



**ANPMA**

الوكالة الوطنية للنباتات الطبية والعطرية - تاونات  
+%\*%Γ+ +οοΓ%ο+ | +%ο %οοΗοο Λ %Ι%Ι% - +οΠο+  
Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques - Taounate

## Projet de Fin d'Etudes

### Licence Sciences & Techniques

### Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources

**Caractérisation phytochimique et évaluation de  
l'activité antioxydante de l'espèce *Thymus  
vulgaris* L.**

Présenté par : EL MAKHFI Hamza

Encadré par :

- Pr. AL FIGUIGUI Jamila
- Dr. RAIS Chaimae

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

- Pr. AL FIGUIGUI Jamila FSTF
- Dr. RAIS Chaimae ANPMA
- Pr. AMRANI JOUTIE Khalid FSTF

Année universitaire

2020/2021

## DEDICACE

*Je dédie ce travail avec toute affection :*

*A mes parents ...*

*A mes sœurs, mes frères et mes amis ...*

*A ma Petite Famille, ma Grande Famille ...*

*A tous ceux qui de près ou de loin ont*

*Collaboré à la réalisation de ce travail*

## Remerciements

*Je remercie Dieu, le tout puissant de ma avoir accordé santé et courage pour accomplir ce modeste travail.*

*Tout d'abord je tiens à remercier vivement **Mr Abdelkhalek FAR-HAT**, Directeur de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques, qui m'a donné l'opportunité d'effectuer mon stage de fin d'étude.*

*J'adresse également mes sincères remerciements à mon encadrante **Dr Chaimae Rais**, Responsable du Laboratoire de Botanique au sein de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques pour ses conseils précieux qui m'ont permis de réaliser mon sujet de fin d'étude dans les bonnes conditions.*

*J'exprime ma profonde gratitude et immense respect à mon encadrante **AL FIGUIGUI Jamila** professeur à la faculté des sciences et techniques de Fès, de sa disponibilité, de m'avoir encadrée durant ma période de stage et de son soutien.*

*Mes remerciements s'adressent également à la doctorante **Chaimae Slimani**, pour le partage de son expertise au quotidien, et son temps accordé.*

*Je tiens aussi à remercier professeur **AMRANI JOUTIE Khalid** qui a accepté de sacrifier une partie de son temps pour juger ce travail.*

*Je tiens à remercier toute personne ayant contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de mon travail.*

## Présentation de l'ANPMA

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de la phytochimie à l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatique qui a pour mission la recherche scientifique, le développement et l'innovation dans le domaine des PMA. Elle assure un rôle de coordination entre les institutions et organismes concernés. est un des établissements universitaires, de recherche appliquée, d'appui technique et d'information, spécialisé dans les PAM.

L'ANPMA est l'unique agence Marocaine de recherche et de développement spécialisé dans le domaine des Plantes Médicinales et Aromatiques et matières premières végétales pour la pharmacie, la cosmétique, l'aromatique alimentaire, la parfumerie et la parachimie. Elle est chargée notamment de :

- o Effectuer et promouvoir des travaux de recherche/ développement.
- o Organiser des séminaires, des conférences et des expositions dans les domaines des plantes médicinales et aromatiques.
- o Valoriser et promouvoir la conservation des plantes médicinales et aromatiques, afin d'intégrer l'utilisation de produit naturel dans les différents secteurs socio-économique régional et national par la création de pépinières de projet.
- o Etablir des relations de coopération avec les organismes nationaux et internationaux concernant les activités relatives aux plantes médicinales et aromatiques.

Le domaine d'activité de l'ANPMA concerne toute la filière des plantes médicinales, aromatiques et les substances naturelles est permet de :

- o Optimisation des techniques de ramassage, de culture, de récolte, de séchage et de conditionnement et d'extraction des PAM
- o Préparation et formation de nouveaux produits naturels à valeur ajoutée, destinés aux secteurs pharmaceutiques, parfumerais, cosmétique, agroalimentaire et chimique.
- o Réalisation des études phytochimiques des extraits des plantes
- o Développement des prototypes d'équipements spécifiques à la nature des PMA.

Entreprendre, élaborer et conduire des projets de recherches et de développement dans le secteur de PAM.

## Résumé

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la caractérisation phytochimique ainsi que l'évaluation de pouvoir antioxydant de la plante "*Thymus vulgaris* L.", largement utilisée en médecine traditionnelle marocaine.

Une analyse quantitative à travers les dosages phytochimiques, a révélé la richesse de l'extrait méthanolique de cette plante, en polyphénols totaux et en flavonoïdes avec des teneurs de 112,81 mg EAG/g et 67,13 mg EQ/g respectivement.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante, ont montré que l'extrait éthanolique présente l'activité antiradicalaire la plus puissante pour le test de DPPH et l'extrait méthanolique présente l'activité antiradicalaire la plus puissante pour le test de CAT avec des valeurs de l'ordre de 93,77 et 90,13 mg EAA/g, (CI50 = 0,227864236 mg/ml). De ce fait, *Thymus vulgaris*, semble être le plus performant en termes de pouvoir antioxydant.

**Mots clés :** *Thymus vulgaris* ; Phytochimie ; Activité antioxydante.

## SOMMAIRE

Introduction.....	1
I. Présentation de la plante étudiée : <i>Thymus vulgaris</i> L . .....	2
1. Classe Systématique .....	2
2. Description botanique .....	3
3. Habitat et écologie de la plante .....	3
4. Composition chimique.....	4
5. Usage et intérêt de la plante .....	4
II. Méthode d'extraction .....	5
1. Extraction par Sonication (Ultrasons).....	5
2. Extraction par Macération.....	5
3. Extraction par Soxhlet .....	6
4. Extraction par Hydro-distillation .....	7
III. Composés phénoliques.....	7
1. Acides phénoliques.....	8
2. Flavonoïdes.....	8
3. Tanins.....	8
IV. Activité Antioxydante .....	8
1. Définition .....	8
2. Test de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	9
3. Capacité Antioxydante Totale (CAT).....	9
4. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power) .....	9
V. Matériel Végétal.....	10
1. Extraction par Sonication.....	10

2. Analyses Phytochimiques .....	10
2.1. Teneur relative en eau .....	10
2.2. Teneur en chlorophylle .....	11
2.3. Dosage des polyphénols .....	11
2.4. Dosage des flavonoïdes .....	12
3. Activité Antioxydante .....	12
1. Test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	12
2. Capacité Antioxydante Totale (CAT).....	13
VI. Analyses Phytochimiques .....	15
1. Teneur relative en eau.....	15
2. Teneur en chlorophylle.....	15
3. Teneur en polyphénols .....	16
4. Teneur en flavonoïdes .....	17
VII. Activité Antioxydante .....	18
1. Capacité Antioxydante Totale (CAT).....	18
2. Test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	19
CONCLUSION GENERALE .....	21
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	22
ANNEXES.....	26

## Liste des abréviations

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EA** : Extrait aqueux

**EE** : Extrait éthanolique

**EM** : Extrait méthanolique

**FRAP** : Ferric Reducing-Antioxidant Power

**PAM** : Plante aromatique et médicinale

**CAT** : Capacité antioxydante totale

**BHT** : Hydroxytoluène butylé

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ANPMA** : Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques

**DMSO** : Diméthyl sulfoxyde



## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Espèce <i>Thymus vulgaris</i> .....	2
<b>Figure 2:</b> Création des cavités et la libération de principe actif par sonication .....	5
<b>Figure 3:</b> Technique de la macération à froid .....	6
<b>Figure 4:</b> Dispositifs d'extraction Soxhlet .....	6
<b>Figure 5:</b> Principe d'hydro-distillation .....	7
<b>Figure 6:</b> Feuille de la plante <i>Thymus vulgaris</i> .....	10
<b>Figure 7:</b> Teneur relative en eau chez <i>Thymus vulgaris</i> .....	15
<b>Figure 8:</b> Teneur en chlorophylle chez <i>Thymus vulgaris</i> .....	16
<b>Figure 9:</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'antioxydant de référence et des différents extraits testés par la technique de sonication .....	19
<b>Figure 10:</b> IC50 des différents extraits de <i>Thymus vulgaris</i> (EE, EM, EA) et de BHT .....	20

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> L. ....	2
<b>Tableau 2:</b> Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans une infusion aqueuse de <i>Thymus vulgaris</i> (Kulišić et al., 2006) .....	4
<b>Tableau 3:</b> Teneur en polyphénols des différents extraits de <i>Thymus vulgaris</i> (EA, EE, EM) .....	16
<b>Tableau 4:</b> Teneur en flavonoïdes des différents extraits de <i>Thymus vulgaris</i> (EA, EE, EM) .....	17
<b>Tableau 5:</b> Capacité antioxydante totale des différents extraits de <i>Thymus vulgaris</i> (EA, EE, EM) .....	18

## Introduction

Le Maroc, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse (El-Hilaly et *al.*,2003). Parmi ces espèces végétales, 10% seulement sont des plantes aromatiques et médicinales, c'est-à-dire des plantes qui synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essences aromatiques par l'intermédiaire de poils, poches ou canaux sécréteurs (Pibiri.2006).

Aujourd'hui, les plantes médicinales retrouvent leur place dans notre vie quotidienne. Ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. Leur efficacité et leur innocuité sont recherchées et intensément étudiées. En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise les plantes médicinales pour répondre à ses besoins de soins et de santé primaire (OMS.2003). Les plantes synthétisent un grand nombre de substances chimiques appelés métabolites secondaire. Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols des végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs, et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins (Kanoun.2011).

Le présent travail vise à étudier l'activité antioxydante des extraits bruts de la plante, *Thymus vulgaris*, qui appartient à la famille des Lamiacées. Cette dernière, est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante. Ainsi ; La sélection de cette plante s'est fondée sur les critères suivants : elle est parmi les plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, dans le domaine culinaire et celui de la médecine traditionnelle. Ses huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Elle représente récemment, un sujet de recherche scientifique intéressant.

Ainsi, ce rapport est initié par une étude bibliographique sur la plante étudiée, *Thymus vulgaris*, suivie par les méthodes et les techniques utilisées. Dans une dernière partie, nous présentons les résultats obtenus avec leur discussion, et nous terminerons par une conclusion résumant les résultats de l'étude effectuée.

**ETUDE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Présentation de : *Thymus vulgaris* L .

Le genre *Thymus* appartient à la famille des Lamiacées (Figure 1). Il comprend 350 espèces répandues dans le monde entier (Al-Fatimi et *al.*,2010) ses espèces sont économiquement importantes en raison de leur utilisation dans la médecine populaire, pour la saveur et l'amélioration organoleptique, ainsi que dans la conservation des aliments (Senatore.1996). Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec « thymos » qui signifie "parfumer" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariante.2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin.2001), cette plante à longtemps été utilisé comme source de l'huile essentielle (huile de thym) et d'autres constituants (le thymol, flavonoïdes, l'acide caféique et l'acide labiatique) provenant de différentes parties de la plante (Leung et Foster.1996). Parmi les dénominations internationales de cette espèce :

**Français** : Thym vulgaire, thym des jardins, farigoule, frigoule, barigoule, thym commun, thym cultivé.

**Anglais**: common thyme, garden thyme, culinary thyme, french thyme, winter thyme.

**Espagnol**: farigola, tem, timo, tomillo comun, tomizo.

**Arabe**: Zaitra.



**Figure 1:** Espèce *Thymus vulgaris*

### 1. Classe Systématique

Ce classement systématique se réfère à une classification botanique antérieure selon Morales (2002).

**Tableau 1:** Classification botanique de *Thymus vulgaris* L.

---

<b>Règne</b>	Plantes
<b>Sous Règne</b>	Plantes vasculaires
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous Classe</b>	Dialypétales
<b>Ordre</b>	Labiales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Thymus vulgaris</i> L.

---

## 2. Description botanique

*Thymus vulgaris* (figure 1), est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre. Ses tiges ligneuses à la base, herbacées **supérieurement** sont presque cylindriques. Les tiges ligneuses et très rameuses sont Regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulé en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court et blanchâtre à leur face inférieure. Ses fleurs sont presque roses ou blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles Supérieures. Le limbe du calice est bilabié, un peu bossu. La corolle de taille variable, un peu plus longue que le calice, mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice, les étamines sont incluses. (Bruneton, 2008 ; Morales.2002).

## 3. Habitat et écologie de la plante

Le thym est originaire des pays du bassin méditerranéen sur les rives nord et ouest (où il est souvent cultivé dans les jardins) et des territoires limitrophes sous l'influence climatique méditerranéenne, ainsi qu'en Afrique du Nord. Assez nomade, il est subsponané dans des régions subtropicales, chaudes ou tempérées et plus spécialement en Europe et en Amérique du Nord. Certaines espèces sont plus adaptées aux climats plus rudes que d'autres, comme l'espèce *Thymus polytrichus* très présente dans les Alpes du Sud dans les zones pâturées très rases et sur sols rocailloux.

La capacité de cette plante à résister à de très fortes chaleurs provient aussi de son huile essentielle qui, produite la nuit, s'évapore le jour : c'est par cette action que la chaleur sera consommée. Ce principe fut découvert en 1960 (Lambinon J., et al). Le thym craint légèrement les acariens et les maladies qui amèneraient ses racines à se dégrader. Par contre son huile essentielle aux vertus désinfectantes protège sa partie aérienne. Au Maroc, le thym se trouve essentiellement au Maroc saharien, Atlas saharien, Anti Atlas, Moyen Atlas, Haut Atlas et le Maroc atlantique moyen (Institut scientifique).

#### 4. Composition chimique

De nombreuses études (Balladin et Headley, 1999 ; Amiot.2005) ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intra-spécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique. Le tableau 2 dresse la teneur du thym en polyphénols.

**Tableau 2:** Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans une infusion aqueuse de *Thymus vulgaris* (Kulišić et al.,2006)

Composition	Phénols Totaux	Flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines	Huiles Essentielles
<i>Thymus vulgaris</i> L.	33.3	25.0	1.2	6.7	0,5

#### 5. Usage et intérêt de la plante

En tant que plante aromatique et médicinale, le Thym est utilisées en cuisine et en phytothérapie pour les arômes qu'elles dégagent et leurs huiles essentielles que l'on peut extraire. Ces plantes aromatiques se trouvent dans la nature à l'état sauvage, sont utilisées depuis au moins 7000 ans par les hommes et sont à la base de la phytothérapie.

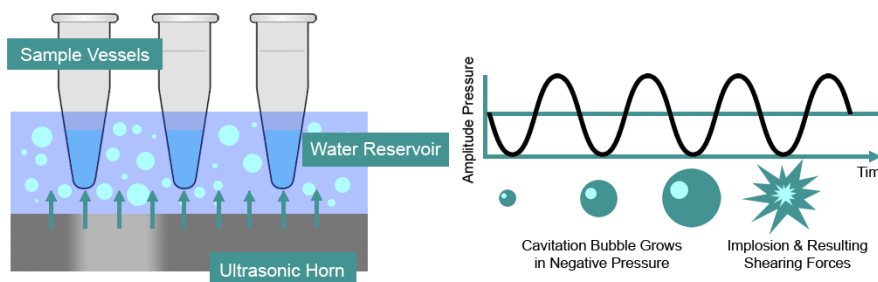
Plusieurs utilisations peuvent être attribuées aux plantes médicinales et aromatiques. Ainsi, les PMA sont utilisées en alimentation dans les boissons, les colorants. Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation est pour une bonne part, responsable des plaisirs de la table. Aussi, les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés, on retrouve dans une grande

mesure les métabolites secondaires, qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve dans les plantes de nouvelles molécules actives, ou des matières premières pour la semi-synthèse (Mohamad G, AL-Saghir.2009).

## II. Méthodes d'extraction

### 1. Extraction par Sonication (Ultrasons)

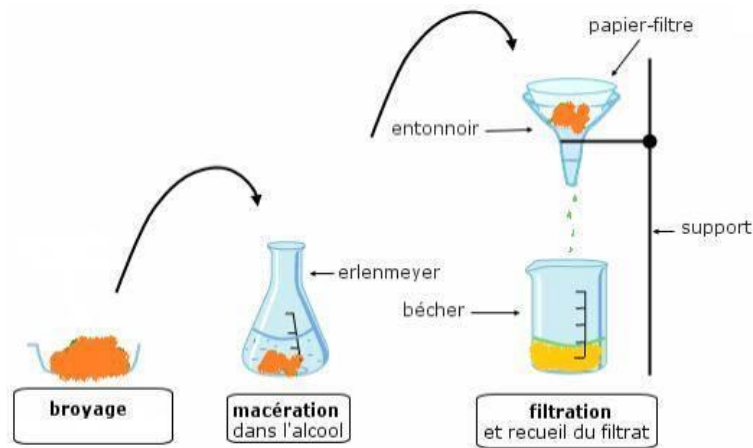
L'extraction par ultrasons est une méthode non thermique basée sur le principe de cavitation. Il s'agit de forces de cisaillement élevées et de microturbulences qui cassent mécaniquement les parois cellulaires, facilitant simultanément la libération des constituants cellulaires de la matière végétale dans le solvant sans dégradation chimique. Les températures douces du processus préservent les extraits souhaités (antioxydants, polyphénols, etc.) de la dégradation thermique. De plus, l'extraction assistée par ultrasons peut souvent être effectuée dans des solvants aqueux (= eau), (Michel.2011).



**Figure 2:** Création des cavités et la libération de principe actif par sonication

### 2. Extraction par Macération

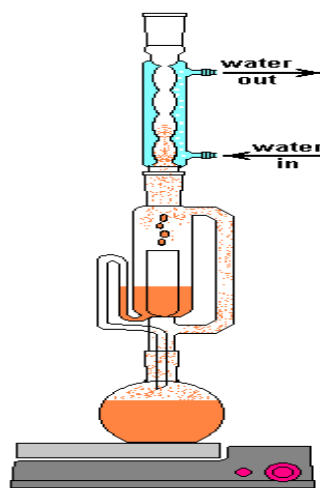
La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide froid pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe ce liquide afin d'en obtenir le parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose. La macération peut se faire dans une solution alcoolique (macération alcoolique), de l'eau ou l'huile. (Bouchouka.2016).



**Figure 3:** Technique de la macération à froid

### 3. Extraction par Soxhlet

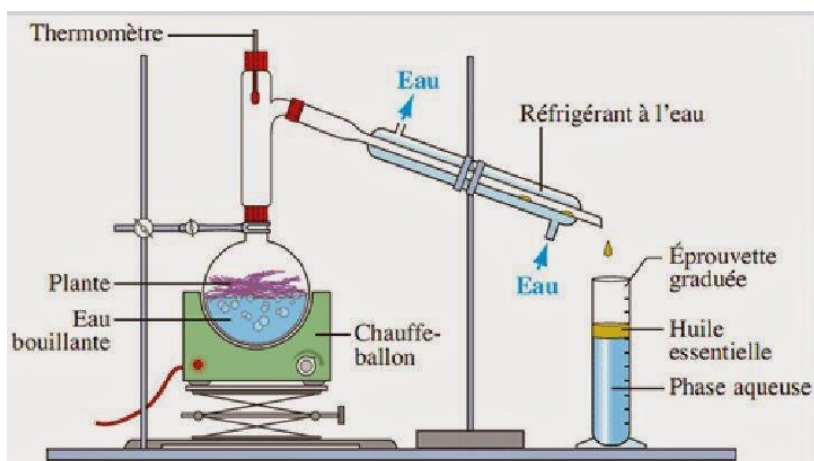
L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide liquide. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie du matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir à siphon et surmontée d'un réfrigérant. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en solutés à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec le solvant. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair, c'est-à-dire sans une proportion significative de solutés (Lagnika.2005).



**Figure 4:** Dispositifs d'extraction Soxhlet



#### 4. Extraction par Hydro-distillation



**Figure 5:** Principe d'hydro-distillation

Lorsqu'on chauffe le ballon qui contient la solution aqueuse, l'eau se vaporise. Cette vapeur casse les cellules végétales, libérant les molécules d'intérêt. Les plus volatiles d'entre elles sont emportées avec la vapeur. Celle-ci est ensuite refroidie dans un condenseur. Les différentes substances sont récupérées séparément dans de la verrerie de laboratoire. Lorsque la vapeur d'eau est apportée de l'extérieur, on parle non plus d'hydro-distillation mais d'entraînement par vapeur (Gavahian et Farahnaky, 2018).

### III. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols représentent des milliers de composés présents chez les végétaux, notamment dans les PMA, les fruits et les légumes. Ces micronutriments possèdent des propriétés antioxydantes très efficaces pour contrer les espèces oxygénées réactives (EOR). Ils appartiennent à plusieurs familles que l'on peut classer sommairement en flavonoïdes et non-flavonoïdes.

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes (Laughton et *al.*, 1991).

## **1. Acides phénoliques**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes μ les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxy cinnamique (Bruneton J.2008).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, tanins et flavonoïdes) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta et *al.*,2005). Deux grands groupes de polyphénols feront l'objet des prochains paragraphes, les tanins et les flavonoïdes :

## **2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux. Ils sont rencontrés dans les fruits, les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café) et plusieurs plantes médicinales (Ghedira K et *al.*,2005).

Caractérisés par la présence du noyau flavon. A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent généralement sous forme de glycosides (Ghedira K et *al.*,2005).

## **3. Tanins**

Les tanins sont des polyphénols métabolites d'organes végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits. Ils sont caractérisés par leurs poids moléculaire élevé, leur capacité à s'associer aux glucides, aux protéines, et aux enzymes digestives des complexes insolubles réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Bruneton J et *al.*,2008).

# **IV. Activité Antioxydante**

## **1. Définition**

L'activité antioxydante consiste en l'inhibition de réactions en chaîne de production de radicaux libres et limitant ainsi leur action. Ceci à travers le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), la suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production. Cette propriété se trouve souvent dans les familles polyphénoliques. On distingue deux catégories d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (Halliwell.1990).

## **2. Test de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)**

Le composé chimique DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie

UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits. Le DPPH est initialement de couleur violette, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (Hadbaoui.2012). Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non couteux.

## **3. Capacité Antioxydante Totale (CAT)**

La capacité antioxydante des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de Molybdène présent sous la forme d'ions molybdate à molybdène en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate à pH acide. Cette méthode consiste à introduire dans un flacon un volume de chaque extrait avec un volume d'un réactif composé de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> et du molybdate d'ammonium. L'absorbance été mesurée à 695nm (Prieto et *al.*,1999). Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent vitamine C (acide ascorbique) par ml.

## **4. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power)**

Le pouvoir réducteur du fer (Fe<sup>3+</sup>) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986) et BOUGANDOURA (2013). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (OU *et al.*,2001).

# **Matériel et Méthodes**

## V. Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué par la partie aérienne de la plante de *Thymus vulgaris* récolté de jardin botanique de l'agence ANPMA Taounate le 28/04/2021. Les échantillons sont incubés dans l'étuve pendant trois jours à une Température de 36 C°. Après séchage, les échantillons sont broyés, tamisés pour avoir une poudre fine qui servira pour la préparation des extraits.



**Figure 6:** Feuilles de la plante *Thymus vulgaris*

### 1. Extraction par Sonication

Les extraits sont préparés en triplicata par ajout de 10ml du solvant optimisé (Eau, Ethanol, Méthanol) à 4mg de poudre végétale (3 répétitions). Après agitation des tubes, le mélange poudre végétale-solvant est placé dans un bain à ultrason pendant 30 minutes à une température ambiante 0 degré (à froid) par sonication, par la suite l'extrait et les surnageants sont récupérés après centrifugation pendant 10 minutes pour chaque tube et conservés à 4 °C (Pétrier.2008).

### 2. Analyses Phytochimiques

#### 2.1. Teneur relative en eau

Une petite quantité représentative de matière fraîche des échantillons est pesée dans un cristalliseur taré. Après le séchage de la matière végétale à une température de 50 °C pendant 24 heures on pèse le poids sec, cette opération de séchage est doublée après chaque 2 heures de manière à obtenu une moyenne. Le tout est mise à l'étuve jusqu'à que cette masse soit constante. Les cristalliseurs sont ensuite pesés pour l'obtention de la masse sèche des plantes à l'état stationnaire de séchage.

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante (F Zadri et *al.*,2012) :

$$H(\%) = [(PF - PS)/PF]*100$$

**H(%)** : Teneur relative en eau exprimée en pourcentage (humidité).

**PF** : Poids frais de l'échantillon de la plante en g.

**PS** : Poids sèche de l'échantillon de la plante en g.

## 2.2. Teneur en chlorophylle

L'extraction de la chlorophylle est faite suivant la méthode de Mac Kinney (1941) et Arnon (1949). Pour déterminer la teneur en chlorophylle du *Thymus vulgaris* on va couper juste les feuilles de la plante (40mg MF) et on le met dans les tubes puis on ajoute 4ml de solvant DMSO avec 3 répétitions et on le met dans l'étuve pendant 1h à 65 °C, on utilise le spectromètre (UV) pour mesuré l'absorbance et calculer la teneur en chlorophylle (a et b) et la teneur totale en chlorophylle. La densité optique est mesurée aux longueurs d'onde 663nm et 645nm correspond respectivement à la chlorophylle a et b.

- **Ch. a (g/l) = 0,0127×A663—0,00269×A645**
- **Ch. b (g/l) = 0,0229×A645—0,00468×A663**
- **Ch. Tol (g/l) = 0,0202×A645+0,00802×A663**

## 2.3. Dosage des polyphénols

Le protocole utilisé est celui de (Li et *al.*,2007). Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode de Folin Ciocalteu qui consiste à mélanger 100µl de l'extrait végétal avec 500µl de réactif de Folin fraîchement préparé et dilué à 1/10 et 2ml de carbonates de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2%). L'ensemble est agité au vortex, puis placé à l'obscurité pendant 2 heures et incubés à une température ambiante. La lecture d'absorbance est effectuée contre un blanc sans extrait ou d'eau distillé à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm. La gamme d'étalonnage réalisée par des concentrations de l'acide gallique (60-300µg/ml).

Les quantités des polyphénols correspondants de chaque extrait, est déterminée grâce à une gamme étalon d'acide gallique effectuée dans les mêmes conditions expérimentales. Cette gamme est effectuée à partir d'une solution éthanolique d'acide gallique de la courbe d'étalonnage ( $y = 0,002x + 0,0775$   $R^2 = 0,9986$ ) de concentration initiale 1mg/ml.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique (GAE) g-1 de la matière sèche.

## 2.4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (Barros et al., 2011). A 1ml de la solution mère préparée à partir de chaque extrait de la plante étudié on ajoute 0,3ml de la solution de  $\text{NaNO}_2$  (5%).

Après 5 minutes d'incubation pour stabiliser la réaction est laissé réagir, on ajoute 0,3ml d' $\text{AlCl}_3$  (10%). Après 6 minutes dans l'obscurité, on ajoute 2ml de  $\text{NaOH}$  (1M) et on va compléter le volume à 10ml avec de l'eau distillé c.-à-d. on ajoute 6,4ml de l'eau distillé. La lecture d'absorbance est effectuée à 510nm contre un blanc (solution de compensation) qui ne contient pas que la solution d'extrait.

Le calcul de la teneur en flavonoïdes exprimés en quercétine se fait à l'aide de d'une gamme étalon :

Une gamme établie avec différentes concentration de la quercétine.

- Tous les dosages sont réalisés en 3 essais.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'équivalent quercétine (QE) g-1 de la matière sèche.

## 3. Activité Antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer l'activité antioxydante des extraits volatils des plantes aromatiques. Dans notre cas l'activité antiradicalaire des extraits de *Thymus vulgaris* a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre. Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *Thymus vulgaris*, nous avons utilisé deux techniques :

### 1. Test de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

La méthode de DPPH consiste à préparer une solution de DPPH de 0,004%, puis des dilutions de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, à partir d'une solution mère de 10mg/ml. Après, nous avons prélevé 1ml de la solution de DPPH mélangé avec 1 ml l'extrait dilué. Les tubes sont agités et incubés à l'obscurité durant 30 min. (Kartal et al., 2007).

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517nm au spectrophotomètre contre un blanc qui ne contient que du méthanol. Le contrôle est constitué d'un mélange réactionnel contenant 12ml de DPPH et 300ml de méthanol.

Le même test a été réalisé avec un anti-oxydant de référence qui est le BHT.

Les mesures de l'absorbance du DPPH des différentes substances antioxydantes (les extraits et le BHT) permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition **PI** en appliquant la formule suivante :

$$\mathbf{PI\ (\%)\ =\ (1 - (Abs\ test\ /\ Abs\ control))\ \times\ 100}$$

Où:

**Abs control** : Absorbance du contrôle à la longueur d'onde 517nm.

**Abs test** : Absorbance du radical après 30 minutes de contact à l'obscurité avec l'antioxydant à la longueur d'onde 517nm.

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). La valeur d'IC50 la plus faible correspond à une activité antioxydant plus importante. Les résultats obtenus sont exprimés en %.

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre **CI50** (concentration inhibitrice) qui représente la concentration de la substance (extrait ou BHT) nécessaire pour diminuer de 50% les radicaux libres dans le milieu réactionnel. Les valeurs **CI50** ont été calculées par la régression linéaire où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (PI%) (Bouhaddouda.2016).

## **2. Capacité Antioxydante Totale (CAT)**

Un volume de 1ml de la solution d'extrait a été combiné à 3ml de solution de réactif phosphomolybdate (acide sulfurique 6M, phosphate de sodium 280mM et molybdate d'ammonium 40mM) dans des tubes Falcon de 15 ml. Les tubes Falcon ont été bouchés et incubés dans un bain-marie à 95 °C pendant 90 minutes. Une fois les échantillons refroidis à la température ambiante, l'absorbance du mélange a été mesurée à 695nm, contre l'eau distillé comme un blanc, dans un spectrophotomètre. La solution aqueuse d'acide ascorbique, qui a servi de courbe d'étalonnage ( $y=1,6531x + 0,1339$   $R^2 = 0,991$ ) comprenait une plage de concentrations allant de 2,0 à 0,121mg/ml. L'expérience a été réalisée en triplicata et les résultats indiqués (activité antioxydante en équivalent acide ascorbique) sont des valeurs moyennes, comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale exprimées en mg d'équivalents acide ascorbique par g de plante séchée, Thymus sec (mg EAA.g-1 TS).

Le dosage a été effectué selon, une gamme d'étalonnage (Annexe 3) qui a été préparée à partir d'une série de dilution de solution mère d'acide ascorbique de concentration initiale égale à 2mg/ml (Prieto et al.,1999).

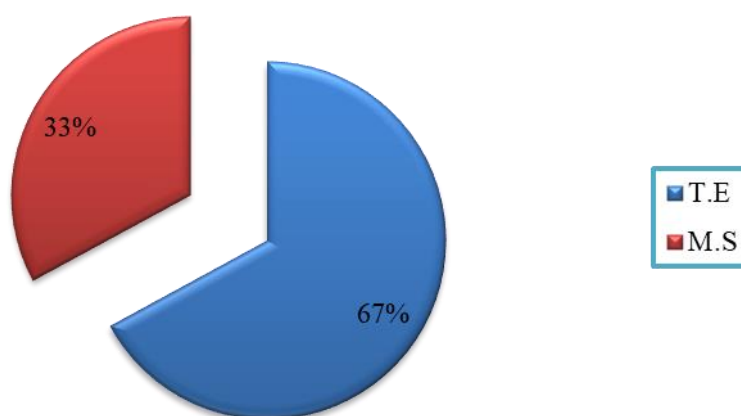


# **Résultats et Discussion**

## VI. Analyses Phytochimiques

### 1. Teneur relative en eau

D'après les résultats obtenus (Figure 7), la plante analysée contient une très petite quantité d'éléments étrangers, montrant ainsi une pureté de l'ordre de 33% pour *Thymus vulgaris*. Ceci laisse dire que cette plante est de bonne qualité. De même pour la teneur en eau (taux d'humidité), nous avons enregistré une perte à la dessiccation inférieure à 67%, d'où la conclusion que la plante de *Thymus vulgaris* a été bien séchée et peut être conservée sans crainte de risque de contamination par les microorganismes. Notons que plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes telle que la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (Bachiri et *al.*,2016).

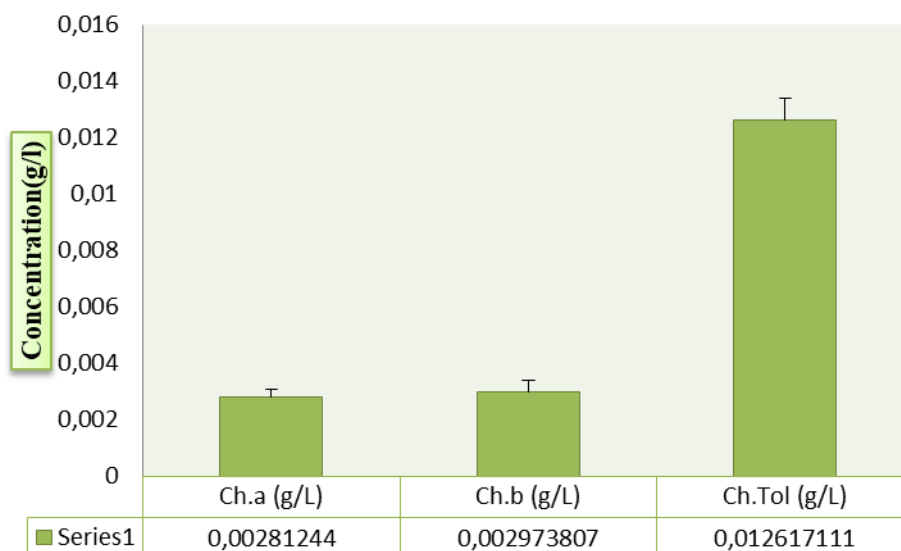


**Figure 7:** Teneur relative en eau chez *Thymus vulgaris*

### 2. Teneur en chlorophylle

D'après les résultats illustrés par la figure 8, on constate que notre plante *Thymus vulgaris* a une teneur élevée de chlorophylle a et b, le chlorophylle a qui est le plus abondante chez les organisme qui mettent en œuvre la photosynthèse (Figure 8), par contre au chlorophylle b qui est une forme de chlorophylle de couleur vert olive qui absorbe essentiellement la lumière bleue et qui est d'avantage soluble en milieu aqueux que la chlorophylle " a " en raison de la

présence d'un groupement carbonyle dans sa structure. Mais dans une étude réalisée par (Boutaoui.2019), chez les feuilles de *Thymus vulgaris* ont trouvé une concentration de  $(0,004905 \pm 0,00705 \text{ g/l})$ .



**Figure 8:** Teneur en chlorophylle chez *Thymus vulgaris*

Selon les résultats obtenus, la teneur en chlorophylle des feuilles de la plante *Thymus vulgaris* est de :

(Chl.a) correspond à  $0,00281244 \text{ g/l}$ .

(Chl.b) correspond à  $0,002973807 \text{ g/l}$ .

Chlorophylle totale (Chl a + Chl b) correspond à  $0,012617111 \text{ g/l}$ .

### 3. Teneur en polyphénols

**Tableau 3:** Teneur en polyphénols des différents extraits de *Thymus vulgaris* (EA, EE, EM)

EXTRAIT	Teneur en Polyphénols (mg EAG/g M.S)
Aqueux	$93,44 \pm 3,36$
Méthanolique	$112,81 \pm 3,72$
Ethanolique	$80,44 \pm 1,41$

Les résultats de la teneur en polyphénols sont donnés par le Tableau 3. En effet, l'EM par sonication possède la concentration la plus élevée en polyphénols par rapport aux autres

extraits étudiés (112,81mg EAG/g MS). Par contre, l'EE présente la teneur la plus faible avec une concentration de 80.44 mg EAG/g de MS. Nos résultats corroborent ceux de Naima et *al.*, (2005) qui ont montré que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols par la sonication à partir de la plante *Thymus vulgaris* est le méthanol (138,5mg EAG/g MS) suivi par le solvant aqueux (71,75mg EAG/g MS).

L'analyse de la variance relative à la teneur en Polyphénols montre une différence significative ( $P < 0,05$ ), (Annexe 4).

#### 4. Teneur en flavonoïdes

**Tableau 4:** Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Thymus vulgaris* (EA, EE, EM)

EXTRAIT	Teneur en Flavonoïdes (mg EQ/g M.S)
Aqueux	16,30 ± 1,04
Méthanolique	67,13 ± 2,41
Ethanolique	37,18 ± 0,60

Les résultats obtenus de la teneur en flavonoïdes en fonction de la nature d'extrait, sont présentés dans le Tableau 4. L'analyse des résultats montre que l'extraction par sonication présente des teneurs plus élevées en flavonoïde pour l'EE et l'EM avec 37,18 et 67,13mg EQ/g de MS respectivement. Nous avons pu remarquer aussi que l'EA par sonication, présente une teneur faible en flavonoïde par rapport l'EE et l'EM avec une concentration de 16,30mg EQ/g de MS.

L'analyse des résultats nous a permis de souligner que l'EM présente la teneur la plus importante par rapport aux autres extraits étudiés. Kulišić et *al.*,(2006) ont trouvé une concentration de 31,46mg EQ/g de MS en flavonoïde au niveau de l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris*.

L'analyse de la variance relative à la teneur en Flavonoïdes montre une différence significative ( $P \leq 0,01$ ), (Annexe 5).

## VII. Activité Antioxydante

### 1. Capacité Antioxydante Totale (CAT)

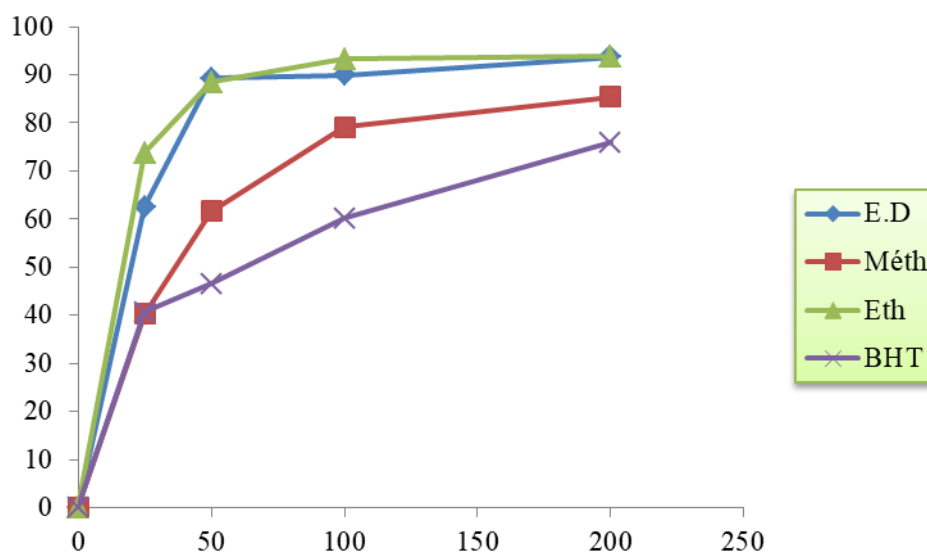
**Tableau 5:** Capacité antioxydante totale des différents extraits de *Thymus vulgaris* (EA, EE, EM)

EXTRAIT	CAT (mg EAA/g M.S)
Aqueux	76,83 ± 4,97
Méthanolique	90,13 ± 2,78
Ethanolique	71,73 ± 1,04

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique est présentée dans le Tableau 4. Nous avons remarqué aussi que l'EM enregistre la concentration la plus élevée (90,13 mg EAA/g MS). Par contre l'EE présente la concentration la plus faible (71,73 mg EAA/g MS). Nous avons pu montrer aussi que l'EM ayant une forte capacité antioxydante, de notre plante étudiée, suivi par l'EA, et finalement l'EE. Le potentiel antioxydant des différents extraits de *Thymus vulgaris* évalué par le test de DPPH et la capacité antioxydante totale a montré une corrélation positive avec les teneurs en polyphénols et flavonoïdes.

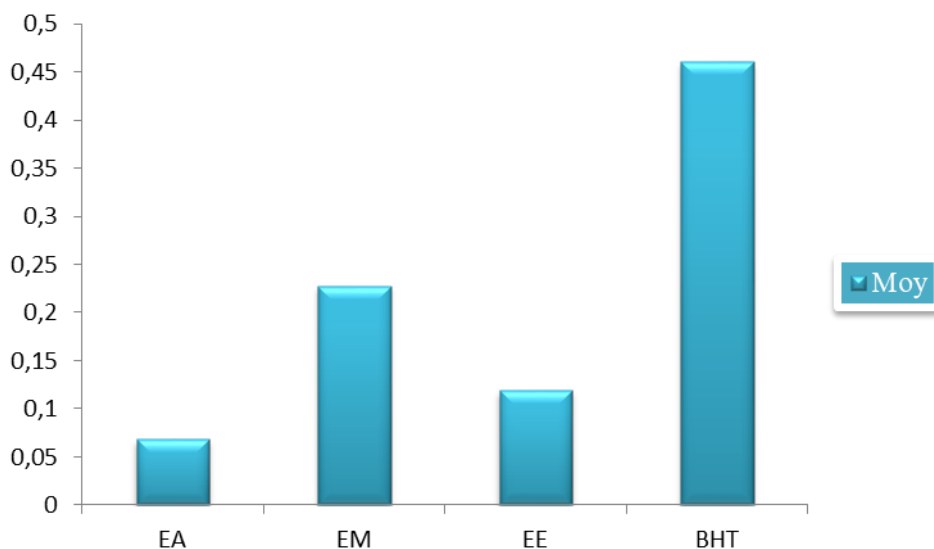
Statistiquement une différence hautement significative a été observée entre les différents extraits étudiés ( $P < 0,05$ ), (Annexe 6).

## 2. Test de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)



**Figure 9 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'antioxydant de référence et des différents extraits testés par la technique de sonication

La figure 9 illustre les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la différente concentration par la technique d'extraction de sonication (Figure 9). Les valeurs obtenues, nous ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle, avec la présence d'une phase stationnaire, qui signifie une réduction presque totale du DPPH. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que le pourcentage d'inhibition du radical libre (DPPH) augmente, avec l'augmentation de la concentration, soit pour le standard BHT ou pour les différents extraits de la plante. Ces extraits possèdent ainsi, une activité antiradicalaire dose dépendante. L'analyse de ces résultats, a révélé que l'EE présente une activité anti-radicalaire plus élevée avec 93,77%, au niveau de la solution mère. Par contre la valeur minimale, est enregistrée au niveau de l'extrait méthanolique (85,43%).



**Figure 10:** IC50 des différents extraits de *Thymus vulgaris* (EE, EM, EA) et de BHT

La capacité antioxydante des différents extraits étudiés a été déterminée à partir de l'IC50 (Figure 10).

D'après nos résultats, la valeur de l'IC50 la plus basse est enregistrée au niveau de l'extrait aqueux (0,06mg/ml). Par contre l'extrait méthanolique enregistre la concentration la plus élevée (0,22mg/ml). Ceci, nous permet de souligner que l'extrait aqueux, représente l'extrait le plus actif.

Les études ont montré l'existence d'une certaine corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante (Villano et al.,2007). Nos résultats obtenus lors de la présente étude, confirme cette corrélation positive entre les teneurs en composés phénolique et l'activité réductrice de DPPH.

D'après l'ANOVA une différence non significative a été marquée entre les différents extraits ( $P \geq 0,05$ ), (Annexe 7).

## CONCLUSION GENERALE

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

L'étude de la composition chimique et les propriétés antioxydant des extraits de *Thymus vulgaris* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants.

L'analyse quantitative de chacun des trois extraits obtenus de *Thymus vulgaris* a mis en évidence la présence des polyphénols et des flavonoïdes abondants dans l'extrait méthanolique en comparaison avec les autres extraits testés (extrait éthanolique, extrait aqueux)

En outre, l'espèce de *Thymus vulgaris* montre une activité antioxydante élevée dans l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique.

En fin, l'ensemble des résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir valoriser d'avantage l'espèce *Thymus vulgaris*.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Al-Fatimi M, Wurster M, Schröder G. and Lindequist U (2010).** *In vitro* Antimicrobial, Cytotoxic and Radical Scavenging Activities and Chemical Constituents of the Endemic *Thymus laevigatus* (Vahl). *Rec. Nat. Prod.* 4:1 p 49-63
- **Amiot J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier, 136 p.
- **Arnon D. (1949).** Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.*, 24, 1-15.
- **Bachiri L, Echchegadda G, Ibjibijen J, & Nassiri L (2016).** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal, ESJ*, 12(30).
- **Balladin D.A, Headley O (1999).** Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herbs. *Renewable Energy.* 17: 523-531.
- **Barros, Custódia, Luísa Moura, L. Miguel Brito & Olívia Matos (2011).** "Actividade antimicrobiana de extractos e óleos essenciais de coentro, oregão e poejo, e seu potencial para a protecção das culturas em horticultura biológica" 3º Colóquio Nacional de Horticultura e 1º Colóquio Nacional de Produção Animal Biológica, 22- 24 Setembro. Braga.
- **Beta T, Nam S, Dexter J.E, and Sapirstein H.D (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chemistry.* 82, 390-393. *Biotechnol.* 44 (4): 485-492.
- **Bouchouka. E(2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes in chimie, Badji Mokhtar de Annaba. 114 p.
- **BOUGANDOURA N, BENDIMERAD N (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. *Nature & Technologie.* (9): 15p.

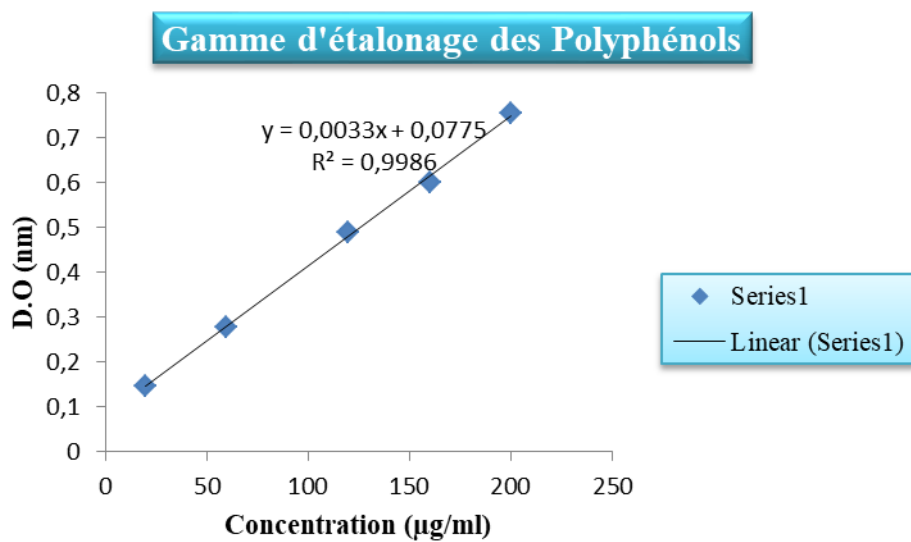
- **Bouhaddouda N (2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba, Algérie, 112 p.
- **Boutaoui N, Zaiter L, Benayache F, Benayache S, Carradori S, Cesa S, Giusti A.M, Campestre C, Menghini L, Innosa D, and Locatelli M (2018).** Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis of Different Extracts from *Thymus algeriensis* Aerial Parts. *Molecules*. 23: 463.
- **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris*. pp 198-260.
- **F ZADRI, K KELLOU, A MOUELLEF, H BOUANIK A, R BOULDJEDJ (2012).** *Acta agriculturae Slovenica* 113 (1), 83-94.
- **Gavahian M, Farahnaky A (2018).** Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*.72:153-61 p.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, pp.162-169./Rice-Evans C.A; Miller N.J; Paganga G.1996. Structure-antioxydant Activityrelationships of flavonoides and phenolicacids.
- **Hadbaoui Z. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. (*Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah OUARGLAALGERIE*).
- **HALLIWELL B, Gutteridge J.M.C (1990).** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186: pp, 1-85. Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol*.
- **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. *2ème Ed. Larousse. Londres* Pp : 143 - 225-226.
- **J. El-Hilaly, Hmammouchi. M, Lyoussi. B (2003).** Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco); *Journal of Ethnopharmacology*. 86,149–158.

- **Kanoun K. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).
- **Kartal N, Sokmen M, Tepe B (2007).** Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem* 100: 584–589.
- **Kulšić T, Dragovic-Uzelac V, Miloš M (2006).** Antioxidant Activity of Aqueous Tea
- **L. Lagnika. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises.
- **Lambinon J, Delvosalle L, et J. Duvigneaud J (1960).** Nouvelle flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du nord de la France et des régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes), 5e éd., Jardin botanique national de Belgique édit., Meise.
- **Leung A.Y, Foster S, (1996).** *Encyclopaedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics*, John Wiley & Sons, New York, , p. 492
- **Li Y, Lopez P, Durand P, Ouazzani J, Badet B, Badet-Denisot MA (2007).** « An enzyme-coupled assay for amidotransferase activity of glucosamine-6 phosphate synthase ». *Anal Biochem* 370(2):142-6.
- **McKinney. (1941).** Absorption of light by chlorophyll solutions, *J. Biol. Chem.*, 140, 315- 332.
- **Michel T.(2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*), Université d'Orléans.
- **Mohamad G. AL-Saghir (2009).** Antibacterial Assay of *Cinnamomum cassia* (Nees and Th. Nees) Nees ex Blume Bark and *Thymus vulgaris* L. Leaf Extracts against Five Pathogens. *J Biol Sci* 9(3): 280–282.
- **Morales R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: *Thyme: the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- **Oomah B. D. (2003).** Processing of flaxseed fiber, oil, protein, and lignan. *Flaxseed in human nutrition*, 2, 363-386.

- **OU B, HAMPSCH-WOODILL M, PRIOR R L (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (49): 4619-4626.
- **Oyaiz M. (1986).** Introduction à la microbiologie ans les pays chauds.p80.
- **Pariente L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- **Pétrier C, Gondrexon N, et Boldo P (2008).** Ultrasons et sonochimie. Techniques de l'ingénieur AF. 6310. pp : 1-14.
- **Pibiri M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse no 3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.
- **PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* (269): 337-341
- **Remesy C, Manaca C, Demigne C, Texiero et Regerat F (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et nutrition*, 32, 17-27. /Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 3èmeEd., Paris.585.
- **Senatore F. (1996).** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential Oil of a Thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food Chem.* 44, 1327–1332.
- **Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, GarciaParilla MC (2007).** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71: 230–235 12.

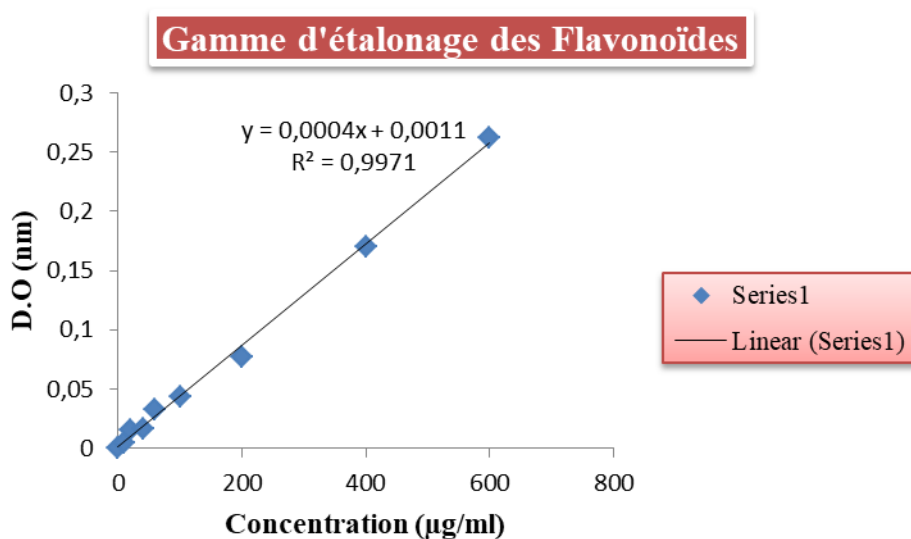
## ANNEXES

### ANNEXE 1 :



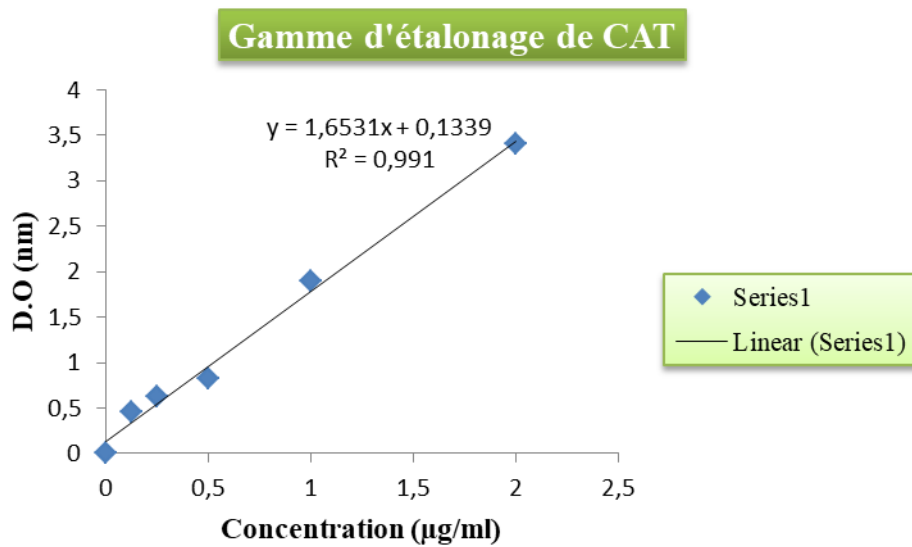
Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

### ANNEXE 2 :



Courbe d'étalonnage avec la quercétine pour le dosage des Flavonoïdes

### ANNEXE 3 :



Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique pour le dosage de capacité antioxydante totale

### ANNEXE 4: Analyse de la variance relative à la teneur en Polyphénols des différents extraits de *Thymus vulgaris*

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
<b>EXTRAIT</b>	1 061,688	2	530,844	9,816	0,048
<b>Erreur</b>	162,238	3	54,079		

### ANNEXE 5: Analyse de la variance relative à la teneur en Flavonoïdes des différents extraits de *Thymus vulgaris*

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
<b>EXTRAIT</b>	5 875,807	2	2 937,903	203,106	0,001
<b>Erreur</b>	43,395	3	14,465		

**ANNEXE 6:** Analyse statistique de la variance relative à la CAT des différents extraits de  
*Thymus vulgaris*

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
<b>EXTRAIT</b>	541,586	2	270,793	5,388	0,046
<b>Erreur</b>	301,544	6	50,257		

**ANNEXE 7:** Analyse statistique de la variance relative à la DPPH des différents extraits de  
*Thymus vulgaris*

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
<b>EXTRAIT</b>	0,027	2	0,013	1,671	0,325
<b>Erreur</b>	0,024	3	0,008		