



## Projet de Fin d'Etudes

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

L'EFFET DU SOLVANTS SUR LA TENEUR EN POLYPHÉNOLS  
ET ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE  
*Lavandula stoechas*

Présenté par : Achaymae MAZAR

Encadré par :

- Pr. Karima MIKOU
- Dr. Chaimae RAIS

Soutenu le : 06/07/2021

Devant le jury composé de :

- Pr. Fatima FADIL
- Pr. Karima MIKOU
- Dr. Chaimae RAIS

Année universitaire

2020/2021

# **SOMMAIRE**

<b>LISTE DES ABRÉVIATION.....</b>	
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	
<b>DÉDICACES.....</b>	
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	
<b>PRÉSENTATION DE ANPMA.....</b>	
<b>RÉSUMÉE.....</b>	
<b>INTRODUCTION GÉNÉRAL.....</b>	<b>01</b>
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	
I.    Plante Aromatique et Médicinales.....	02
1.    Généralité.....	03
2.    Domaine d'applications des Plantes Aromatiques et Médicinales.....	04
II.   Généralité sur la plante étudiées ( <i>Lavandula steochas</i> ).....	05
1.    Historique.....	06
2.    Systématique.....	07
3.    Description Botanique.....	08
4.    Composition Chimique.....	09
5.    Usage de la plante.....	10
III.  Composés Phénoliques.....	11
1.    Polyphénols.....	12
2.    Flavonoïdes.....	13
3.    Tanins Condensés.....	14
IV.  Quelques méthodes d'extraction.....	15
1.    Extraction par hydrodistillation.....	16
2.    Extraction par CO2 supercritique.....	17
3.    Extraction par macération.....	18
4.    Extraction par sonication.....	19
V.    Activité Antioxydante.....	20
1.    Définition.....	21
2.    Détermination de l'activité antiradicalaire par le DPPH.....	22
3.    Test de la capacité antioxydante totale (CAT).....	23
4.    Test ABTS.....	24

<b>MATÉRIELS ET MÉTHODES.....</b>	
I. Matériel Végétal.....	25
II. Extraction Par Sonication.....	26
III. Analyse Physiologique.....	27
1. Teneur en eau.....	28
2. Teneur en chlorophylle.....	29
IV. Analyse Phytochimique.....	30
1. Teneur en Polyphénols.....	31
2. Teneur en Flavonoïdes.....	32
V. Analyse de l'activité antioxydante.....	33
1. Test de DPPH.....	35
2. Test de La capacité antioxydante totale (CAT).....	36
VI. Analyse Statistique.....	37
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	
I. Analyse Physiologique.....	38
1. La Teneur en Eau.....	39
2. La Teneur en Chlorophylles.....	40
II. Analyse Phytochimique.....	41
3. La Teneur en Polyphénols.....	42
4. La Teneur en Flavonoïdes.....	43
III. Analyse de l'Activité Antioxydante.....	44
1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	45
2. Test de La capacité antioxydante totale ( CAT).....	46
<b>CONCLUSION.....</b>	
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	
<b>ANNEXES.....</b>	

# **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

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

**CAT** : Capacité antioxydante totale

**DPPH** : 1,1-Di phenyl-2-picrylhydrazyl

**E.D** : Eau distillé

**EAA** : Équivalent d'acide ascorbique

**EAG** : Équivalent d'acide gallique

**EQ** : Équivalent de quercétine

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

**MS** : Matière sèche

**PAM** : Plantes aromatiques et médicinales

# **LISTE DES FIGURES**

**Figure 1:** *Lavandula stoechas*.L.

**Figure 2:** Structure de Polyphénols.

**Figure 3:** Structure de Flavonoïdes.

**Figure 4:** Structure des tannins condensés.

**Figure 5:** Schéma d'extraction par hydrodistillation

**Figure 6:** Schéma d'extraction par CO<sub>2</sub> fluide supercritique

**Figure 7:** Schéma d'extraction par macération

**Figure 8:** Schéma d'extraction par sonication .

**Figure 9:** Réaction de réduction de DPPH.

**Figure 10:** Réaction de ABTS

**Figure 11:** Extraction par sonication.

**Figure 12:** Réaction de réduction du DPPH.

**Figure 13:** Taux d'humidité et la matière sèche de *Lavandula stoechas*.

**Figure 14:** Teneur en chlorophylle (g/l).

**Figure 15:** Effet de la nature du solvant d'extraction dans la teneur en polyphénols de *Lavandula stoechas* .

**Figure 16:** Effet de la nature du solvant d'extraction dans la teneur en flavonoïdes de *Lavandula stoechas* .

**Figure 17:** Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction de la concentration des extraits et de BHT

**Figure 18:** %IC<sub>50</sub> des extraits de *Lavandula stoechas* du test DPPH et de BHT.

**Figure 19:** La capacité antioxydante totale des différents extraits de *Lavandula stoechas*.



# DÉDICACES

### **A mes parents**

Qui m'ont donné beaucoup de soutien et d'encouragement, symbolisant pour moi le sacrifice et la source d'où naît la lumière qui éclaire ma vie, et pour qui aucune dédicace n'exprimera la profondeur de mon amour.

### **A mes frères,**

Pour leur véritable et sincère amour. Je leur souhaite une vie pleine de succès avec beaucoup de bonheur,

### **A mes formateurs,**

Qui m'ont dirigé vers le chemin de succès par leur compréhension et leur conseil. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de ma profonde reconnaissance et ma grande estime.

### **A tous mes amis et collègues,**

Pour les moments forts et agréables que nous avons passés ensemble, à tous ceux qui m'aiment et me souhaitent le bonheur et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et à l'élaboration de ce rapport.

# **REMERCIEMENTS**

Tous 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.

Au terme de ce projet de fin d'études, nous profitons de l'occasion pour remercier du fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame " **MIKOU KARIMA** " mon encadrant pédagogique pour son encadrement, son aide précieuse, sa disponibilité, son orientation et ses conseils précieux, et aussi Madame "**RAIS CHAIMAE**" d'avoir accepté d'encadrer et rédiger mon projet de fin d'étude, ainsi pour sa disponibilité, sa gentillesse, sa patience, et pour l'intérêt qu'elle a consacré pour ce travail.

Je tiens également à remercier Madame " **FADIL FATIMA** " membre de jury d'avoir accepté de juger ce travail .

# **PÉSENTATION DE L' ANPMA**

L'ANPMA ( Agence National des Plantes Aromatiques et Médicinales) est un des établissements universitaires, de recherche appliquée, d'appui technique et d'information, spécialisé dans les PMA. Ses missions s'inscrivent dans le cadre de la charte et la loi 01- 00. (Décret de création du 4 juin 2002, Bulletin officiel du 27 juin 2002).

Il s'inscrit dans le cadre :

- Des recommandations de la Charte Nationale de l'Éducation et de la Formation ;
- Des missions fixées à l'ANPMA (décret du 4 juin 2002) ;
- Des dispositions législatives et réglementaires ;
- Des mesures et objectifs envisagés pour la mise en place de la réforme ;
- De l'ouverture de l'Université sur l'environnement socio -économique.

Pour organiser la filière des Plantes Médicinales et Aromatiques, le Gouvernement de Sa Majesté avait décidé de transformer l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques en « Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques ».

Et pour cause, l'Institut présentait de nombreuses défaillances, notamment en terme de faiblesse des moyens financiers et des ressources humaines, en plus de l'inadéquation de son organisation en tant qu'établissement universitaire. L'Agence, considérée comme une réponse à ces défaillances, aura pour rôle de fournir l'information technique, de recherche et d'innovation et aider les décideurs à organiser la filière. C'est ainsi que la loi n° 111-12 relative à l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques, promulguée par le Dahir n° 1-15-04 du 29 rabii II 1436 (19 février 2015), a été publiée au Bulletin Officiel N° 6338 le 26 Février 2015.

# RESUMÉ

La présente étude a porté sur une plante de la famille des Lamiaceae largement utilisée en médecine traditionnelle *Lavandula stoechas.L.* Cette étude a pour objectif l'étude de l'effet du solvant d'extraction sur le rendement de la plante en polyphénols ( par le réactif de Folin-Ciocalteu) et en flavonoïdes (par la méthode de chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  ). L'étude a également visé la mise en évidence et l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante et ce a l'aide de deux tests différents : le test au DPPH et celui de la capacité antioxydante totale (CAT). .

Les résultats ont montré la richesse de l'extrait aqueux en polyphénols totaux, et la richesse l'extrait méthanolique en flavonoïdes qui ont été évalués, avec des teneur respectivement de (  **$95,313 \pm 0,188$  mgEAG/gMS**) et ( **$53,4 \pm 3,54$  mgEQ/gMS**).

Concernant l'activité antioxydante, le test au DPPH a révélé une activité de piégeage du DPPH importante au niveau de l'extrait méthanolique ; et le teste de la capacité antioxydante totale (CAT) a montré que l'extrait aqueux à un pouvoir antioxydant le plus élevé ( **$76,858 \pm 4,025$  mg EAA/g MS**).

Cette activité antioxydante pourrait être attribuée a la présence au niveau de la plante de composés bioactifs en particulier les polyphénols.

Mots-Clés : *Lavandula stoechas*, polyphénols, flavonoïdes, DPPH, CAT.



# **INTRODUCTION GÉNÉRAL**

L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques par l'homme est une pratique antique (Majinda et *al.*, 2001), du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs propriétés aromatiques présentent des sources potentielles très riches en molécules bioactives. Ces plantes possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles. Aujourd'hui, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles dont les domaines d'application sont très variés qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques telle que la propriété antioxydante qui a attiré l'attention de nombreux laboratoires et chercheurs dans le cadre de la recherche d'antioxydants naturels utilisés dans les industries alimentaires comme additifs (Kezzouna, 2015) pour retarder l'oxydation des aliments.

En outre, le Maroc est un pays riche en plantes médicinales et aromatiques parmi ces plantes, *Lavandula stoechas* L. ou lavande papillon (Benabdelkader, 2012), se présente sous forme d'un arbrisseau et très ramifié, à des fleurs de couleur violet. C'est une plante largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Elle est connue par sa richesse en huiles essentielles et par sa propriété biologique. De nombreux chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels et qui possèdent des activités antimicrobiennes.

La présente étude porte sur, l'évaluation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux, éthanolique et méthanolique de *Lavandula stoechas*, Ainsi que la mise en évidence et la quantification *in vitro* de l'activité antioxydante des différents extraits de la plante étudiée via par deux méthodes différentes:

\*La méthode au DPPH

\*La méthode de la capacité antioxydante totale (CAT).

**REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES:**

### **1. Généralités**

Au Maroc, les écosystèmes naturels renferment 4200 espèces végétales vasculaires. Parmi celles-ci 382, soit 9% de l'ensemble de la flore du Maroc, sont exploitées en tant que plantes à intérêts médicinaux et aromatiques et sont appelées plantes aromatiques et médicinales. La valorisation des PAM constitue une bonne alternative, et elle peut se faire sous forme de plante sèche ou des huiles essentielles ou extraits.

Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent aujourd'hui une alternative très importante pour la création de la richesse et de la valeur ajoutée pour tout pays, mais également une opportunité qu'il faudrait saisir par le Maroc qui se situe à proximité d'un grand marché consommateur, qu'est l'Europe.

### **2. Domaine d'applications des Plantes Aromatiques et Médicinales:**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en médecine:

➤ **En alimentaire:** Différentes espèces médicinales sont utilisées comme épices pour aromatiser et augmenter la durée de vie des aliments. En effet, ces espèces contiennent des huiles essentielles dotées d'activités antimicrobiennes intéressantes et peuvent servir d'agents de conservation alimentaires (Mohammadi, 2006).

➤ **En cosmétologie:** Les plantes aromatiques sont utilisées dans la formulation des produits de beauté. Les huiles essentielles de la lavande (*Lavandula officinalis*) sont utilisées dans les préparations pour bains calmants ou relaxants (Bruneton, 1993).

➤ **En médecine:** Certaines plantes sont utilisées pour le traitement des troubles nerveux et des troubles liés au stress telles que *Angélica archangélica* et *Valérian officinalis* (Messkue, 1975 ; Iserin, 1997 ; Legrand, 1994).

## **II. Généralités sur la plante étudiée (*Lavandula stoechas*)**

### **1. Historique:**

*Lavandula Stoechas* est communément appelée Lavande Française , Lavande Italienne , Lavande Espagnole , Lavande des Stoechades , Lavande maritime , Lavande papillon ou Lavande à toupet. Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen

(Europe méridionale, l’Afrique du Nord et le Moyen Orient), C’est un sous arbrisseau qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches.



**Figure1 :** *Lavandula stoechas.L*

## **2. Systématique:**

D’après Quezel et Santa (1963), la systématique de *Lavandula Stoechas* est la suivante:

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas L</i>

## **3. Description Botanique:**

*Lavandula Stoechas* se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de hauteur. Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles , tomenteuses , oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de

1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le calice est sessile, il a treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La corolle est de couleur violet foncée ou mauve, les stigmates sont capités. Les fruits sont sans intérêt économique; ils permettent, cependant, la production de graines, le fruit est un akène appelé «nucule».

#### **4. Composition Chimique:**

les principaux constituants chimiques potentiellement actifs qu'on peut trouver dans le genre *Lavandula stoechas* sont:

- **Monoterpènes:** pinène, 3-pinène, 3-ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène.
- **Monoterpènes alcools:** terpinéol, bornéol, lavandulol, linalol, p-cymen-8-ol, Transpivocarvéol.
- **Monoterpènes aldéhydes:** aldéhyde de cumin.
- **Monoterpènes éthers:** 1,8-cinéole.
- **Monoterpènes esters:** acétate de linalyl, acétate de terpényl.
- **Monoterpènes cétones:** carvone, coumarine, cryptone, fenchone, méthylhéptenone, noctanone, nopinone, p-méthylacétophénone.
- **Benzénoïdes:** eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, aciderosmarinique, thymol.
- **Sesquiterpènes:** caryophyllène, oxyde de caryophyllène,  $\alpha$ -photosantanol,  $\alpha$ -santalal,  $\alpha$ -norsantalénone.
- Quelques traces d'autres composés tels que les flavonoïdes.

Au niveau de cette espèce, les composants majoritaires des huiles essentielles de la *Lavandula Stoechas* sont:

l' $\alpha$ -pinène, le fenchone, le camphre et l'acétate de myrtenyl. Les autres constituants sont le bêta pinène, le limonène, le bêta santalène, le bornéol, le camphre, la caryophyllène, la coumarine, le géraniol, le limonène, le linalol, le lutéoline, le 1,8-cinéole, l'acide rosmarinique, le tannin, l'umbelliférone et l'acide ursolique.

#### **5. Usage de la plante:**

*Lavandula stoechas* est parmi les plantes médicinales les plus utilisées. Des preuves documentées de l'utilisation des lavandes comme agent thérapeutique remontent jusqu'aux anciens Romains, Grecs et Arabes. Elle est aussi une plante

mellifère qui génère des miels de couleurs et odeurs propres . Les fleurs de lavande fine constituent des sources majeures de nectar pour les abeilles. Elle est également vendue comme plante ornementale pour les jardins populaires. Enfin , il été mentionné qu'elle est aussi utile dans l'agriculture biologique comme bio-insecticide. Elle constitue une culture de choix dans les terres arides.

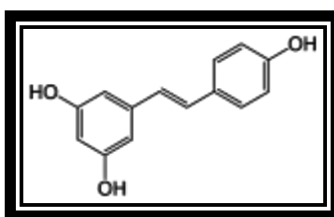
Les fleurs de lavande , séchées , sont très résistantes et conservent leurs arômes très longtemps, les anciens utilisent la lavande dans l'eau du bain pour son parfum et ses propriétés antiseptiques et calmantes.

### III. COMPOSÉS PHÉNOLIQUES :

#### 1. Polyphénols:

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les Polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction. Ils sont présents dans les vacuoles des tissus, participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV...). L'expression (composés phénoliques) est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.

Plusieurs travaux sur la plante (*Lavandula stoechas* ) montrent que L'extrait de la lavande a manifesté une forte teneur en composés phénoliques (132,3 mg eq AG/ g d'extrait sec), suivi par l'extrait de *L. vera* (Elena et al., 2008) (85,6 mg eq AG/ g d'extrait sec) et l'extrait de *L. dentata* (18,6 mg eq AG/ g d'extrait sec) (Imelouane et al. 2009).

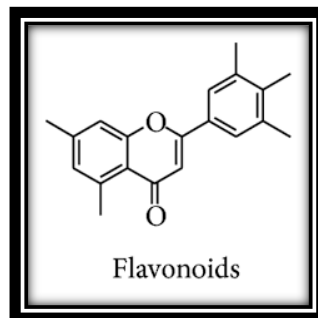


**Figure 2:** Structure de Polyphénols

#### 2. Flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont des constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien, à l'exception des algues. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau

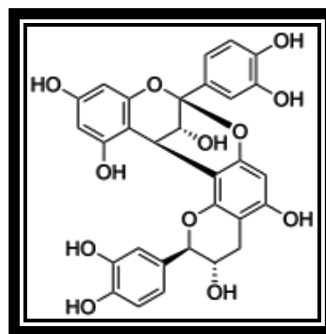
flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base.



**Figure 3:** Structure de Flavonoïdes

### **3. Tanins Condensés:**

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines, les grains). Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en familles en fonction d'activités communes. Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines. Les tanins sont synthétisés à partir de la phénylalanine par la voie dite de l'acide shikimique.



**Figure 4:** Structure des tannins condensés

## **IV. QUELQUE MÉTHODES D'EXTRACTION**

### **1. Extraction par hydrodistillation**

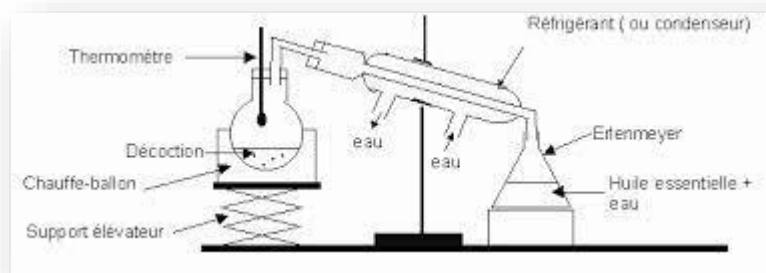
L'hydro-distillation consiste à immerger la matière végétale directement dans un réacteur rempli d'eau placé sur une source de chaleur.

L'ensemble est ensuite porté à ébullition sous une pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues



dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique.

Ce mélange constitué d'eau et d'HE est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin . Une fois condensé , eau et molécules aromatiques, du fait de leurs différences de densité , se séparent en une phase aqueuse et une phase organique contenant l'HE. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage (recyclage de l'eau de distillation a l'aide d'un siphon) des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation.



**Figure 5:** Schéma d'extraction par hydrodistillation

## **2. Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

Les fluides supercritique ont été considérés comme un moyen alternatif pour l'extraction des HEs. Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est le fluide supercritique le plus couramment utilisé du fait de ses conditions critiques modérées. Dans des conditions de haute pression et a température supérieur a 31C , le CO<sub>2</sub> se trouve dans un état dit "supercritique", intermédiaire entre le gaz et le liquide . Dans cet état , le CO<sub>2</sub> présente la particularité d'extraire les molécules aromatiques a partir de la matière première.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente . Son principe consiste a changer la matière végétale dans l'extracteur , puis le CO<sub>2</sub> introduit sous pression est réfrigéré.

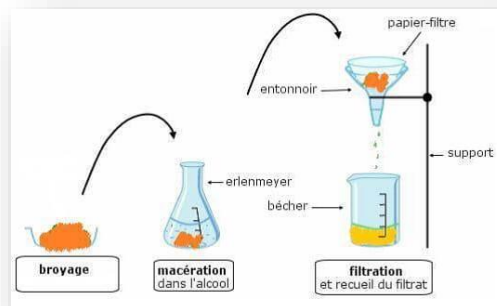
La pression y étant réduite , le CO<sub>2</sub> reprend sa forme gazeuse pour être conduit vers un séparateur ou, il sera séparé en extrait et en solvant. Après évaporation du solvant , l'extrait est décanté pour obtenir l'absolue. Le dioxyde de carbone ,quant a lui , récupéré dans un condensateur et recyclé pour de nouvelles opérations.



**Figure 6:** Schéma d'extraction par CO<sub>2</sub> fluide supercritique

### 3. Extraction par macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs). Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide. Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients.

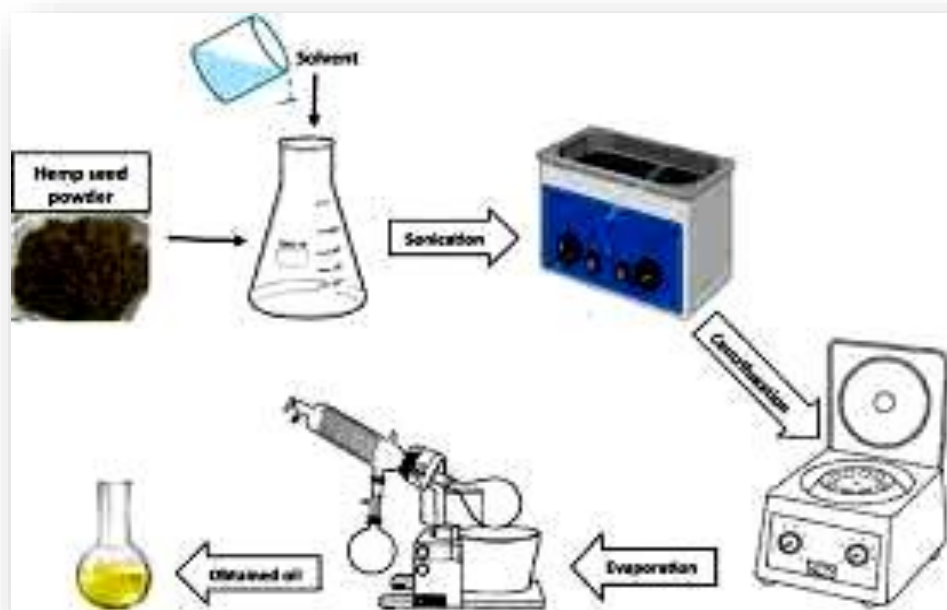


**Figure 7:** Schéma d'extraction par macération

### 4. Extraction par sonication

L'extraction assistée par sonication est une technologie émergente qui a été mise au point dans le but d'améliorer l'efficacité et le rendement d'extraction, et de réduire le temps et la consommation d'énergie durant l'extraction. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans l'eau ou dans le solvant, et en même

temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Pendant la sonication, les ondes sonores (20 kHz à 10 MHz) utilisées induisent des vibrations mécaniques agissant comme un piston dans la surface du milieu, et de compression. L'implosion des bulles de cavitation générées donne lieu à des micro-jets pour détruire les glandes sécrétrices des HEs. afin de faciliter le transfert de masse et la libération de l'HE. Cet effet de cavitation est fortement dépendant des paramètres de fonctionnement (fréquence ultrasonique, intensité, température et temps de traitement, etc...) qui sont importants pour un fonctionnement effectif des sono-réducteurs. En plus de l'amélioration du rendement, l'extraction assistée par ultrasons fournit des HEs de très haute qualité avec moins de dégradation thermique. L'extraction par sonication peut être couplée ou associée avec d'autres techniques d'extraction telle que l'énergie des micro-ondes, l'extraction par fluide supercritique, ou par des méthodes classiques telle que l'extraction au Soxhlet.



**Figure 8:** Schéma d'extraction par sonication

## V. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE:

### 1. Définition:

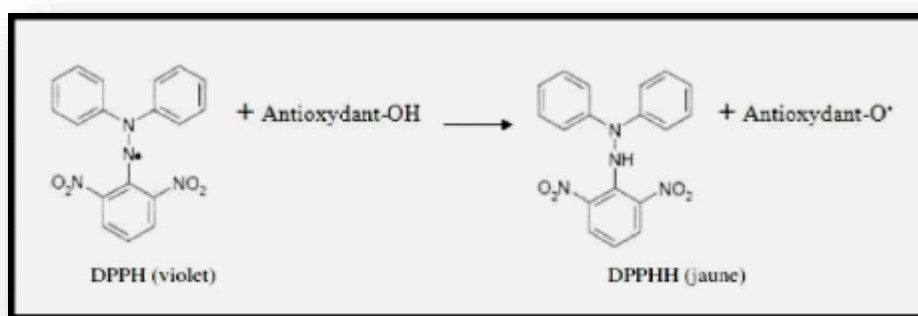
L'activité antioxydante consiste en l'inhibition de réactions en chaîne de production de radicaux libres et limite ainsi leur action. Ceci à travers le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO). La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions

métalliques, impliqués dans leur production. Cette propriété se retrouve souvent dans les familles polyphénoliques .

## 2. Détermination de l'activité antiradicalaire par le DPPH :

Le radical organique relativement stable, le 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). est employé couramment dans la détermination de l'activité antioxydante des composés simples comme les différents extraits de plantes (Katalinic et al., 2006). Le DPPH est centré par l'azote qui porte un électron impair. Il est de couleur violette foncée. En présence d'antioxydants, il réagit avec eux par l'intermédiaire de deux mécanismes différents : une abstraction directe de l'hydrogène des groupes d'hydroxyles ou un processus de transfert d'électron, pour former un produit final stable qui est le diphenyl-b-picrylhydrazine coloré en jaune et qui donne une absorption forte à 517 nm.

Une réduction de l'absorbance du DPPH en solution est observée avec l'augmentation de la dose de l'antioxydant.



**Figure 9:** Réaction de réduction de DPPH.

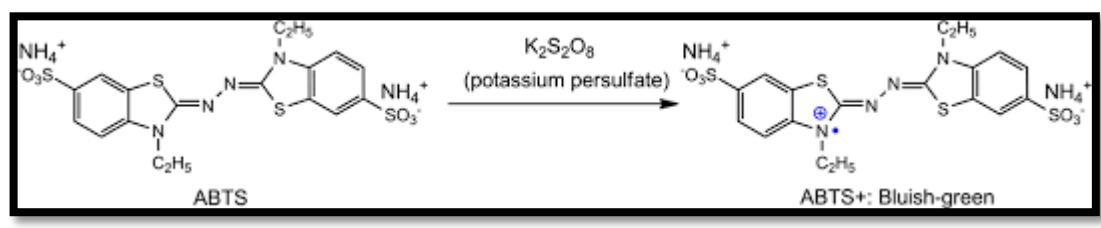
## 3. Test de la capacité antioxydante totale (CAT):

Le teste de la capacité antioxydante totale est parmi les tests utilisés pour mesurer l'activité antioxydante des plantes. Dans ce test la réduction de molybdate présent sous la forme d'ions  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'antioxydant pour former le complexe vert de phosphate dans un milieu acide avec perte de son absorbance à 695 nm.

Chez *Lavandula stoechas* cette activité témoigne de la variabilité intraspécifique selon les organes.

## 1. TEST ABTS

Dans la méthode ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique), l'activité antioxydant totale d'une molécule est soustraite de sa capacité à inhiber le radical ABTS\*+. L'obtention du radical cation ABTS\*+ résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation qui est la peroxydase met myoglobine (Miller & Rice Evans, 1997) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant, le dioxyde de manganèse ou le persulfate de potassium (Moon & Shibamoto, 2009). Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration verte bleue intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant), le passage du radical ABTS\*+ à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm. l'extrait éthanolique des feuilles de *Lavandula stoechas* a un taux de piégeage du radical ABTS dépassant les 99,20% à la concentration de 0,9mg/ml comparée à l'extrait éthanolique des fleur de la même plante en enregistrant une inhibition du radical ABTS atteignant les 95,05% à la concentration de 1,03mg/ml. Et pour l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* on enregistrant des taux d'inhibition maximales respectivement de l'ordre de 97,40% , de 99,03% et de 98,72% d'inhibition du radical d'ABTS avec des concentrations respectives de 0,72mg/ml pour l'extrait de fleur, 1,63mg/ml pour l'extrait de feuilles et de 0,44mg/ml pour l'extrait de tiges .



**Figure 10:** Réaction de ABTS.

# **MATÉRIELS ET MÉTHODES**

## **I. MATÉRIEL VÉGÉTAL**

La matière végétale utilisée dans la présente étude est constituée de la partie aérienne( tige, feuille, fleur) de la plante *Lavandula steoches*. La récolte est effectuée dans le jardin botanique de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA) le 28 avril 2021, les échantillons prélevés ont été séchés dans l'étuve pendant 3 jours à une température de 36 °C. Ils sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur électrique afin d'avoir une poudre fine qui servira à l'extraction des composés phénoliques et a la détermination de l'activité antioxydante .

## **II. EXTRACTION PAR SONICATION**

### **a) Principe**

l'appareil utilisée dans cette technique d'extraction est un sonicateur. Il produit des ondes sonores qui, à leur tour, provoquent des vibrations mécaniques à l'intérieur de la matière végétale. Ceci permet de libérer les composés bioactifs et par conséquent leur extraction.

### **b) Protocole**

40 mg de poudre ont été mélangés avec 10 ml de solvant (aqueux, méthanol et éthanol). L'extraction des polyphénols a été réalisée dans un sonicateur à une température ambiante pendant 30 min. Le produit ainsi obtenu est centrifugé pendant 10 min afin de séparer la phase liquide de la phase solide. Les extraits obtenus (surnageants) ont été conservé à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'a leur utilisation.

c) schéma

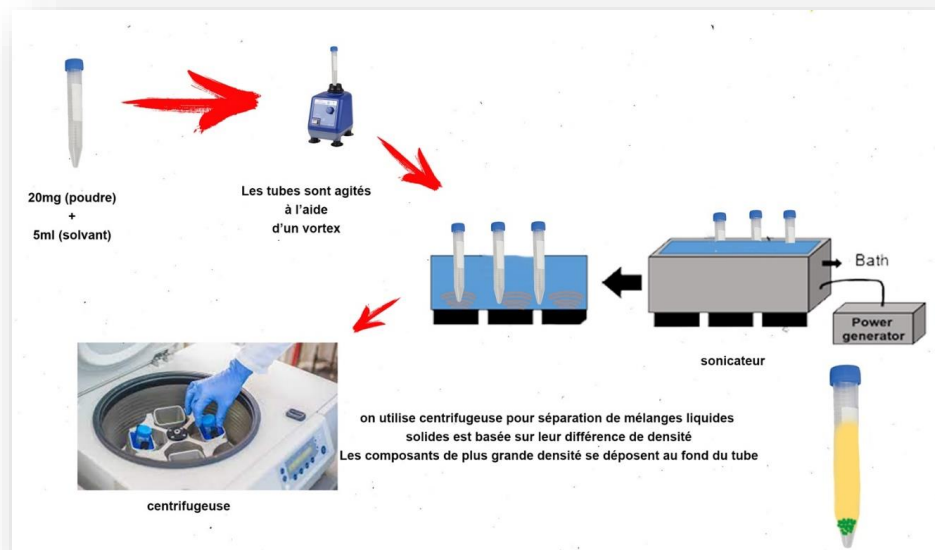


Figure 11: Extraction par sonication

### III. ANALYSES PHYSIOLOGIQUE

#### 1. Teneur en eau

Le taux d'humidité ou la teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation, ou la quantité d'eau contenu dans la matière végétale. L'humidité des plantes est déterminée en plaçant des échantillons de la matière végétale fraîche dans l'étuve à une température de 50 °C. (Simpson, 1999; Twidwell et *al.* 2002 ).

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculée par la formule suivante :

$$\% \text{ Teneur en eau} = \frac{(PF - PS)}{PF} * 100$$

**PF** : Poids de la matière fraîche de l'échantillon de la plante en ( g)

**PS** : Poids de la matière sèche de l'échantillon de la plante en ( g)

#### 2. Teneur en chlorophylle

L'extraction de la chlorophylle est faite suivant la méthode de Mac Kiney (1941) et Arnon (1949). 40 mg de feuilles d'échantillon (coupées en très petit morceaux) sont mélangés avec 4 ml de DMSO. Le mélange ainsi obtenu est chauffé dans une



étuve à 65 °C pendant 1h. La teneur en chlorophylle est ensuite déterminée à l'aide d'un spectromètre à deux longueurs d'ondes (663 et 645 nm).

On calcule la valeur de deux types de chlorophylle a et b selon la relation suivante:

$$\text{chl a (g/L)} = (0,0127 \times A663) - (0,00269 \times A645)$$

$$\text{chl b (g/L)} = (0,0229 \times A645) - (0,00468 \times A663)$$

$$\text{chl Tol (g/L)} = (0,0202 \times A645) + (0,0080 \times A663)$$

#### IV. ANALYSES PHYTOCHIMIQUE

##### 1. Dosage des polyphénols

###### a) Principe

Le principe du dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif de couleur jaune au départ est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dans l'extrait végétal (Ghazi et Sahraoui, 2005).

###### b) Protocole

100  $\mu$ L de chaque extrait sont mélangés avec 500  $\mu$ L de R. Folin (dx10). Après 1h d'incubation à l'obscurité, 2 ml de  $Na_2CO_3$  (2%) sont ajoutés. Le tout est porté à l'incubation une autre fois pendant 1h. Finalement, l'absorbance des polyphénols est mesurée à l'aide d'un spectromètre à 760 nm. (Singleton et Ross, 1965).

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie par l'acide gallique: :  $y = 0,002x + 0,255$  sachant que le coefficient de détermination est  $R^2 = 0,959$ (Annex 8).

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique (EAG) par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS).

La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant une solution mère de 1 g/l d'acide gallique pour préparer une série de dilution (20, 60,100, 200 et 400 mg/L.). L'absorbance de chaque solution est mesurée à 760 nm.

### 3. Dosage des flavonoïdes

#### a) Principe

Cette méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion  $Al^{+3}$ . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968).

#### b) Protocole

1 ml d'extrait et 0.3 ml de  $NaNO_2$  (5%) ont été mélangés. Après 5 min d'obscurité, 0.3 ml de  $AlCl_3$  ont été ajoutés au mélange qui est placé à nouveau dans l'obscurité pendant 6 min. Enfin, 2 ml de NaOH (1M) ont été ajoutés et le volume a été complété à 10 ml avec de l'E.D avant de mesurer l'absorbance à 510 nm. (Zhishen *et al.*, 1999) et (Kim *et al.*, 2003).

La concentration des Flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage: :  $y = 0,0018x + 0,0105$  sachant que le coefficient de détermination est  $R^2 = 0,957$ (Annex 9).

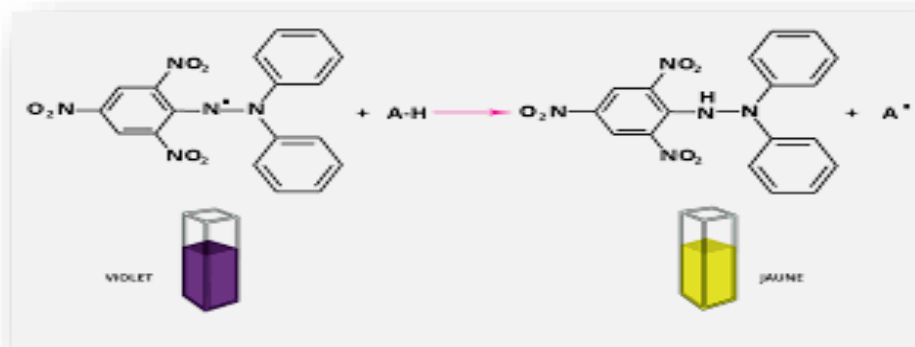
Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de Quercétine (EQ) par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

La courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant différentes concentrations de Quercétine (10,20, 40, 60, 100, 200 et 400 mg/L). Une solution mère de 1 g/L de quercétine à été préparée dans le méthanol. La solution ainsi obtenue est utilisée pour préparer une série de dilution. L'absorbance de chaque solution est mesurée à 510 nm et la courbe d'étalonnage a été tracée en conséquent.

## V. ANALYSES DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

### 1. Test de DPPH

Une série de dilution a été préparée à partir de la solution mère de chaque extrait, puis 1 ml de DPPH a été ajoutée. Les mélanges ainsi obtenus sont incubés pendant 30 min avant de mesurer leur absorbance à 517 nm.



**Figure 12:** Réaction de réduction du DPPH

Le degré d'inhibition est déterminé à l'aide de l'équation suivante (Leitao et *al.* 2002 ; Wang et *al.* 2002) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(D.O(DPPH) - D.O(\text{extrait}))}{D.O(DPPH)} * 100$$

Les résultats sont comparés avec le **BHT** (4mg/ml) utilisé comme molécule de référence.

La concentration inhibitrice  $IC_{50\%}$ , correspond à la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux libre de DPPH. Cette valeur est calculée en se basant sur la courbe de régression en fonction des % d'inhibition (Bouhaddouda, 2016).

## **2. Test de la capacité antioxydante totale (CAT)**

Une solution de phospho-molybdate a été préparée en mélangeant le molybdate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O) (40 mM), le phosphate de sodium (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (280 mM) et l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (6M). 3 ml de la solution obtenue ont été ajoutés à 100 µL d'extrait. Le tout est porté à l'ébullition (95 °C) pendant 90 min avant de mesurer l'absorbance à 695 nm.

Les valeurs de la capacité antioxydante total est déterminée en se référant a la courbe d'étalonnage établie par l'acide ascorbique (2mg/1ml). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique (EAA) par gramme de la matière sèche (mg EAA/gMS).

Dans ce test, 2mg l'acide ascorbique (une molécule de référence de CAT) a été dissous dans 1ml de l'eau distillé. Des solutions à Différentes concentrations de

ce dernier (2, 1, 0.5, 0.25 et 0.125mg/l) ont été préparées puis portées à l'ébullition à 90 °C pendant 90 min. l'absorbance a été ensuite mesurée pour chaque solution à 695 nm après une période de refroidissement.

## **VI. Analyse statistique**

Tous les résultats ont soumis à une analyse statistique appropriée en utilisant le logiciel IBM SPSS statistics. Le seuil de signification est fixé à 0,05.

# **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

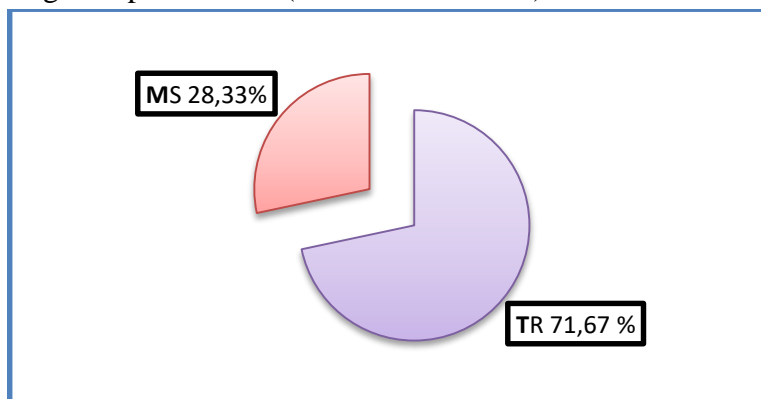
## I. ANALYSE PHYSIOLOGIQUE

### 1. Teneur en eau

Les végétaux sont riches en eau , nous avons remarqué que les analyses de notre échantillon ont révélé un taux d'humidité important correspondant ( figure 13) à environ **71,67%**, cela signifie que **28,33%** est le taux de la matière sèche ayant servi réellement à la préparation des extraits.

Parallèlement Bachiri et *al.*(2016) ont montré que le taux d'humidité de *Lavandula stoechas* du Maroc représentait plus de la moitié du poids frais (64%). Ainsi Mohammedi (2006) a trouvé un taux d'humidité de l'ordre 52,5% de *Lavandula stoechas* fraîche récoltée de la région d'Oum et Alou de Tlemcen (Algérie).

Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme 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).

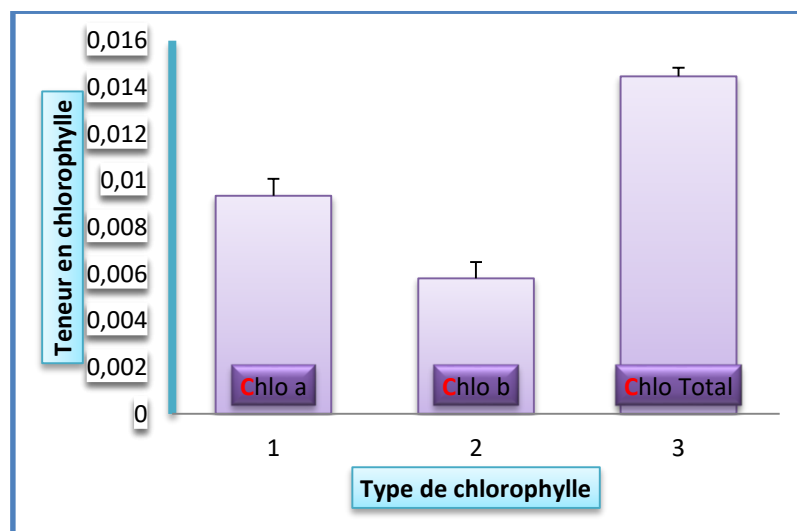


**Figure 13** : Taux d'humidité et de matière sèche de *Lavandula stoechas* L.

### 2. Teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle est un phénomène très complexe. Dans certains cas, les conditions de lumière auxquelles les feuilles sont soumises exercent une grande influence, dans d'autres cas cette influence n'est pas constatée. De plus l'origine ainsi que la hauteur des plantes semblent jouer un rôle considérable.

D'après la figure 14 on considère que notre plante *Lavandula stoechas* a un teneur plus élevée de chlorophylle **a** ( $0,009 \pm 0,0007$ g/l) qui est la principale forme de chlorophylle présente chez les organismes qui mettent en œuvre la photosynthèse, par contre on observe une valeur faible de chlorophylle **b** ( $0,005 \pm 0,0007$  g/l).



**Figure 14:** Teneur en chlorophylle (g/l)

## II. ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

### 1. Dosage des Polyphénols

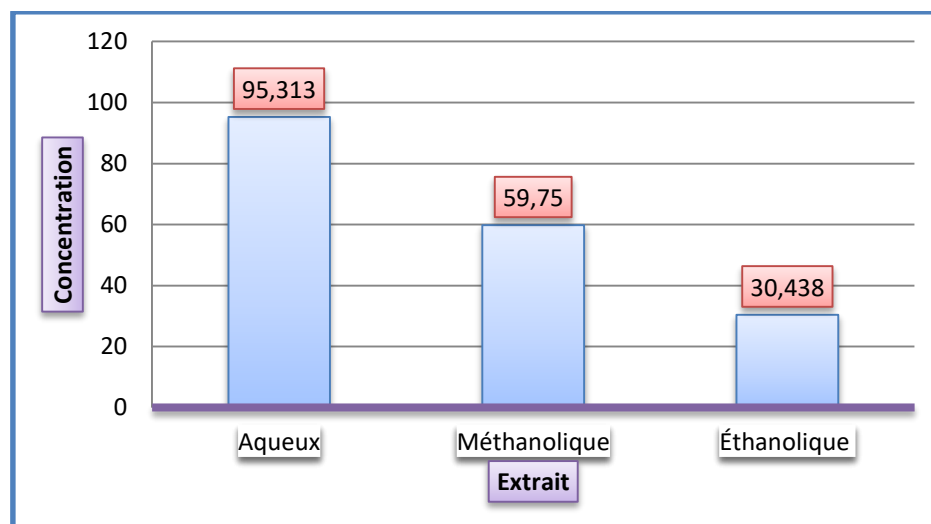
Les polyphénols en général, sont des composés extrêmement actifs biologiquement, ce sont des antioxydants par excellence, ils possèdent également plus d'une activité préventive et thérapeutique.

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits, a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu . Ce complexe voit sa couleur passer du jaune au bleu, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à la longueur d'onde de 760 nm. Le dosage par ce réactif donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé.

Les teneurs en composés phénoliques totaux de notre extrait aqueux , méthanolique et éthanolique sont présentés dans la figure 15. Il ressort que l'extrait aqueux a montré la teneur la plus élevée en composés phénoliques (**95,313±0,188 mgEAG/gMS**), suivi de l'extrait méthanolique avec une valeur de (**59,75± 1,250 mgEAG/gMS**), puis l'extrait éthanolique qui a une faible teneur en polyphénols (**30,438± 1,313 mgEAG/gMS**).

L'analyse de la variance relative a la teneur en polyphénols montre une différence hautement significatif (**P≤ 0,0001**) (Annexe 10).

Ceci peut être expliqué par le fait que les composés phénoliques de *Lavandula stoechas* étaient principalement solubles dans l'extrait aqueux.



**Figure 15** : Effet de la nature du solvant d'extraction dans la teneur en polyphénols de *Lavandula stoechas* (mgEAG/ g MS).

Plusieurs chercheurs ont effectué des études sur la teneur en polyphénols totaux dans le genre de *Lavandula* :

En 2014 Krimat et *al.* ont obtenu une teneur en composés phénolique sur *Lavandula antineae* de **262,35 ± 6,04 mg EAG/g** de l'extrait acétate d'éthyle suivi de **22,25 ± 2,43 mg EAG/g** d'extrait méthanolique et enfin l'extrait butanolique avec une valeur de **16.49±3.66 mg EAG/g** d'extrait sec.

Ainsi que notre teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique est beaucoup plus inférieur de celui présenté dans l'étude d'Echchegadda et *al.* (2014) de *Lavandula dentata* qui est de **184,02 mg EAG/g** d'extrait aqueux.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte qui peut modifier les compositions de la plante ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales. En outre, une grande variabilité à différents stades de maturation et pour différentes conditions de culture, telle que la température et les précipitations, sont connues pour affecter les teneurs en composés phénoliques (El abedlletal, 2014).

Par contre, selon Hayouni (2003), la teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant et du matériel végétal.



Ainsi, l'utilisation des solvants polaires donne une teneur élevée en composés phénoliques.

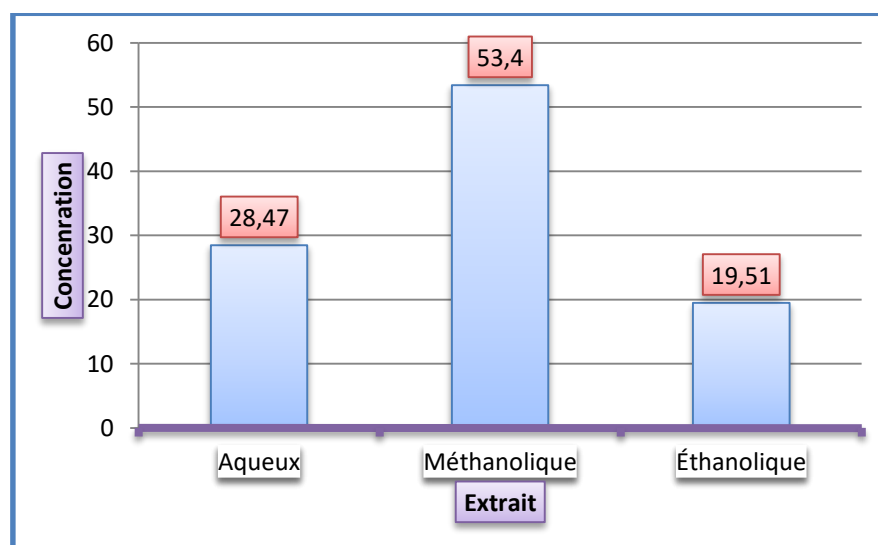
## 2. Dosage des Flavonoïdes

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune, coloration dont l'intensité est mesurable à un spectrophotomètre à UV.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>)

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux de notre extrait aqueux, méthanolique et éthanolique présentent dans la figure 16, qui montre que Les concentrations des flavonoïdes de *Lavandula stoechas* sont relativement importantes dans l'extrait méthanolique (**53,40±3,54 mg EQ/g MS**), suivit par l'extrait aqueux (**28,47±6,11 mg EQ/g MS**), et enfin l'extrait Éthanolique (**19,51±3,96 mg EQ/g MS**). Ce qui est due probablement au fait que les flavonoïdes de *Lavandula stoechas* étaient principalement plus solubles dans la fraction méthanolique.

D'après l'anova une différence significative a été marqué entre les différent extrait (**P≤0,01**) (Annex 11).



**Figure 16** : Effet de la nature du solvant d'extraction dans la teneur en flavonoïdes de *Lavandula stoechas* (mgEQ/ gMS).

Dans une étude mentionnée par Krimat et *al.* (2014) sur un autre genre de lavandula (*Lavandula antineae*), qui a trouvé une teneur de flavonoïdes de **4.03±0.03 mg EQ/g** dans l'extrait méthanolique, **2.51±0.02 mg EQ/g** dans l'extrait acétate d'éthyle et **1.96±0.02 mg EQ/g** dans l'extrait butanolique.

La richesse en flavonoïdes dans nos extraits est due à la méthode d'extraction qui est menée à température ambiante ce qui permet d'extraire le maximum des composés, ainsi que les concentrations les plus importantes des flavonoïdes et sont accumulées dans la partie aérienne des plantes, qui est exposée à la Lumière du soleil (Topçu, 2007) et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (Lee et *al.* 2003).

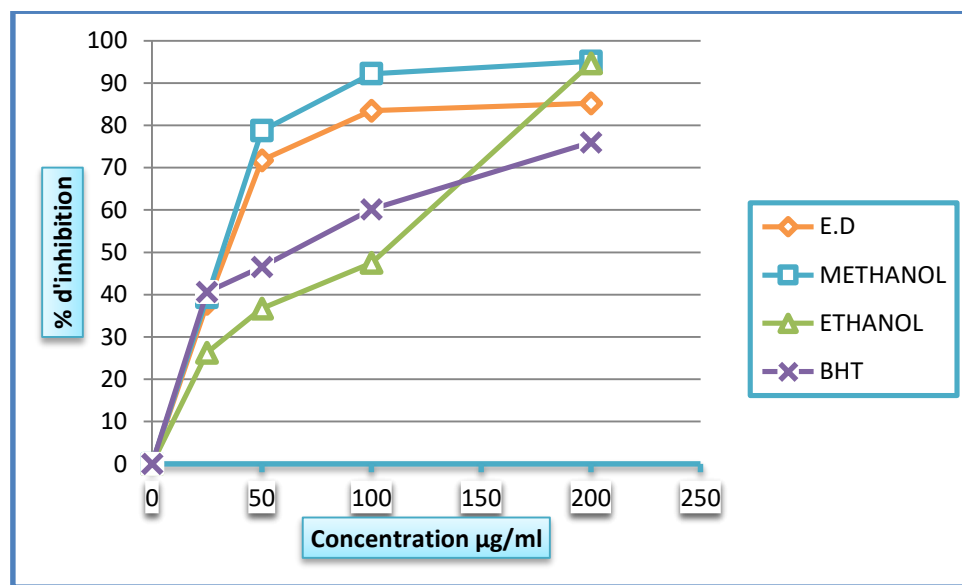
### **III. ANALYSES DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE**

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante de nos extraits des composés phénoliques a été réalisée par deux techniques chimiques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, et la capacité antioxydante totale (CAT).

#### **1. Test de piégeage du radical libre DPPH**

Bien que le test au DPPH• soit considéré comme une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Le test au DPPH• n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH•, et ainsi d'apprécier les variations qualitatives des composés phénoliques, Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles

D'après la figure 17, nous avons remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (BHT) ou pour les extraits testés (aqueux, méthanolique, éthanolique). Les résultats obtenus de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* a mentionné une activité de piégeage du DPPH nettement proche à pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux, et plus important que celle d'antioxydant standard BHT.

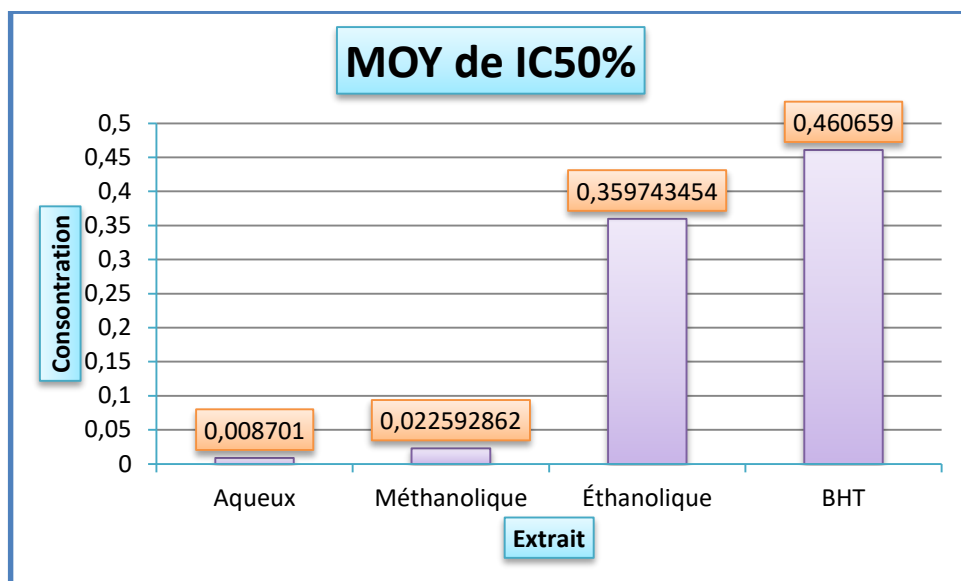


**Figure 17** : Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction de la concentration des extraits et de BHT

Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH . En effet, Le mécanisme de la réaction entre les antioxydants et le DPPH dépend de la conformation structurale des antioxydants. Certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH, réduisant le nombre de molécules de DPPH en égale nombre de groupements hydroxyles. Cette activité antioxydante des différents extraits de la plante est principalement apportée par les composés actifs y présents. En effet, de nombreuses études ont montré l'existence d'antioxydants naturels dans toutes les parties de plantes et que les composés typiques responsables de cette activité sont principalement les polyphénols.(Rebey et *al.*2017).

D'après la figure 14 nous avons observé que l'extrait aqueux manifeste une bonne activité antiradicalaire ( $0,008 \pm 0,006$  mg/ml), suivit par l'extrait Méthanolique ( $0,022 \pm 0$  mg/ml).

L'étude statistique ( $P=0,002 \geq 0,001$ ), montre qu'il y a une différence significative entre les extraits de *Lavandula stoechas* (Annexe 13).



**Figure 18** : %IC<sub>50</sub> des extraits de *Lavandula stoechas* du test DPPH comparaison avec le BHT

IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Ismaili et al. 2017). Les calculs des IC<sub>50</sub> sont schématisés sur la figure 18.

Une étude menée par Algieri et al. (2016), les extraits hydro-méthanolique de *L.stoechas* ont démontré une efficacité inhibitrice du radical DPPH remarquablement, en enregistrant des IC<sub>50</sub> de valeur **67.07 ±6.5 mg/ml**. Ces valeurs sont nettement supérieures à celle trouvée avec nos extraits, suggèrent qu'une amélioration de nos conditions de travail et de l'état de la plante peut aboutir a des extraits plus riches en composés actifs pouvant donner une activité antioxydante plus importante.

## 2. Test de la capacité antioxydante totale (CAT)

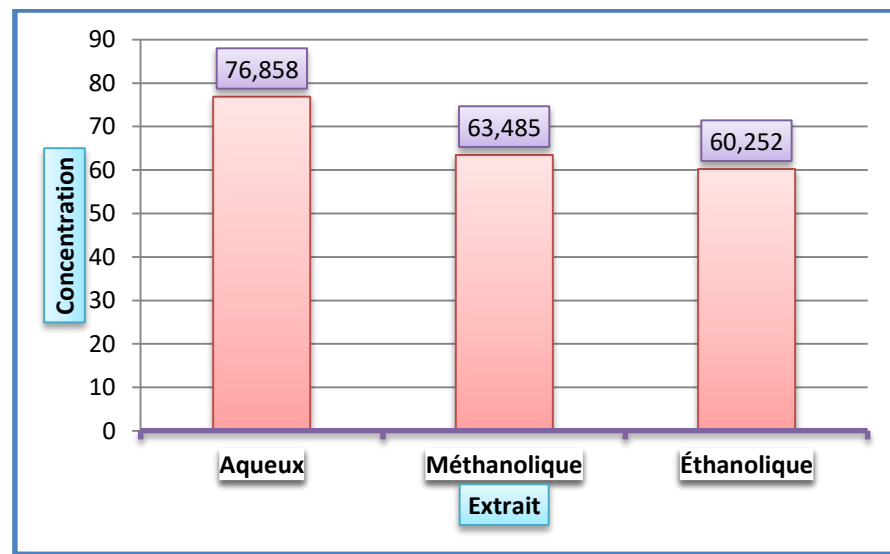
La capacité antioxydant obtenus à partir des extraits brut aqueux, méthanolique et éthanolique a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage ( $y = 1,7012 x + 0,1095$  ;  $R^2 = 0,990$ ) , réalisée avec un extrait de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide ascorbique par ml de la matière sèche (mg/mg MS).

D'après les résultats obtenus dans la figure19, l'estimation de la capacité antioxydante totale des extraits a montré une variabilité en fonction de la nature du solvant aqueux ,méthanolique et éthanolique) utilisé pour l'extraction.

On remarque que l'extrait aqueux à un pouvoir antioxydant le plus élevé (**76,858±4,025 mg EAA/g MS**), par rapport aux extraits Méthanolique et Éthanolique (**respectivement, 63,485±5,535mg EAA/g MS et 60,252±3,145mg EAA/g MS**).

Statistiquement une différence significative a été observé entre les différents extraits étudiés (**P =0,042≤0,05**) (Annexe 12).

Ce pouvoir antioxydant observé dans les trois extraits peut être dû essentiellement à la richesse des extraits en polyphénols particulièrement les flavonoïdes, et aussi en fonction des structures chimiques des molécules bioactives(Belyagoubi, 2012).



**Figure 19:** Capacité antioxydante totale des différents extraits de *Lavandula stoechas*(mgEAA/g MS).

# CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydantes a concerné la plante de la famille des Lamiaceae *Lavandula stoechas* employée grâce à ses propriétés thérapeutiques.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités considérables en polyphénols, et c'est l'extrait aqueux qui présente la teneur la plus élevée par rapports a l'extrait méthanolique et éthanolique. De même, nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité moyennement importante en flavonoïdes, mieux solubles dans le méthanol.

Les potentialités antioxydantes, évaluées par deux méthodes (DPPH, CAT) et recherchées dans les différents 'extraits de *Lavandula stoechas* ont révélé un pouvoir de piégeage du DPPH dans tous les extrait mais plus important dans l'extrait méthanolique. La valeur  $\text{IC}_{50}$  la plus élevée a été constatée avec l'extrait aqueux de *Lavandula stoechas*. Donc la plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques.

**REFERANCE  
BIBLIOGRAPHYQUE**



Algieri F., Rodriguez-Nogales A., Vezza T., Garrido-Mesa J., Garrido-Mesa N., Utrilla M. P., González-Tejero M. R., Casares-Porcel M., Molero-Mesa J., Contreras M. D. M., Segura-Carretero A., Pérez-Palacio J., Diaz C., Vergara N., Vicente F., Rodriguez Cabezas M. E., Galvez J. (2016). Anti-Inflammatory Activity Of Hydroalcoholic Extracts Of *Lavandula Dentata* L. And *Lavandula Stoechas* L. *Journal Of Ethnopharmacology*, 190 :142–158.

Aprotosoiaie A.C., Răileanu E., Trifan A. et Cioancă O, 2013. The polyphenolic content of common Lamiaceae species available as herbal Tea products in Romanian pharmacies. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iași, Romania*. Volume 117 (1) : 223 – 237.

Bachiri Lamiae., Echchegadda Ghizlane., Ibjibjen Jamal., Nassiri Laila. October 2016 : Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal* edition vol.12, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. 313.

Ben Abdelkader T., (2012). Biodiversité, Bioactivité Et Biosynthèse Des Composés Terpéniques Volatiles Des Lavandes Ailles, *Lavandula Stoechas*, Un Complexe D'espèces Méditerranéennes D'intérêt Pharmacologique. Thèse De Doctorat Ens De Kouba, Algérie, P 24-25

Bouhaddouda Nabila. 2016 : Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba. Algérie.

Bruneton J. 1993 : Eléments de phytochimie et de pharmacologie. 2ème Ed. Lavoisier, Paris, pp: 405-426.

Chaytor, D. A. (1937). A taxonomic study of the genus *Lavandula*. *Journal of Linnean Society of London, Botany*, 51(338), 155-204.

Echchengadda Gh et al. 2016. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de *Lavandula* autochtones au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L». *European scientific Journal* 12(30) : 1857-7881.

El abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M N., Ben Hadj A S. 2014. Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. *International journal of pharmaceutical research and bio-science* 3(4) : 770-789.

Gonzalez-Coloma A., Mrtin-Benito, D., Mohamed, N., Garcia-Vallejo, M.C., &Soria, A. C. (2006). Antifeedant effect and chemical composition of essential oils from different population of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology* , 34(8), 609-616.

Gulçin I, Sat I. G, Beydemir G, Elmastas M, Kufrevioglu O.I. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L). *Food Chemistry* 87: 393–400.

Guyot-Declerck, C., Renson, S., Bouseta, A., & Collin, S. (2002). Floral Quality and discrimination of *lavandula stoechas* , *Lavandula angustifolia* , and *Lavandula angustifolia*<sup>x</sup> *latifolia* honeys. *Food Chemistry*, 79(4), 453-459.

Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M., Benzeid H., Khedid K., 2009. Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agricultural Biology*., vol.11, p.113–118.

Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K., Lamiri A. 2017. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines(13) : 1857-7431.

Kezzouna Radja. Juin 2015 : Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phonicea* .L. Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, Faculté des Sciences et de la technologie. Département : Chimie Industrielle. Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master en : Génie des Procédés. Option : Génie Chimique.

- Khanbabaee, K et Van Ree T. 2001. Tannins: Classifications and Definition. Nat. Prod. Rep. 18: 641–649.
- Kim S., Roh J., Kim D., Leeh., & Ahn Y., 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Prod. Res*, 39, pp:293-303.
- Krimat et al. 2014. Evaluation of phytochemicals, antioxidant and cytotoxic activities of *Lavandula antineae* Maire endemic medicinal plant from Algeria. *Pharmacology* (6): 24-31.
- Lee K. W., Kim Y. J., Lee J., Lee C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food Chem* 51:7292-7295.
- Leitao G.G., Leitao S.G., and Vilagag W. 2002: Quick preparative separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography. *Z. Naturforsch. J.*, 57, 1051-1055.
- Lis-Balchin, M. (Ed.).(2002). *Lavender :the genus Lavandula* .CRCpress.
- Lopez, A.; Castro, S.; Andina, M.J.; Ures , X.; Munguia, B.; LLABOT, J.M.; Dellacassa , E. ;Pala, S.; Dominguez, L. *Ind . Crops Prod*. 2014,53,209-216.
- Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. 2001: Resent resultants from naturel product resarch at the university of Botswana, Pure. *Appl. Chem.* 73 (7) : 1197-1208.
- Masse molaire calculée d'après « Atomic weights of the elements 2007 » [archive], sur [www.chem.qmul.ac.uk](http://www.chem.qmul.ac.uk).
- Mohammedi Zohra. 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Algérie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. Thèse de Magistère En Biologie. Option : Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris.

Ribereau-Gayon, P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux : notion générales sur les composés phénoliques, édition Dunod, Paris, p.88-89-318-330.

Simpson WilliamT. 1999: Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes. Gen. Tech. Rep. FPL- GTR- 113. Madison, Forest Products Laboratory.463 p.

Tisserand R. (1992) Success with stress. International journal of Aromatherapy. 4, 14-16.

Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarikürkcü C., Öztürk M. and Ulubelen A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. Food chemistry 103 : 816-822.

Touati N. 2009 .Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des substances végétales actives (polyphénols et huiles essentielles) et de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Lavandula stoechas et Rosmarinus officinalis. Thèse de Magistère de Contrôle de Qualité Certification et Méthodes de validation. Université A/MIRA de Bejaia. Faculté des sciences de la nature et de la vie.p: 74.

# **ANNEXE**

TENEUR EN EAU			
POID	REP		
	1	2	3
PF (g)	2,33	2,79	2,73
PS apres 21h (g)	0,68	0,96	0,64
PS apres 2h (g)	0,66	0,96	0,64
PS apres 2h (g)	0,66	0,96	0,64
%Teneur relative en eau	<b>71,67381974</b>	<b>66,30434783</b>	<b>76,55677656</b>
MOY	<b>71,67381974</b>		
MS	28,33		

### Annexe 1: Teneur en eau

TENEUR EN CHLOROPHYLLE						
ECHATIANT	PF (mg)	Abs(663nm)	Abs (645nm)	Chl a	Chl b	Chl Tol
1	39,8	0,948	0,34	0,011125	0,00334936	0,01447096
2	40,2	0,717	0,4	0,0080299	0,00580444	0,01383034
3	40,2	0,828	0,434	0,00934814	0,00606356	0,01540736
Moy				<b>0,00934814</b>	<b>0,00580444</b>	<b>0,01447096</b>
S.D				<b>0,00073219</b>	<b>0,000706096</b>	<b>0,00037388</b>

### Annexe 2 :Teneur en chlorophylle

POLYPHENOLS								
EXTRAIT	N°	Abs( 760nm)	Volume (mL)	Mass (g)	a	x (mg/g)	Moy	Standard error
ED	1	0,761	10	0,040	0,002	95,13	<b>95,313</b>	<b>0,188</b>
ED	2	0,764	10	0,040	0,002	95,50		
METHANOL	1	0,468	10	0,040	0,002	58,50	<b>59,750</b>	<b>1,250</b>
METHANOL	2	0,488	10	0,040	0,002	61,00		
ETHANOL	2	0,233	10	0,040	0,002	29,13	<b>30,438</b>	<b>1,313</b>
ETHANOL	3	0,254	10	0,040	0,002	31,75		

### Annexe 3: Dosage des polyphénols

FLAVONOIDS								
EATRAIT	N	Abs(510nm)	Volume (ml)	Mass (g)	a	x(mg/g)	Moy	Standar d error
ED	1	0,249	10	0,04	0,0018	34,58	<b>28,47</b>	<b>6,11</b>
ED	2	0,161	10	0,04	0,0018	22,36		
METHANOL	1	0,459	10	0,04	0,0018	63,75	<b>53,40</b>	<b>3,54</b>
METHANOL	3	0,51	10	0,04	0,0018	70,83		
ETHANOL	2	0,112	10	0,04	0,0018	15,56	<b>19,51</b>	<b>3,96</b>
ETHANOL	3	0,169	10	0,04	0,0018	23,47		

#### Annexe 4 : Dosage des flavonoïdes

CAT								
EXTRAIT	REP	Abs(695 nm)	Volume (mL)	Mass (g)	a	x (mg/g)	Moy	Standard error
E.D	1	0,517	10	0,040	1,701 2	75,98	<b>76,85 8</b>	<b>4,025</b>
E.D	2	0,523	10	0,040	1,701 2	76,86		
E.D	3	0,602	10	0,040	1,701 2	88,47		
METHANOL	1	0,432	10	0,040	1,701 2	63,48	<b>63,48 5</b>	<b>5,535</b>
METHANOL	2	0,545	10	0,040	1,701 2	80,09		
METHANOL	3	0,432	10	0,040	1,701 2	63,48		
ETHANOL	1	0,410	10	0,040	1,701 2	60,25	<b>60,25 2</b>	<b>3,145</b>
ETHANOL	2	0,369	10	0,040	1,701 2	54,23		
ETHANOL	3	0,443	10	0,040	1,701 2	65,10		

#### Annexe 5 : Dosage de la capacité antioxydante totale

DPPH						
DL	EXTRAIT	N°	Abs(517 nm)	% d'inhibition	Moy	Standard erreur
<b>200</b>	E.D	2	0,153	86,70721112	<b>85,18679409</b>	<b>1,520417029</b>
	E.D	3	0,188	83,66637706		
<b>100</b>	E.D	2	0,183	84,10078193	<b>83,44917463</b>	<b>0,651607298</b>
	E.D	3	0,198	82,79756733		
<b>50</b>	E.D	2	0,309	73,15377932	<b>71,72024327</b>	<b>1,433536056</b>
	E.D	3	0,342	70,28670721		
<b>25</b>	E.D	2	0,717	37,70634231	<b>37,79322328</b>	<b>0,086880973</b>
	E.D	3	0,715	37,88010426		
<b>200</b>	METHANOL	2	0,056	95,13466551	<b>95,09122502</b>	<b>0,043440487</b>

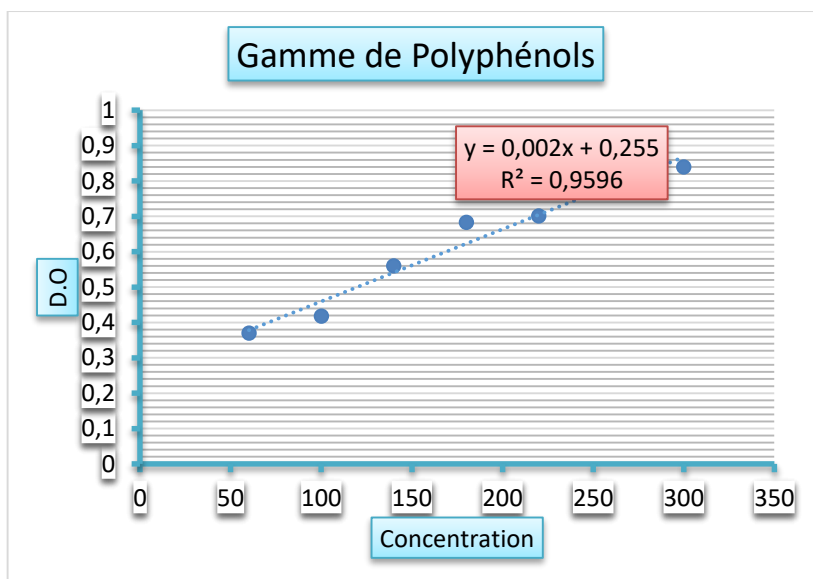
	METHANOL	3	0,057	95,04778454		
100	METHANOL	1	0,081	92,96264118	92,18071242	0,781928758
	METHANOL	2	0,099	91,39878367		
50	METHANOL	1	0,191	83,40573414	78,7141616	4,691572546
	METHANOL	3	0,299	74,02258905		
25	METHANOL	1	0,733	36,31624674	39,31364031	2,997393571
	METHANOL	3	0,664	42,31103388		
200	ETHANOL	2	0,077	93,31016507	94,65682016	1,346655083
	ETHANOL	3	0,046	96,00347524		
100	ETHANOL	2	0,634	44,91746308	47,48045178	2,562988705
	ETHANOL	3	0,575	50,04344049		
50	ETHANOL	2	0,772	32,92788879	36,70721112	3,779322328
	ETHANOL	3	0,685	40,48653345		
25	ETHANOL	2	0,913	20,67767159	26,28149435	5,603822763
	ETHANOL	3	0,784	31,88531712		

**Annexe 6 : Dosage de DPPH**

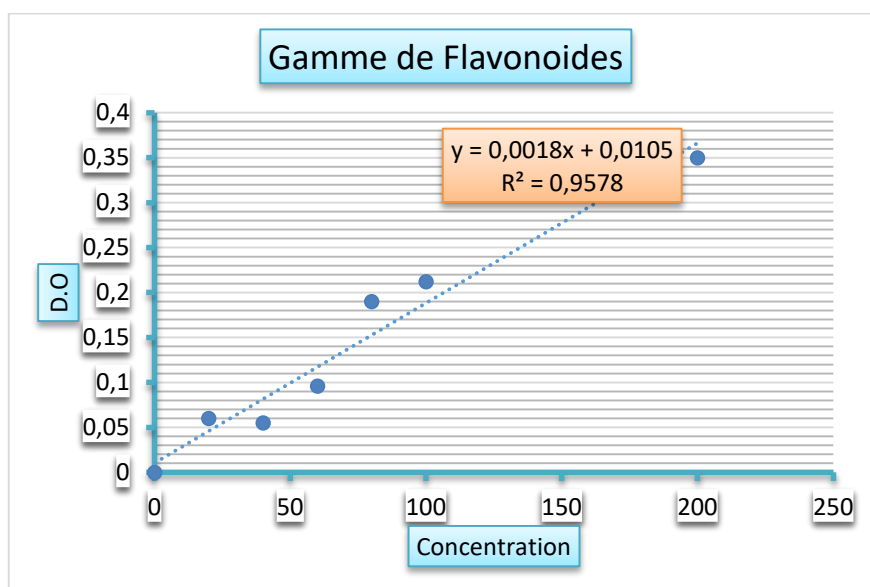
<b>BHT</b>					
Extrait	N°	Abs(517 nm)	% d'inhibition	Moy	Standard error
250	1	0,201	76,38	75,969	0,336
	2	0,208	75,56		
125	1	0,330	61,22	60,165	0,864
	2	0,348	59,11		
62,5	1	0,459	46,06	46,533	0,384
	2	0,451	47,00		
31,25	1	0,502	41,01	40,599	0,336
	2	0,509	40,19		

**Annexe 7 : Dosage de BHT**





**Annexe 8** : Gamme d'étalonnage de polyphénols



**Annexe 9** : Gamme d'étalonnage de flavonoides.

Analysis of Variance					
Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
<b>EXTRAIT</b>	4 221,807	2	2 110,904	955,787	0,0001
<b>Error</b>	6,626	3	2,209		

**Annexe 10** : Analyse statistique de Polyphénols

Analysis of Variance					
Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
<b>EXTRAIT</b>	2 579,757	2	1 289,878	29,537	0,011
<b>Error</b>	131,011	3	43,67		

**Annexe 11** : Analyse statistique de Flavonoides

Analysis of Variance					
Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
<b>EXTRAIT</b>	637,66	2	318,83	5,619	0,042
<b>Error</b>	340,424	6	56,737		

**Annexe 12** : Analyse statistique de la capacité antioxydante totale (CAT)

Analysis of Variance					
Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
<b>EXTRAIT</b>	0,158	2	0,079	92,103	0,002
<b>Error</b>	0,003	3	0,001		

**Annexe 13**: Analyse statistique de %IC50