



## Projet de Fin d'Etudes

### Licence Sciences & Techniques Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources

Titre

Étude chimique et évaluation de l'activité antioxydante de la  
plante *Thymus broussonetii* Boiss

Présenté par : Kervens ROSIAS

Encadré par :

- Pr. Jamila AL FIGUIGUI
- Dr. Chaimae RAIS

Soutenu le : 06/07/2021

Devant le jury composé de :

- Pr. Jamila AL FIGUIGUI
- Dr. Chaimae RAIS
- Pr. Rachida TLEMÇANI

Année universitaire  
2020/2021

## Dédicace

Tout d'abord je dédie ce mémoire  
au grand Dieu de l'univers  
Aux êtres mes plus chers : mes parents,  
A ma mère,  
Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa  
disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans rival  
dans les moments inhospitaliers de ma vie.

A mon oncle Daniel SAGESSE,  
Mon plus haut exemple et mon modèle de  
persévérance  
pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras.  
Pour son enseignement continue à m'inculquer les vraies  
Valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.  
J'espère que ce mémoire sera l'objet de vos attentes  
et qu'il soit l'accomplissement de tous mes efforts.  
Là où je suis arrivé aujourd'hui c'est grâce à vous MES CHERS  
PARENTS que je le dois, que Dieu vous protège.

A mes chers cousins : Jameson LEBRUN, Frantz AMBROISE, Franckel ROSIAS, pour vous  
exprimer tout  
mon respect et ma reconnaissance.

A mes deux chers frères compatriotes: Emerson VAL et Nixon DOUDOUTE  
A ma grande famille, mes amis et collègues et tous ceux  
et toutes celles que j'ai pas cités mais  
qui n'en demeurent pas moins chers.

## Remerciements

Tout d'abord, je remercie le bon Dieu tout puissant de l'univers de m'avoir donné le courage, la défiance, la volonté et la patience de pouvoir réaliser ce travail de dur labeur.

J'ai le plaisir d'adresser mes plus sincères remerciements à mes Encadrantes, Pr. Jamila AL FIGUIGUI, Madame Docteur Chaimae RAIS ainsi qu'à la Doctorante Chaimae SLIMANI, pour leur aide, leur compréhension et leurs conseils qui m'ont beaucoup enrichi, leur orientation et leur patience avec moi tout au long de l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur Abdelkhaélek FARHAT, de m'avoir accueilli au sein de l'ANPMA de Taounate durant toute la période de mon stage et de préparation de mon PFE (deux mois).

Mes remerciements de reconnaissance vont également au Coordonnateur de la filière : Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources (BVPR) de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FSTF), pour son soutien, ses conseils et de pouvoir m'aider à trouver ce stage.

J'associe à ces remerciements tous les membres du jury à savoir Pr. Jamila AL FIGUIGUI, Madame Docteur Chaimae RAIS, Pr. Rachida TLEMÇANI pour l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant de juger mon rapport de fin d'études.

J'adresse mes vifs remerciements à toute ma famille et particulièrement à ma précieuse mère Ina ROSIAS, mes chers cousins, mes chères tantes et mes chers oncles surtout Daniel SAGESSE et Michaël PIERRE.

Mes remerciements s'adressent surtout à Madame Lucchessie GERMAIN, Madame Kethly Joseph JEAN-BAPTISTE, mon précieux parrain Arnold ANTONIN, pour leur gentillesse, leur sympathie, leur aide et leur soutien depuis le début de mes études universitaires ici au Maroc.

Je voudrais adresser un grand merci à deux personnes qui me sont exceptionnelles à savoir Emerson VAL et Nixon DOUDOUTE, pour leur soutien moral, leur conseil, leur aide durant ce cursus de ma licence.

Sans oublier de remercier mon excellent frangin compatriote Ted Stacy OCCULIS pour son aide précieuse dans la finalisation de ce projet de fin d'études.

## Présentation de l'ANPMA de Taounate



**Figure 1** : Image représentative de l'ANPMA de Taounate

L'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques de Taounate est située au B.P. 159, Taounate-Maroc selon l'article premier de la loi 111-12 mentionnée dans son règlement intérieur.

Elle est composée de 3 grands corps qui sont le Directeur, le conseil d'administration et le conseil scientifique dont Madame Docteur Chaimae RAIS est responsable du laboratoire botanique de cette agence. Conformément à l'article 3 de la loi 111-12, ses principales missions peuvent se résumer sur 3 grands axes :

- a- La recherche scientifique, le développement et l'innovation dans le domaine des plantes médicinales et aromatiques
- b- Elaboration et Exécution des programmes de recherches, d'innovation et de développement technologique en rapport avec les plantes médicinales et aromatiques
- c- Participation aux travaux des organismes nationaux et internationaux relevant de ses attributions.

## Résumé

Le présent travail vise la valorisation des plantes aromatiques et médicinales, en particulier de l'espèce *Thymus broussonetii* Boiss appartenant à la famille des Lamiacées plus précisément sur son étude chimique et évaluation de l'activité antioxydante en se basant sur deux principales méthodes qui sont : le test DPPH et la capacité antioxydante totale. On a récolté cette plante au jardin botanique de l'ANPMA de Taounate le 28 Avril 2021, par la suite, on a préparé 3 extraits : aqueux, méthanolique et éthanolique par une seule méthode d'extraction à savoir la sonication. On a déterminé sa teneur relative en eau, chlorophylle, polyphénols et en flavonoïdes. Une valeur considérable de la capacité antioxydante totale des extraits étudiés a été observée et exprimée en acide ascorbique qui est égale à 75,025 mg EAA/g MS. Face à la problématique posée par les stress oxydant, telles sont les perspectives à prendre : l'augmentation de l'équilibre entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), afin d'éviter l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule, de la production endogène des ROS pour la défense de l'organisme contre des agents pathogènes et pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène ainsi que le développement des systèmes de défense permettant de réguler la production de ces ROS selon (Desmier, 2016).

**Mots-clés** : *Thymus broussonetii* Boiss, étude chimique, activité antioxydante, stress oxydant

## Liste des abréviations

UAE : Extraction assistée par ultrasons

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

DPPH-H : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydroxyanosile

CAT : Capacité antioxydante totale

TRE : Teneur relative en eau

TEAC : Trolox equivalent antioxydant capacity

ABTS : (Sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfoxide))

BHT : HydroxyToluène Butylé ou 2,6-di-ter-butyl-4-méthylphénol

KHZ : Kilohertz

PF : Poids final de l'échantillon frais

PS : Poids final de l'échantillon sec

Chl a : chlorophylle a

Chl b : chlorophylle b

Chl tot : chlorophylle totale

nm : nanomètre

mg.ml-1 : milligramme par millilitre-litre

A665 : Absorbance à 665 nanomètre

A649 : Absorbance à 649 nanomètre

A663 : Absorbance à 663 nanomètre

DMSO : Diméthyl sulfoxide

Chl (a) (g/l) : Concentration en gramme par litre de la chlorophylle a

Chl (b) (g/l) : Concentration en gramme par litre de la chlorophylle b

Chl (tot) (g/l) : Concentration en gramme par litre de la chlorophylle totale

NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : Carbonate di sodique

mg EAG/g MS : Milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

mg EAA/g MS : Milligramme équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche

mg EQ/g MS : Milligramme équivalent quercétine par gramme de matière sèche

NaOH : Hydroxyde de sodium

ml : Millilitre

µg/ml : Microgramme par millilitre

mg/ml : Milligramme par millilitre

AlCl<sub>3</sub> : Chlorure d'aluminium

NaNO<sub>2</sub> : Nitrite de sodium

g : gramme

µM : Micromole

% : Pourcent, pourcentage

IC<sub>50</sub> : Concentration inhibitrice

mM : Millimole

g/l : gramme par litre

p : seuil de signification

F: fraction

ES : Erreur standard

EA : Extrait aqueux

EE : Extrait éthanolique

EM : Extrait méthanolique

ddl : Degré de liberté

BHA : Hydroxyanisole butylé

ROS : Espèce réactive oxygénée

## Liste des figures

**Figure 1 :** Image représentative de l'ANPMA de Taounate

**Figure 2 :** Plante *Thymus broussonetii* Boiss

**Figure 3 :** Mécanisme d'action du radical DPPH

**Figure 4 :** Teneur relative en eau de l'espèce *Thymus broussonetii* Boiss

**Figure 5 :** Teneur en chlorophylles de la plante *Thymus broussonetii* Boiss

**Figure 6 :** Teneur en polyphénols des extraits étudiés

**Figure 7 :** Teneur en flavonoïdes dans les extraits de la plante *Thymus broussonetii* Boiss

**Figure 8 :** % d'inhibition du radical DPPH des différents extraits étudiés et de BHT

**Figure 9 :** Capacité antioxydante totale (CAT) des différents extraits étudiés

**Figure 10 :** EA1 graphe DPPH

**Figure 11 :** EA2 graphe DPPH

**Figure 12 :** EM1 graphe DPPH

**Figure 13 :** EM1 graphe DPPH

**Figure 14 :** IC50.1 BHT

**Figure 15 :** IC50.2 BHT

**Figure 16 :** EE1 graphe DPPH

**Figure 17 :** EE2 graphe DPPH

**Figure 18 :** Courbe du pourcentage d'inhibition des différents extraits de *Thymus broussonetii* Boiss

**Figure 19 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage des polyphénols

**Figure 20 :** Droite d'étalonnage de la quercétine dans le dosage des flavonoïdes

**Figure 21 :** Gamme d'étalonnage de la capacité antioxydante totale

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : Valeurs d'IC<sub>50</sub> (mg/ml) des différents extraits et de BHT (mg/ml)

**Tableau 2** : Variance relative en polyphénols

**Tableau 3** : Variance relative en flavonoïdes

**Tableau 4** : Variance relative en capacité antioxydante totale

**Tableau 5** : Variance relative en IC<sub>50</sub>

## SOMMAIRE

Introduction générale.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Synthèse bibliographique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I. Généralités de l'espèce <i>Thymus broussonetii</i> Boiss .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Historique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Classification.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Répartition géographique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
4. Description botanique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5. Composition chimique de la plante .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
6. Son utilisation.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II. Composés phénoliques .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Acides phénoliques .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Flavonoïdes .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Tanins condensés.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
III. Essences végétales.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Définition .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Méthodes d'extraction.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.1. <i>Extraction par sonication (ou extraction assistée par ultrasons (UAE))</i> ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>non défini.</b>	
2.2. Macération.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.3. Extraction par soxhlet.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.4. L'Hydrodistillation.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5. Distillation par entraînement à la vapeur .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.6. Extraction par expression à froid .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.7 Extraction par le CO2 supercritique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV. Activité antioxydante .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Définition .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Méthodes utilisées .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.1. Test de DPPH (2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl).....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.2. Capacité antioxydante totale .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.3 HydroxyToluène Butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol..	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Matériel et méthodes .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I. Matériel végétal .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

III. Méthodes utilisées .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Extraction assistée par ultrasons ou sonication .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
IV. Dosage physiologique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Teneur relative en eau .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
V. Dosage biochimique .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Dosage des chlorophylles : Teneur en chlorophylles.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Dosage des polyphénols : Teneur en polyphénols .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Dosage des flavonoïdes : Teneur en flavonoïdes .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
VI- Activité antioxydante.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Test du 2,2- diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. HydroxyToluène Butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthyl phénol (BHT)...	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Analyses statistiques.....	15
Résultats et Discussions .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Teneur relative en eau (%) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Teneur en chlorophylles .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Teneur en polyphénols .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
4. Teneur en flavonoïdes .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II. Activité Antioxydante.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
1. Test de DPPH.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Conclusion générale .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Références bibliographiques.....	23
Annexes.....	26



## Introduction générale

Une plante est dite aromatique si elle est utilisée en cuisine et en médecine douce pour les arômes qu'elle dégage, et ses huiles essentielles que l'on peut extraire. Elle est dite médicinale (ou officinale) lorsqu'un de ses organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques (MIKOU, 2021). Les plantes médicinales et aromatiques sont importantes sur le plan médical et culturel. Elles constituent un facteur économique majeur pour les pays en voie de développement en particulier le Maroc. Sur les 7000 espèces et sous-espèces existantes, on retrouve environ 537 espèces endémiques de ce pays et 1625 rares ou menacées. (BENABI, 2000). Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète mellitus et vieillissement (Uttara et *al.*, 2009). Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules (Moon et Shibamoto, 2009). Plusieurs antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine et l'environnement (Edziri et *al.*, 2012). Par conséquent, l'intérêt pour les antioxydants (non toxiques), particulièrement de l'origine végétale a considérablement augmenté ces dernières années. Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules à activités biologique et pharmacologique très variées. Pour cette raison, nous avons choisi la plante *Thymus brousonetii* Boiss appartenant à la famille des Lamiacées connu pour l'utilisation traditionnelle, plusieurs études ont montré l'affinité de cette plante contre certaines maladies de l'appareil digestif (Mehdioui et Kahouadji., 2007), le vieillissement de la peau, le stress oxydant (Boukhira, 2017), la pyélonéphrite (Ghourri et *al.*, 2014). Pour cette raison, nous avons mené cette étude qui porte sur la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant deux méthodes (Test de 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl, la capacité antioxydante totale).

Dans la présente étude nous avons travaillé sur 3 tours:

La première partie présente les généralités de la plante étudiée, les composées phénoliques, les essences végétales ainsi que ses méthodes d'extraction et l'activité antioxydante.

La deuxième partie présente le matériel végétal, les méthodes et les techniques utilisées.

La troisième partie présente les différents résultats et leur discussion.

En dernier lieu, on a entamé avec une conclusion générale suivie par des perspectives.

# Synthèse bibliographique

## I. Généralités de l'espèce *Thymus broussonetii* Boiss

### 1. Historique

En partant de l'étymologie du thym (Thymus), il doit son nom à l'odeur qu'il dégage lorsqu'on le fait brûler. En outre, celui-ci est utilisé depuis la nuit des temps et était déjà connu des Egyptiens et des Etrusques (. *Thymus broussonetii* Boiss est une plante médicinale et aromatique très rare qui existe sous la forme de deux sous-espèces : *Thymus broussonetii* subsp. *hannonis* (Maire) R. Morales et *Thymus broussonetii* subsp. *broussonetii* ( El hansari et al., 2020). La micropropagation est l'une des techniques qui peut être appliquée à la propagation à grande échelle de *Thymus broussonetii*, par le biais de production d'un grand nombre de plantes génétiquement similaires et indemnes de maladie, dans une courte durée et dans un petit espace (Nordine et al., 2004) ont déjà appliqué cette technique pour la même espèce. La présente étude complète le protocole de micropropagation déjà établi de cette espèce par l'évaluation de l'effet de plusieurs manonutriments, cytokinines, polyamines et auxines, en plus de la réinitiation in vitro culture à partir de plantes acclimatées (El hansari et al., 2020).

### 2. Classification

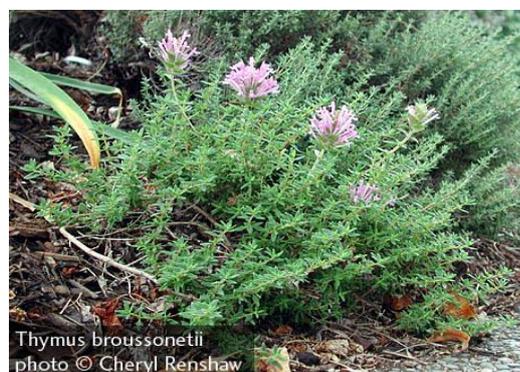
Règne : Plantae (plante)

Embranchement : Spermatophytæ (Spermatophytes ou spermaphytes)

Sous-embranchement : Angiospermes (Graines protégées)

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales



**Figure 2** : Plante *Thymus broussonetii* Boiss

Famille : Lamiaceae (lamiacées)

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus broussonetii* Boiss

Sous-espèce : *Thymus broussonetii* subsp. *broussonetii*

Sous-espèce : *Thymus broussonetii* subsp. *hannonis*

(Dobinar et Chatelain., (2010-2013), Boiss., 1841).

**Figure 2** : Plante *Thymus broussonetii* Boiss

### 3. Répartition géographique

La plante *thymus broussonetii* Boiss est une espèce endémique en Algérie, en Tunisie et au Maroc et en ce dernier, on le trouve plus précisément dans le Haut Atlas, dans le Nord, le moyen Atlantique, (El Ansari et *al.*, 2020) ainsi que dans les dunes d'Essaouira, dans le cap rhir an Nord d'Agadir (Morales, 1994).

### 4. Description botanique

*Thymus broussonetii* Boiss est un petit arbuste de 12 à 40 cm de hauteur aux feuilles plates ciliées à la base à bords entiers ; les fleurs sont rassemblées vers le sommet des pousses en inflorescences denses ovales-cylindriques avec des feuilles florales plus larges que les feuilles, souvent colorées de pourpre atténuée et pointues à l'extrémité, avec des cils sur les bords ; le calice, long de 6 à 7,5 mm, a 2 lèvres, la supérieure peu dentée ; la corolle est rose à violet, 2 à 3 fois plus longue que le calice, avec un tube étroit nettement proéminent ou bien de petite taille (12 contre 15-40 cm), ainsi donc ses feuilles plus courtes (5-10 contre contre 10-18 mm) non sous-pétiolées (2,5 contre 1 mm), et des bractées florales densément couvertes de plus poils et pas seulement sur la face abaxiale, ses fruits sont appelés akènes ( El Ansari et *al.*, 2020).

### 5. Composition chimique de la plante

Selon une évaluation quantitative et qualitative menée par (Fouad, 2014), elle est est composée d'huiles essentielles puissantes qui sont riches en monoterpènes hydrocarbonés ( $\alpha$ -pinène...) et oxygénés (1,8-cinéole, thymol, carvacrol, citral camphre...).

## 6. Son utilisation

Comme l'huile essentielle de *Thymus broussonetii* Boiss est riche en thymol, carvacrol, bornéol, p-cymène,  $\alpha$ -pinène et  $\gamma$ -terpinène, alors ces composés bioactifs attribuent à cette espèce ses propriétés biologiques comme antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antinociceptives et antioxydantes (El Ansari et al., 2020). Plus précisément le thym de Broussonet (*Thymus broussoneti* Boiss.) est utilisé contre les maladies de l'appareil digestif, de l'appareil respiratoire et de la peau, ce qui explique la pression particulière exercée sur cette plante (Mehdioui et al., 2007).

## II. Composés phénoliques

Les polyphénols sont une catégorie de molécules organiques qui sont caractérisées par la présence d'au moins 2 groupes phénoliques (Mikou., 2021) et sont largement répandues dans le règne végétal et dans nos aliments, réputés en tant qu'oxydants (Echarradi., 2019). Ils sont constitués d'un assemblage complexe de molécules plus petites, les phénols, comportant un noyau benzénique et des fonctions hydroxyles (Echarradi., 2019). Ils sont aussi des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales (Buchanan et al., 2000).

### 1. Acides phénoliques

Les acides-phénols (ou acides phénoliques) ont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique (Mikou., 2021).

### 2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, ses formes hétérosides sont hydrosolubles et s'accumulent dans les vacuoles, et représentent une source importante d'antioxydants dans l'alimentation humaine. Plus de 600 ont été décrits chez les plantes. Ils partagent tous une même structure de base formée par 2 cycles aromatiques reliés par trois carbones : C6-C3-C6, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagone. Sa molécule de base est la flavone (Mikou., 2021).

### **3. Tanins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidines, les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diols liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A (Wollgast et *al.*, 2000).

## **III. Essences végétales**

### **1. Définition**

Les essences végétales sont des substances aromatiques naturelles que les plantes sécrètent dans leurs organes producteurs, par exemple pour les gestes d'agrumes, on parle d'essences de citron qui sont directement extraites par expression (Mikou., 2021).

### **2. Méthodes d'extraction**

#### **2.1. Extraction par sonication (ou extraction assistée par ultrasons (UAE))**

Elle consiste à une extraction solide-liquide dans un bain à ultrasons ou dans un récipient dans lequel une sonde à ultrasons est immergée. Les ondes utilisées pour l'UAE ont une fréquence qui varie de 20 KHz à 100 MHz. Les ultrasons permettent de diminuer significativement le temps d'extraction en permettant une meilleure diffusion du solvant dans la matière végétale tout en augmentant le rendement par rapport aux méthodes conventionnelles. Cette méthode a été appliquée pour l'extraction de terpènes volatils dans différentes plantes telles que le *sauge* (*Salvia* (L)), les graines de *cumin* (*Cuminum* (L.)) ou encore le *curcuma* (*Curcuma longa* (L.)) (Triaux, 2019).

#### **2.2. 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 compose. La macération peut se faire dans une solution alcoolique (macération alcoolique), de l'eau ou l'huile (Echarradi, 2019).

### ***2.3. Extraction par soxhlet***

L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide-liquide. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant (Echarradi, 2019).

### ***2.4. L'Hydrodistillation***

Elle est la méthode standard pour l'extraction d'huile essentielle à partir matériel végétal. Dans cette technique, la matière végétale est complètement immergée dans de l'eau qui est ensuite portée à l'ébullition. L'eau environnante agit comme une barrière contre la surchauffe de l'échantillon permettant ainsi une certaine protection de l'huile essentielle extraite. De même que précédemment, les composés volatils sont ensuite entraînés par la vapeur d'eau, puis le mélange est condensé et l'huile essentielle contenue dans l'eau peut être récupérée par extraction liquide-liquide ou simple décantation (Triaux, 2019).

### ***2.5. Distillation par entrainement à la vapeur***

Elle est la méthode la plus utilisée pour l'extraction d'huiles essentielles de plantes. L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes (citron, mandarine, orange, pamplemousse ( Baser et al., 2010).

Dans cette technique, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau traverse la matière végétale disposée sur des plaques perforées. La vapeur d'eau détruit la structure des cellules végétales pour libérer les molécules volatiles. Ces dernières sont ensuite entraînées par la vapeur d'eau et condensées par refroidissement dans un condenseur. L'huile essentielle non miscible à l'eau doit ensuite être extraite de la solution aqueuse par simple décantation ou par une extraction liquide-liquide avec un solvant hydrophobe. Tout au long de la distillation, le ballon contenant la matière végétale est lui-même chauffé pour que la vapeur d'eau ne se liquéfie pas (Triaux, 2019).

## ***2.6. Extraction par expression à froid***

Il s'agit du procédé d'extraction le plus simple et le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron, orange, etc.) de l'écorce ou des fruits. Cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique (Lakhdar, 2015).

## ***2.7 Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique***

La méthode consiste à faire circuler du CO<sub>2</sub> supercritique, sous pression et température, à travers la matière végétale, puis d'opérer une décompression pour récupérer l'extrait. Elle s'effectue dans des conditions critiques modérées (T<sub>c</sub>= 31°C, P<sub>c</sub>= 73,8 bar), le CO<sub>2</sub> est SC est approprié à l'extraction végétale, car il permet de conserver l'intégrité chimique des molécules thermolabiles. De plus, les extraits obtenus sont différents de ceux obtenus par les procédés classiques (extraction par solvant, liquides ou hydrodistillation) avec une quantité souvent accrue (Mikou, 2021).

# **IV. Activité antioxydante**

## **1. Définition**

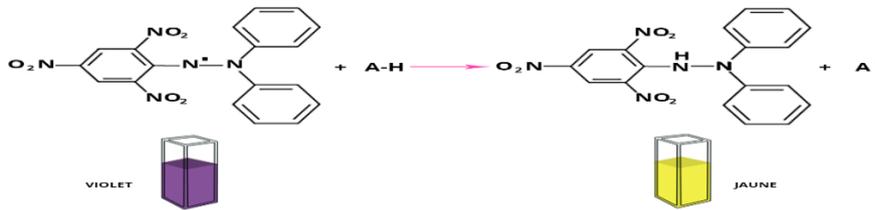
Une activité antioxydante est la capacité de piéger les radicaux libres partout où ils sont présents dans la circulation sanguine. L'activité de piégeage des radicaux peut être définie comme une action de piégeage du composé sur les ions de radicaux libres ou les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites chez le corps de l'homme (Thakur et al., 2016).

## **2. Méthodes utilisées**

### **2.1. Test de DPPH (2,2- diphényl-1-picryl-hydrazyl)**

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

mesurée par spectrophotométrie à 515 nm ( $\lambda_{\max}$  DPPH). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant



**Figure 3** : Mécanisme d'action du radical DPPH

## 2.2. Capacité antioxydante totale

Dans la méthode TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{\bullet+}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox<sup>®</sup> (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (Marc et *al.*, 2004).

## 2.3 HydroxyToluène Butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol

L'Hydroxytoluène butylé ou BHT est un stabilisant que l'on retrouve dans les produits cosmétiques. Il s'agit comme un antioxydant qui permet de maintenir les propriétés et les performances d'un produit lors de son exposition à l'air pour éviter un changement d'odeur, de couleur, de texture... (Marc et *al.*, 2004).

# Matériel et méthodes

## I. Matériel végétal

La matière végétale utilisée pour la présente étude est constituée par la partie aérienne de la plante *Thymus broussonetii* Boiss, la récolte a été effectuée dans le jardin botanique de l'ANPMA de Taounate le 28 Avril 2021, les échantillons séchés ont été

incubés dans l'étuve ( Votsch- Industrietechnik) pendant 3 jours, sous une température de 36°C.

## II. Extraction de la poudre végétale

Après le séchage des échantillons, on les a broyés et tamisés pour avoir une poudre fine qui servira à l'extraction de la poudre végétale.

## III. Méthodes utilisées

### 1. Extraction assistée par ultrasons ou sonication

#### *Principe :*

L'extraction par ultrasons (sonication) ou UAE est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons - ce qui par-ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément - ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur. De plus, l'effet mécanique des ultra-sons sur la matrice végétale induit une meilleure pénétration du solvant dans les cellules, ce qui améliore ainsi le transfert de masse et augmente le rendement d'extraction et la cinétique d'extraction.( Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P.I., Lazurca, D. and Mason, T.J. (1997)

**Protocole expérimental:** Dans cette expérience, Les extractions par ultrasons, ont été faites avec une sonde Cole Parmer de 20 KHz et 500 Watt, chacune dans des tubes gradués de 14 millilitre, avec 10 millilitre de solvants : eau distillée, méthanol et éthanol, et 40 milligramme de *Thymus broussonetii* Boiss broyé. La biomasse après extraction a été récupérée par filtration dans des creusets en verre puis séchée au moins 24 heures au four à température ambiante. La température de la sonde a été fixée entre 25 et 35 °C. La sonde ultrasonique était à 1 – 2 cm d'immersion. L'humidité est mesurée en amont de chaque extraction. Chaque cas expérimental a été refait 3 fois pour chacun des solvants. A la fin, on va faire une 1<sup>ère</sup> centrifugation de 10

minutes suivie d'une 2<sup>ème</sup> pendant la même durée, à chaque fois on jette le culot et on récupère le surnageant, telle est la préparation des extraits.

#### **IV. Dosage physiologique**

##### **1. Teneur relative en eau**

**Principe :** La teneur relative en eau des feuilles renseigne sur la turgescence relative des tissus et figure parmi les indicateurs de stress. Elle est liée à la capacité de la plante à maintenir un niveau d'hydratation optimal qui soit à même de garantir la continuité de l'activité métabolique. Ces résultats ont été confirmés par nombreux travaux et essentiellement ceux de (CLARK et al. 1982). Pour déterminer l'état hydrique des plantes expérimentées sous le stress hydrique.

##### **Protocole expérimental :**

Dans cette partie, on va déterminer l'état de la plante c'est-à-dire sa détermination du poids constant, si elle est sèche ou fraîche en utilisant la formule :

$$\%(TRE) = (PF-PS/PF) \times 100$$

Avec :

PF : Poids final de l'échantillon frais, PS= Poids final de l'échantillon sec

De ce fait, on va préparer 3 échantillons frais de *Thymus broussonetii* Boiss, puis on va les peser après 21 hres et on va les sécher dans une étuve sous une température de 50°C et cette fois-ci on va les peser après chaque 2 heures pendant 3 fois et ce qui présente presque le même poids pendant les 3 pesées dans la phase stationnaire va nous donner le poids constant de la plante jusqu'à la stabilité.

#### **V. Dosage biochimique**

##### **1. Dosage des chlorophylles : Teneur en chlorophylles**

**Principe :** Les chlorophylles a et b dans les extraits de lipides totaux sont dosées dans l'acétone: eau (8:2, v/v) en utilisant les formules suivantes tirées des coefficients de Vernon (Holden, 1976) :

Chl a (mg/ml) = 11,63 (A665)- 2,39 (A649), Chl b (mg/ml)= 20,11 (A649)- 5,18 (A665), Chl totale (mg/ml) = 6,45 (A665)+ 17,72 (A649) où A649= absorbance à 649 nm , A665 = absorbance à 665 nm.

### ***Protocole expérimental :***

On a pesé 40 milligramme de 3 échantillons de matière fraîche de feuilles (*Thymus broussonetii* Boiss) afin de préparer 3 répétitions, ainsi donc, on a mis chaque échantillon dans un tube contenant 4 millilitres de solvant organique : DMSO (Diméthyl sulfoxyde) puis on les a mis à l'obscurité à l'étuve sous une température de 65°C pendant 60 minutes. Après on va mesurer l'absorbance de chaque répétition dans un spectrophotomètre : pour la chlorophylle a on a fait ça à une longueur de  $\lambda = 663$  nanomètre et pour la chlorophylle b on fait ça à une longueur d'onde de  $\lambda = 645$  nanomètre et à la fin on va calculer la concentration en gramme par litre (g/l) de la chlorophylle a, de la chlorophylle b, et de la chlorophylle totale en utilisant les formules suivantes :

1- Chl (a) (g/l)=  $0,0127 \times A663 - 0,002609 \times A645$

2- Chl (b) (g/l)=  $0,0229 \times A645 - 0,00468 \times A663$

3- Chl (tot) (g/l)=  $0,0202 \times A645 + 0,00802 \times A663$

Ainsi donc, ce dosage nous permet d'aboutir à la teneur en Chl (a), Chl (b) et en Chl tot dont on va présenter sous forme d'un graphe et les calculs des différentes concentrations sous forme d'un tableau d'Excel.

## **2. Dosage des polyphénols : Teneur en polyphénols**

**Principe :** Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [Ribereau, 1968]. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [Ghazi et Sahraoui, 2005].

**Protocole expérimental :** Nous avons prélevé 100 microlitre de chaque extrait, puis on va ajouter 500 microlitres de la solution du réactif de Folin déjà préparé (dilué  $\times 10$ ) dans chaque tube et après on va les mettre à l'incubation pendant une heure à l'obscurité et en après on va ajouter 2 ml de la solution de NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2%) dans chaque tube puis on va faire une 2<sup>ème</sup> incubation à l'obscurité pendant une heure et par la suite, on va faire la lecture d'absorbance à

$\lambda = 760$  nanomètre de chaque extrait au spectrophotomètre. Pour la gamme d'étalonnage selon le mode opératoire, l'extrait est l'acide gallique et la concentration de la solution mère (1mg/ml). Des solutions diluées de concentrations connues en acide gallique ont été préparées (20, 60, 120, 160, 200,  $\mu\text{g/ml}$ ). Ainsi donc, le dosage des polyphénols va nous permettre d'aboutir à la teneur en polyphénols. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

### **3. Dosage des flavonoïdes : Teneur en flavonoïdes**

**Principe :** Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs,  $\text{AlCl}_3$  peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Chang et al., 2002).

**Protocole expérimental :** La teneur en flavonoïdes d'extrait de *Thymus broussonetii* Boiss a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium. Une quantité de 1 millilitre de l'extrait a été mélangée avec 6,4 ml d'eau distillée et par la suite avec 0,3 ml d'une solution de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  à 5%. Après 5 minutes d'incubation à l'obscurité, 0,3 millilitre d' $\text{AlCl}_3$  à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 2 millilitre de  $\text{NaOH}$  1 M après 6 minutes à l'obscurité. L'ensemble est agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine par g d'extrait. La teneur en flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-600 $\mu\text{g/ml}$ ). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

## VI- Activité antioxydante

### 1. Test du 2,2- diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)

**Principe :** La méthode utilisée est celle de Brand et al. (1995) avec quelques modifications. D'abord, une solution méthanolique de DPPH (200  $\mu$ M) a été préparée à chaque fois et maintenue à l'obscurité. 2,90 ml de la solution du méthanol (200  $\mu$ M DPPH) est ajouté à 100  $\mu$ l de l'extrait à étudier. La solution est mélangée et incubée à 37 C° pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2,90 ml de la solution méthanolique de DPPH (200  $\mu$ M) et 100  $\mu$ l de méthanol. Les échantillons à étudier et le témoin sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV/visible. Ainsi, le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ D'inhibition} = [(A \text{ contrôle } 517 \text{ nm} - A \text{ extrait } 517 \text{ nm}) / (A \text{ contrôle } 517 \text{ nm})] \times 100$$

**Protocole expérimental :** En bref, l'extrait de *Thymus broussonetii* Boiss séché a été dilué avec du méthanol (300 ml) et des concentrations d'acide ascorbique ont été préparées, ( 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,8 mg/ml). 1ml de l'échantillon dilué a été mélangé avec 1ml de DPPH dans du méthanol et maintenu dans l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalon de référence. On va déterminer l'IC<sub>50</sub> qui correspond à la concentration de l'échantillon qui entraîne 50% d'inhibition. Notons que l'activité antioxydante est inversement proportionnelle à la valeur de l'IC<sub>50</sub>. Ainsi donc, l'échantillon qui présente l'IC<sub>50</sub> la plus faible est celui qui présente l'activité anti-radicalaire la plus importante. Les résultats obtenus pour les échantillons sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

### 2. Capacité antioxydante totale (CAT)

**Principe :** La capacité antioxydant totale des extraits des plantes est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> à molybdène Mo (V) MoO<sup>2+</sup> en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (PRIETO et al., 1999).

**Protocole expérimental :** On va prélever un volume de 100 $\mu$ l de chaque fraction, préparée à une concentration de 2 mg/ml, est mélangé avec 3 ml de solution du Réactif 6 M acide sulfurique, 280 mM phosphate de sodium et 40 mM molybdate d'ammonium). Ensuite, les

tubes sont vissés à demis, puis on a eu l'ébullition dans un bain Marie à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc ( $\lambda = 0,079$  nm). L'étalonnage consiste à préparer une gamme de concentration croissante d'acide ascorbique (0.125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 2 mg/ml), après agitation et homogénéisation les tubes vissés vont subir les mêmes conditions que l'échantillon. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant le programme d'Excel et l'équation  $Y = 1,7012X + 0,1095$  nous a permis de calculer la capacité antioxydante totale de chaque fraction. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les essais sont répétées 3 fois.

### **3. HydroxyToluène Butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthyl phénol (BHT)**

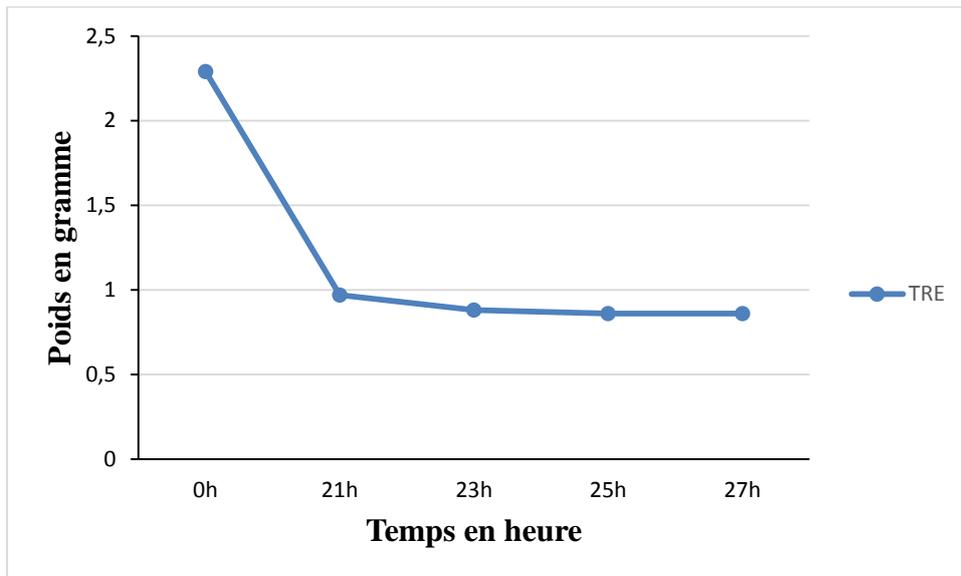
*Protocole expérimental* : Avant tout, on a préparé la solution de l'Hydroxy Toluène Butylé avec 40 milligramme de poudre BHT dans 10 millilitre de méthanol, on a fait le mélange au Vortex, par la suite, on a fait un autre mélange de 1 millilitre de BHT additionné avec 1 millilitre de DPPH, ainsi donc après prélèvement, on va incuber les tubes à l'obscurité pendant 30 minutes et puis on va lire l'absorbance de chaque tube à une longueur d'onde  $\lambda = 517$  nanomètre au spectrophotomètre. Selon les résultats DPPH standard, les concentrations sont de l'ordre (0-1 mg/ml). On va présenter un tableau d'IC50, sachant que l'IC50 est la concentration minimale pour inhiber 50% des radicaux libres.

**Analyses statistiques** : Tous les résultats sont soumis à une analyse statistique appropriés en utilisant le logiciel IBM SPSS statistics. Le seuil de signification est fixé à 0,5.

## Résultats et Discussions

### 1. Teneur relative en eau (%)

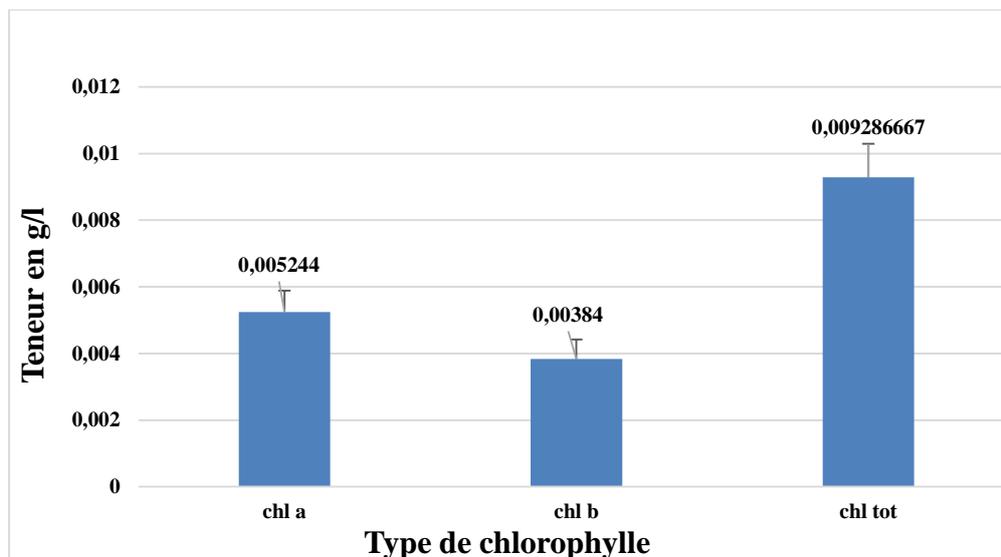
Selon les résultats obtenus (Figure 4), la teneur relative en eau des feuilles sèches de *Thymus broussonetii* Boiss est de 58,59%.



**Figure 4 :** Teneur relative en eau de l'espèce *Thymus broussonetii* Boiss

### 2. Teneur en chlorophylles

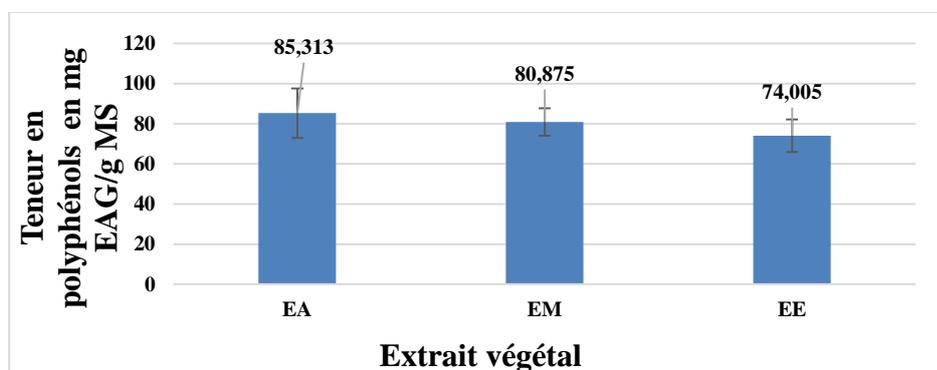
Selon les résultats obtenus (Figure 5), les concentrations en chlorophylle a et b sont respectivement 0,005244 et 0,00384 g/l, la valeur en chlorophylle totale vaut 0,009286667 g/l, ainsi donc la teneur en chlorophylle des feuilles de la plante *Thymus broussonetii* Boiss est de 0,006124 g/l.



**Figure 5:** Teneur en chlorophylles de la plante *Thymus broussonetii* Boiss

### 3. Teneur en polyphénols

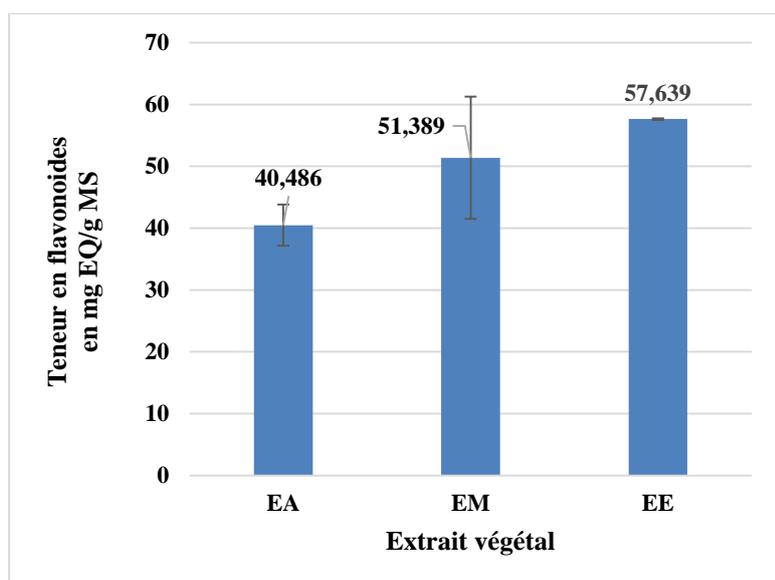
En fonction des résultats obtenus (Figure 6), on remarque que la teneur la plus élevée en polyphénols a été enregistrée par l'extrait aqueux avec une concentration de 85,313 mg EAG/g MS, alors que la faible valeur a été observée dans l'extrait éthanolique de concentration 74,005 mg EAG/g MS, aussi une teneur assez importante a été remarquée dans l'extrait méthanolique (80,875 mg EAG/g MS). Statistiquement une différence hautement significative a été observée entre les différents extraits ( $p \leq 0,001$ ) (annexes).



**Figure 6 :** Teneur en polyphénols des extraits étudiés

### 4. Teneur en flavonoïdes

Les résultats du contenu en flavonoïdes des extraits de la plante *Thymus broussonetii* Boiss sont représentés par la figure 7, d'après l'analyse de ces résultats, la concentration maximale en flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait éthanolique, avec une moyenne de 57,639 mg EQ/g MS, alors que la teneur la plus faible a été observée dans l'extraits aqueux (40,486 mg EQ/g MS). Pour l'extrait méthanolique on a trouvé 51,389 mg EQ/g MS. L'analyse de la variance relative à la teneur en flavonoïdes a montré une différence significative entre les différents extraits étudiés ( $p \leq 0,01$ ) (annexes).

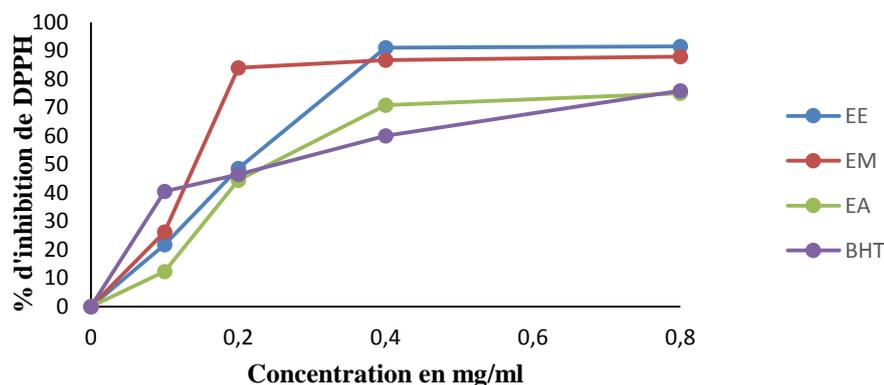


**Figure 7 :** Teneur en flavonoïdes dans les extraits de la plante *Thymus broussonetii* Boiss

## II. Activité Antioxydante

### 1. Test de DPPH

Les résultats (Figure 8) de l'activité antioxydante évaluée par le test de DPPH nous montrent que le pourcentage d'inhibition du DPPH dépend de la concentration de nos échantillons étudiés et de BHT. A la concentration 0.8 mg/ml, le % d'inhibition le plus élevé est atteint chez l'extrait éthanolique (91,579 %), alors que l'extrait aqueux présente celui le plus faible 75,417% et pour l'extrait méthanolique, il est assez important (87,975%). On constate selon les résultats d'IC<sub>50</sub> mentionnés dans le tableau 1 que l'extrait méthanolique correspond à la valeur la plus faible d'IC<sub>50</sub>, cela signifie que son activité antioxydante est plus importante que les deux autres extraits et de BHT. D'après L'ANOVA pas de signification entre les différents extraits étudiés ( $p \geq 0,05$ ) (annexes).



**Figure 8 :** % d'inhibition du radical DPPH des différents extraits étudiés et de BHT.

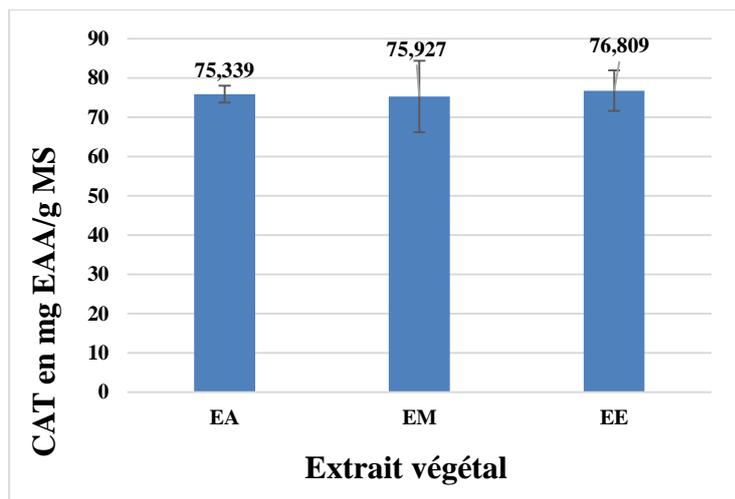
**Tableau 1 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> (mg/ml) des différents extraits et de BHT (mg/ml)

Extrait	IC <sub>50</sub>
EA	0,344±0,310
EM	0,096±0,245
EE	0,252±0,003
BHT	0,460±0,005

Les valeurs sont présentées (tableau 1) sous forme d'IC<sub>50</sub>±ES

## 2. Capacité antioxydante totale (CAT)

Les résultats de l'activité antioxydante de la plante *Thymus broussonetii* Boiss évaluée par le test de phosphomolybdate sont représentés dans la figure 9, d'après l'analyse de ce résultat, la capacité antioxydante totale est maximale chez l'extrait méthanolique avec une moyenne de 76,809 mg EAA/g et chez l'extrait aqueux puis l'extrait éthanolique, les valeurs sont assez importantes et sont respectivement 75,339 et 75,927 mg EAA/g MS. Statistiquement une différence qui n'a pas de signification a été marquée entre les différents extraits étudiés ( $p \geq 0,05$ ) (annexes).



**Figure 9** : Capacité antioxydante totale (CAT) des différents extraits étudiés

## Conclusion générale

La connaissance et l'usage des plantes médicinales et aromatiques constituent un vrai patrimoine de l'être humain, leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante (Dilekh et Messaoudi., 2020). Dans le but de rechercher de nouvelles molécules à intérêt thérapeutique, nous avons préparé 3 extraits : aqueux, méthanolique et éthanolique, à partir de *Thymus broussonetii* Boiss qui est une plante de la famille des Lamiacées. Les extraits ont été préparés par sonication à partir des feuilles de cette espèce. Ainsi donc, dans ce présent travail nous étions intéressé à se baser sur ses généralités, les composés phénoliques, les essences végétales et ses méthodes d'extraction, par la suite à la détermination de la teneur relative en eau, chlorophylles, polyphénols, flavonoïdes, au niveau de sa partie aérienne, ainsi qu'à l'évaluation de leur l'activité antioxydante en se fixant sur deux méthodes classiques à savoir le piégeage du radical libre DPPH avec BHT comme molécule de référence, puis la capacité antioxydante totale. Dans cette optique, grâce au screening phytochimique effectué, on a pu détecter plus précisément dans les résultats obtenus, la présence d'une teneur relative totale en eau non assez importante (58,59%), une teneur finale en chlorophylle de concentration 0,006124 g/l, une valeur considérable en polyphénols de moyenne 80,06 mg EAG/g MS, une moyenne non forte en flavonoïdes (49,838 mg EQ/g MS), un fort pourcentage d'inhibition de 85% pour la concentration de 0,8 mg/ml, une forte activité antioxydante de l'extrait méthanolique ( $CI_{50} = 0,0096 \pm 0,245$  mg/ml) comparativement à l'extrait aqueux ( $0,344 \pm 0,310$  mg/ml), l'extrait éthanolique ( $0,252 \pm 0,003$  mg/ml) et de BHT ( $0,460 \pm 0,005$  mg/ml) sans oublier une puissance de la capacité antioxydante totale des extraits étudiés exprimée en acide ascorbique qui est égale à 75,025 mg EAA/g MS. Ce travail reste préliminaire et on comptant le compléter par l'étude des feuilles d'échantillons de différentes régions algériennes, ainsi d'étudier ses différents organes et également l'identification des différents antioxydants présents là-dedans (Dih et Belguendouz, 2017) ainsi donc, à cause de la problématique posée par les stress oxydant, nous proposons les perspectives suivantes : c'est l'augmentation de la balance entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), afin d'éviter l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule, de la production endogène des ROS qui a pour but de défendre l'organisme contre des agents pathogènes et pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène

ainsi que le développement des systèmes de défense qui permettent de réguler la production de ces ROS selon (Desmier, 2016).

## Références bibliographiques

- Mikou.K, (2021)"Plantes aromatiques et médicinales", Journal of Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources, P : 01-62.
- Azzouz.F, (2012)"Les réponses morfo physiologiques et biochimiques chez l'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) soumis à un stress hydrique", Journal of République algérienne démocratique et populaire ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, P : 01-82.
- Benayache.F, (2013)"Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret", Journal of République algérienne démocratique et populaire du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, P : 01-155.
- Bouchouka.E, (2016)"Extraction des polyphénols et études des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes", Journal of Badji Mokhtar-Annaba University, P : 01-110.
- Boukhira.S, (2017)"Vers d'innovants conservateurs naturels pour la cosmétique : Applications du challenge test et évaluation de leurs activités biologiques", Journal of Centres d'Etudes Doctorales : Sciences et Technologies Fès, P : 01-187.
- Bourgou.S, Serairi Beji.R, Medini.F, Ksouri.R, (2020)"Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*", Journal of new sciences, vol.28, p : 01-159.
- Desmier.T, (2016)"Les antioxydants de nos jours : Définition et applications", Journal of Faculté de Pharmacie de l'université de Limoges, P : 86-88.
- DIH.A, Belguendouz.A, (2017)"Contribution à l'étude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des alcaloïdes extraits d'*Ossyris alba* L, récoltée au niveau de la région de Beni-Snousse-Tlemcen"Journal of république algérienne démocratique et populaire du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, P : 01-55.
- Dogniard.A et Chatelain.C, (2010-2013)"Place du taxon dans la classification", Journal of Tela Botanica, P : 01-02.
- Echarradi.M, (2019)" Contribution à l'étude de grain de *Lepidium sativum*", Projet de Fin d'Etudes : Biotechnologie et valorisation des Phyto-Ressources, P : 33-34.

Edziri.S, Hassen.I, Fatnassi.S, Mrabet.Y, Hervé.C, Hanchi .Belgacem, Hosni.K, (2012)"Phenolics constituents, antioxydant and antimicrobial activities of *rosy garlyic (Allium roseu var. odoratissimum)*", Journal of Functional Foods, vol.4, Num.2, P : 423-432.

El ansari.Z.N, Boussaoudi.I, Benkaddour.R, Tahiri.Houda, El Oualkadi, Badoc.A, Martin.P, Lamarti.A, (2020)"Micropropagation of the Moroccan Endemic Plant *Thymus broussonetii* Boiss. With Aromatic-Medicinal Value and Conservation Concern", American Journal of Plant Sciences, vol.11, P : 913-938.

Ferhat Maria, (2016)"Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces : *Mentha aquatica*, *Stachys guyoniaca* et *Thymus dreatensis* (Lamiaceae)", Journal of république algérienne démocratique et populaire ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, P : 02-230.

Ghourri.M, Lahcen.Z et Allal.D, (2013)"Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien)", International journal of Biological and Chemical Science, vol.7, Num.4, P : 1688-1700.

Ghourri.M, Lahcen.Z et Allal.D. (2014)"La phytothérapie et les infections urinaires (La pyélonéphrite et la cystite) au Sahara Marocain (Tan-Tan)", Journal of Animal and Plant Sciences, vol.20, Num.3, P : 3171-3193.

Lakhdar.L, (2015)"Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : Etude in vitro", Journal of Faculté de médecine dentaire-Rabat, P : 01-163.

Mehdioui et Kahouadi., (2007)"Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la foret d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira", Journal of Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la vie, Num.29, P : 11-20.

Messaouidi.T, Dilekh.F. (2020)"Etude de quelques activités biologiques de glycyrrhizin extrait de la plante médicinale *Glycyrrhiza glabra* L.de deux régions", Journal of Université de Biskra, P :01-20.

Moon et Shibamoto, (2009)"Antioxydant Assays for Plant and Food Components", Journal of Agricultural food chemistry, vol.57, Num.5, P : 1655-1666.

Robert.C, (1980)"Caractérisation des vésicules de lipides extraits du chloroplaste avec et sans chlorophylle a et photodcoloration de la chlorophylle a dans ces vésicules", Journal of Université du Québec à Trois-Rivières Service de la bibliothèque", P : 01-108.

Sahli.R, (2017)"Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques", Thèse de doctorat : En sciences du médicament et des autres produits de santé et en Génie Biologique, P : 01-255.

Triaux.Z, (2019)"Développement de méthodes d'extraction et d'analyse de molécules terpéniques à activité anti-inflammatoire", Journal of Ecole Doctorales des Sciences Chimiques de l'Université de strasbourg, P : 01-280.

Uttara, Bayani, Ajay.S.V, Zamboni, Paolo, Mahajan.R.T, (2009)"Oxydative Stress and Neurodegenerative Diseases", Journal of Agenda, vol.7, Num.1, P : 65-74(10).

Michel.T, (2011)"Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'*argousier (Hippophaë rhamnoides)*", Journal of Pôle Universités Centre Val de Loire, P : 01-286.

Site web : <https://chimactiv.agroparistech.fr>

## Annexes

### Analyse de la variance relative à la teneur en polyphénols des différents extraits de *Thymus broussonetii* Boiss

Tableau 2 : Variance relative en polyphénols

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
Extraits	143,012	2	71,506	138,489	0,001
Erreur	1,549	3	0,516		

### Analyse de la variance relative à la teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Thymus broussonetii* Boiss

Tableau 3 : Variance relative en flavonoïdes

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
Extraits	530,646	2	265,323	49,172	0,005
Erreur	16,188	3	5,396		

### Analyse de la variance relative à la teneur en capacité antioxydante totale des différents extraits de *Thymus broussonetii* Boiss

Tableau 4 : Variance relative en capacité antioxydante totale

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
Extraits	3,287	2	1,644	0,014	0,986
Erreur	686,931	6	114,489		

### Analyse de la variance relative à la détermination d'IC<sub>50</sub> des différents extraits de *Thymus broussonetii* Boiss et de BHT

Tableau 5 : Variance relative en IC<sub>50</sub>

Source de variation	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
Extraits	0,092	2	0,046	4,196	0,072
Erreur	0,066	6	0,011		

## Quelques graphes de DPPH et de BHT

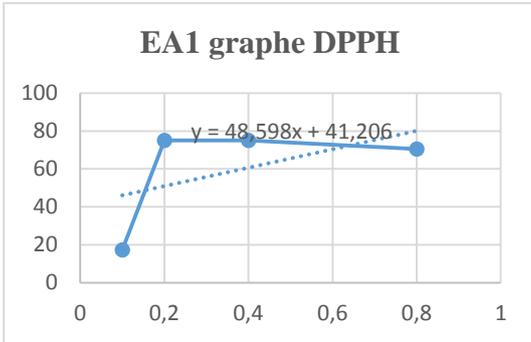


Figure 10

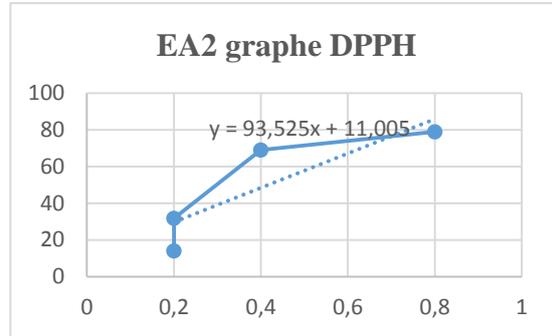


Figure 11

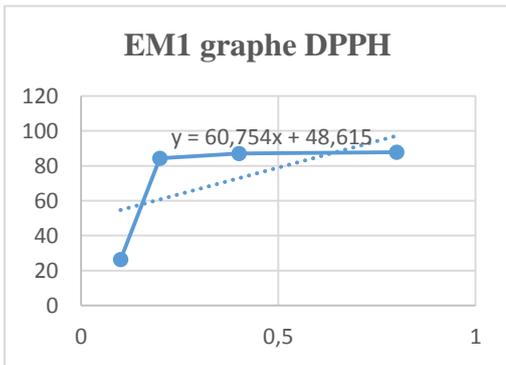


Figure 12

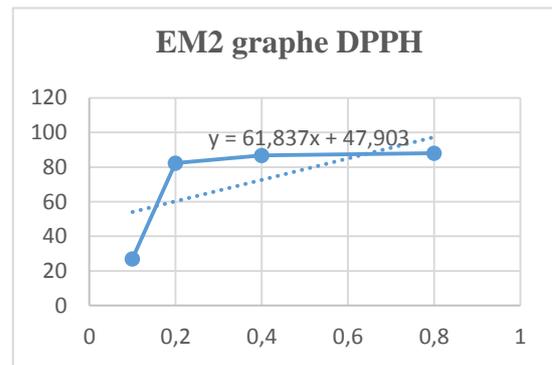


Figure 13

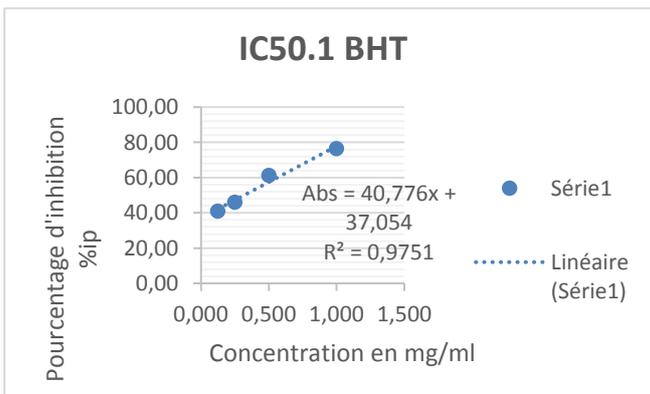


Figure 14

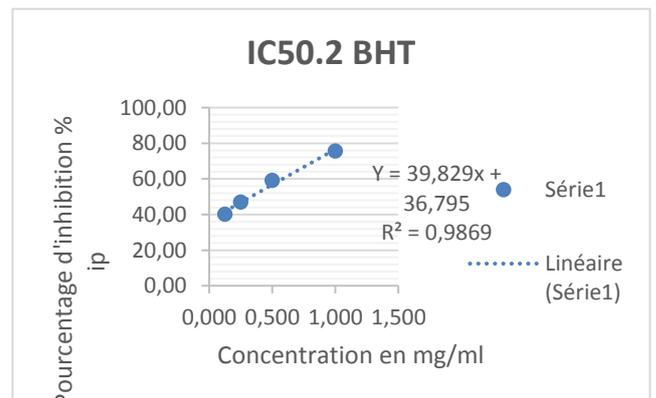


Figure 15

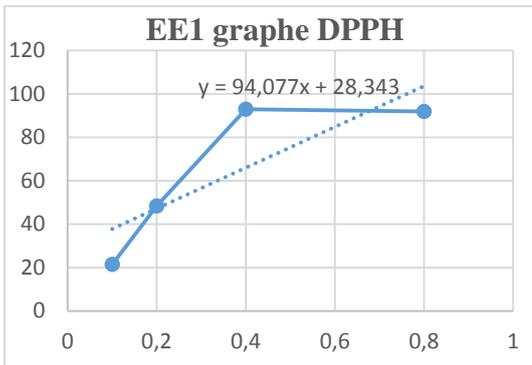


Figure 16

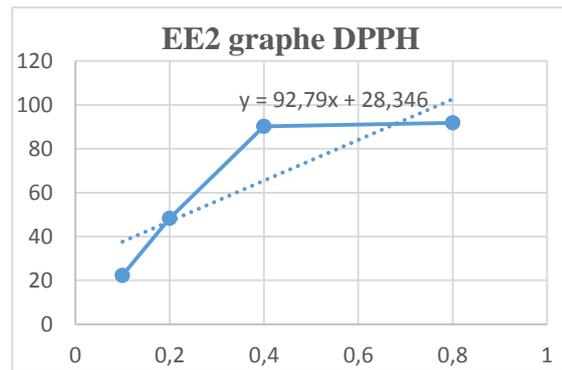


Figure 17

### Quelques gammes d'étalonnage

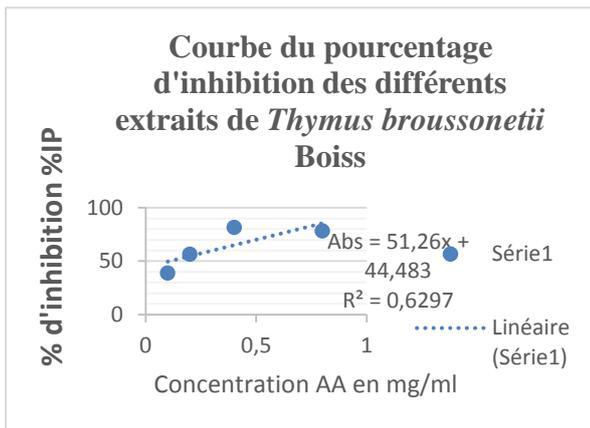


Figure 18

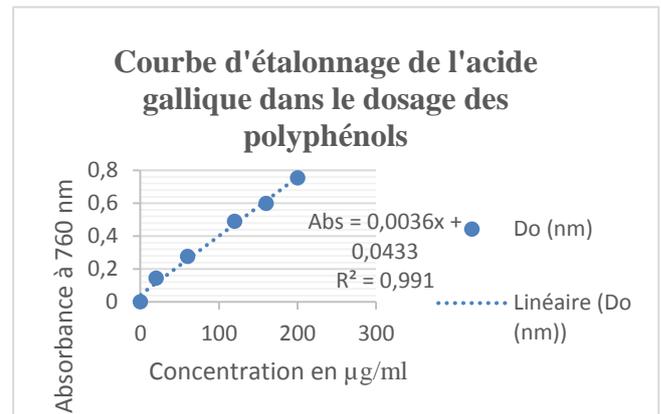


Figure 19

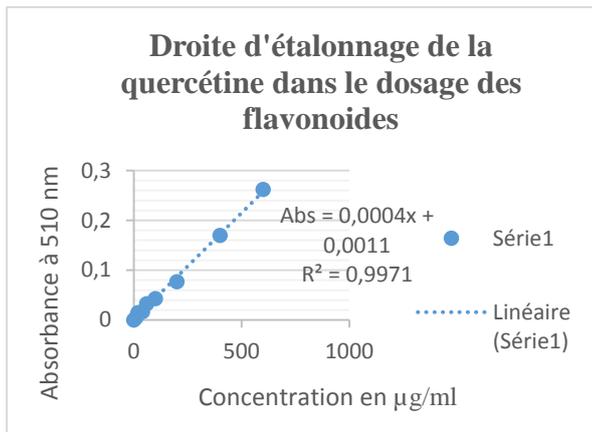


Figure 20

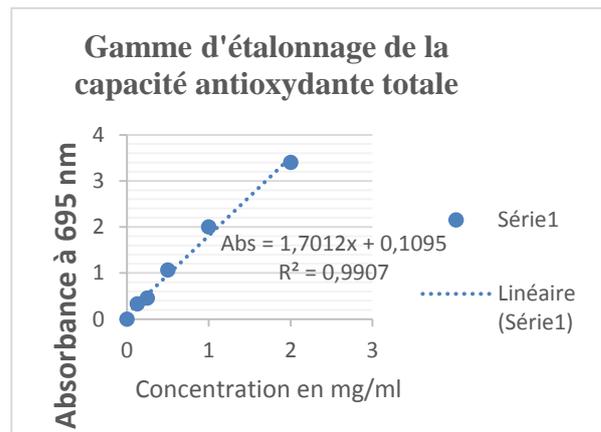


Figure 21