

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique**

**Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"**

**Filière : "Sciences Biologiques"**

**Spécialité : "Toxicologie et Sécurité alimentaire "**

Présenté et soutenu publiquement par

- BENCHOUCHA Malika
- DADA Nasira
- KOUIDER Khaldia

**Évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante des extraits de  
la plante médicinale *Thymus lanceolatus* Desf.**

**Membres du jury :**

**ALI NAHARI. Abdelkader  
ABBES. Mohamed  
MILIANIA**

**MCB Faculté SNV Tiaret  
MCB Faculté SNV Tiaret  
MAA Faculté SNV Tiaret**

**Président  
Examineur  
Promotrice**

**Année universitaire : 2018–2019**

## *Remerciements*

*Nous remercions notre bon Dieu qui nous a donné le courage et la volanté et de poursuivre nos études, ainsi que nos parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite. Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et le plus grand respect à notre promotrice de mémoire Dr. MILLIANI Asmaa, pour sa compréhension, sa disponibilité, de savoir-faire, ses chers conseils, et toute l'aide qu'elle nous a rapporté. Merci de tout cœur.*

*Nous remercions l'ingénieur de laboratoire pour nous accueillies et pour nous permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions que soient.*

*Nos remerciements vont également au chef spécialité Dr. Boubkeur.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement les membres du jury DR. ALI NAHARI. Abdelkader et Dr. ABBES Mohamed d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Mes remerciements vont également à tous mes enseignants, pour ses informations et ses aides*

*En fin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières*

*Tout au long de mes études*

*A mes chers grands parents, À mes sœurs et mes frères, Hakima, Yacine, Menel Aya, Walid et*

*katkoutMohamed Ilyes*

*A mes chères amies de ce travail, Khaldia, Nassira,*

*Souad*

*A ma promotrice, Mme MILIANI Asmaa*

*À toute ma famille*

*À mes chers amies, Fatima, Mimouna, Hbiba et mes collègues étudiants de Master 2 toxicologie et*

*sécurité alimentaire*

*À tous ceux qui aiment la science*

*Malika*



## *Dédicaces*

*Je dédicace ce travail à Mes chers parents, ma mère et mon père (رحمه الله واسكنه فسيح جنانه), que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement contenu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.*

*A tout ma famille DADA, Ma grande mère et tous mes oncles et mon frère*

*A ma chère promotrice, Mme MILIANI Asmaa*

*A mes chers amies, MALIKA, KHALDIA, SOUAD, FATIHA, KHEIRA, FATIMA*

*Et à mes amies collègues étudiants de Master  
2toxicologie et sécurité alimentaire*

**NASIRA**



## *Dédicaces*

*\*A mes très chers parents, à ma mère qui m'a  
encouragée durant toutes mes études.*

*\*A mes chers frères et sœurs*

*\* A toute ma famille de Kouïder et tous mes amis*

*A mon marie Djeloul*

*A mes chères amies de ce travail, MALIKA,  
NASIRA, SOUAD, FATIMA*

*A ma promotrice, Mme MILIANI Asmaa*

*Et à mes amies collègues étudiants de Master  
2toxicologie et sécurité alimentaire*



*KHALDIA*

## Tables des matières

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Liste des abréviations

Introduction.....	1
<b><i>Chapitre I : Partie Bibliographique</i></b>	
I.1. Description botanique de la plante.....	3
I.2. Classification de la plante.....	4
I.3. Principaux substances actives de la plante.....	4
I.3.1. Phénols.....	4
I.3.2. Flavonoïdes.....	4
I.3.3. Tanins.....	5
I.3.4. Saponosides.....	5
I.3.5. Quinones.....	5
I.3.6. Alcaloïdes.....	5
I.3.7. Huiles essentielles.....	6
I.4. Propriétés et Utilisations de la plante <i>Thymus</i> .....	6
I.5. Stress oxydatif.....	6
I.5.1. Radicaux libres.....	7
I.5.2. Antioxydants.....	7
I.5.3. Classification des antioxydants.....	7
I.5.3.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques).....	7
I.5.3.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques ou naturels) .....	7
<b><i>Chapitre II: Matériel et Méthodes</i></b>	
II.1. Objectif de travail.....	8
II.2. Lieu et période de l'étude.....	8
II.3. Matériel végétal.....	10
II.4. Méthodes.....	11
II.4.1. Préparation des échantillons.....	11
II.4.2. Préparation des extraits bruts par macération.....	11
II.4.1.1. Extrait aqueux.....	11
II.4.1.2. Extrait méthanolique.....	11

II.4.1.3. Calcul du rendement en extraits.....	11
II.4.2. Extraction des huiles essentielles.....	12
II.4.3. Dosage des poly phénols.....	12
II.4.4. Dosage des flavonoïdes.....	13
II.4.5. Évaluation de l'activité antioxydante.....	14
II.4.5.1. Réduction du fer : (FerricReducingAntioxidantPower) .....	14

### ***Chapitre III: Résultats et Discussion***

III.1. Détermination de rendement d'extraction.....	15
III.2. Analyses quantitatives des composés phénoliques.....	16
III.2.1. Dosage des poly phénols totaux.....	16
III.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	17
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	18
III.3.1. Réduction du fer : (FerricReducingAntioxidantPower) .....	18
Conclusion.....	19

### **Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

**Summary**

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> <i>Thymus lanceolatus</i> Desf.....	3
<b>Figure 2 :</b> Protocole expérimental.....	9
<b>Figure 3 :</b> <i>Thymus lanceolatus</i> Desf. sèche (originale).....	10
<b>Figure 4 :</b> Montage d'hydro-distillation (Originale).....	12
<b>Figure 5 :</b> Rendements en extraits (HE, EM et EA).....	15
<b>Figure 6 :</b> Test du pouvoir réducteur des extraits de <i>Thymus lanceolatus</i> (EA, EM et HE) et de témoin positif (AA).....	19



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification taxonomique de <i>Thymus lanceolatus</i> Desf.....	4
<b>Tableau 2 :</b> Teneur en polyphénols totaux dans les extraits méthanolique et aqueux de <i>Thymus lanceolatus</i> .....	16
<b>Tableau 3:</b> Teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits méthanolique et aqueux de <i>Thymus lanceolatus</i> .....	16

## Liste des abréviations

**AA** : Acide ascorbique

**AG** : Acide gallique

**EA** : Extrait aqueux

**EM** : Extrait méthanolique

**HE** : Huile essentielle

**FRAP** : (FerricReducing Antioxydant Power) (Pouvoir réducteur de l'ion ferrique)

**mg EAG/g** : milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme

**mg EQ/g .m .s** : milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche

**DO** : Densités Optiques

# *Introduction*

Les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, voire l'unique recours de la tradition orale pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne (**Ould El Hadj et al. 2003**). Elles constituent un groupe des plantes ayant une grande importance socio-économique car elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies (**Sereme et al. 2008**).

L'Algérie, avec ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, regorge de plantes condimentaires et médicinales qui sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale. En effet, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en Algérie (**Miara et al. 2013**).

L'utilisation des molécules anti-oxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, des nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Bougandoura et al. 2012**).

La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées *dans* les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. L'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits de plantes est d'un grand intérêt (**Bouzouita et al. 2008**).

Le genre *Thymus* est connu pour avoir des propriétés médicinales qui le rendent parmi les genres les plus intéressants du point de vue de l'activité biologique, appartenant à la famille des Lamiacées (**Khadir et al. 2013**).

*Thymus lanceolatus* Desf. Est une espèce endémique d'Algérie, très utilisée en médecine traditionnelle dans certaines régions. Elle est connue pour ses effets anti-infectieux et antidiabétique, et pour le traitement des affections pulmonaires (**Khadir et al. 2013**).

Le stress oxydant est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer. Cependant, l'utilisation de substances chimiques de synthèse anti oxydantes est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables, alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère utile et sans effets secondaires.



« *Thymus lanceolatus* Desf. qui jonche si abondamment les régions méditerranéennes recèle-elle, en qualité et en quantité, des molécules utiles à notre lutte contre le stress oxydatif ? ».

Notre manuscrit est scindé en trois chapitres :

Le premier chapitre comporte une partie théorique relative aux caractères botaniques de la plante étudiée et à l'activité anti-oxydante ;

Le deuxième chapitre expose la méthodologie et les protocoles expérimentaux suivis au cours de notre travail (Extraction des huiles, préparation des extraits, dosage des polyphénols et dosage des flavonoïdes et l'évaluation des activités anti-oxydantes de nos extraits par la méthode de test FRAP) ;

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus et leurs interprétations. Nous avons terminé notre manuscrit par une conclusion générale et des perspectives.

*Chapitre I*  
*Partie bibliographique*

**I.1. Description botanique de la plante**

*Thymus lanceolatus* Desf. est une espèce endémique d'Algérie appartenant à la famille de lamiacée, appelée localement « Zaater ». Elle se présente sous forme d'un arbrisseau (**Khadir et al. 2013**).

Elle est caractérisée par des feuilles longues lancéolées (12-17 mm x 3-8,5 mm), avec un pétiole de (1-3 mm). Les feuilles de l'apex sont arrondies présentant des nerfs marqués par le dessous, avec des glandes sphéroïdales, parfois ciliées vers la base. Les fleurs sont arrangées en verticales approximatifs, elles sont pédicellées de haut 3 mm et persistantes de couleur rose dense en inflorescence. Elles sont disposées à l'extrémité des rameaux en un épi cylindrique. Les tiges sont dressées, avec pilosité dense avec des poils blancs et raides, nœuds inférieurs sans feuilles simples ou ramifiées (**Ramon. 1994**).



**Figure 1 :** *Thymus lanceolatus* Desf. (**Khadir et al. 2013**).

**I.2. Classification de la plante**

Selon **Quezel et Santa,(1963)**, la classification taxonomique de *Thymus lanceolatus* Desf. est mentionnée dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Classification taxonomique de *Thymus lanceolatus* Desf.

<b>Règne</b>	plantae
<b>Sous règne</b>	tracheobionta
<b>Embranchement</b>	magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	magnoliophytina
<b>Classe</b>	magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Thymus lanceolatus</i>

### I.3. Principaux substances actives de la plante

Les principes actifs sont des molécules de structure assez complexe à propriétés thérapeutiques très diversifiées (Chenni, 2010).

#### I.3.1. Phénols

Ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle. (Nacz et Shahidi, 2014). Les phénols possèdent des propriétés antiseptiques, antifongiques, antibactériennes, anti-inflammatoires et antioxydantes (Belyagoubi, 2011).

#### I.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires. Ils pourraient également exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, anti-hépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses et même anti-tumorales significatives (Ghedira, 2005).



**I.3.3. Tanins**

Elles sont des composés poly-phénoliques, présentent dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres (**Kholkhal. 2013**). Elle participe à l'activité anti diarrhéique en protégeant les organes digestifs des attaques nuisibles. Elles ont également un pouvoir cicatrisant car elles favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle (**Yezza. 2013**).

**I.3.4. Saponosides**

Les saponosides (ou saponines) sont des hétérosides généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides possèdent des propriétés émulsifiantes à travers leur capacité de former des mousses et des propriétés pharmacologiques telles que les effets analgésiques et antidépresseurs (**Betna-Bencharif. 2014**).

**I.3.5. Quinones**

Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (**Belyagoubi. 2011**). Elles possèdent généralement des propriétés antimicrobiennes, anti-protazoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques (**Belyagoubi. 2011**).

**I.3.6. Alcaloïdes**

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure hétérocyclique complexe (**Yezza. 2013**). La plupart des alcaloïdes ont été exploités en tant que médicaments, stimulants ou poisons. Ce sont des substances biologiquement actives, leurs activités pharmacologiques s'exercent dans plusieurs domaines. Ils peuvent aussi jouer le rôle d'antibiotiques (**Touhami. 2017**).

**I.3.7. Huiles essentielles**

Les huiles essentielles font partie des produits naturels extraits de plantes médicinales et aromatiques, qui sont connues pour être douées des propriétés antiseptiques, antimicrobiennes et anti oxydantes (**El Ouali lalami et al. 2013**).

La norme AFNOR (NF T 75-006) définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par

distillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques »(Benayache. 2013).

#### **I.4. Propriétés et Utilisations de la plante *Thymus***

Le genre *Thymus* est reconnu pour ses propriétés antiseptiques, antispasmodiques, antifongiques. Souvent cultivé comme plante aromatique, il est aussi exploité par la parfumerie et l'industrie pharmaceutique (Treki et al. 2009).

Ces propriétés biologiques et pharmaceutiques du Thym sont en grande partie dues à la présence de substances actives telles que les flavonoïdes qui représentent une des plus grandes classes des produits naturels synthétisés par la plante (Treki et al. 2009).

Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Bougandoura et al. 2012).

#### **I.5. Stress oxydatif**

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al. 2003).

##### **I.5.1. Radicaux libres**

Ce sont des entités chimiques qui deviennent instables et très réactives car elles ont perdu un électron. Elles cherchent alors à le remplacer (Lahoual. 2004 ; Servais. 2002). Les radicaux libres sont doués d'une forte réactivité, qui peut mener à un désordre dans les structures moléculaires et qui se traduit par l'oxydation des lipides membranaires, des protéines cellulaires et des acides nucléiques. Cet effet entraîne la mort cellulaire (Servais. 2002).

**I.5.2. Antioxydants**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation de substrats biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. Ils agissent en formant des produits finis non radicaux (Boyd, 2003).

**I.5.3. Classification des antioxydants**

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule :

**I.5.3.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques)**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx)(Avissar et al.1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

**I.5.3.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques ou naturels)**

D'autres substances exogènes sont apportées par l'alimentation, telles que la vitamine E, la vitamine C, l'ubiquinone et les caroténoïdes. D'autres composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les huiles essentielles sont également considérés comme antioxydants exogènes (Bruneton, 1999).

*Chapitre II*  
*Matériel et Méthodes*



**II.1. Objectif de travail**

Notre travail, s'inscrit dans le cadre de la valorisation du patrimoine naturel Algérienne dont les objectifs principaux peuvent se résumer ainsi :

- Extraction des extraits volatiles (huile essentielle et hydrolat) et non volatiles (extraits aqueux et méthanolique) de la partie aérienne de *Thymus lanceolatus* Desf. ;
- Dosage des poly phénols totaux et dosage des flavonoïdes ;
- Évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits de la plante par la méthode : test FRAP (pouvoir réducteur du fer).

**II.2. Lieu et période de l'étude**

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur une durée de deux mois (17-02-2019 à 15-04-2019). Ils ont été réalisés au niveau des structures suivantes :

- Laboratoire de technologie alimentaire du département des sciences de la nature et de la vie, Université IBN khaldoun TIARET.
- Institut des sciences vétérinaires (laboratoire de biochimie).

Le protocole expérimental suivi pour réaliser cette étude est mentionné dans la figure 2.

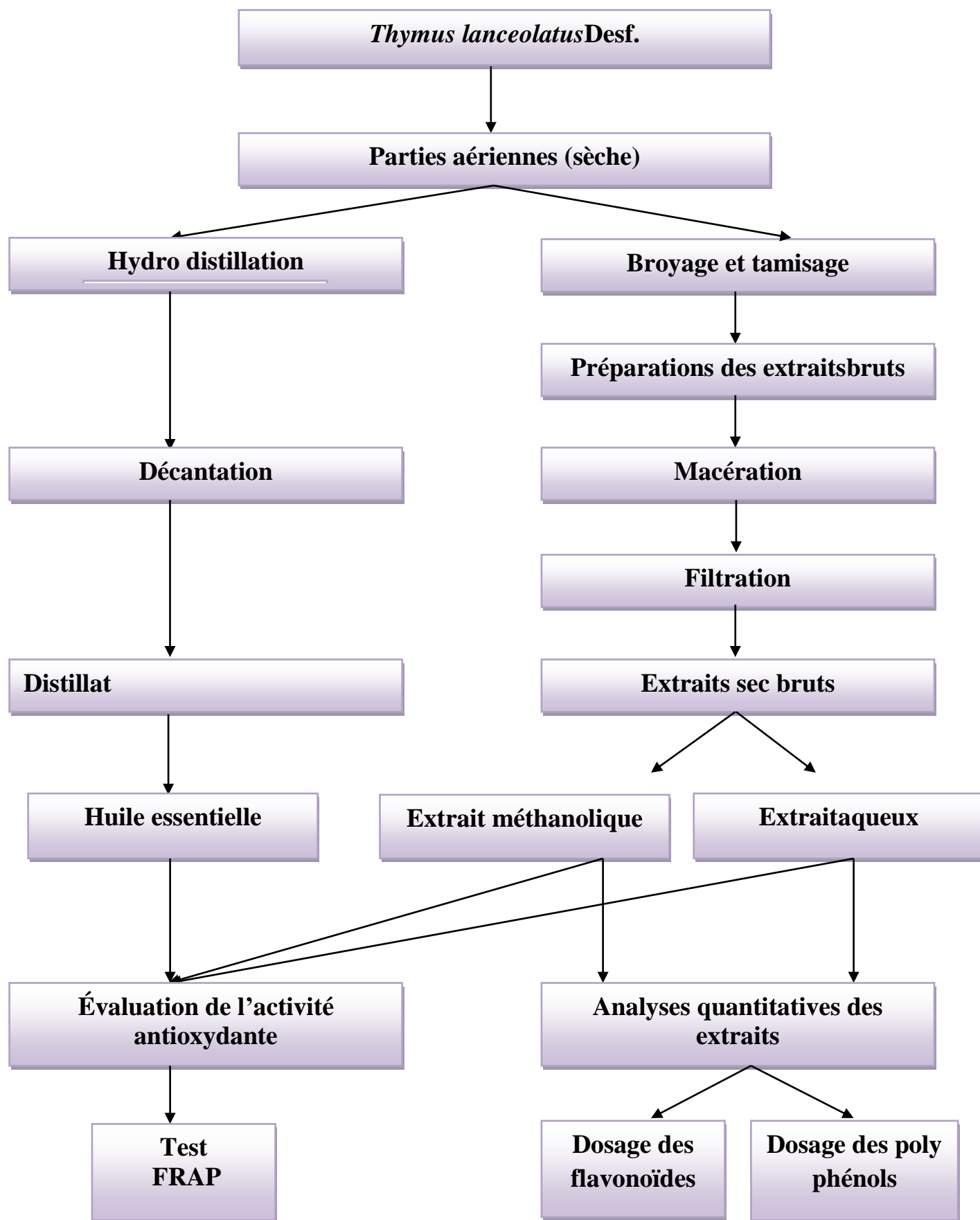


Figure 2 : Protocole expérimental

**II.3. Matériel végétal**

Les parties aériennes (tiges et feuilles) de *Thymus lanceolatus* Desf. (figure 3). Ont été achetées au marché local de Tiaret, en janvier 2019. D'après l'herboriste la plante a été récoltée au mois de juin 2018 dans la région Tida wilaya de Tiaret. Les échantillons ont été nettoyés, puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à température ambiante jusqu'à son utilisation.

L'identification et la description de l'espèce a été faite au niveau de laboratoire d'Écologie Végétale, du département Science de la Nature et de la Vie (Université Ibn Khaldoune Tiaret).



**Figure 3 :** *Thymus lanceolatus* Desf. sèche (originale)

**II.4. Méthodes****II.4.1. Préparation des échantillons**

Les parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf. ont été nettoyées, broyées, et tamisées à l'aide d'un tamis de (2mm).

**II.4.2. Préparation des extraits bruts par macération**

Les parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf. ont été exploitées pour préparer des différents extraits.

**II.4.1.1. Extrait aqueux**

10g de poudre (tiges et feuilles) dissous dans 150 ml d'eau distillée ont été chauffés à reflux pendant 2h. Après filtration à froid, ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif(El-Haci et al. 2012).

**II.4.1.2. Extrait méthanolique**

25 g de poudre de la partie aérienne de *Thymus lanceolatus* Desf. a été mise à macérer dans 250 ml de méthanol (99.8%) sous agitation magnétique pendant 24 heures. L'extrait obtenu a été filtré et évaporé à sec sous pression réduite à 50 °C au rotavapeur. Le résidu sec a ensuite été stocké à 4 °C (El-Haci et al. 2012).

**II.4.1.3. Calcul du rendement en extraits**

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé comme suit :

$$R\% = PE/PA \times 100$$

Où

R : Rendement de l'extrait en pourcentage ;

PE : Poids de l'extrait en gramme ;

PA : Poids de la plante en gramme.

**II.4.2. Extraction d'HE**

HE de *Thymus lanceolatus* Desf. est obtenu par hydro distillation. Le montage utilisé est présenté dans la (figure 4). La procédure d'extraction se résume à porter à ébullition une quantité de 25 g de matériel végétal sèche pendant 3 h avec 250 ml d'eau distillée dans un ballon de 500 ml.

Le distillat est recueilli dans une ampoule à décanter pour séparer les deux phases : l'hydrolat et HE. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule :

$$RHE (\%) = (MHE / MMV) \times 100$$

RHE : Rendement de l'huile essentielle en pourcentage ;

MHE : Masse de l'huile essentielle en gramme ;

MMV : Masse de la matière végétale en gramme.

L'HE récupérée est conservée à 4°C dans des flacons stériles en verre brun, hermétiquement fermés et à l'abri de la lumière (**Khadir et al. 2013 ; Mansouri. 2011**).



**Figure 4 :** Montage d'hydro-distillation (Originale)

### **II.4.3. Dosage des poly phénols**

#### **➤ Principe**

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu (**Bougandoura et al. 2012**).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Ce mélange est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et al. 2006**).

#### **➤ Mode opératoire**

0,1 ml de l'extrait brut est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après cinq minutes, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (1 N) sont ajoutés au mélange.

La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm après 30 minutes d'incubation à température ambiante. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (El-Haci *et al.* 2012 ; Bougandoura *et al.* 2012).

#### **II.4.4. Dosage des flavonoïdes**

##### **➤ Principe**

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode trichlorure de l'aluminium. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 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 (Basli *et al.* 2012).

##### **➤ Mode opératoire**

Une quantité de 100  $\mu$ l de l'extrait a été mélangée avec 0,4 ml d'eau distillée et par la suite avec 0,03 ml d'une solution de nitrite de sodium  $NaNO_2$  à 5%. Après 5 min, 0,02 ml d'une solution d' $AlCl_3$  à 10% a été ajouté. On additionne au mélange 0,2 ml de solution de  $Na_2CO_3$  (1M) et 0,25 ml d'eau distillée après 5 min de repos. 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 catéchine par g de matière végétale sèche (Bougandoura *et al.* 2012 ; Boulanouar *et al.* 2014).

#### **II.4.5. Évaluation de l'activité antioxydante**

##### **II.4.5.1. Réduction du fer: (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

##### **➤ Principe**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir anti radicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $Fe_3^+$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe_2^+$ ) (Bentabet *et al.* 2014).

##### **➤ Mode opératoire**

Un (1 ml) de l'extrait à différentes concentrations (de 0,1 à 0,5 mg/ml ; la solution mère subit une dilution 1/10) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH= 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble est

incubé au bain-Marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote (2,5 ml) de surnageant est combinée avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%.

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur. Le test a été répété 3 fois pour chaque échantillon étudié. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif (Bougandoura et al. 2012).

### **II.2.6. Analyse statistique**

Les résultats ont été soumis aux tests de l'analyse de la variance ANOVA. Cette méthode statistique permet de comparer les moyennes de plusieurs échantillons supposés indépendants à l'aide du logiciel SPSS 20. L'analyse de la variance est suivie par le teste NEWMAN et KEULS qui permet de distinguer les groupes homogènes en comparant les probabilités de la manière suivante :

- Si  $p > 0.05$  : résultat non significatif.
- Si  $p < 0.05$  : résultat significatif.

***Chapitre III***  
***Résultats et Discussion***



### III.1. Détermination de rendement d'extraction

Pour l'obtention de différents extraits secs bruts préparés à partir des poudres des parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf., nous avons réalisé des extractions aqueuses (avec l'eau distillée) et organique (avec le méthanol).

Les rendements en extraits bruts (EM et EA) a montré une rentabilité importante chez la plante avec des valeurs respectivement de 6.6% et 10.87%.

L'extraction des HE de *Thymus lanceolatus* Desf. par hydro distillation, a permis d'obtenir un rendement de 2.70 %. Ce rendement en HE est relativement supérieur à ceux obtenus sur la même plante cultivée dans la région de Guertoufa (Tiaret) (2.33 %) (Nouasri, 2015).

Ces fluctuations de rendements peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les facteurs bioclimatiques, environnementaux et la technique d'extraction, car aussi importants soient-ils les rendements qui découlent de l'hydro distillation restent relativement faibles (Kouch, 2014).

Les rendements des extractions de la partie aérienne de *Thymus lanceolatus* Desf. Sont illustrés dans la figure 5.

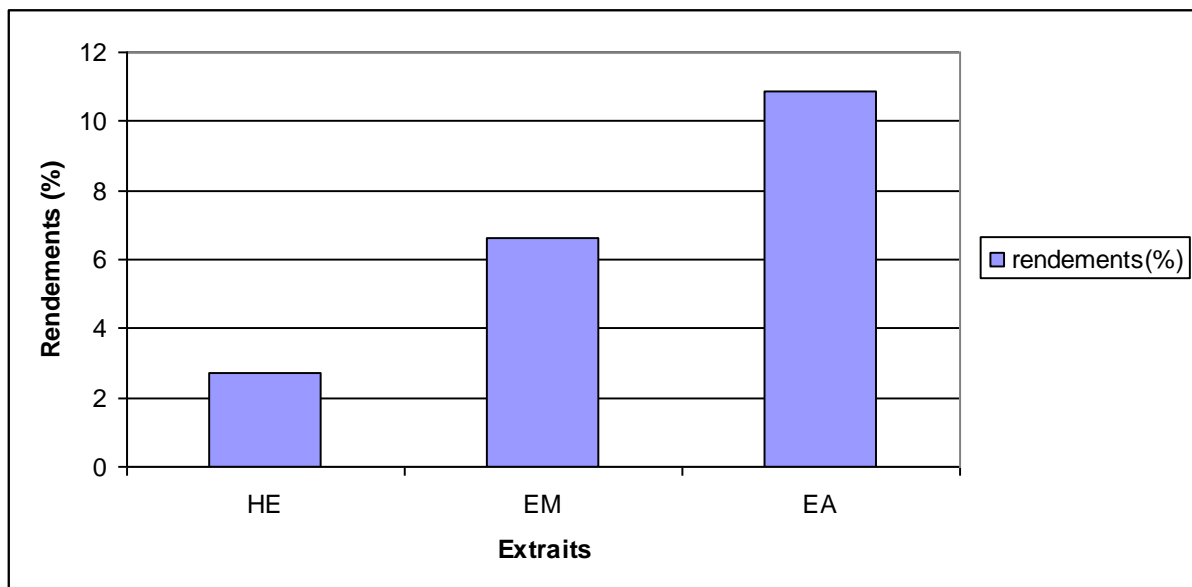


Figure 5 : Rendement en extraits (HE, EM et EA)

### III.2. Analyses quantitatives des composées phénoliques

#### III.2.1. Dosage des poly phénols totaux

Le dosage des poly phénols totaux a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. La teneur en poly phénols totaux des extraits est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique dans L'annexe C (figure C6). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

**Tableau 2** : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits méthanolique et aqueux de *Thymus lanceolatus*.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g)
Extraits aqueux	302,06±2,87
Extrait méthanolique	289,58±0,29

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que la quantité des composés phénoliques est de 302,06±2,87 (mg EAG/g) et 289,58±0,29 (mgEAG/g) respectivement pour l'extrait aqueux et méthanolique. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux est plus élevée par rapport à l'extrait méthanolique. À partir de ces résultats on peut dire que l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols que l'extrait méthanolique.

La teneur en phénols totaux de notre extrait méthanolique et aqueux de *Thymus lanceolatus* est supérieure au taux trouvé par (Zeghib. 2013). Qui a montré que la quantité de composés phénolique totaux dans L'extrait méthanolique de *ThymusCiliatus* est de 109 mg EAG/g d'extrait.

En comparant nos résultats à ceux des travaux antérieurs, nous notons qu'ils sont inférieures que ceux de (Djeddi. 2015). (377.40 mg EAG/g) d'extrait pour l'espèce *Thymus numidicus Poiret*. Algérie

La teneur des composés phénoliques d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, la saison de la récolte et le solvant d'extraction (Benabed. 2018).

### III.2.2. Dosages des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant comme standard la quercétine. Les résultats sont représentés dans le (tableau4) et les gammes d'étalonnages dans l'annexe C (figureC7).

**Tableau 3 :** Teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits méthanolique et aqueux de *Thymus lanceolatus*.

Extraits	Teneur en flavonoïdes (mg EQ /g)
Extraits aqueux	36,92±1,06
Extrait méthanolique	6,55±0,55

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux révèle que l'extrait aqueux est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 36,92±1,06 mg EQ/g d'extrait, suivi par l'extrait méthanolique (6,55±0,55 mg EQ/g d'extrait).

La teneur en flavonoïde de nos extraits méthanolique et aqueux est supérieure à celle obtenu par (Treki. 2009), qui a trouvé une teneur en flavonoïde pour le *Thymus hirtus* 0.5mg EQ/g d'extrait.

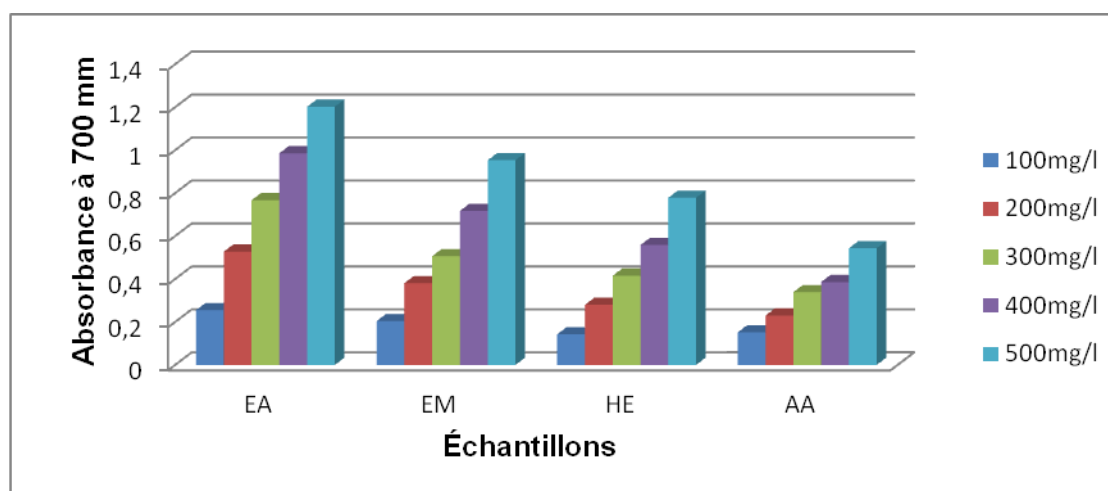
Des valeurs de 3,39 ± 0,03 et 3,13 ± 0,08 mg EQ/g.m. s respectivement sont trouvées par (Nouasriet al. 2018). Avec l'extrait éther éthylique et de chloroforme de *Thymus lanceolatus*.

### III.3. Étude de l'activité anti-oxydante

#### III.3.1. Réduction du fer : (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Pour évaluer le pouvoir réducteur de ces extraits, on a suivi la réduction de Fe<sup>3+</sup> par un électron provient de ces extraits. Le pouvoir antioxydant des extraits se manifeste par le changement de la couleur du milieu réactionnel de jaune au bleu vert, un changement qui est due à la réduction de (Fe<sup>3+</sup>) à la forme (Fe<sup>2+</sup>) qui est évaluée par une technique spectrophotométrique.

Les résultats du pouvoir réducteur des extraits étudiés et des témoins positifs (acide ascorbique) exprimés par l'absorbance à 700 nm, sont résumés dans la figure6.



**Figure6 : Test du pouvoir réducteur des extraits de *Thymus lanceolatus*(EA, EM et HE) et de témoin positif (AA)**

L'analyse statistique ( $p < 0,05$ ) (Annexe E1) montre que l'interaction des variables étudiées (la nature de l'antioxydant et la concentration) ont un effet significatif sur le pouvoir réducteur. Le test Newman Keuls nous a permis de classer ces variables selon leurs pouvoirs réducteurs comme suit :

- Nature des antioxydants EA >EM> HE>AA ;
- Les concentrations 500>400> 300> 200 >100 mg/l.

Les résultats montrent que l'évolution de l'activité réductrice est dose-dépendante, elle s'accroît avec l'augmentation des concentrations des extraits dans le milieu réactionnel.

Les résultats de la figure6 montrent que c'est l'extrait aqueux qui présente le pouvoir réducteur le plus puissant parmi les extraits (EM et HE) et le témoin positif utilisé (AA).

Plusieurs études ont montré que les groupements hydroxyles dans les composés Phénoliques et flavonoïdes sont responsables de leur pouvoir antioxydant (**Heim et al. 2002**).

Les extraits bruts sont plus actifs, cela est due sûrement à la complexité de ces extraits en substance polyphénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (**Djelti. 2016**).

## *Conclusion*

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antioxydants des extraits (HE, extrait méthanolique et extrait aqueux des parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf., plante largement utilisée en médecine traditionnelle et en cuisine à travers le monde.

L'extraction par hydro-distillation d'HE a fourni des rendements rentables à l'échelle industrielle (2.70 %).

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits méthanoliques et aqueux chez la plante avec des valeurs respectivement de (6.6% et 10.87%).

L'évaluation du contenu en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-ciocalteu indique que, les deux extraits méthanolique et aqueux sont riches en composés phénoliques mais avec des valeurs variables en fonction des solvants d'extraction. Les teneurs les plus élevées ont été détectés dans l'extrait aqueux de *Thymus lanceolatus* Desf. ( $302,06 \pm 2,87$  mg EAG/g d'extrait) tandis que, les plus basses sont enregistrées dans l'extrait méthanolique ( $289,58 \pm 0,29$  mg EAG/g d'extrait).

De même, la détermination du contenu en flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  nous mène à conclure que, les teneurs en flavonoïdes varient d'un extrait à l'autre, selon les méthodes et les solvants utilisés pour l'extraction. Des teneurs maximales sont constatées dans l'extrait aqueux de *Thymus lanceolatus* Desf. ( $36,92 \pm 1,06$  mg équivalent de quercétine/g d'extrait), tandis que, des teneurs minimales sont enregistrées dans l'extrait méthanolique ( $6,55 \pm 0,55$  mg équivalent de quercétine /g d'extrait).

L'estimation de l'activité antioxydante des différents extraits de *Thymus lanceolatus* Desf. a été évaluée par l'étude de leur pouvoir réducteur du fer (FRAP). Les résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Thymus lanceolatus* Desf. présente la meilleure activité antioxydante. Ceci nous a permis de déduire que l'activité antioxydante de *Thymus lanceolatus* Desf. est en relation avec la quantité de polyphénols et de flavonoïdes présents dans la plante.

En perspectives, nos travaux sont une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- 1) Tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les effets antioxydants ;
- 2) Isolement et caractérisation des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques ;
- 3) Évaluation d'autres effets biologiques in vitro et in vivo des extraits et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques.

## *Références bibliographiques*



## Références bibliographiques

---

- **Avissar.N., Whitin.J., and Allen .P., 1989.**Plasma sélénium-dépendent glutathioneperoxidase. *Biol. Chem.* 2: pp (15850-15855).
- **Bakchiche1 .B., and Gherib.A, 2014.** Activités anti-oxydantes des polyphenols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie. *International Journal of Innovation and AppliedStudies*, pp (168-169).
- **Benabed .Kh.2018.** Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles et extraits phénoliques de deux espèces de la famille des *Lamiaceae*. Thèse de doctorat, Université KasdiMerbah- Ouargla.
- **Basli .M., Chibane .K., Madani.N., Oukil.2011.** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanumglandulosum*Desf. *Phytothérapie*, pp (2-3).
- **Belyagoubi Née Benhammou. .N.2011.** Activité anti-oxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université AboubakrBelkaïd, Tlemcen.
- **Betina-Bencharif .S. 2014.**Isolement et caractérisation de saponosides Extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum, Zygophyllum cornutum*Et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne :France.
- **Bentabet .N., Boucherit-Otmani.Z., Boucherit.K, 2014.** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, pp (1-3).
- **Benayache.F, 2013.** Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus*Poiret. Mémoire de magister. Université Constantine 1.
- **Bouzouita.N., Kachouri .F., Ben Halima .M., Chaabouni.M, 2008.**Composition chimique et activités anti oxydantes, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperusphoenicea*. *Institut Supérieur des Sciences Agronomiques de Chott Meriem*, Tunisie.pp(119).
- **Bougandoura. N, Bendimerad. N, 2012.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthassp.Nepeta(L.) Briq.* *Nature & Technologie*.pp (14).

## Références bibliographiques

---

- **Boizot .N., Charpentier .J., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, pp (79—80).
- **Boyd .B., Ford .C., Koepke .M., Gary .K., Horn .E., Mcanalley .S., and Mcanalley .B. 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6):7. (Cited in Mohammedi Z, 2005).
- **Bruneton .J. 1999.** Flavonoïdes, Pharmacognosie, Photochimie : Plante médicinales ; Ed 3 : *TEC et DOC (PARIS)* ; pp (310-340).
- **Chenni.M, 2010.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryoniadioica Jacq.* Mémoire de magister Université d'Oranes – Senia.
- **Djeddi .DJ., Yannakopoulou.E., Papadopoulos .K., et Skaltsa.H. 2015.** Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. *Afrique Science*, pp (61-62).
- **Djelti .S., Belhadji.H, 2016.** Etude de l'activité antioxydante et le pouvoir antibiofilm des extraits de plante *Artemisia herba alba* et *Thymus capitatus*. l'obtention du diplôme de Master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.
- **El-Haci1 .I., Atik-Bekkara1 .F., Didi1 .A., Gherib1 .M., Didi .M. 2012.** Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, pp (281).
- **El Ouali Lalami .A., EL-akhal .F., Ouedrhiri .W., Ouazzani.CH., Guemmouh.R., Greche.H. 2013.** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*. *Les technologies de laboratoire*, pp (27).
- **Ghedira .K. 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, pp (162).
- **Heim .E. K., Tagliaferro .A. R., & Bobilya.D. J. 2002.** Flavonoïdsantioxydants : chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, 13, pp (572 – 584).

## Références bibliographiques

---

- **Khadir .A., Bendahou .M., Benbelaid .F., Abdoune .M., Abdelouahid .D. 2013.** Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie*, pp (1-2).
- **Kholkhal.F. 2013.** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp. *coloratus* et ssp. *speciatus*. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen.
- **Kouch .M. 2014.** Etude phytochimique et biologique d'une espèce végétale endémique algérienne « *Thymus numidicus* Poiret ». Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- **Lahoual.M., Fillastre.J-P. 2004.** "Role of flavonoids in the prevention of haematotoxicity due to chemotherapeutic agents", *Haema*. 7(3), pp (313-320).
- **Mahmoudi .S., Khali.M., et Mahmoudi .N. 2013.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus* L.). *Nature & Technologie*, pp (37-39).
- **Mansouri .N., Satrani.B., Ghanmi.M., El Ghadraoui.L., Guedira.A., Aafi.A. 2011.** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *JUNIPERUS COMMUNIS* du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol*, pp (793-794).
- **Marfek.A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoids. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat. d'Université de Limoges.
- **Morales.R. 1994.** El género *Thymus* L. (*Labiatae*) en Africa. *Researchgate*, 228-229.
- **Miara .D., AitHammou .M., HadjadjAoul .S. 2013.** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, pp. (206-207).
- **Naczki.M., Shahidi .F. 2003.** Phénolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press.
- **Nouasri .A., Dob .T., Toumi .M., Dahmane .D., Krimat .S., Lamari .L., & Chelgoume .CH. 2015.** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the

## *Références bibliographiques*

---

Essential Oil of *Thymus lanceolatus* Desf., an endemic Thyme from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, pp (1248-1249).

- **Ould El Hadj.M., Didi.,Hadj-Mahammed.M., Zabeirou.H. 2003.** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d’Ouargla (Sahara Septentrional Est). pp (47).
- **Quezel. P., Santa, S, 1963.** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, Ed. CNRS, PARIS, pp (590-593).
- **Servais .S. 2002.** Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : Effet de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3”. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard.
- **Touhami.A. 2017.** Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l’Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- **Treki .A., Merghem .R., Dehimat .L. 2009.** Etude phytochimique et évaluation de l’activité antibactérienne d’une Labiées : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*, pp. (27-28).
- **Sereme .A., Millogo-Rasolodimby .J., Guinko.S., Nacro.M. 2008.** Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina FASO. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, pp (41).
- **Yezza .S,2013.** Index des métabolites secondaires végétaux. En vue de l’obtention du diplôme de Licence. Université KasdiMerbah, Ouargla.
- **Zeghib. A, 2013.** Etude phytochimique et activités anti-oxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d’extraits et d’huile essentielle de quatre espèces endémiques de genre *Thymus*. Thèse de doctorat, Université de Constantine 1 .

## Résumé

Notre travail porte sur l'extraction et la quantification de quelques métabolites secondaires actifs de l'espèce *Thymus lanceolatus* Desf., appelée communément Zaater. Les effets antioxydants que peuvent engendrer les extraits de cette plante ont été aussi évalués.

L'huile essentielle issue de l'hydro distillation présente un rendement élevé de l'ordre de 2.70 %. La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante en extraits méthanoliques et aqueux chez la plante avec des valeurs respectivement 6.6% et 10.87%.

L'analyse quantitative a montré une présence importante des polyphénols et des flavonoïdes dans les parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf. l'extrait aqueux représente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ( $302,06 \pm 2,87$  mg EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes ( $36,92 \pm 1,06$  mg équivalent de quercétine/g d'extrait)

L'évaluation de l'activité antioxydante a révélé que l'extrait aqueux présente un pouvoir réducteur du fer, supérieur aux autres extraits testés et à l'antioxydant standard (Acide ascorbique).

**Mots clés :** *Thymus lanceolatus* Desf, huile essentielle, extrait méthanolique, extrait aqueux, poly phénols, flavonoïdes, activité anti-oxydante.

### ملخص

يتمحور عملنا حول استخراج وقياس بعض المركبات الثانوية الفعالة لنبات *Thymus lanceolatus* Desf. المعروف باسم زعتر. كما تم دراسة التأثير المضاد للأكسدة الذي يمكن أن يتولد عن مركبات هذه النبتة. الزيت العطري الناتج عن عملية التقطير المائي أعطى مردودا مرتفع قدر ب 2.70%. إن المستخلصات الخامة الميثالونية و المائية أعطت مردودا قيمقدرت نسبتها لنباتنا 6.6% و 10.87%.

وقد كشف التحليل الكمي على وجود كمية معتبرة من البوليفينول والفلافونويدات في الأجزاء العلوية لنبات *Thymus lanceolatus* Desf. يحوي المستخلص المائي على الكمية الأكبر من البوليفينول ( $302.06 \pm 2.78$  مغ مكافىء حمض الغاليك / مع مستخلص) والفلافونويدات ( $36.92 \pm 1.06$  مغ مكافىء كرسيتين / مع مستخلص)

وكشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص المائي لديه قدرة ارجاع الحديد معتبرة مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تم اختبارها ومضادات الأكسدة النموذجية (حمض الأسكوربيك).  
**الكلمات المفتاحية:** *Thymus lanceolatus* Desf، زيت عطري، مستخلص الميثانول، مستخلص مائي، بوليفينول، فلافونويدات، نشاط مضاد للأكسدة.

### Summary

We have performed the extraction and the quantification of some actives secondary metabolites of the *Thymus lanceolatus* Desf. species commonly known as "Zaater". As well as their anti-oxidant effect has been evaluated.

The extraction of the essential oil was accomplished by hydrodistillation. The essential oil has a high yield of the order of 2.70 %. The determination of the yields of crude extracts showed a significant profitability in methanolic and aqueous extracts in the plant with values of 6.6 % and 10.87% respectively.

The quantitative analysis showed a significant presence of polyphenols and flavonoids in the aerial part of *Thymus lanceolatus* Desf.

The aqueous extract represents the highest content of total polyphenols ( $302,06 \pm 2,87$  mg EAG/g of extract) and flavonoids ( $36,92 \pm 1,06$  mg EQ / g of extract).

The evaluation of the antioxidant activity revealed that the aqueous extract has a reducing power of iron compared to the other tested extracts and standard antioxidant (ascorbic acid).

**Key words:** *Thymus lanceolatus* Desf., essential oil, methanolic extract, aqueous extract, poly phenols, flavonoids, antioxidant activity.

# *Annexes*

## Annexe A

Tableau A1 : Réactifs et matériels utilisés

Réactifs	Matériels utilisés
- Méthanol	- Tamis
- Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	- Béchers
- Réactif de Folin-Ciocalteu	- Cuves
- Acide gallique	- Tube à essai
- Nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ )	- Papier filtre
- Trichlorure d'aluminium $\text{AlCl}_3$	- Fiole jaugée
- Acide ascorbique	- Erlen Meyer
- Tampon phosphate	- Éprouvettes
- Ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{FeCN}_6$ )	- Verres de montre
- Acide trichloracétique TCA	- Balance électrique
- Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ )	- Broyeur
- Eau distillée	- Spectrophotomètre UV (LibraS6)
- Éthanol	- Agitateur
	- Vortex électrique
	- bain - Marie
	- Rota-vapeur
	- Centrifugeuse
	- Hydro distillateur
	- Pompe sous vide
	- Étuve

**Annexe B**



Figure B1 : Montage d'hydro distillation

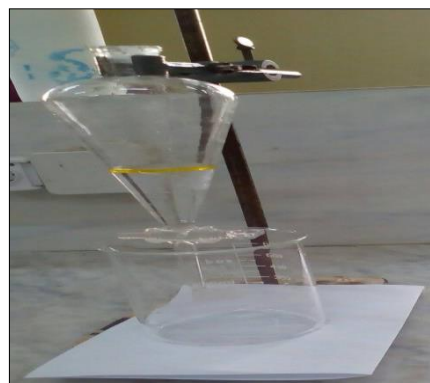


Figure B 2 : Décantation



Figure B3 : Filtration sous vide



Figure B4 : Extraits aqueux



Figure B5 : Chauffage à reflux des extraits



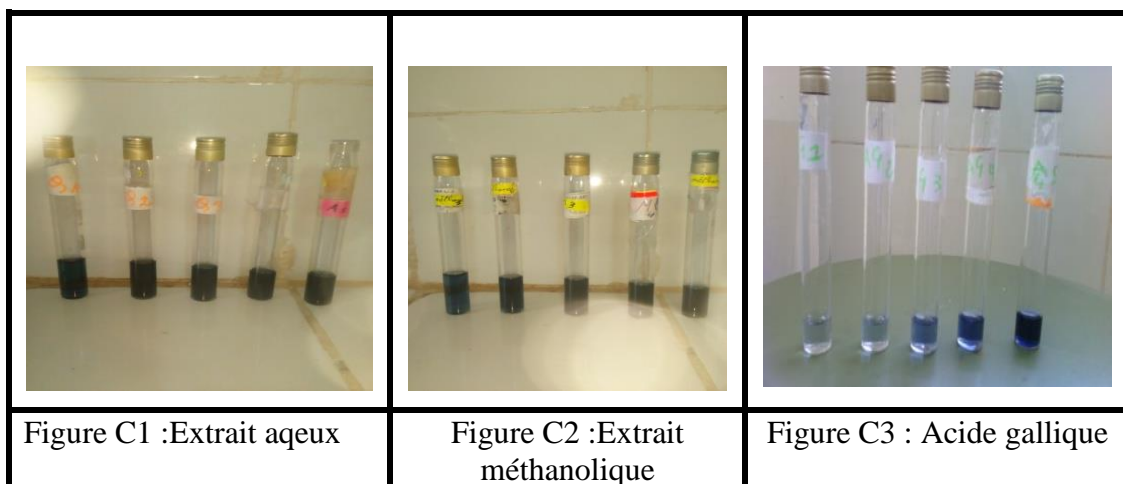
Figure B6 : Extraits méthanolique



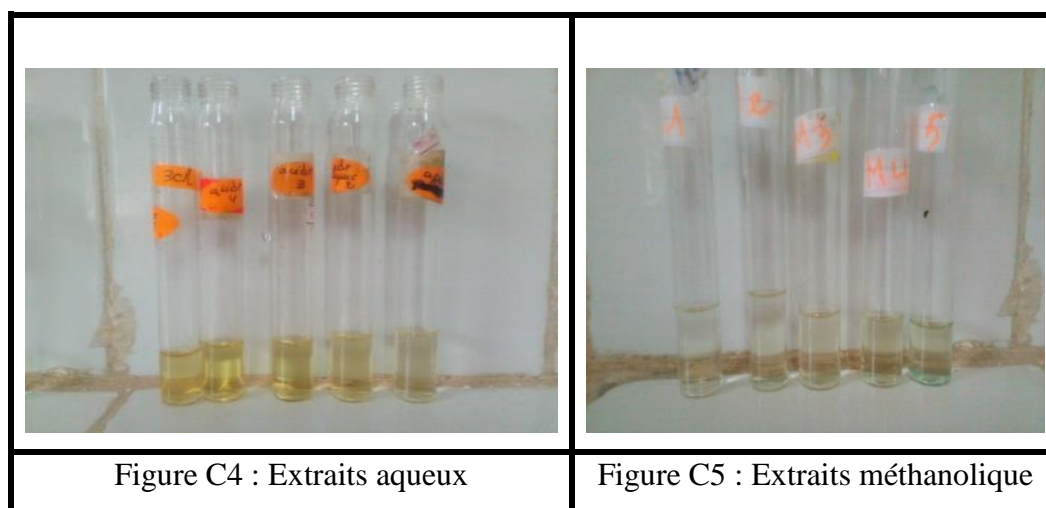
## Annexe C

- Analyses quantitatives des composés phénoliques des parties aériennes de *Thymus lanceolatus* Desf.

### 1. Dosage des polyphénols



### 2. Dosage de flavonoïde :



## Annexe C

## 3. Les courbes d'étalonnage :

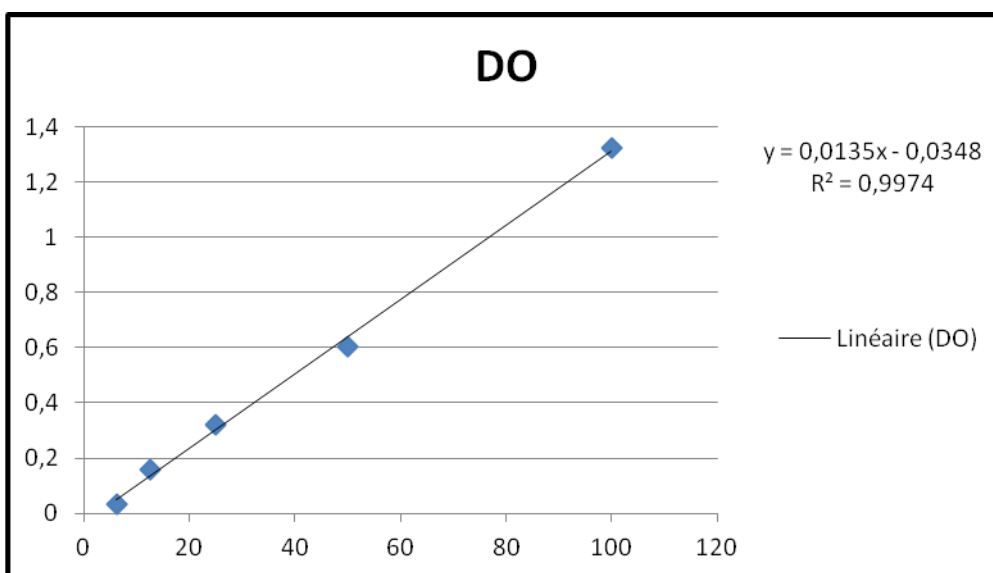


Figure C6 : acide gallique

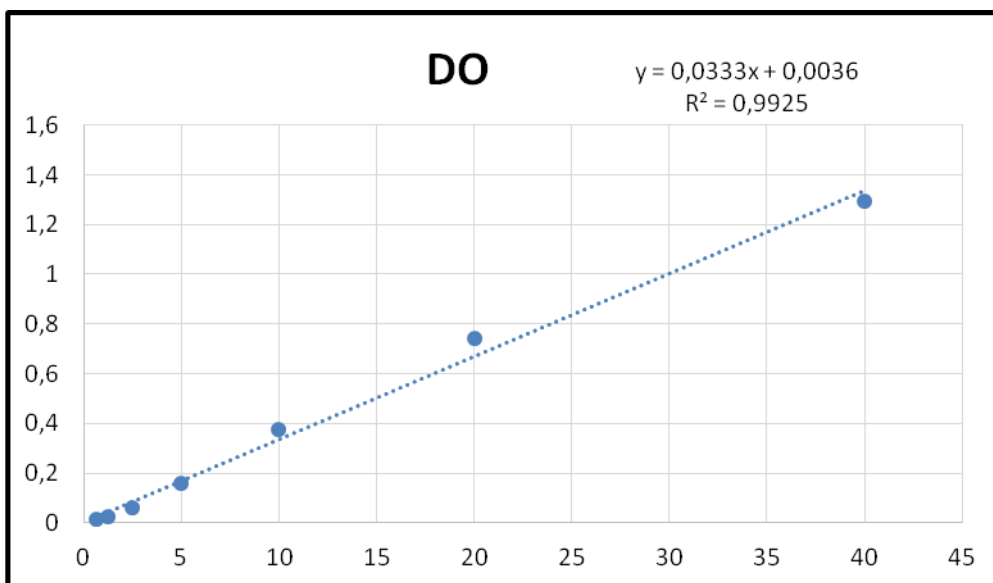


Figure C7 : Quercétine

**Annexe D**

➤ **Activité antioxydante**

• **Test FRAP**



Figure D1 : Extrait aqueux



Figure D2 : Extrait méthanolique



Figure D3 : Huile essentielle



Figure D4 : Acide ascorbique

## Annexe E

- Étude statistique de l'activité Antioxydante
- Réduction du fer : (FerricReducingAntioxidant Power)

Tableau E1 : Statistiques descriptives de l'activité antioxydante des extraits bruts

Extraits	Concentration	Moyenne	Ecart-type
EA	100mg/l	,25483	,041940
	200mg/l	,52750	,142140
	300mg/l	,76683	,207570
	400mg/l	,98550	,219400
	500mg/l	1,20233	,104435
	Total	,74740	,369087
EM	100mg/l	,20400	,113502
	200mg/l	,38067	,197075
	300mg/l	,50633	,235268
	400mg/l	,71717	,391464
	500mg/l	,95317	,538432
	Total	,55227	,406655
HE	100mg/l	,14267	,009004
	200mg/l	,28000	,008626
	300mg/l	,41567	,040262
	400mg/l	,55867	,045275
	500mg/l	,77833	,261666
	Total	,43507	,250493
AA	100mg/l	,15200	,009675
	200mg/l	,23000	,008944
	300mg/l	,33900	,009423
	400mg/l	,38600	,017956
	500mg/l	,54333	,026793
	Total	,33007	,137588

**Annexe E**

**Tableau E2 : Analyse de la variance (Test ANOVA 2 facteurs)**

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Extraits	2,879	3	,960	25,667	,000
Concentration	6,710	4	1,677	44,856	,000
Extraits * Concentration	,666	12	,055	1,483	,143
Total corrigé	13,994	119			

**Tableau E3 : Test d'homogénéité intergroupe (Test de Newman –Keuls)**

**A - Facteur ' Nature de l'antioxydant '**

	Extraits	N	Sous-ensemble			
			1	2	3	4
Student- Newman- Keuls <sup>a,b</sup>	AA	30	,3300 7			
	HE	30		,43507		
	EM	30			,55227	
	EA	30				,74740

**B- Facteur 'Concentration '**

	Concentration	N	Sous-ensemble				
			1	2	3	4	5
Student- Newman- Keuls <sup>a,b</sup>	100mg/l	24	,18838				
	200mg/l	24		,35454			
	300mg/l	24			,50696		
	400mg/l	24				,66183	
	500mg/l	24					,86929