

UNIVERSITE de TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté par

GAMAZ Imed Eddine Yacine

BOUTCHICHE Mouad

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER En Biologie

Option : Infectiologie

Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant de feuille *Thymus vulgaris*

Soutenu le **26/06/2022**, devant le jury composé de :

Présidente	Mme BOUALI W.	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme MKEDDER I.	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme GHALEM M.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Remerciement

Avant tout nous remercions le bon Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné le courage et la volonté à fin d'accomplir ce mémoire.

Ce modeste travail n'est plus le fruit de notre effort personnel soutenu, mais il est, et surtout le résultat d'une collaboration multiples. Que ces collaborateurs trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

En premier lieu, nous adressons nos plus vifs remerciements à **Mme MEKKEDER I. «Maitre de conférences A » au Département de biologie**, Faculté des sciences de la nature et de la vie, pour nous avoir fait confiance et accepter de superviser notre travail, mais surtout pour son pragmatisme, son soutien et sa générosité. Au cours de l'élaboration de ce mémoire, et pour toute la documentation qu'elle a bien voulu mettre à notre disposition, nous la remercions de nous avoir accordé une grande liberté dans l'expression de nos idées ; nous lui exprimons toute notre profonde et éternelle gratitude.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à **Melle BOUALI W. Maître de Conférences «A » au Département de Biologie**, de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury .Qu'elle en soit vivement remerciée pour ses conseils et ses encouragements.

Nous remercions également **Mme GHALEM M. Maître de Conférences «A » au Département de Biologie**, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à nos collègues, pour leurs encouragements et leur soutien moral.

En fin, nous remercions tous qui nous ont apporté leur aide de près ou de loin.

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail

*À ma famille, et en particulier, à ma mère pour tout ce qu'elle a fait
durant mes années d'étude que j'honore ce succès, et à mon père
pour son soutien*

À mes deux frères

À mes grands-parents, mes tantes et mes oncles.

À mes cousins et cousines.

*À tous mes amis de l'université et d'ailleurs, ceux qui m'ont encouragé et
m'ont élevé, ceux qui se sont tenus à mes côtés et veulent
que je m'épanouisse.*

MOUAD

Dédicace

Je dédie ce travail

*À ma mère pour tout ce qu'elle a fait durant mes années d'étude
que j'honore ce succès, et à mon père pour son soutien*

À mes deux frères,

*Et spécialement à ma tante nadifa le premier professeur de ma vie et
sans dieu d'abord et sans elle je n'aurais pas atteint ce stade*

À toute ma famille,

*À tous mes collègues de l'université et d'ailleurs, ceux qui m'ont
encouragé et m'ont élevé, ceux qui se sont tenus à mes côtés et veulent
que je m'épanouisse.*

IMAD

Résumé

Le thym (*Thymus vulgaris*) est une des plantes médicinales les très connues, les extraits de cette plante contiennent une variété de composés auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Dans la présente étude nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante d'une variété extraits préparés à partir des feuilles de *Thymus vulgaris* à travers le traitement de deux articles. **L'objectif** : Nous avons traité trois articles qui portent sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Thymus vulgaris* (le thym). Les résultats de TPC et TFC montrent la richesse des extraits (aqueux, éthanolique, et méthanolique) en composés phénoliques et en flavonoïdes. L'effet antioxydant a été évalué par la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Tous les extraits ont présenté une activité antioxydante, avec une efficacité élevée de l'extrait méthanolique en comparaison avec les autres extraits (huiles essentielles, extrait aqueux, et extrait éthanolique).

Mots clés : plante médicinale, activité antioxydante, *Thymus vulgaris*, polyphénols, flavonoïdes, DPPH.

ملخص

يعتبر الزعتر (*Thymus vulgaris*) من أكثر النباتات الطبية شهرة ، وتحتوي مستخلصات هذا النبات على مجموعة متنوعة من المركبات التي تُنسب إليها أنشطة بيولوجية مختلفة. في هذه الدراسة حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمجموعة متنوعة من المستخلصات المحضرة من أوراق *Thymus vulgaris* من خلال معالجة عنصرين.

الهدف: تناولنا ثلاث مقالات تتعلق بتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الزعتر. تظهر نتائج TPC و TFC ثراء المستخلصات (المائية والإيثانولية والميثانولية) في المركبات الفينولية والفلافونويد. تم تقييم التأثير المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH (2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ، حيث أظهرت جميع المستخلصات فعالية مضادة للأكسدة وكفاءة عالية للمستخلص الميثانولي مقارنة بالمستخلصات الأخرى (الزيوت الأساسية والمستخلص المائي وخالصة الإيثانول).

الكلمات المفتاحية: نبات طبي، نشاط مضاد للأكسدة، *Thymus vulgaris* ، البولي فينول ، الفلافونويد ، DPPH.

Summary

Thyme (*Thymus vulgaris*) is one of the most well known medicinal plants; the extracts of this plant contain a variety of compounds to which various biological activities are attributed. In the present study we attempted to evaluate the antioxidant activity of a variety of extracts prepared from the leaves of *Thymus vulgaris* through the processing of two items.

The objective: We have dealt with three articles which relate to the evaluation of the antioxidant activity of extracts of *Thymus vulgaris* (thyme).

The TPC and TFC results show the richness of the extracts (aqueous, ethanolic, and methanolic) in phenolic compounds and flavonoids. The antioxidant effect was evaluated by DPPH (2,2-diphenyl-1-

picrylhydrazyl) method. All extracts showed antioxidant activity, with high efficiency of methanolic extract in comparison with other extracts (essential oils , aqueous extract, and ethanol extract).

Keywords: medicinal plant, antioxidant activity, *Thymus vulgaris*, polyphenols, flavonoids, DPPH.

Liste des figures

Figure 1 : aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris L</i>	4
Figure 2 : la balance d'équilibre entre pro oxydants et l'antioxydant	11
Figure 3 : schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires.....	12
Figure 4 : les systèmes de défense contre les radicaux libres	14
Figure 5 : structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle).	21
Figure 6 : contenu total en composés phénolique	27
Figure 7 : contenu total en flavonoides	28
Figure 8 : test de piégeage des radicaux DPPH des extraits de <i>Thymus vulgaris</i>	30
Figure 9 : test de piégeage des radicaux DPPH des huiles de <i>Thymus vulgaris</i>	31

Liste des tableaux

Tableau 1 : détermination du contenu phénolique total (TPC).....	20
Tableau 2 : détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFC)	20
Tableau 3 : test de DPPH	22
Tableau 4 : rendement des extractions des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i>	25
Tableau 5 : composition chimique des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i>	26
Tableau 6 : quelques composants des extraits de <i>Thymus vulgaris</i>	29

Liste des abréviations

OMS	Organisation mondiale de La santé
µg EA/g MS	milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche
CG-SM	Chromatographie en phase gazeuse et Spectrophotométrie de masse
DPPH	Le radical 2,2diphényl-1-picrylhydrazyl
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	hormone peptidique de glutathion
H₂O₂	Peroxyde Hydrogène
H₃PW₁₂O₄₀	acide phosphomolybdique
HD	Hydrodistillation
MAE	Extraction assistée par micro-ondes
QE	équivalent de quercétine
ROS	Espèces Réactives de l'oxygène
SOD	La super oxyde dismutase
<i>T. vulgaris</i>	<i>Thymus. vulgaris</i>
TFC	Détermination de la Teneur en flavonoïdes
TPC	Détermination du contenu phénolique

Table de matières

Introduction	12
Partie 1 : Synthèse bibliographique	2
Chapitre 1 : <i>Thymus vulgaris</i>	3
1. Historique	4
2. Répartition géographique du Thym.....	5
3. Systématique	5
4. Description botanique.....	6
5. Composition chimique	6
6. Activités biologiques.....	7
7. Domaines d'utilisation	8
7.1. Utilisationculinaireetagroalimentaire.....	8
7.2. Utilisationenmédecinetraditionnelle	8
Chapitre 2 : le stress oxydant	9
1. Définition de stress oxydant	Error! Bookmark not defined.
2. Mécanisme de stress oxydant	10
3. Les antioxydants.....	11
3.1. Classification	11
3.1.1. Les antioxydants endogènes(enzymatiques).....	12
3.1.2. Les antioxydants exogènes (nonenzymatiques).....	13
4. Comment lutter contre le stressoxydant	14
Partie 2 : matériel et méthodes.....	17
1. L'objectif.....	17
2. Travaux réalisés dans les trois articles	17
2.1. Préparation des extraits.....	17
2.2. Détermination du contenu phénolique total (TPC).....	19
2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFC).....	20
3. Evaluation de l'activité antioxydante	21
Partie 3 : Résultats et discussion	24
1. Extraction des huiles essentielles	25

2.	Composition chimique des huiles essentielles.....	25
3.	Dosage des composés phénoliques (TPC).....	26
4.	Dosage des flavonoides (TFC).....	27
5.	Analyse des extraits par chromatographie.....	28
6.	Activité antioxydante de <i>Thymus vulgaris</i>	29
	Conclusion.....	32
	Références bibliographiques	34

Introduction

Les plantes aux propriétés thérapeutiques ou pharmacologiques bénéfiques pour le corps humain sont souvent qualifiées de plantes médicinales. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80 % de la population mondiale est partiellement dépendante des plantes médicinales (**Motaleb et al., 2011**).

Les plantes sont très riches en métabolites doués d'activités biologiques variées, anti-inflammatoires, antimicrobienne, antiseptiques, antivirales, anticancéreuses, immunostimulantes. (**Stankovic, 2020**).

Les plantes sont également efficaces contre le stress oxydatif. Ce dernier est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les attaques des espèces réactives de l'oxygène (ROE) en raison d'un déséquilibre entre la production de ces substances et les défenses antioxydantes.

Les plantes médicinales sont considérées comme des fournisseurs d'antioxydants facilement disponibles et puissants, car elles contiennent un mélange de différents composés qui peuvent agir individuellement ou en synergie pour guérir les maladies et améliorer la santé (**Miguel, 2010**).

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées dans la région de Tlemcen, on trouve le thym (*Thymus vulgaris*) qui possède une activité antioxydante significative et qui peut être attribuée à des quantités plus élevées de composés phénoliques et de flavonoïdes (**Wisam et al., 2018**).

Notre travail s'inscrit dans cet axe, et consiste à l'évaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Thymus vulgaris*.

Suite aux conditions actuelles, notre but reste irréalisable ; et nos travaux sont orientés vers le traitement d'articles portant sur le même sujet.

Partie 1
Synthèse bibliographique

Chapitre 1
Thymus vulgaris

Thymus vulgaris(**Figure 1**)est un petit sous-arbrisseau vivace de 7 à 30 cm de hauteur. Ses tiges, ligneuses à la base possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés sont recouvertes de poils et de glandes appelés les trichomes contiennent l'huile essentielle, une plante des pharmacopées méditerranéennes. Vient tout droit des zones arides et des terrains très secs et rocailleux du bassin méditerranéen dans le Nord de l'Afrique, elle appartient à la famille des lamiacées.(**Benazzeddine .2010**)



Figure 1 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (**Milenka ,2019**)

1. Historique

Thymus vulgaris est une des plantes aromatiques les plus employées en thérapeutique depuis l'antiquité. Il a toujours accompagné la vie quotidienne des humains et depuis la haute antiquité les égyptiens l'utilisaient pour embaumer les corps, Théophraste, au 4^{ém} siècle avant ils sont cité les deux espèces sauvages serpolet et vulgaire, qu'il appelle les thymus blanc et noir Aetius. C'est un général Romain à la fin du 4^{ème} siècle parle de poudre de thymus pour les douleurs de reins et de la vessie et en 1887, Chamberland démontra l'action bactéricide de l'essence de thym. [(**Mouhi, 2017**). (**Benbouali, 2006**)].

2. Répartition géographique du Thym

- **Dans le monde**

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées. Selon **Dob et al., (2006)**, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée.

C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par **Nickavar et al., (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

- **En Algérie**

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales à cause de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Hammaz et Nafa, 2017**). Pour la région algérienne, **Quezel et Santa 1963** décrivent 12 espèces de *Thymus* dont huit sont endémiques (**Dob et al., 2006**).

Par ailleurs, le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (**Kabouche, 2005**).

3. Systématique

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous (**Goetz et Ghédira, 2012**).

Règne Plantae
 Sous-règneTracheobionta
 EmbranchementMagnoliophyta
 Sous-embranchementMagnoliophytina
 ClasseMagnoliopsida
 Sous-classeAsteridae
 OrdreLamiales
 Famille..... Lamiaceae

GenreThymus

Espèce*Thymus vulgaris* L.

Le Thym commun, Thym cultivé ou Farigoule (*Thymus vulgaris* L.) est un sous-arbrisseau de la famille des Lamiacées. En cuisine, on l'appelle simplement « thym ». C'est une espèce commune des garrigues ensoleillées et des steppes du sud de l'Europe et du Nord de l'Afrique. Le thym est indissociable de la culture méditerranéenne. **(Bonnier et Douin ,1990)**.

Nom vernaculaire

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

Arabe : saatar, zaatar

Français : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule.

Anglais : common thym, garden thym, **(Teuscher et al., 2005)**.

4. Description botanique

Le genre *Thymus* appartient à la famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle en deux lèvres de ses petites fleurs. C'est l'une des familles les plus larges dans le règne végétal. Elle comprend approximativement 240 genres et 7200 espèces.

Le thym est une plante basse sous-ligneuse, peut atteindre 40 cm de hauteur, caractérisée par des feuilles vertes foncées de 4-10 mm de long, et de forme elliptique à oblongue sa tige courte. Ces feuilles sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes), ces derniers contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes.

Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ce structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges **(Benazzeddine, 2010)**. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose **[(Kabouche,2005);(Remal et Khachouche,2017)]**, et sont très appréciées des abeilles .Le thym a une durée de vie allant de 4 à 7 ans **(Lavergne,2012)**.

5. Composition chimique

De nombreuses étude sont révéle que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques ,climatiques ,de séchages, des stockages, et des méthodes d'extraction et détection **(Amiot,2005)**.

Thymus vulgaris renferme une huile volatile de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé (Farrell, 1998). La teneur en huiles essentielles de la plante varie de 5 à 25 ml/kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a révélé, 30 composés dont les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 – 58,1%), p-cymène (9,1 – 18,5%), terpinène (6,9 – 18%), carvacrol (2,4 – 4,2%), linalol (4 – 6,2%). [(Guillén et Manzanos, 1998) ; (Balladin et Headley, 1999) ; (Hudaib et al., 2002) ; (Bouhdid et al., 2006)], les principaux flavonoïdes sont composés de flavones libres (notamment l'apigénine, la 6-hydroxylutéoline et la lutéoline), des flavanones comme la taxifoline, des flavanones comme la naringénine, de nombreuses flavones méthoxylées (cirsilinéol, 8-méthoxycirsilinéol, cirsimarine, sacuranétine, salvgénine, sidéritoflavone, thymonine et thymusine). (Morimitsu et al., 1995).

La plante renferme des dérivés de l'acide hydroxycinnamique (principes amers des lamiacées) (avec environ 4%) ; l'acide rosmarinique (avec environ 0,8 à 2,6%) ; des dérivés de l'acétophénone constitués particulièrement de 4-hydroxyacétophénone, des hétérosides estérifiés et des dérivés de l'acide benzoïque, on trouve également les triterpènes renfermant surtout de l'acide usolique (1,9%) et d'acide oléanolique (0,6%) (Amiot, 2005).

6. Activités biologiques

Les espèces de plantes aromatiques du genre *Thymus* sont des plantes médicinales importantes, fortement recommandées en raison d'une gamme de propriétés thérapeutiques de leur huile essentielle (huile de Thym), anti-hématologique, antiseptique, antispasmodique, antimicrobienne (Rasooli et al., 2006). Elle possède aussi des propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance. [(Iserin, 2001) ; (Bruneton, 1999)]. Le thym est un antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures (Beer et al., 2007). Les principaux constituants du thym montrent également des propriétés vermifuges et vermicides (Bazylo et Strzelecka, 2007).

7. Domaines d'utilisation

7.1. Utilisation culinaire et agroalimentaire

Thymus vulgaris est l'un des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le domaine alimentaire (Adwan *et al.*, 2006). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épices (Stahl-Biskup et Sàez, 2002). L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, des volailles, des potages et des légumes (Özcan et Chalchat, 2004).

7.2. Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces de *Thymus* sont considérées comme des plantes médicinales en raison de leurs propriétés pharmacologiques et biologiques. Le Thym est l'une des plantes les plus utilisées comme extraits à fort pouvoir antibactérien et anti-inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle [(Lalami *et al.*, 2013) ; (Labiad *et al.*, 2017)].

Des études récentes ont montré que les espèces de *Thymus* ont de forts pouvoirs antifongiques, antiviraux, antiparasitaires, spasmolytiques et antioxydant (Ghelichnia, 2016).

Cette plante aromatique très odorante est considérée comme l'un des remèdes les plus efficaces contre le rhume, la grippe et l'angine, elle calme les toux quinteuses, et diminue les sécrétions nasales. Elle contribue aussi dans le traitement de l'hypertension et les problèmes intestinaux et en usage externe pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Mebarki, 2010). Elle est également utilisée dans les remèdes naturels contre l'asthme, l'ingestion, les maux de têtes et le rhumatisme (Jun *et al.*, 2001).

Chapitre 2
Le stress oxydant

1. Le stress oxydant

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité anti-oxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (**Meddour, 2001**).

le stress oxydatif représente l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les attaques des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Chesmen et Salter 1993) Le stress oxydatif est responsables de dommages cellulaires associés au vieillissement, les maladies cardiovasculaires ; au cancer et a la plupart des maladies dégénératives. (**Kohen et Nyska, 2002**).

Mécanisme de stress oxydant : Le stress oxydatif peut provenir de plusieurs facteurs :

- Facteurs externes (exposition prolongée aux rayons ultraviolets, intoxication aux métaux lourds, pollution, pesticides, infections).
- Style de vie (tabac, alcool, alimentation déséquilibrée, exercice intense, stress, fatigue, une carence nutritionnelle en un ou plusieurs antioxydants (comme les vitamines et les oligo-éléments).
- Anomalie génétique (protéine malcodée) (**Favier, 2006**).

Les réducteurs, qui réagissent avec l'eau oxygénée, activent la luminescence produite par celle-ci dans des solutions alcalines de phtalhydrazide et de 3-aminophtalhydrazide. Ces hydrazides sont, d'autre part, des inhibiteurs de la décomposition de l'eau oxygénée ; Une interprétation de ces résultats, ainsi que de ceux d'autres auteurs, est proposée en accord avec la théorie de Haber et Willstaetter, les radicaux OH^* et O_2H^* se comportant comme accepteurs d'électrons vis-à-vis de l'ion de l'hydrazide et transformant celui-ci en une radicale semi-quinone; l'oxydation ou la dismutation subséquente de ce radical serait l'origine de la chimiluminescence. La plupart des réactions actuellement connues des hydrazides phtaliques peuvent être interprétées suivant ce schéma. Mais aucune explication n'a pu être donnée jusqu'à présent des effets de neutralisation, de dilution et des effets de sels décrits par Svesnikov ainsi que par **Druckrey et Richter.(2010)**

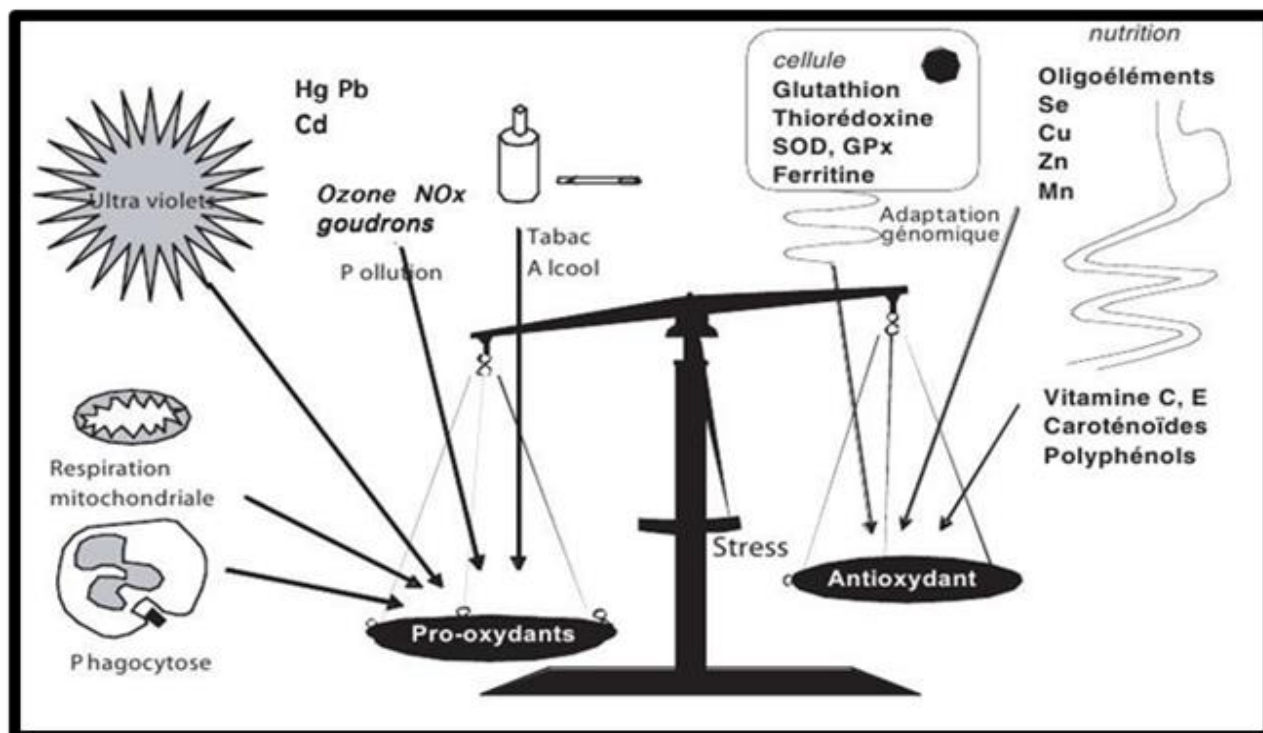


Figure 2 : la balance d'équilibre entre pro oxydants et l'antioxydant (Favier, 2006)

2. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003). On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule.

Ces composés peuvent neutraliser ou réduire les dommages des radicaux libres *in vivo* et aider à maintenir les niveaux de ROS cytotoxiques au niveau cellulaire (Vansant, 2004). Par conséquent, notre corps réagit constamment à cette production permanente de radicaux libres (Favier, 2003).

3.1. Classification

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes enzymatiques ou non, des vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols) (Thomas, 2016). Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine (Figure 3), les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des

(ERO) alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de proton ou d'électron (Denys *et al.*, 2013).

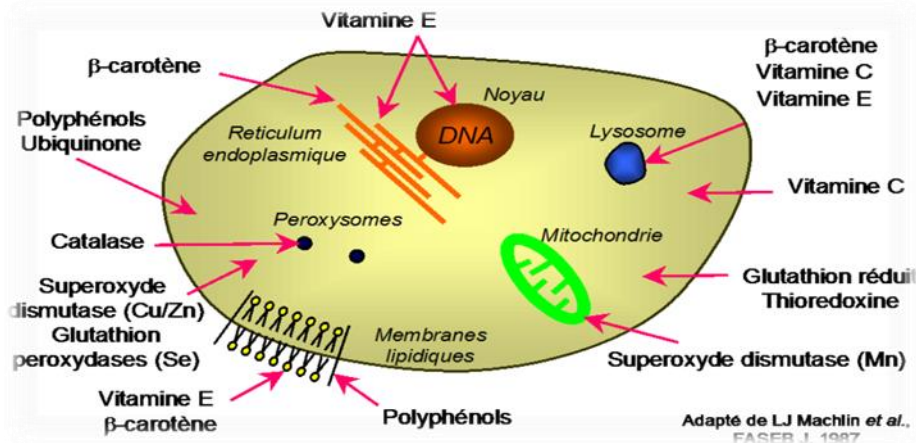


Figure 3: schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires (Mouret *et al.*, 2001)

3.1.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Les cellules possèdent des enzymes anti-oxydantes qui sont des systèmes de défense très important car les enzymes ont la capacité de fonctionner en permanence. Cette ligne de défense est constituée d'enzymes ou protéines antioxydantes de superoxyde dismutase (SOD) de catalase, et de Glutathion peroxydase, (Lehucher-Michel, 2001) (le zinc, le sélénium et le manganèse) qui interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres (Pastre, 2005).

Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge.

- **La superoxyde dismutase**

La superoxyde dismutase (SOD) est la première enzyme détoxifiante et le plus puissant antioxydant des cellules. C'est une enzyme antioxydante endogène importante et une partie de la première ligne du système de défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Elle catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) en peroxyde

Hydrogène (H_2O_2) et oxygène moléculaire (O_2), réduisant le risque d'anion superoxyde potentiellement nocif (Dringen *et al.*, 2005)

Plusieurs études ont confirmé que le H_2O_2 produit par la SOD est bien le déclencheur des mécanismes naturels de défense antioxydante. Par conséquent, la SOD semble être une enzyme clé dans la défense naturelle contre les radicaux libres (**Meniville-Bourg, 2005**)

Les enzymes SOD ont trois variantes. Les principales enzymes cuivre-zinc se trouvent dans le cytoplasme, tandis que la SOD de manganèse est située dans les mitochondries. Le troisième existe en dehors de la cellule (**Ramasarma, 2007**)

- **La catalase**

La catalase est une enzyme antioxydante qui agit comme un catalyseur pour la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en oxygène (O_2) et en eau (H_2O). Il annule l'effet du peroxyde d'hydrogène présent au niveau intracellulaire. (**Aly et Shahin , 2010**)

- **La Glutathion peroxydase**

La glutathion peroxydase est une classe d'enzymes antioxydantes capables de piéger les radicaux libres. Cela aide à son tour à prévenir la peroxydation des lipides et à maintenir l'homéostasie intracellulaire ainsi que l'équilibre redox(**Gupta et al., 2007**)

GPx catalyse la réduction de H_2O_2 en H_2O en utilisant du glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons. (**Haliwell et Gutteridge ,1989**).

Le glutathion est oxydé, formant une liaison disulfure entre 2 molécules de glutathion : on obtient la forme oxydée du glutathion (**Burg et Reeber, 2008**).

3.1.2. Les antioxydants exogènes (nonenzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydante. Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité (Fig. 5). Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Ryma,2016).

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles

incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Kohen et Nyska, 2002).

Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes.

Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, d'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix *et al.*, 2005).

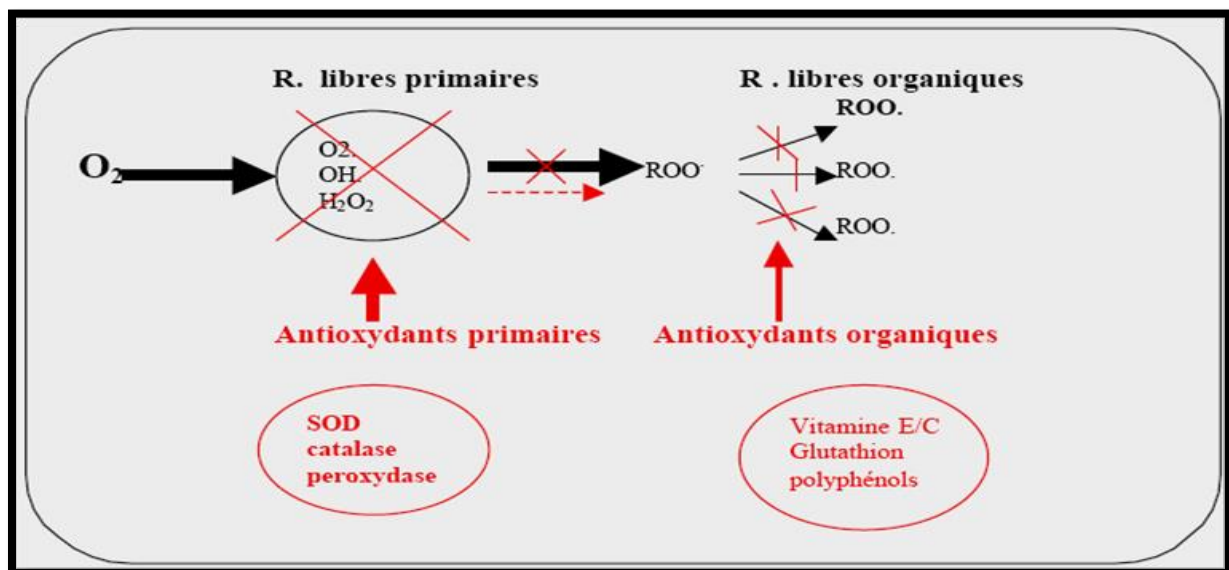


Figure 4: les systèmes de défense contre les radicaux libres

4. Comment lutter contre le stress oxydant

Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à le supprimer. Toutefois, il faut bien se garder d'être « simpliste » sur un sujet aussi complexe et ambigu. Tout d'abord, le stress oxydant est souvent à l'origine des premières anomalies

responsables de modifications irréversibles de molécules et de cellules, et ces anomalies se produisent plusieurs années avant l'apparition des signes de la maladie qui sont irréversibles. Ainsi dans une maladie auto-immune, les antioxydants ne pourront réverser le phénomène lorsque les lignées de lymphocytes auront été sélectionnées et activées, même si les radicaux libres ont participé à modifier les protéines cellulaires plusieurs années auparavant, pour les rendre antigéniques. On peut envisager sous le titre d'« antioxydants » au sens large, l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène [15]. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion

Partie 2
Matériel et méthodes

1. L'objectif

Nous avons traité trois articles qui portent sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Thymus vulgaris* (le thym).

2. Travaux réalisés dans les trois articles

2.1. Préparation des extraits

- **Extrait aqueux (Köksal *et al.*, 2017)**

Les feuilles de thym (50 g) turc séchées à l'air sont mises en contact d'eau distillée (400 ml). Le mélange a été bouilli sous agitation pendant 10 minutes. L'extrait a été filtré, congelé et lyophilisé à -50°C . La poudre lyophilisée a été conservée à -30°C jusqu'à l'analyse. (Gülçin *et al.*, 2004)

- **Extrait éthanolique (Köksal *et al.*, 2017)**

50 g de feuilles de thym turc séchées à l'air sont mises en contact avec 400 ml d'éthanol. Ce mélange a été agité pendant 10 minutes et l'extrait a été filtré à travers un filtre papier. Les filtrats ont été évaporés avec un évaporateur rotatif. L'échantillon évaporé a été stocké à -30°C jusqu'à utilisation.

- **Les huiles essentielles (Kačániová *et al.*, 2012)**

Des huiles essentielles utilisées sont produites en Slovaquie (Calendula a.s., Nova Lubovna).

Les échantillons ont été stockés dans l'obscurité à une température de 4°C .

- **Les huiles essentielles (Gedikoğlu *et al.*, 2019)**

- **Extraction par micro-ondes**

75 g grammes de matériel végétal sec ont été pesés dans un bécher. Puis, 150 ml d'eau distillée ont été ajoutés (1:2, p/v).

.Après 30 minutes de repos, l'extraction a été réalisée dans un micro-onde à une puissance de 550 W pendant 30 minutes.

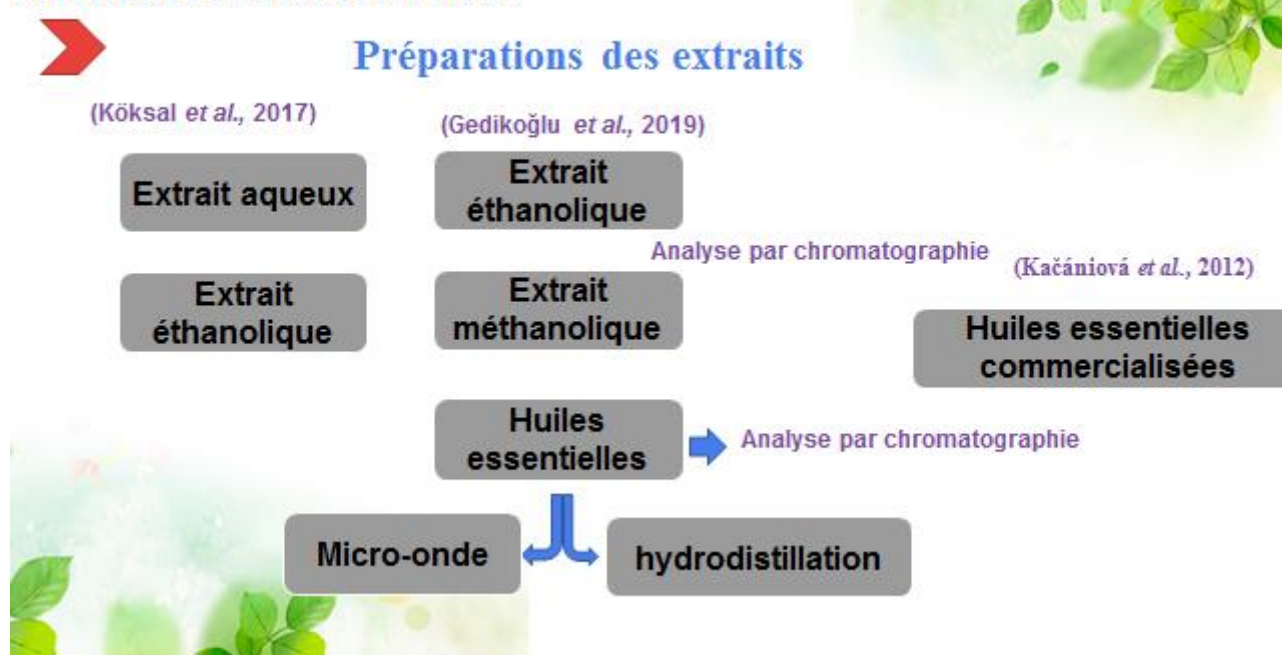
- **Extraction par hydro-distillation**

75 gr de matériel végétal séché à l'air ont été pesés dans un flacon rond. , 750 ml d'eau distillée (1:10, p/v) ont été ajoutés. L'extraction a été réalisée pendant trois heures. Ensuite, l'huile essentielle a été recueillie et placée dans un flacon avec du sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'eau.

Les flacons ont été conservés à 4°C pour une analyse ultérieure.

Les huiles obtenues après extraction (par micro-ondes ou hydrodistillation) ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (CG-SM).en resume selon le plant suivant :

Matériels et méthodes



- **Extraction des fractions polaires de *Thymus vulgaris* (Gedikoğlu *et al.*, 2019)**

Deux solvants ont été utilisés pour extraire les fractions polaires du *Thymus vulgaris*.

-10g d'échantillon ont été mis en contact avec le solvant (100 ml de méthanol ou 100 ml d'éthanol).

-La solution est agitée (30 min) puis portée à sonication (30 min).

-La suspension a été filtrée à l'aide d'un entonnoir Buchner, mise à l'obscurité sous réfrigération.

-La procédure de sonication a été répétée deux fois de plus.

-Les filtrats recueillis ont été combinés, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 50°C.

-Les extraits ont été congelés à -80°C et lyophilisés, conservés dans l'obscurité pour une analyse ultérieure.

2.2.Détermination du contenu phénolique total(TPC)

La teneur en polyphénols totaux des extraits des plantes est déterminée par la méthode de **Singleton et Ross (1965)** utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Le Folin-Ciocalteu est un acide jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif (**Vermeris et Nicholson, 2006**). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la teneur en composés phénoliques oxydés. (**Boizot et Charpentier, 2006**).

- **Mode opératoire**

L'extrait a été mélangé avec de réactif de FolinCiocalteu. Ensuite le Na_2CO_3 a été ajouté au mélange, et il a été incubé dans l'obscurité. L'absorbance de la solution complexe a ensuite été déterminée. (**Tableau 1**).

Les concentrations des polyphénols sont réalisées à partir des gammes d'étalonnage établies avec l'acide gallique et sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EA/g MS}$).

Tableau 1: détermination du contenu phénolique total (TPC)

	Köksal <i>et al.</i>, 2017	Gedikoğlu <i>et al.</i>, 2019
Extrait (ml)	0,5	0,5
Réactif de Folin-ciocalteu (ml)	0,5	2
Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (ml)	1,5	2,5
Incubation (min)	120	90
Longueur d'onde (nm)	725	760

2.3.Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFC)

Les teneurs totales en flavonoïdes ont été estimées par un test colorimétrique. La quercétine a été choisie comme standard, et une courbe d'étalonnage a été préparée. Le TFC a été exprimé en mg d'équivalents de quercétine/g de poids sec (**Gedikoğlu *et al.*, 2019**) et en μg d'équivalents de quercétine (QE) par mg d'extrait (**Köksal *et al.*, 2017**).(Tableau 2).

Tableau 2: détermination de la teneur en flavonoïdes totaux (TFC)

	Köksal <i>et al.</i>, 2017	Gedikoğlu <i>et al.</i>, 2019
Extrait	1 mg	1 ml
Acétate de potassium (CH_3COOK) (ml)	0,1	
Chlorure d'aluminium (AlCl_3) (ml)		1
Nitrate d'aluminium $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (ml)	0 ,1	
Incubation (min)	40	15
Longueur d'onde (nm)	415	430
Références	Gülçin <i>et al.</i>, (2011)	Djeridane <i>et al.</i>, 2006 Riahi <i>et al.</i>, 2013

3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation des capacités antioxydantes des différents extraits préparés dans les trois études [(Kačániová *et al.*, 2012) ; (Köksal *et al.*, 2017) ; (Gedikoğlu *et al.*, 2019)] a été effectuée par le test du piégeage du radical libre (DPPH).

- **Principe**

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'un des rares radicaux azotés organiques stables, est utilisé pour analyser l'activité antioxydante (Zaghdoudi *et al.*, 2016). Le DPPH possède une couleur violette profonde et un maximum d'absorption UV-Vis à 515 nm (Prior, *et al.*, 2005). Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structureactivitéantioxydante des composés phénoliques [(Osman, 2011) ; (Floegel *et al.*, 2011)]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Popovici *et al.*, 2009).

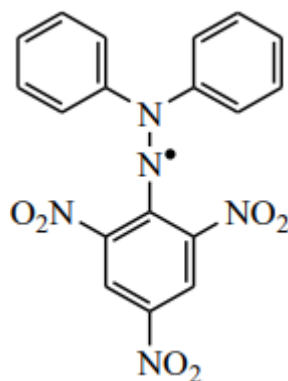


Figure 5: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-picrylhydrazyle) (Osman, 2011).

Les composés testés (antioxydants) réduisent le radical DPPH de couleur violette intense (à température ambiante) en DPPH-H. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne d'une disparition de la coloration violette (Hadj Salem, 2009). Le pouvoir réducteur peut être évalué en mesurant la diminution de son absorbance. Au final, les résultats sont indiqués par la CI50 (Antolovich *et al.*, 2002).



Avec **AH** : un antioxydant

- **Mode opératoire**

Cette activité a été mesurée en suivant la méthodologie décrite par **Blois (1958)** avec quelques modifications (**Tableau3**). Les extraits préparés dans le méthanol à différentes concentrations sont ajoutés à une solution méthanolique de DPPH°. Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant du méthanol avec une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule

$$PI = \left(\frac{D.O_{\text{témoin}} - D.O_{\text{extrait}}}{D.O_{\text{témoin}}} \right) \times 100$$

PI: pourcentage d'inhibition, *D.O témoin* : absorbance du témoin négatif, *D.O extrait*: absorbance de l'extrait.

Tableau 3: Test de DPPH (Blois ,1958)

	Kačániová <i>et al.</i> , 2012	Köksal <i>et al.</i> , 2017	Gedikoğlu <i>et al.</i> , 2019
Extrait (ml)	2	1	0,5
DPPH (ml)	2	1	5
Incubation (min)	30-60	30	30
Longueur d'onde (nm)	517	517	517

Partie 3
Résultats et discussion

1. Extraction des huiles essentielles

Gedikoğlu et al., (2019), ont réalisé l'extraction des huiles essentielles des feuilles de *thymus vulgaris* par deux méthodes : l'hydrodistillation (HD) et le micro-onde (MAE). Les résultats de calcul de rendement sont mentionnés dans le **Tableau 4**.

La méthode de distillation n'a pas affecté le rendement en huile (%) du thym. **Golmakani et Rezaei. (2008)** ont rapporté des résultats similaires pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (2,52 %) pour l'extraction assistée par micro-ondes, à l'exception d'une durée d'extraction plus longue (2 h) avec une puissance plus élevée (990 W) et 2,39 % pour l'hydrodistillation (4 h).

L'extraction par micro-ondes fournit des rendements comparables aux autres méthodes et utilise moins de temps, d'énergie et seulement une petite quantité d'eau pour hydrater les plantes sèches

Dans une autre étude, le chauffage ohmique assisté par ultrasons a fourni un rendement en huile (%) beaucoup plus élevé pour *Thymus daenensis* en comparaison à l'hydrodistillation (**Tavakolpour et al., 2017**).

Plusieurs rapports ont montré que le rendement d'extraction dépend de facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques (**Saag et al., 1975**) , de la procédure d'extraction (La durée de la distillation ; ...) et de la variété de la matière première [(**Fedeniuk et Biliaderis, 1994**); (**Lucchesi, 2005**)].

Tableau 4: rendement des extractions des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*

<i>L'huile de Thymus vulgaris</i>		
Méthode d'extraction	Hydrodistillation	Micro-onde
Rendement (%)	1,8 ±0.14	1,77 ±0.05

2. Composition chimique des huiles essentielles

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse a permis d'identifier 25 composés pour *Thymus vulgaris* dont les principaux composés sont mentionné dans le **tableau 5**. Nous constatons qu'il n'y a aucune différence significative entre les procédures d'extraction pour ces quatre composés majeurs. Une étude similaire menée avec l'Iranien *T. vulgaris* (**Golmakani et Rezaei, 2008**) a rapporté des teneurs plus faibles en thymol et en carvacrol.

Par contre, **Razzaghi-Abyaneh et al., (2009)** ont identifié sept composés du thym et ont rapporté une teneur élevée en thymol (70,99%). En outre, **Boruga et al., (2014)** ont signalé que l'huile essentielle de thym de Roumanie avait des niveaux plus faibles de thymol (47,59%) et de p-cymène (8,41%) mais une teneur en γ -terpinène beaucoup plus élevée (30,9%).

Tableau 5 : composition chimique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*

<i>L'huile de Thymus vulgaris</i>		
Composé (%)	Hydrodistillation	Micro-onde
Thymol	55,3	50,53
p-cymène	11,2	11,79
Carvacrol	8,7	6,65
β -caryophyllène	4,2	4,88
γ -terpinène	3,4	1,37

3. Dosage des composés phénoliques (TPC)

Le dosage des polyphénols totaux dans les travaux de **Köksal et al., (2017)** et **Gedikoğlu et al., (2019)** a été réalisé par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont représentés dans **la figure 6**.

Nous constatons que l'extrait aqueux de **Köksal et al., (2017)** est le plus riche en composés phénoliques en comparaison avec les autres extraits (éthanolique 1 ; **Köksal et al., (2017)** et (éthanolique 2, méthanolique ; **Gedikoğlu et al., (2019)**).

Le TPC de l'extrait méthanolique est plus élevé que celui de l'extrait éthanolique 2, dans l'article **Gedikoğlu et al., (2019)**. Ce résultat obtenu est en accord avec la littérature. **Sokmen et al., (2004)** ont rapporté un TPC très élevé de l'extrait méthanolique de *Thymus spathulifolius* (141 mg GAE/g). Cependant, **Skendi et al., (2017)** ont rapporté entre 34,3 et 70,4 mg GAE/g de TPC pour des extraits méthaniques de plantes de la famille des Lamiaceae. En revanche, **Fatma et al., (2014)** ont rapporté 7,05-8,81 mg GAE/g pour *T. hirtus* sp. *algeriensis* provenant de divers endroits en Tunisie. **Roby et al., (2013)** ont rapporté des niveaux de TPC allant de 4,75 à 8,10 mg GAE/g pour *T. vulgaris*.

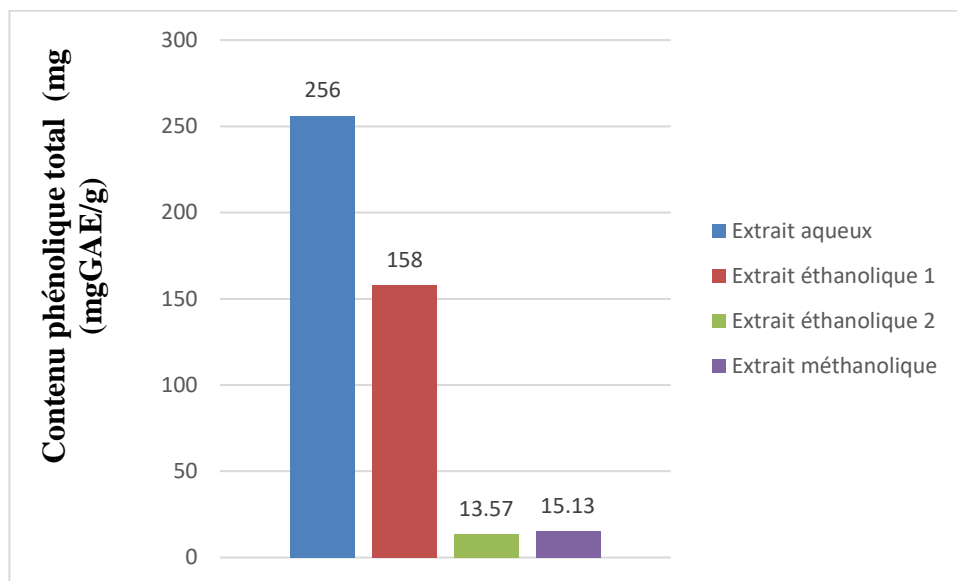


Figure 6: Contenu total en composés phénolique

4. Dosage des flavonoïdes (TFC)

Les résultats de dosages de flavonoïdes des différents extraits sont représentés dans la **figure 7**. Nous remarquons que l'extrait aqueux de **Köksal et al., (2017)** est le plus riche en flavonoïdes en comparaison avec les autres extraits (éthanolique 1 ; **Köksal et al.,(2017)** et (éthanolique 2, méthanolique ; **Gedikoğlu et al.,(2019)**).

Cependant le TFC le plus faible a été obtenu avec l'extrait éthanolique 2, dans l'article **Gedikoğlu et al., (2019)**.

Tohidi et al. (2017) ont rapporté entre 1.89 et 8,55 mg QUE/g parmi les 14 espèces de *Thymus* de l'Iran et ont trouvé le TFC le plus élevé chez *T. vulgaris*, avec 8,55 mg QUE/g. Cependant, dans

certaines autres études, le TFC a été déterminé sur la base de l'équivalent en rutine [**(Venskutonis et van BeekMiliauskas, 2004)** ; **(Fatma et al., 2014)**]

Le TPC et le TFC fournissent tous deux des informations sur la capacité antioxydante, car un contenu phénolique plus élevé est associé à activité antioxydante plus élevée.

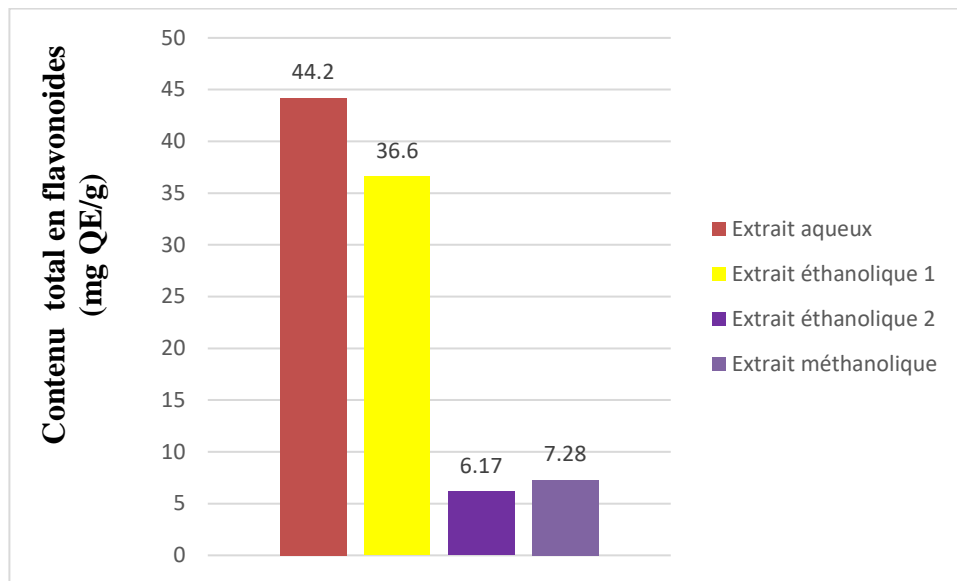


Figure 7: Contenu total en flavonoïdes

5. Analyse des extraits par chromatographie

Les résultats de l'analyse des différents extraits (aqueux, méthanologique, et éthanologique 1 et 2) sont mentionnés dans le **tableau 6**. Nous constatons que la composition des extraits préparés à partir des feuilles de *Thymus vulgaris* est différente entre les deux travaux. Ceci peut être attribué à la génétique des plantes mais aussi aux méthodes d'extraction qui se diffèrent dans les deux articles.

L'acide gallique était le composé phénolique le plus abondant dans l'extrait aqueux et éthanologique suivi de pyrogallol et l'acide férulique (Köksal *et al.*, 2017). Dans l'étude de (Gedikoğlu *et al.*, 2019), l'acide rosmarinique, l'acide benzoïque, la rutine, l'acide gallique et l'acide cinnamique étaient les plus importants.

Tableau 6 : quelques composants des extraits de *Thymus vulgaris*

<i>Thymus vulgaris</i>				
	Köksal et al.,(2017).		Gedikoğlu et al.,(2019),	
	E. Aqueux	E.éthanolique 1	E.méthanolique	E.éthanolique2
Composé	(mg/Kg)		(%)	
Acide gallique	5150,2	1801,2	0,251	0,167
Acide rosmarinique			13,66	8,696
Acide hydroxy- benzoïque	20,4	18,7	0,159	0,085
Acide cinnamique			0,037	0,021
Acide férulique	232,3	232,3		
acide syringique			0,062	0,043
Acide coumarique	151,5	164 ,6	0,051	0,051
Rutine			0,353	0,325
Pyrogallol	262,4	260,2		
Quercetine	121,4	111,7		

6. Activité antioxydante de *Thymus vulgaris*

Dans les trois articles étudiés, les auteurs ont utilisé le test de piégeage des radicaux du DPPH pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *thymus vulgaris*.

La **figure 8** montre la capacité de piégeage des radicaux DPPH des extraits aqueux et éthanolique (1, 2) et méthanolique. **Köksal et al., (2017)** et **Gedikoğlu et al., (2019)**. Les valeurs inférieures de la IC50 reflètent un effet élevé de piégeage des radicaux DPPH.

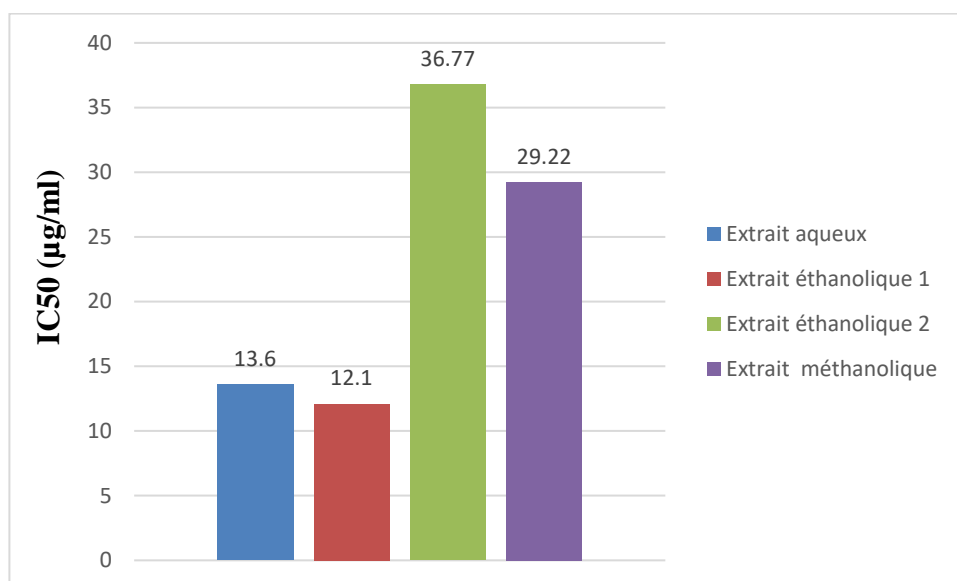


Figure 8: Test de piégeage des radicaux DPPH des extraits de *Thymus vulgaris*

Selon les résultats obtenus, tous les extraits ont une activité antioxydante, l'extrait éthanologique 2 (Köksal *et al.*, 2017) (IC₅₀ de 12,1 µg/ml) a montré un meilleur effet de piégeage des radicaux DPPH, suivi de l'extrait aqueux (IC₅₀ de 13,6 µg/ml) (Köksal *et al.*, 2017) et l'extrait méthanologique (IC₅₀ de 29,22 µg/ml) (Gedikoğlu *et al.*, 2019). La capacité de piégeage la plus basse a été observée dans le cas de l'extrait éthanologique 2 (IC₅₀ de 36,77 µg/ml). (Gedikoğlu *et al.*, 2019).

La différence dans l'activité de piégeage des radicaux DPPH peut résulter de la méthode d'extraction, du solvant d'extraction, de l'emplacement géographique ou de la différence entre les plantes de la même famille. Ces variations ont été rapportées dans des études précédentes [(Roby *et al.*, 2013) ; (Fatma *et al.*, 2014) ; (Martins *et al.*, 2015) ; (Skendi *et al.*, 2017)].

La figure 9 montre la capacité de piégeage des radicaux DPPH des huiles essentielles de *thymus vulgaris* dans l'article de (Kačániová *et al.*, 2012) et (Gedikoğlu *et al.*, 2019). Les valeurs inférieures de IC₅₀ reflètent un effet élevé de piégeage des radicaux DPPH.

La meilleure activité de piégeage a été obtenue avec l'huile commercialisée (IC₅₀ de 5,84 µg/ml après 30 min d'incubation), cependant cette huile a perdu son activité après 60 min d'incubation.

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'huile essentielle de thym obtenue avec micro-onde (MAE) (IC₅₀ de 93,77 ± 13,0 µg/ml) était significativement ($p < 0,05$) plus élevée que

celle obtenue avec l'hydrodistillation (IC_{50} de $159,59 \pm 12,79 \mu\text{g/ml}$). Cela pourrait être dû à la présence d'une forte teneur en thymol.

Des études antérieures ont montré que composés tels que le carvacrol et le thymol existent en grande quantité dans les plantes de la famille des Lamiaceae. **Lee *et al.*, (2005)** ont découvert que les composants volatils tels que le carvacrol et le thymol avaient des propriétés antioxydantes.

Les huiles essentielles de thym obtenues par HD et MAE avaient une plus grande capacité de piégeage de radicaux libres que celle de *Thymus spathu-lifolius* (IC_{50} de $0,243 \pm 7,20 \text{ mg/ml}$) (**Sokmen *et al.*, 2004**), *Thymus mastichina* (IC_{50} de $3,11 \pm 0,11 \text{ mg/ml}$), *Thymus zygis* (IC_{50} de $0,9 \pm 0,03 \text{ mg/ml}$), *Thymus vulgaris* ($4,05 \pm 0,09 \text{ mg/ml}$), *Thymus capitatus* ($0,6 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$) (**Costa *et al.*, 2017**).

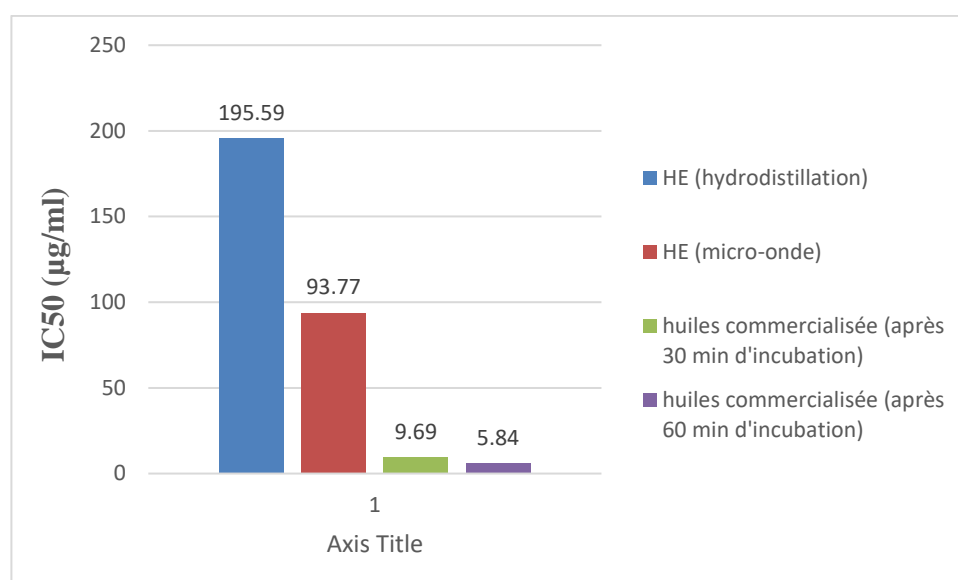


Figure 9 : Test de piégeage des radicaux DPPH des huiles de thymus vulgaris

Conclusion

Le but de la présente étude était d'évaluer les activités antioxydantes des extraits des feuilles de *Thymus vulgaris* à travers une synthèse de trois articles.

L'extrait aqueux est le plus riche en composés phénoliques et en flavonoïdes en comparaison avec les autres extraits (éthanolique 1, éthanolique 2, méthanolique). Le choix de la méthode d'extraction ((hydrodistillation, micro-onde) des huiles n'a pas affecté la composition d'huiles, et les composés majoritaires étaient le thymol, p-cymène, Carvacrol, et le β -caryophyllène.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits par le test de DPPH a montré que tous les extraits ont une activité antioxydante. L'extrait éthanolique 1 (**Köksal et al., 2017**). (IC50 de 12,1 $\mu\text{g/ml}$) a montré un meilleur effet de piégeage des radicaux DPPH, suivi de l'extrait aqueux (IC50 de 13,6 $\mu\text{g/ml}$).**Köksal et al., 2017**) et l'extrait méthanolique (IC50 de 29,22 $\mu\text{g/ml}$) (**Gedikoğlu et al., 2019**). La capacité de piégeage la plus basse a été observée dans le cas de l'extrait éthanolique 2 (IC50 de 36,77 $\mu\text{g/ml}$). (**Gedikoğlu et al., 2019**).

En ce qui concerne les huiles essentielles de *thymus vulgaris* ,La meilleure activité de piégeage a été obtenue avec l'huile commercialisée (IC50 de 5,84 $\mu\text{g/ml}$ après 30 min d'incubation) suivi de celle obtenue avec micro-onde (MAE) (IC50 de 93,77 \pm 13,0 $\mu\text{g/ml}$) La capacité de piégeage la plus basse est obtenu avec les huiles récupérées par hydrodistillation (HD) (IC50 de 159,59 \pm 12,79 $\mu\text{g/ml}$).

Les résultats de ces études nous encouragent à évaluer l'activité antioxydante des plantes utilisées localement dans la région de Tlemcen.

Références Bibliographiques

A

- **Adwanet G., Abusafieh D., Aref R., Omar J.A. (2005).**Prevalence of microorganisms associated with intrammary infection in cows and small ruminants in the north of Palestine. *Jornal of Islamic, University of Gaza, Palestine.*
- **Aly, D. G., & Shahin, R. S. (2010).** Oxidative stress in lichen planus. *Acta Dermatoven APA, 19(1), 3-11.*
- **Amiot, J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires (Doctoral dissertation, École nationale supérieure agronomique (Montpellier).
- **Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., &Robards, K. (2002).** Methods for testingantioxidantactivity. *The Analyst, 127(1), 183–198.*

B

- **Balladin D.A.Headley,O.(1999).**Evaluation of solar dried thyme(*tymus vulgaris* Linnè)herlos.Renawble Energy:523-531.
- **Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2017).** Assessment of antioxidant and antibacterial properties on meat homogenates of essential oils obtained from four *Thymus* species achieved from organic growth.
- **Bazylko, A. G. N. I. E. S. Z. K. A., & Strzelecka, H. A. L. I. N. A. (2007).** A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia, 78(6), 391-395.*
- **Beer additives. Djordjević, S., Popović, D., Despotović, S., Veljović, M., Atanacković, M., Cvejić, J., ... & Leskošek-Čukalović, I. (2016).** Extracts of medicinal plants as functional beer additives. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ, 22(3), 301-308.*
- **Benazzedine, S. (2010).** Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilis oryzae* (Coleoptra ;cuculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptra ; Tenebrionidae). Mémoire on line, Ecole nationale supérieure agronomique, El Harrach, Algérie.

- **Boizot N et Charpentier J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des Techniques de l'Inra.pp79-82.
- **Borg, J., & Reeber, A. (2008).***Biochimie métabolique. 2e édition (LES COURS DU PCEM)* (ELLIPSES MARKETING edition.). ELLIPSES, France métropolitaine. P-264.
- **Boruga, O., Jianu, C., Misca, C., Golet, I., Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2014).** *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56–60.
- **Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006).** *Thymus* essential oils:chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès Intrntional de biochimies*, Agadir. 324-327.
- **Bruneton, J. (1999).**Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris1120, .Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

C

- **Çağlayan, Ahmet C. Gören & Saleh H. Alwasel (2017).** Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *International journal of food properties*. 20, 3, 514–525.
- **Cheeseman K. H. et Slater T. F. (1993).** An Introduction To Free Radical Biochemistry. *Br.Med. Bull* 49: 481-493.

D

- **Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317.
- **Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques.* Ed. Yves Dacosta.
- **Djordjević, S., Popović, D., Despotović, S., Veljović, M., Atanacković, M., Cvejić, J., ... & Leskošek-Čukalović, I. (2016).** Extracts of medicinal plants as functional

beer additives. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ*, 22(3), 301-308.

- **Dob T., Darhmane D., Benabdelkader T., Chelgoum C.(2006).** Studies on the essential Oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. *Int. J. Aromath.*, 16 (2), 95-100.
- **Dringen, R., Pawlowski, P. G., & Hirrlinger, J. (2005).** Peroxide detoxification by brain cells. *Journal of neuroscience research*, 79(1-2), 157-165.

E

- **Ece A., Gurkan F., Celik F., Boşnak M., Yel S., Balik H., Erel O. (2007).** Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clin Biochem* 40 (9-10): 634-9.
- **El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hathout, A. S., Hassan, N. S., Aly, S. E., & Abdel-Wahhab, M. A. (2011).** Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. *Toxicol*, 57(7-8), 984-991.

F

- **Farrell K.T.(1998).**spices condiments And seasonings .2éme édition springer sciences & business media.414p. cité par ABDELLI wafae thèse présentée pour l'obtenir du diplôme de DOCTORAT 3eme cycle LMD par thèse Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologique des huiles. (Année 2016-2017).
- **Fatma, G., Mouna, B. F., Mondher, M., & Ahmed, L. (2014).** Invitro assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis*. *Lipids in Health and Disease*, 13(114), 1–12.
- **Favier A. (2003).**Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396).
- **Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S. I. & Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048.

- **Fedeniuk, R. W., & Biliaderis, C. G. (1994).** Composition and physicochemical properties of linseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(2), 240-247.

G

- **Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A. (2019)** Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocher, P., & Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654–660.
- **Golmakani, M. T., & Rezaei, K. (2008).** Comparison of microwave assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109, 925–930.
- **Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2014).** *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56–60.
- Guillen M.D. Manzano M.J (1998) study of the composition of the different parts of a Spanish thymus vulgaris L. plant. *Food Chemistry* :373-383.
- **Gülçin, İ.; Topal, F.; Çakmakçı, R.; Gören, A.C.; Bilsel, M.; Erdoğan U, (2011).** Pomological Features, Nutritional Quality, Polyphenol Content Analysis, and Antioxidant Properties of Domesticated and Three Wild Ecotype Forms of Raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food Sciences*, 76, C585–C593.
- **Gupta, S., Agarwal, A., Banerjee, J., & Alvarez, J. G. (2007).** The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstetrical & gynecological survey*, 62(5), 335-347.

H

- **Hadj Salem, J. (2009).** Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïde de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. (INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE).
- **Halliwell, B. (1997).** Antioxidants in disease mechanisms and therapy. *Advances in Pharmacology*, 38, 3-17.
- **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989).** Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon.

- **Hammaz, F., & Nafa, S. (2017).** Contribution à l'essai de fabrication de pâté de volaille à base de conservateurs naturels (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Hudaib M. speroni E.pietra A.M.D . carvin V. (2002).** GC/MS evaluation of thyme (*thymus vulgaris*) oil composition and variations during vegetative cycle J.Pharmaceutical and Biomedical analysis:691-700.

I

- **Iserin, p. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales ,2 Ed. Larousse. Londres, pp 225226.

J

- **Jiang, J. (2005).** Volatile composition of the laksa plant (*Polygonum hydropiper* L.), a potential source of green note aroma compounds. Flavour and fragrance journal, 20(5), 455-459.

K

- **Kabouche, A. (2005).** Etude photochimique de plantes médicinales appartenant à la famille Des Lamiaceae. Thèse de Doctorat d'état en chimie, Université Mentouri Constantine, p 277.
- **Kačániová M , Vukovič N , Hleba L , Bobková A , Pavelková A , Rovná K , Arpášová H.(2012).** Antimicrobial and antiradicals activity of *origanum vulgare* l. And *thymus vulgaris* essential oil. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2 (1) 263-271
- **Kohen R., Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants,redox reactions and methods for their quantification. Toxicolo Pathol. 30: 620-650.
- **Kulšic T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006).** Antioxidant Activity of Herbal Tea Infusions, Food Technol. Biotechnol. 44 (4) 485–492 (2006).

L

- **Labioud, R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité anti oxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.

- **Lavergne, D. (2012).** Guide technique des plantes à parfum aromatiques et médicinales (PAM) en bio, rédaction : AGROBIO 47 Association de Développement de l'Agriculture Biologique .
- **Lee, K. G., & Shibamoto, T. (2002).** Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(17), 4947-4952.
- **Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T., & Lee, K. G. (2005).** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131–137.
- **Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. *La presse médicale*, 30(21), 1076-1081.
- **Lothar Mindt Karl Saag, George R. Sanderson, Patrick Moyna" and Gerard0 Ramos(1975)** . Cactaceae Mucilage Composition. *J. Sci. FdAgric.*, 26, 993-1000.
- **Lucchesi, M E. (2005)** : Extraction Sans Solvant Assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doctorat: Chimie. Université de la Reunion, France.

M

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* PPUR presses.
- **Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- **Mebarki, N. (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara, Boumèrdes, Algérie.
- **Menvielle-Bourg, F. J. (2005).** Superoxide dismutase (SOD), a powerful antioxidant, is now available orally. *Phytothérapie*, 3(3), 118-121.

- **Miladi, H., Slama, R. B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A., & Ammar, E. (2013).** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography- mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens.
- **Mouhi, L. (2017).** Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de Plantes de la flore Algérienne. Élaboration d'une forme pharmaceutique. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie.

N

- Nickavar B , Mojab F, Dolat-Abadi (2005). Analysis of the essential oils of tow *Thymus* species from Iran-Food Chemistry. 90 : 609-611.
- *Oryzae* (Coleoptra ;cuculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptra ; Tenebrionidae). Mémoire on line, Ecole nationale supérieure agronomique, El Harrach, Algérie.

O

- **Osman A. M. (2011).** Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) with (+) -catechin : evidence for the formation of a covalent adductbetween DPPH· and the oxidizedform of the polyphenol. *Biochemical and biophysicalresearch communications*, 412(3), 473–478.
- **Ozcan, M., & Chalchat, JC (2004).** Profil aromatique de *Thymus vulgaris* L. poussant à l'état sauvage en Turquie. *Journal bulgare de physiologie végétale*, 30 (3-4), 68-73.
- Pastre, J. (2005). *Intérêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques* (Doctoral dissertation).

P

- **Popovici, C., Saykova, I., &Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4, 25-39.
- **Prior, R. L., Wu, X., &Schaich, K. (2005).** Standardizedmethods for the determination of antioxidantcapacity and phenolics in foods and dietarysupplements. *Journal of agricultural and foodchemistry*, 53(10), 4290–4302.

Q

- **Quezel, P. & Santa. S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales CNRS paris tome 2:978-979.

R

- **Ramasarma, T (2007).** *Many faces of superoxide dismutase, originally known as erythrocyte superoxide dismutase*. In: Current Science, 92 (2).184-191.
- **Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006).** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. International journal of infectious diseases, 10(3), 236-241.
- **Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M. B., Jaimand, K., Alinezhad, S., Saberi, R., & Yoshinari, T. (2009).** Chemical composition and antiaflatoxinogenic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control*, 20, 1018–1024.
- **Remal, W et Khachouche, Z. (2017).** Initiation à l'Elaboration d'une carte de répartition du genre *Thymus* et l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Thymus Serpyllum* L. récoltée du massif Dahra Zaccar région d'El Amra -wilaya de Ain Defla. Mémoire de Master, Université El Djillali Bounaama, Khemis Miliana, Algérie.
- **Riahi, L., Chograni, H., Elferchichi, M., Zaouali, Y., Zoghalmi, N., & Mliki, A. (2013).** Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic contents between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 46, 290–296.
- **Ricky W. Fedeniuk and Costas G. Biliaderis Composition and Physicochemical Properties of Linseed (*Linum usitatissimum* L.) Mucilage (1994).** *J. Agric. Food Chem.* 42, 2, 240–247.
- **Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K.-A.-H., & Khalel, K. I. (2013).** Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827–831.
- **Ryma, L. A. B. I. O. D. (2016).** *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide* (Doctoral dissertation, Université BADJI Mokhtar Annaba).

S

- **Saag, L. M. K., Sanderson, G. R., Moyna, P., & Ramos, G. (1975).** Cactaceae mucilage composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(7), 993-1000.
- **Selmi, S. A. L. A. H., & Sadok, S. A. L. O. U. A. (2008).** The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (Thunnus thynnus (Linnaeus)) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(1), 36-45.
- **Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
-
- **Skendi, A., Irakli, M., & Chatzopoulou, P. (2017).** Analysis of phenolic in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 6, 62–69.
- **Sohal R. S., Mockett R. J., Orr W. C. (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Rad. Biol. Med.* 33 (5) : 575.
- **Sokmen, A., Gulluce, M., Askin Akpulat, H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., ... Sahin, F. (2004).** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627–634.
- **Stahl-Biskup, E et Saez, F. (2002).** Thyme: The genus Thymus. London; New York, USA: Taylor & Francis. tandem mass spectrometry, *International Journal of Food Properties*, 20:3, 514-525.

T

- **Tavakolpour, Y., Moosavi-Nasab, M., Niakousari, M., Haghighi-Manesh, S., Hashemi, S. M. B., & Khaneghah, A. M. (2017).** Comparison of four extraction methods for essential oil from *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* and chemical analysis of extracted essential oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1–7 (e13046).
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, p 521.
- **Thomas, D. (2016).** *Les antioxydants de nos jours: définition et application* (Doctoral dissertation, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges. France.

V

- **Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone.
- **Vermerris W., Nicholson R. (2006).** Phenolic Compound. USA: Springer Nueva York, EEUV; 3(16):151-153.
- **Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food chemistry, 85(2), 231-237.

Y

- **Yasujiro Morimitsu, Kazunari Yoshida, Sachiko Esaki, Akira Hirota . (1995)** Laboratory of applied microbiology and laboratory of food chemistry. School of food and nutrition science, university of Shizuka, 52-1 yada ,Shizuka 442 , japan received march.

Z

- **Zaghdoudi, K., Framboisier, X., Frochot, C., Vanderesse, R., Barth, D., KalthoumCherif, J., Blanchard, F., &Guiavarc'h, Y. (2016).** Response surface methodology applied to Supercritical Fluid Extraction (SFE) of carotenoids from Persimmon (*Diospyros kaki* L.). Food chemistry, 208, 209–219.32.

