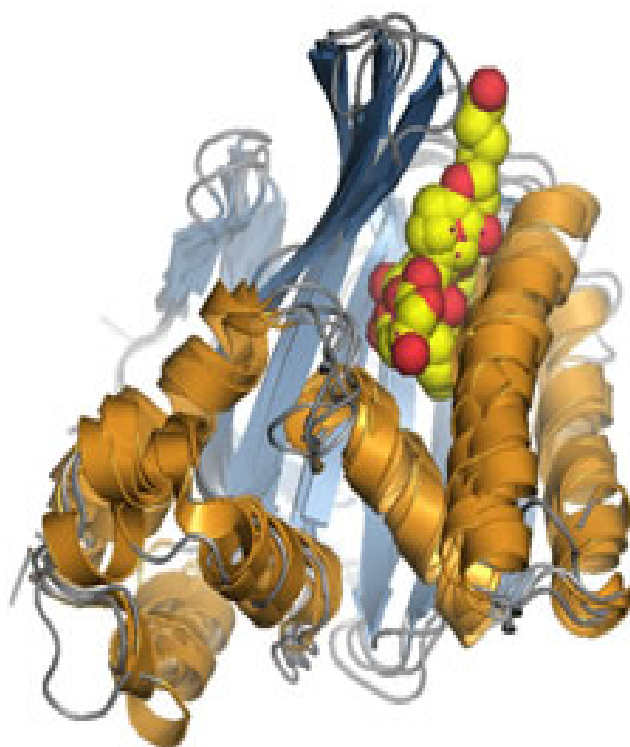


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 8 N° 1, 2 & 3

2014

PhytoChem & BioSub Journal (PCBS Journal) is a peer-reviewed research journal published by Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory. The PCBS Journal publishes innovative research papers, reviews, mini-reviews, short communications and technical notes that contribute significantly to further the scientific knowledge related to the field of Phytochemistry & Bioactives Substances (Medicinal Plants, Ethnopharmacology, Pharmacognosy, Phytochemistry, Natural products, Analytical Chemistry, Organic Synthesis, Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Chemistry, Biochemistry, Computational Chemistry, Molecular Drug Design, Pharmaceutical Analysis, Pharmacy Practice, Quality Assurance, Microbiology, Bioactivity and Biotechnology of Pharmaceutical Interest)

It is essential that manuscripts submitted to PCBS Journal are subject to rapid peer review and are not previously published or under consideration for publication in another journal. Contributions in all areas at the interface of Chemistry, Pharmacy, Medicine and Biology are welcomed.

Editor in Chief

Pr Abdelkrim CHERITI

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory

Co-Editor

Pr Nasser BELBOUKHARI

Bioactive Molecules & Chiral Separation Laboratory

University of Bechar, 08000, Bechar, Algeria

Editorial Board

Afaxantidis J. (France), Akkal S. (Algeria), Al Hamel M. (Morocco), Allouch A. (Lebanon), Aouf N. (Algeria), Asakawa Y. (Japan), Atmani A. (Morocco), Awad Allah A. (Palestine), Azarkovitch M. (Russia), Baalioumer A. (Algeria), Badjah A.Y. (KSA), Balansard G. (France), Barkani M. (Algeria), Belkhiri A. (Algeria), Benachour D. (Algeria), Ben Ali Cherif N. (Algeria), Benayache F. (Algeria), Benayache S. (Algeria), Benharathe N. (Algeria), Benharref A. (Morocco), Bennaceur M. (Algeria), Bensaid O. (Algeria), Berada M. (Algeria), Bhalla A. (India), Bnouham M. (Morocco), Bombarda E. (France), Boucekara M. (Algeria), Boukebouz A. (Morocco), Boukir A. (Morocco), Bressy C. (France), Chehma A. (Algeria), Chemat F. (France), Chul Kang S. (Korea), Dadamoussa B. (Algeria), Daiche A. (France), Daoud K. (Algeria), De la Guardia M. (Brazilia), Dendoughi H. (Algeria), Derdour A. (Algeria), Djafri A. (Algeria), Djebar S. (Algeria), Djebli N. (Algeria), Dupuy N. (France), El Abed D. (Algeria), EL Achouri M. (Morocco), El Hatab M. (Algeria), El Omar F. (Lebanon), Ermel G. (France), Esnault M. A. (France), Govender P. (South Africa), Jouba M. (Turkey), Hacini S. (Algeria), Hadj Mahamed M. (Algeria), Halilat M. T. (Algeria), Hamed El Yahia A. (KSA), Hamrouni A. (Tunisia), Hania M. (Palestine), Iqbal A. (Pakistan), Gaydou E. (France), Ghanmi M. (Morocco), Gharabli S. (Jordan), Gherraf N. (Algeria), Ghezali S. (Algeria), Gouasmia A. (Algeria), Greche H. (Morocco), Kabouche Z. (Algeria), Kacimi S. (Algeria), Kajima J.M. (Algeria), Kaid-Harche M. (Algeria), Kessat A. (Morocco), Khelil-Oueld Hadj A. (Algeria), Lahreche M.B. (Algeria), Lanez T. (Algeria), Leghseir B. (Algeria), Mahiuo V. (France), Marongu B. (Italia), Marouf A. (Algeria), Meddah B. (Morocco), Melhaoui A. (Morocco), Merati N. (Algeria), Mesli A. (Algeria), Mushfik M. (India), Nefati M. (Tunisia), Ouahrani M. R. (Algeria), Oueld Hadj M.D. (Algeria), Pons J.M. (France), Radi A. (Morocco), Rahmouni A. (Algeria), Reddy K.H. (South Africa), Reza Moein M. (Iran), Rhouati S. (Algeria), Roussel C. (France), Saidi M. (Algeria), Salgueiro L.D (Portugal), Salvador J. A. (Spain), Seghni L. (Algeria), Sharma S. (India), Sidiqi S. K. (India), Souri E. (Turkey), Tabcheh M. (Lebanon), Tabti B. (Algeria), Taleb S. (Algeria), Tazerouti F. (Algeria), Vantuyne N. (France), Villemin D. (France), Yayli N. (Turkey), Youcefi M. (Algeria), Ziyat A. (Morocco), Zouieche L. (Algeria), Zyoud A.H. (Palestine).

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768

PCBS Journal

*PCBS
Journal*

Volume 8 N° 3

2014



Edition LPSO
Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr

Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie

L. SIDALI¹, M. BRADA¹, M-L FAUCONNIER² & G. LOGNAY³

¹ Laboratoire de Valorisation des Substances Naturelles,
Université de Khemis-Miliana, Route de Theniet El Had, 44225, Algeria

² Unité de Chimie Générale et Organique

³ Unité de Chimie Analytique
Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 2
Passage des Déportés, B-5030 Gembloux, Belgium

Received: December 16, 2013; Accepted: April 23, 2014

Corresponding author Email lamia_sidali@hotmail.com

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbsj/2014.8.3.156

Résumé. Ce travail vise à l'étude de la composition chimique et de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis de cinq microorganismes (*S.P. Sterptococcus*, *staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Klebscila* et *condidat albicans*). La composition chimique de l'huile essentielle isolée par hydrodistillation des parties aériennes de *Thymus vulgaris* a été analysée par GC/MS. Vingt-cinq composés représentant 98.6% de la composition chimique globale. Les constituants majoritaires sont le carvacrol (55,2%), γ -terpinene (12,6%), *p*-cymene (9,3%), linalol (3,9%) et le α -terpinene (2,8%). L'huile essentielle extraite a montré une forte activité antibactérienne et antifongique due principalement à la richesse de cette essence en carvacrol connu pour son efficacité contre tous les microorganismes testés. Ce travail rentre dans le cadre plus global de la mise en valeur des plantes aromatiques et médicinales d'Algérie.

Mots clé : *Thymus vulgaris*, hydrodistillation, huile essentielle, activité antimicrobienne, carvacrol.

Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* Essential Oils from North Algeria

Abstract. Twenty five constituents were identified by GC MS analysis of essential oils from *Thymus vulgaris*. The main compounds identified were carvacrol (55,2%), γ -terpinene (12,6%), *p*-cymene (9,3%), linalol (3,9%) and α -terpinene (2,8%). The obtained Essential oils exhibited antibacterial and antifungal activities against *S.P. Sterptococcus*, *staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Klebscila* and *condidat albicans*

Key Words: *Thymus vulgaris*, hydrodistillation, Essential oils, antimicrobial activity, carvacrol

1. Introduction

La littérature disponible avec des rapports concernant l'identification, la caractérisation et la détermination de la composition chimique, et les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de l'espèce *Thymus* ainsi que leurs applications dans

diverses préparations commerciales principalement en tant qu'agents antimicrobiens, antifongique et anti-oxydant [1-2].

Le genre *Thymus* regroupe en grand nombre d'espèce, sous espèce et variétés des plantes sauvages. Plusieurs de ces espèces sont caractérisées de l'aire méditerranéenne. Elles sont utilisées à l'état frais ou sec comme plante culinaire. Leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans la médecine alternative grâce à leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiens [3-4].

Thymus vulgaris L (Thym commun) est une Labiacée vivace de la région méditerranéenne, est une plante aromatique et médicinale, d'une augmentation économique importante de l'Amérique du Nord, l'Europe, l'Afrique du Nord et en Asie [5]

En Algérie plusieurs travaux ont été effectués sur l'étude du profil chimique de l'huile essentielle de *Thymus*. Dans ce contexte l'objectif de ce travail est la caractérisation de la composition chimique et l'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matière végétale

La matière végétale est constituée des feuilles de *Thymus vulgaris* récoltées en mois de Mars jusqu'au mois de Mai, au niveau de la région d'Oued El-Chorfa de 500 m d'altitude, située de 55 Km à l'Est de la wilaya de Ain défla.

Les échantillons ont été identifiés par le professeur « Kara Hacen Tahar » spécialiste en phytotechnie au niveau de la faculté des sciences de la terre et de l'univers et des sciences naturelles à l'université de Khemis-Miliana.

2.2. Extraction des huiles essentielles

Des fractions d'environ 500g de feuilles séchées à température ambiante au laboratoire jusqu'à la stabilisation du poids de la matière végétale.

Les feuilles de *Thymus vulgaris* fraîches et sèches ont été soumises à une hydrodistillation de type Clevenger.

L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation, l'essence ainsi obtenue est mise dans des petits flacons en verre coloré et stockées à 4°C. Le rendement d'extraction calculé par rapport au poids de la matière végétale avant extraction.

2.3. L'analyse de la composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le spectromètre de masse, Agilent 5973 à quadripôle est couplé à un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890. La colonne capillaire 5% Phényl Méthyl Siloxane possède les caractéristiques suivantes (longueur : 30 m ; diamètre interne : 0,25 mm ; épaisseur du film : 0,25 µm). Les conditions opératoires sont :

- La température de l'injecteur splitless : 250 °C ;
- La programmation de température : de 40 °C à 250 °C à raison de 6 °C/min ;
- Le gaz vecteur : He à 1 ml/min (vitesse linéaire moyenne = 36 cm/sec) ;

Les températures de la source et du quadripôle sont fixées à 230 °C et 150 °C respectivement ; énergie d'ionisation 70 eV, gamme de masse : 35 à 400 amu. L'identification des différents constituants est réalisée à partir de leurs spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standards de la banque de données informatisées (Wiley 275.L) [6]. Pour

les hydrocarbures terpéniques diverses confirmations sont obtenues par comparaison des spectres de masse et de leurs indices de rétention selon Kovats donnés par la littérature [6-7]

2.4. L'activité biologique d'huile essentielle

L'huile essentielle a été testée individuellement contre un panneau des microorganismes (*S.P. Streptococcus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebscila et condidat albicans*).

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. Après 18h d'incubation à 37°C des suspensions microbiennes d'une densité optique de 1McFarland ont été préparées pour chaque microorganisme, dans 10ml d'une solution saline d'eau physiologique stérile (0,9 % Na cl).

2.5. Testes antimicrobiens

L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été déterminé par la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier [8], qui permet d'évaluation qualitative de notre huile essentielle « effet de l'huile pure », et l'évaluation quantitative de cette dernière, cette méthode a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis de notre extrait brut. Brièvement, la gélose appropriée a été coulée dans des boîtes de pétri de 9mm de diamètre, chaque souche a étéensemencée par inondation sur ces boîtes pétries contenant le milieu Muller-Hinton (M.H.A) pour les bactéries et le Sabouraud pour les levures. La surface des boîtes a été séchée sous l'aire libre avec le couvercle des boîtes légèrement ouvertes.

Des disques de papier Whatman stérile de 9mm de diamètre ont été imprégnés de 20µl d'huile de *Thymus vulgaris*, puis ont été déposés à la surface des milieux de culture avec des différentes souches pendant 24 heures [9]

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure de la zone d'inhibition de croissance en millimètres.

2.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMT) de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Une solution mère d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été diluée au 9/10^{ème} (0,9ml d'H.E a été diluée dans 0,1ml de Tween 80), puis une série de dilution a été réalisée extemporanément en Tween 80, à partir de la solution mère. La gamme de concentration finale ainsi obtenue correspond à : 0,75 – 0,5 – 0,25 – 0,0625 et 0,0132%.

Des disques de papier Whatman stérile de 9mm de diamètre ont été imprégnés de 20µl des différentes dilutions, puis ont été déposés à la surface des milieuxensemencés avec les différentes souches bactériennes, l'ensemble a été incubé à 37°C pendant 24h.

3. Résultats et discussions

3.1. Rendement d'huile essentielle :

L'huile essentielle de couleur jaune a été obtenue par hydrodistillation des feuilles fraîches et sèches avec des rendements respectivement variant de 0,45 à 0,74% et de 0,96 à 2,7% (Tableau. 1).

Le rendement s'améliore en fonction de la période de l'inflorescence qui correspond au début du mois de Mai, de plus l'hydrodistillation de la matière végétale sèche et fraîche montre qu'à l'état sec les rendements sont meilleurs que ceux de la matière fraîche.

Tableau.1: Évaluation du rendement en huiles essentielles de *Thymus vulgaris* durant les mois Mars, Avril, Mai.

Période de récolte	Rendement en huile essentielle de la matière végétale fraîche en %	Rendement en huile essentielle de la matière végétale sèche en %
Mars	0.45	0.96
Avril	0.64	1.94
Mai	0.74	2.7

3.2. La composition chimique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Les résultats des analyses qualitatives et quantitatives d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (Tableau. 2) permis d'identifier 25 composés qui représentent 98.6% du totale d'extrait d'huile essentielle.

Tableau 2. Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*.

Pic	Temps de rétention (min)	Composants	Teneur (%)
1	8.342	α -Thujene	2.2
2	8.517	α -Pinene	2.9
3	9.667	β -Pinene	0.3
4	9.764	1-Octen-3-ol	0.3
5	10.068	Myrcene	2.0
6	10.436	α - Phellandrene	0.3
7	10.791	α-Terpinene	2.7
8	11.056	p-Cymene	9.2
9	11.147	Limonene	1.1
10	12.071	γ-Terpinene	12.6
11	12.296	cis Sabinene hydrate	0.5
12	13.234	Linalol	3.8
13	15.496	Terpinen-4-ol	0.3
14	16.026	trans Sabinene hydrate	0.2
15	17.318	Carvacrol methyl ether	1.4
16	17.506	Inconnu	0.4
17	18.701	Thymol	1.5
18	19.199	Carvacrol	55.1
19	19.302	Inconnu	0.4
20	21.809	α -Gurjunene	0.3
21	22.068	β -Caryophyllene	0.6
22	23.955	Leden	0.2
23	24.226	β - Bisabolene	0.2
25	25.945	Spathulenol	0.1

Cette huile a été caractérisée par une très forte proportion de monoterpènes (97,64%), ceux surtout oxygénés (63,21%), dans laquelle le *Carvacrol* (55,2%), le *Linalol* (3,9%) ont été les principaux composants avec un teneur faible en Thymol (1,5%). La fraction de monoterpènes hydrocarbonés formée (34,01%) d'huile essentielle représentée par le γ -*terpinène* (12,5%), le *p-cymène* (9,2%) et le α -*pinène* (2,92%) en tant que principaux constituants. En revanche, la fraction sesquiterpénique était plus faible (2,4%). Les résultats précédents ont montré que notre huile a été caractérisée par la présence de cinq composés dominant, le Carvacrol (55,2%), γ -terpinène (12,5%), le *p-cymène* (9,2%), le *Linalol* (3,9%) et le α -*pinène* (2,9%). Ces composés ont déjà été trouvés en tant que constituants de la plupart des huiles essentielles de *Thymus* [10-12].

3.3. Activité antimicrobienne

Les résultats du test de l'effet antimicrobien sont résumés dans le (Tableau. 3). L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* représente une activité antimicrobienne intéressante vis-à-vis des bactéries et levure testées sauf *SP.Streptococcus* qui se révèle un peu résistante avec une concentration minimale d'inhibition de 75% (V/V), Ainsi, la concentration de 25% (V/V) a été suffisante pour arrêter la croissance des autres bactéries testées (*Staphylococcus aureus*, *Klebsciella* et *E.coli*).

La levure testée *candidat albicans* a montré une sensibilité équivalente à l'H.E avec les trois bactéries précédentes, où une concentration de 25%(V/V) était suffisante pour inhiber leur croissance.

L'activité antimicrobienne de notre huile essentielle est due aux différents agents chimiques présents dans cet extrait, y compris en particulier le Carvacrol, qui est classifié comme composés antibiotiques très actif [13].

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée de différents composés à l'origine de cet extrait [8].

Tableau.3 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE de *Thymus vulgaris* relatives aux souches testées.

Souches testés		CMI % (V/V)	Diamètre des zones en mm
Gram +	<i>SP. Streptococcus</i>	75	15
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25	13
	<i>Klebsciella pneumoniae</i>	25	10
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	25	10
Levure	<i>Condidat albicans</i>	25	13

4. Conclusion

Dans ce travail nous avons étudié la composition chimique et l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* d'Algérie. L'analyse chromatographique de notre huile

essentielle a permis d'identifier 25 composés, cinq sont majoritaires, le *Carvacrol* (55,2%), le γ -*terpinène* (12,5%), le *p-cymène* (9,26%), le *Linalol* (3,9%) et le α -*pinène* (2,92%).

L'efficacité antimicrobienne d'huile essentielle de *T.vulgaris* d'Algérie a été démontré vis-à-vis de quatre bactéries et une levure, cette essence a montré une forte activité antimicrobienne contre tout les souches testées. Ce grand pouvoir est attribué principalement à leurs teneurs élevées en terpènes oxygénés (le *carvacrol* et le *linalol*).

D'après ces résultats, on peut dire que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* mérite une étude plus approfondie pour exploiter leurs propriétés.

Références

- [1] Rabiei V, Shirzadeh E, Angourani RA, Sharafi A, Effect of thyme and lavender essential oils on the qualitative and quantitative traits and storage life of apple 'Jonagold' cultivar, *J Med Plant Res*, 5(23): 5522-5527, (2011).
- [2] Jovanka K, Ivana C, Goran T, Sava P, Slavica R, Tamara JR, et al. In vitro antibacterial activity of essential oils from plant family Lamiaceae, *Rom Biotech Lett*, 16(2), 6034-6041, (2011).
- [3] Van Den Broucke C.O. & Lemli J.A., Pharmacological and chemical investigation of thyme liquid extracts, *Planta Medica*, 41, 129-135,(1981).
- [4] Panizzi L., Flamini G., Cioni P.L. & Morelli I., Composition and antimicrobial activity of essential oils of four mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacology*, 39, 167-170,(1993).
- [5] Lima, M., & Sastry, S. K.. The effects of ohmic heating frequency on hot-air drying rate and juice yield, *Journal of Food Engineering*, 41, 115–119,(1999)
- [6] Adams RP. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol Stream, IL., USA ; Allured Publishing Co,(2001).
- [7] Joulain D., König WA.. *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, Hambourg: E.B.- Verlag. (1998) ;
- [8] Essawi, T. et Srour, M., Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J.Ethnopharm.*;70, p. 343-349,(2000). [9] : Roques C., Billerbeck V.G. et Bacaria J., Détermination des CMI et QMI des produits air pharma sur des souches bactériennes multi résistantes. *Sci. Aliments.*; 13, 1-8,(2003).
- [10] Mc Gimpsey JA, Douglas MH, Van Klink JW, Beauregard DA, Perry NB , Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. In *New Zealand. Flav. Fragr. J.* ; 9, 347-352, (1994).
- [11] Stahl-Biskup E (1991). The chemical composition of *Thymus* oils: a review of the literature. *J. Essent. Oil Res.*, 3: 61-82, (1960-1989).
- [12] Sefidkon F, Dabiri M, Rahimi-Bidgoly A , The effect of distillation content and composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. &Hohen. *Flav. Fragr.*, ; J. 14: 405-408, (1999).
- [13] Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda R., Mata, R. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology.*; 35, 275-283, (1992).

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr