le radical DPPH•. On peut donc attribuer l'activité antioxydante des huiles essentielles des populations étudiées au carvacrol. Ce produit est en effet, présent et à un pourcentage élevé chez toutes les populations. Le thymol et le carvacrol ont un rôle principal comme réducteurs des radicaux libres (Vallano et al. 2007). D'après, Economon et al (1991) la présence de ces standards même à de faibles concentrations dans les huiles essentielles peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH.

Cependant, les huiles essentielles des plantes de la famille des Lamiacées sont connues par leur forte activité antioxydante. D'ailleurs, Bozin et al. (2008) ont mené une étude sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de cette famille. Ils ont constaté que les composés responsables de la réduction de radical DPPH• sont les monoterpènes oxygénés et le mélange des mono- sesquiterpènes hydrocarbonés.

Minica-Dukic et al (2004), ont montré que les composés les plus actifs pour la neutralisation des radicaux DPPH sont les monoterpènes, les sesquiterpènes, les aldéhydes et les cétones. Singh et ses collaborateurs (2009), ont évalué l'activité antioxydante de deux monoterpènes importants (citronellal et β -citronellol) et ont montré une forte activité antioxydante. Ces

composés peuvent être parmi les constituants de nos huiles essentielles. D'une manière générale, ce sont les composés majoritaires des huiles essentielles qui sont responsables d'une forte activité antioxydante. Toutefois, les composés minoritaires peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Lu et al. 2001 ; Sing et al., 2006). (KHIMA Souhila & MERABTI Celia, 2015)

4. Activité antibactérienne

En milieu liquide, la croissance bactérienne se visualise par un trouble bactérien (figure 20). Les résultats des tests antibactériens avec des huiles essentielles de six populations de l'espèce *Thymus broussonetii* sont résumés dans le tableau 6.

Les microorganismes testés mis en présence des huiles essentielles étudiées ont montré une sensibilité à ces huiles. Une inhibition de la croissance de ces microorganismes est notée pour l'ensemble des HE avec une différence en fonction de type d'huile et de la concentration

Les HE ont une efficacité très marquée contre *Bacillus subtilis* et *Salmonella enterica* (CMI de 9.75 $\mu\text{l/ml}$) par contre la souche d'*E-coli* a plus au moins résistante contre l'HE de TBROP1 et TBEBP6 avec une CMI de 37.5 $\mu\text{l/ml}$ pour les deux huiles.

Staphylococcus aureus a révélé une sensibilité contre toutes les populations testées dans une concentration en HE de 9.75 $\mu\text{l/ml}$ et une résistance pour toutes les souches (CMI 18.75 $\mu\text{l/ml}$).

Les huiles essentielles de TBROP1 et TBROP2 ont une faible activité antibactérienne contre la souche de *Pseudomonas aeruginosa* dans les deux concentrations (18.75 $\mu\text{l/ml}$ et 9.75 $\mu\text{l/ml}$) avec une CMI de (37.5 $\mu\text{l/ml}$).

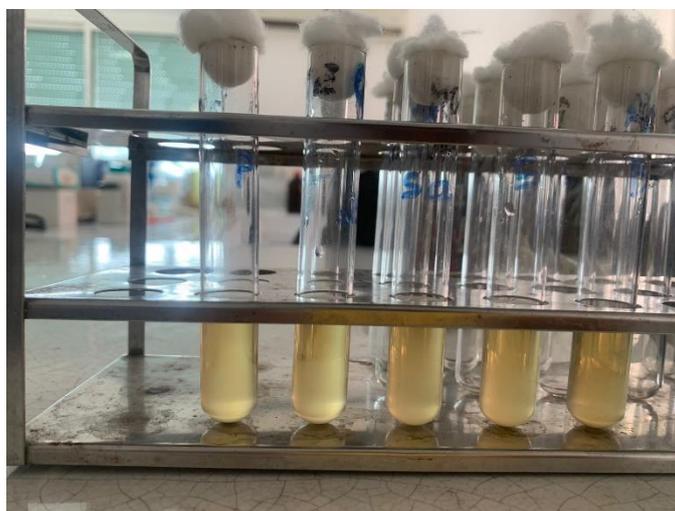


Figure.20 Croissance bactériens présenter par des troubles visibles

Nos résultats sont semblables à ceux de Naceiri Mrabti et al., (2021a) qui ont montré une sensibilité plus importante de *Staphylococcus aureus* comparée à *Escherichia coli* vis-à-vis des huiles essentielles à carvacrol. Aussi les six populations de *Thymus broussonetii* ont une forte activité sur les microorganismes étudiés. L'action des huiles essentielles est due à la concentration élevée du carvacrol et l'Alpha-Pinène, et malgré la petite concentration du thymol et bornéol dans la composition on peut les considérer comme des composés clés qui font la différence entre l'activité de ces HE (Cao et al., 2009).

La plupart des composés sont déjà reconnus pour leur activité antibactérienne. Le thymol et le carvacrol sont les plus bactéricides (Zohary et al., 2004 ; Friedman et al., 2002 ; Aligiannis et al., 2001 ; Dorman et Deans, 2000). Le carvacrol peut également être impliqué dans l'inhibition des processus de transport des électrons, dans le transport intracellulaire des protéines, dans les étapes de phosphorylation et dans d'autres réactions enzymatiques (Burt, 2004 ; Ultee et al., 1999 ; Knobloch et al., 1986). L'Alpha Pinène est aussi considéré comme biocide, avec son précurseur, le o-cymène, un antibactérien faible, mais il agit probablement en synergie avec lui par l'expansion de la membrane, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane (Jamali et al., 2013 ; Cristani et al., 2007 ; Ultee et al., 2002). L' α -terpinène assure aussi, l'inhibition de plusieurs espèces bactériennes (Dorman et Deans, 2000). Il a été prouvé que le bornéol est un composé doté d'un haut pouvoir antimicrobien du fait de sa grande solubilité dans l'eau, ce qui lui confère une haute capacité à traverser les membranes des cellules bactériennes (Tabacana et al., 2003 ; Knobloch et al., 1989). Dans le cas de TBROP2 et TBEBP6 la faible activité antibactérienne peut être due à la faible concentration en carvacrol et en bornéol par rapport aux autres huiles essentielles, et l'existence de limonène connu pour sa faible activité antibactérienne (Knobloch et al., 1989 ; Chalchat et al., 2000).

En plus des composés majeurs, les composants secondaires interagissent entre eux pour donner un effet sur les activités antimicrobiennes des huiles essentielles (Cao et al., 2009 ; Bounatirou et al., 2007 ; Peñalver et al., 2005 ; Chorianopoulos et al., 2004 ; Sokmen et al., 2004). Certaines études ont conclu que les composants mineurs jouent un rôle sur l'activité et peuvent avoir un effet ou une influence sur l'huile essentielle (Rota et al., 2008 ; Gill et al., 2002).

Au cours des dernières années, la recherche de nouvelles techniques et de nouvelles stratégies de gestion des maladies des plantes ont conduit au développement d'études avec des antagonistes des agents pathogènes des plantes (Basan et Basan, 2002 ; Johnson et Dileone,

1999), parallèlement nos tests sur la souche phytopathogène *Salmonella enterica* et *Bacillus subtilis* ont illustré une large sensibilité aux huiles essentielles.

Enfin, plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs tels que : la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le choix des plantes, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblé (Nadia ZAYYAD, 2014)

Tableau 6. Évaluation de l'activité antibactérienne

Bactéries	CMI (V/V)																																					
	300						150						75						37.5						18.75						9.37						T	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6	TN	TP
Bac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
E-coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
Staph	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Pseu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-

(-) inhibition ; (+) croissance ; E-coli : *Echerchia coli* ; Staph : *Staphylococcus aureus* ; Bac : *Bacillus subtilis* ; Sal : *Salmonella enterica* ; Pseu : *Pseudomonas aeruginosa* ; TN : témoin négatif ; TP : témoin positif ; CMI : concentration minimale inhibitrice

Conclusion et perspectives

Le présent travail a visé la détermination du rendement, de la composition chimique et des propriétés antibactériennes et antioxydantes des huiles essentielles de six accessions de *Thymus broussonetii* Boiss une Lamiaceae endémique du Maroc. Les accessions testées proviennent de différentes régions du Maroc : Rabat chtatba, Rabat oumazza, khémisset houdrane, khémisset tafilalt, Méknes walili et Essaouira bounouh et cultivées dans la région de l'khemisset.

Les résultats ont montré que les six populations sont différemment pourvues en huiles essentielles, La population de Rabat chtatba présente le rendement le plus élevé en HE avec un pourcentage de 1.9%, Alors que Essaouira bounouh est la population la moins pourvue en huiles essentielles avec un rendement de 1%.

La chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse a permis d'identifier la composition chimique des différentes huiles essentielles. L'analyse chromatographique des HE a ainsi permis de constater que le carvacrol et l'o-Cymène sont présents dans les 6 populations avec un pourcentage différent. En effet, la population de Khémisset Tafilalt est la plus riche en carvacrol avec un pourcentage de 74,33%. La population d'Essaouira Bounouh est la plus riche en o-Cymène avec un pourcentage de 19,49%. Par ailleurs, d'autres produits comme le Bornéol et le GammaTerpinène ne sont présents que dans certaines populations. Le Thymol Methyl Ether a été détecté uniquement dans la population de Rabat chtatba. De plus, l'Alpha-Pinène a été trouvé dans les 5 populations ; il était absent seulement dans la population de Khémisset Tafilalt.

L'étude de l'activité antioxydante des HE selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré que toutes les huiles étudiées possèdent une activité antioxydante modérée différentes selon les populations. L'huile la plus active est celle extraite d'avec une IC50 de 1,05 mg/ml et la moins active c'est de Essaouira bounouh avec une IC50 de 1,42 mg/ml.

Les huiles essentielles étudiées sont des antibactériens naturels, mais avec des différents degrés d'efficacité selon la population et la bactérie testée. Les HE de d'Essaouira Bounouh, et Rabat oumazza ont montré une activité moins importante avec des CMI 18.75 µl/ml et 37.5 µl/ml, En revanche les HE de khémisset houdrane, khémisset tafilalt et Méknes walili ont une forte activité antibactérienne avec une CMI de 9.75 µl/ml.

Au terme de ce travail on peut dire que les différentes populations ont montré une diversité importante des composés chimiques de leurs huiles essentielles qui ont conféré à ces accessions des activités biologiques importantes pouvant être exploités dans de nombreux domaines tels que l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Une valorisation de ces populations peut constituer une perspective plausible a la poursuite de ce travail. On peut également envisager du rendement en huile essentielle par l'amélioration des techniques d'extractions des huiles essentielles. D'autres perspectives peuvent être visés comme par exemples l'extraction et l'identification d'autres composés actifs en dehors des huiles essentielles à l'en cours le teste de l'activité biologique de la plante entière afin de bénéficier de la synergie éventille entre les différents constituants de la plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Amjad. (2005). Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the development of pharmaceutical products from medicinal plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR), 10: 59-
- Benyahia S. (2015). Activités antimicrobiennes et insecticides de thymus capitalus, Daucus crinitus et tetraclinis articulata sur la mineuse Tuta absoluta (Myrick) et la microflore pathogène de la tomate lycopersicum esculentum, thèse de Doctorat. p2
- Bhardwaj, V. K., Singh, R., Sharma, J., Rajendran, V., Purohit, R., & Kumar, S. (2020). Identification of bioactive molecules from tea plant as SARS-CoV-2 main protease inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1766572>
- Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(2), 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>
- Bouiamrine, E. H., Bachiri, L., Ibjibijen, J., Nassiri, L., El, C., Bouiamrine, H., & Bachiri, L. (2017). Ethnobotanique View project Câprier View project Fresh medicinal plants in middle atlas of Morocco: Trade and threats to the sustainable harvesting. *Article in Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(123), 123–128. <https://www.researchgate.net/publication/316463698>
- BRUNETON Jean. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed). tec et doc 11 rue la voiser 75008 paris , médicales internationaux allée de la croix bossée 94234cachance cedex .
- Chaachouay, N., Benkhiguel, O., Khamar, H., & Zidane, L. (2020). Chaachouay et al Ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants used in the treatment of genito-urinary diseases in the Moroccan Rif. *J. Mater. Environ. Sci*, 2020(1), 15–29. <http://www.jmaterenvironsci.com>
- Dastidar S.G., Manna A., Kumar KA., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabatary A.N., M. N. & S. Y. (2004). Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23, 99–102.
- Deyra, B., Guinobert, I., Feuillolay, C., Haddioui, L., Roques, C., & Brochot, A. (2017). Effet antimicrobien et sur le mal de gorge d'un spray à base d'extraits de sauge et de sureau, d'huile essentielle de menthe poivrée, de miel et de zinc. *Phytotherapie*, 15(4), 203–210. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1155-7>
- el Bouzidi, L., Jamali, C. A., 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. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.063>
- Elberling, J., Skov, P. S., Mosbech, H., Holst, H., Dirksen, A., & Johansen, J. D. (2007). Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. *Clinical and Experimental Allergy*, 37(11), 1676–1680. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02824.x>
- Fontanay, S., Mougénot, M.-E., & Duval, R. E. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel*, N° 2(2), 109–118. <https://doi.org/10.3917/heg.052.0109>

Hayakawa, R. (1987). Contact Dermatitis,

16: 272-274.

- KHIMA Souhila & MERABTI Celia. (2015). *Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Calamintha officinalis et Abies numidica*.
- Lamrani-Alaoui, M., & Hassikou, R. (2018). Rapid risk assessment to harvesting of wild medicinal and aromatic plant species in Morocco for conservation and sustainable management purposes. *Biodiversity and Conservation*, 27(10), 2729–2745. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1565-3>
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7292–7295. <https://doi.org/10.1021/jf0344385>
- Mahmout. (1992). Contribution à l'étude de quelques aromates et condiments utilisés au Tchad. Thèse de Doctorat: Université des sciences et techniques de Languedoc, Montpellier II.
- Meynadier, J. M., Raison-Peyron, N., Meunier, L., & Meynadier, J. (1997). Allergie aux parfums. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 37(5), 641–650. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(97\)80062-7](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(97)80062-7)
- Naceiri Mrabti, H., Doudach, L., el Menyiy, N., Bourhia, M., Mohammad Salamatullah, A., Reda Kachmar, M., Belmehdi, O., el Moudden, H., Naceiri Mrabti, N., Harhar, H., el Omari, N., & Bouyahya, A. (2021a). Phytochemistry and Pharmacology of *Thymus broussonetii* Boiss. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2021). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/6350035>
- Naceiri Mrabti, H., Doudach, L., el Menyiy, N., Bourhia, M., Mohammad Salamatullah, A., Reda Kachmar, M., Belmehdi, O., el Moudden, H., Naceiri Mrabti, N., Harhar, H., el Omari, N., & Bouyahya, A. (2021b). Phytochemistry and Pharmacology of *Thymus broussonetii* Boiss. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2021). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/6350035>
- Nadia ZAYYAD, A. F. et J. B. (2014). *Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of Thymus: Thymus zygis, T. algeriensis, and T. bleicherianus*.
- Ouariachi, E. mokhtar el, Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., 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 Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4), 281–286. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60573-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60573-9)
- Ouziki, M., & Taiqui, L. (2016). Evaluation Exhaustive De La Diversité Des Plantes Aromatiques Et Médicinales De La Péninsule Tingitane (Maroc). *European Scientific Journal, ESJ*, 12(15), 210. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n15p210>
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. In *Pharmacognosy Reviews* (Vol. 6, Issue 11, pp. 1–5). <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- Saha, A., & Basak, B. B. (2020). Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. In *Industrial Crops and Products* (Vol. 145). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111979>
- Schnuch, A. W. U. (2006). . Studies of the importance of airborne contact allergens in the onset of contact dermatitis. Federal Environment Agency.

- Randrianarivelo, R. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « cinnamosma fragrans », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. P :45.
- Razafindrakoto, B. S. (1988). Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar variabilité de la composition chimique et des rendements en fonction de la période de récolte, essais de classement chimiotaxonomique et propriétés pharmacologiques. Thèse de doctorat en chimie organique, min.
- Tantaoui-Elaraki, A., Lattaoui, N., Errifi, A., & Benjilali, B. (1993). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential oils of *Thymus broussonettii*, *T. zygis* and *T. satureioides*. *Journal of Essential Oil Research*, 5(1), 45–53. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698169>
- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>
- Vladimir-Knezevic, S., Blazekovic, B., Kindl, M., Vladic, J., Lower-Nedza, A. D., & Brantner, A. H. (2014). Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the lamiaceae family. *Molecules*, 19(1), 767–782. <https://doi.org/10.3390/molecules19010767>
- ZRIRA. (2017). *Plan d'action de l'ENEV au Maroc_Cas des plantes médicinales et aromatiques*.

Annexes

Annexe 1 : résultats de test d'ANOVA

PI A

ANOVA à 1 facteur

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	3580,213	4	895,053	16555,643	,000
Intra-groupes	,811	15	,054		
Total	3581,024	19			

PI

Student-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	48,7200				
2,00	4		58,6050			
3,00	4			67,2825		
4,00	4				77,5575	
5,00	4					86,5350
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

PI B

ANOVA à 1 facteur

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	4084,305	4	1021,076	11799,803	,000
Intra-groupes	1,298	15	,087		
Total	4085,603	19			

PIStudent-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	47,5950				
2,00	4		59,5975			
3,00	4			69,2175		
4,00	4				78,4175	
5,00	4					88,6525
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

PI C**ANOVA à 1 facteur**

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	2529,650	4	632,412	8779,239	,000
Intra-groupes	1,081	15	,072		
Total	2530,730	19			

PIStudent-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	48,4125				
2,00	4		57,6775			
3,00	4			67,5350		
4,00	4				74,2825	
5,00	4					79,5700
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

PI D**ANOVA à 1 facteur**

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	4200,345	4	1050,086	13926,567	,000
Intra-groupes	1,131	15	,075		
Total	4201,476	19			

PIStudent-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	47,7475				
2,00	4		59,5350			
3,00	4			66,3875		
4,00	4				78,4250	
5,00	4					89,3875
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

PI E**ANOVA à 1 facteur**

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	4399,872	4	1099,968	21446,051	,000
Intra-groupes	,769	15	,051		
Total	4400,641	19			

PIStudent-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	46,4750				
2,00	4		58,6200			
3,00	4			66,4625		
4,00	4				77,4375	
5,00	4					89,3950
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

PI F

ANOVA à 1 facteur

PI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	4566,012	4	1141,503	27303,238	,000
Intra-groupes	,627	15	,042		
Total	4566,639	19			

PI

Student-Newman-Keuls^a

C	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1,00	4	44,6175				
2,00	4		57,6825			
3,00	4			65,6200		
4,00	4				76,7375	
5,00	4					88,3950
Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 4,000.

