

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA  
Faculté de Technologie  
Département de Génie des Procédés



En vue de l'obtention du diplôme de

## **MASTER**

En Génie des Procédés  
Option : Génie chimique

### **Thème**

Détermination des polyphénols dans les extraits de la sauge, du thé et du thym en utilisant les techniques spectroscopiques et les méthodes chimiométriques

### **Etudiants**

M<sup>elle</sup> Labraoui Samiha Mr A. Kachbi (MCB) M<sup>elle</sup> Ladjal Louisa M<sup>me</sup> D. Abdelfettah (Magister)

### **Encadreurs**

**Promotion 2016-2017**

# *Remerciements*

*« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »*

Nous tenons d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, notre encadreur KACHBI A., nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.

Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.

Notre co-promotrice Mme ABDEL FETTAH D., qui a bien voulu nous encadrer pendant ce projet, Elle nous a soutenu par ses conseils, ses encouragements et sa confiance.

Mme SENHADJI O., qui nous a guidé tout au long de ce travail, avec ses conseils précieux et sa disponibilité à tout moment et nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Mme TOUATI, pour son soutien indéfectible, et ses encouragements permanents.

L'ensemble des techniciens de labo 08, de nous avoir aidé au cours de la partie expérimentale.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier nos proches pour leurs soutiens permanents, et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*À mes parents*

*EN Témoignage de l'amour, du respect et de la  
Gratitude que je leur porte pour leur soutien et leur*

*Aide qu'ils m'ont apporté durant mes années*

*D'études. Qui m'ont toujours soutenue*

*Et encouragée à suivre les chemins*

*Que je désirais Jamais je ne les remercierai assez de*

*M'avoir donné le meilleur d'eux-mêmes.*

*À mes chers frères : Soufiane et Belka.*

*En témoignage de toute mon affection, je leur souhaite un avenir  
rayonnant.*

*À ma famille*

*A ma chère amie et mon binôme Louisa et sa famille.*

*À mes amis*

*A mes collègues de promotion de génie chimique 2017.*

*À toute personne que j'aime.*

*Samira*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mon adorable très cher père pour son affection, sacrifices et ses efforts afin me voir*

*réussir, je lui serai reconnaissante tout le reste de ma vie*

*A mon trésor, source intarissable de tendresse, ma chère mère*

*A mes chers sœurs et frères : Nassima, Nourdine, Hanane et FOUFOU.*

*A mon cher binôme et amie Samiha avec laquelle j'ai partagé ce travail et à toute sa famille*

*A tous mes amis*

*Et à toute la promotion génie chimique 2017*

*Louisa*

---

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## ***Chapitre I : Synthèse bibliographique***

I.1. Composés phénoliques.....	2
I.1.1. Définition.....	2
I.1.2. Classification .....	2
I.1.2.1. Acides phénoliques.....	2
I.1.2.2. Stilbénes.....	3
I.1.2.3. Flavonoïdes .....	3
I.1.2.4. Les lignanes.....	5
I.1.3. Propriétés des polyphénols.....	5
I.1.4. Rôle des polyphénols.....	5
I.1.4.1. Chez les végétaux.....	5
I.1.4.2. Chez l'homme.....	6
I.2. Description des plantes étudiées.....	6
I.2.1. Sauge ( <i>sauge officinal</i> ).....	6
I.2.1.1. Origine du nom.....	6
I.2.1.2. Description.....	7
I.2.1.3. Classification.....	7
I.2.1.4. Composition.....	7
I.2.1.5. Utilisation.....	8
I.2.2. Thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ).....	8
I.2.2.1. Origine du nom.....	8
I.2.2.2. Description.....	8
I.2.2.3. Classification.....	9

---

I.2.2.4.Composition.....	9
I.2.2.5.Utilisations.....	10
I.2.3. Le Thé ( <i>Camellia sinensis</i> ).....	10
I.2.3.1.Origine du nom.....	10
I.2.3.2.Description.....	10
I.2.3.3.Classification.....	11
I.2.3.4.Composition.....	11
I.2.3.5.Utilisation.....	12
I.3.Extraction solide-liquide.....	12
I.3.1.Infusion .....	12
I.3.2.Décoction.....	13
I.3.3.Macération.....	13
I.3.4.Extraction Soxhlet.....	13
I.4.Méthodes d'analyse.....	14
I.4.1.Spectroscopie UV-Visible.....	14
I.4.1.1.Définition.....	14
I.4.1.2.Principe.....	15
I.4.1.3.Appareillage.....	16
I.4.1.4.Application.....	16
I.4.1.5.Avantages.....	16
I.4.2.Spectroscopie IR.....	17
I.4.2.1.Définition.....	17
I.4.2.2.Principe.....	17
I.4.2.3.Appareillage.....	17
I.4.2.4.Application.....	18
I.4.2.5.Avantages de la spectroscopie FT-IR.....	18
I.5. Méthodes Chimométriques.....	19
I.5.1.Analyse en composante principale(ACP).....	19

---

I.5.2. Classification par regroupement (Cluster).....	20
---	----

## ***Chapitre II***

### ***Matériels et Méthodes***

II.1. Appareillages et logiciels utilisés.....	21
II.2. Matériels et produits.....	21
II.2.1. Matériels.....	21
II.2.2. Réactifs.....	22
II.2.3. Eau utilisée.....	23
II.2.4. Matériel végétal utilisé.....	23
II.2.5. Préparation des échantillons.....	23
II.2.5.1. Séchage.....	23
II.2.5.2. Broyage.....	23
II.2.6. Préparation des solutions .....	24
II.3. Paramètres étudiés dans la méthode d'extraction par infusion.....	26
II.4. Extraction par solvant « soxhlet ».....	26
II.5. Dosage.....	27
II.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	27
II.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
II.6. Analyse spectroscopiques UV-Visible.....	28
II.7 Analyse spectroscopique Infrarouge .....	28

## *Chapitre III*

### *Résultats et discussions*

III.1. Etude de la cinétique de l'infusion.....	30
III.1.1. Spectre d'absorption UV-visible des liqueurs du thé, du thym et de la sauge, le thé et le thym après différentes durées d'extraction.....	30
III.1.2. Dosage des polyphénols totaux.....	32
III.1.3. Dosage des flavonoïdes.....	33
III.1.4. Analyse en composantes principales (ACP).....	34
III.1.5. Classification par regroupement (Cluster).....	35
III.2. Extraction par Soxhlet.....	36
III.2.1. Spectre UV-Visible.....	36
III.2.2. Spectre IR des résidus des trois plantes étudiées.....	40
III.2.3. Dosage des polyphénols totaux.....	42
III.2.4. Dosage des flavonoïdes.....	43
III.2.5. Analyse en composantes principales (ACP).....	44
III.2.6. Classification par regroupement (Cluster).....	46
Conclusion .....	47
Références bibliographiques.....	49
Résumé	



## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Structures chimiques destilbènes.....	3
<b>Figure 2</b> : Squelette de base des flavonoïdes.....	3
<b>Figure3</b> : Structure chimique d'un lignane.....	5
<b>Figure 4</b> : <i>Salvia Officinale</i> .....	7
<b>Figure 5</b> : <i>Thymus Vulgaris</i> .....	9
<b>Figure 6</b> : <i>Camélia Sinensis</i> .....	11
<b>Figure 7</b> : Schéma d'un soxhlet.....	14
<b>Figure 8</b> : Schéma du principe du spectrophotomètre UV Visible.....	15
<b>Figure 9</b> : Spectre électromagnétique de la lumière et domaine IR.....	17
<b>Figure 10</b> : Echantillon des feuilles des plantes étudiées .....	23
<b>Figure 11</b> : Echantillons obtenus après broyage sauge.....	24
<b>Figure 12</b> : Echantillon des liqueurs obtenues après infusion.....	26
<b>Figure 13</b> : spectre UV-Visible de la liqueur de la sauge à différentes durées d'extraction.....	30
<b>Figure 14</b> : Spectre UV-Visible de la liqueur du thé à différentes durées d'extraction.....	31
<b>Figure 15</b> : Spectre UV-Visible de la liqueur du thym à différentes durées d'extraction.....	31
<b>Figure 16</b> : La teneur en polyphénols totaux à différentes durées d'extraction pour la sauge, le thym et le thé.....	32
<b>Figure 17</b> : La teneur en flavonoïdes à différentes durées d'extraction pour la sauge, le thym et le thé.....	33
<b>Figure 18</b> : la racine de la moyenne des carrés des erreurs de la validationcroisée en fonction du nombre de composantes principales.....	34
<b>Figure 19</b> :Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP2).....	35

<b>Figure 20</b> :Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP3).....	35
<b>Figure 21</b> : dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster.....	36
<b>Figure 22</b> : Absorbance de la liqueur de la sauge après extraction par l'eau pure (se), le méthanol (sm) et l'éthanol (sé).....	37
<b>Figure 23</b> :Absorbance de la liqueur du thé après extraction par l'eau pure (te), le méthanol (tm) et l'éthanol (té).....	38
<b>Figure 24</b> :Absorbance de la liqueur du thym après extraction par l'eau pure (tye), le méthanol (tym) et l'éthanol (tyé).....	39
<b>Figure 25</b> : Spectres de transmittance de la sauge après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).....	40
<b>Figure 26</b> : Spectres de transmittance du thé après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).....	41
<b>Figure 27</b> : Spectres de transmittance du thym après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).....	42
<b>Figure 28</b> : la teneur en polyphénols totaux obtenues après extraction par différents solvants dans la sauge, le thé et le thym.....	43
<b>Figure 29</b> : la teneur en flavonoïdes obtenues après extraction par différents solvants dans la sauge, le thé et le thym.....	44
<b>Figure 30</b> : la racine de la moyenne des carrées des erreurs de la validationcroisée en fonction du nombre de composantes principales.....	45
<b>Figure 31</b> : Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP2).....	45
<b>Figure 32</b> : dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster.....	46

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Classification de la <i>sauge officinal</i> .....	8
<b>Tableau 2</b> : Classification du <i>thymus vulgaris</i> .....	10
<b>Tableau 3</b> :Classification du <i>Camelii Sinensis</i> .....	12
<b>Tableau 4</b> : l'ensemble des réactifs utilisés.....	23
<b>Tableau 5</b> : concentration des étalons de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.....	26
<b>Tableau6</b> : concentration des étalons de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes....	26

# *Introduction*

# Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement comme aliment et aussi pour traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique [1].

Le choix des plantes est basé d'une part sur leurs richesses en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes...) tout en sachant que ces derniers sont produits exclusivement par les plantes et d'autre part sur leur usage traditionnel connu et fréquent chez nos populations.

L'objectif principal de ce travail est l'estimation de la quantité des composés phénoliques des extraits de trois plantes (la sauge, le thé et le thym). Ces composés constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal. Ils sont le produit du métabolisme secondaire des plantes.

Notre travail est scindé en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique contenant cinq parties :

- La première partie est portée sur les composés phénoliques.
- La deuxième partie décrit les plantes étudiées à savoir *Thymus vulgaris*, *Camellia sinensis* et *Sauge officinal*.
- La troisième partie récapitule l'ensemble des méthodes d'extraction.
- La quatrième partie définit les méthodes d'analyse.
- La dernière partie consiste à résumer les méthodes chimiométriques appliquées pour la modélisation des résultats.

Le deuxième chapitre concerne le matériel, logiciels et les méthodes utilisées pour réaliser l'extraction, le dosage des composés phénoliques (Polyphénols totaux, flavonoïdes), ainsi que l'analyse spectroscopique UV-Visible et infrarouge.

Le troisième chapitre rassemble tous les résultats obtenus. Nous terminons par une conclusion générale avec quelques perspectives.

*Chapitre I : Synthèse  
bibliographique*

## Chapitre I

### Synthèse bibliographique

#### I. 1. Composés phénoliques

##### I.1.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [2].

##### I.1.2. Classification

La large variété de polyphénols peut être divisée en une dizaine de classes dont la structure chimique peut être répartie en deux grands groupes, les flavonoïdes et les autres. Les flavonoïdes, qui représentent la classe la plus abondante classification, comptent plus de 4000.

Les acides phénoliques, les stilbénes, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes sont majoritairement présents dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de bois. Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections [3].

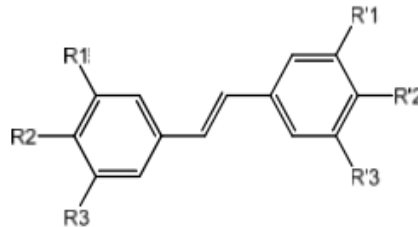
##### I.1.2.1. Acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [4].

On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique. Les acides hydroxybenzoïques sont à la base de structures complexes comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues, et les fruits rouges comme les fraises, les framboises ou encore les mûres [3].

### I.1.2.2. Stilbènes

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes sont présent naturellement dans le règne végétal. La structure chimique de base des stilbènes est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène (**Figure 1**) [5].



R1 = R3 = R'2 = OH, R2 = R'1 = R'3 = H : resvératrol

R1 = R3 = OCH<sub>3</sub>, R2 = R'1 = R'3 = H, R'2 = OH : ptérostilbène

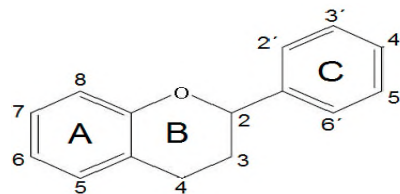
R1 = glucose, R2 = R'3 = OH, R2 = R'1 = OH, R'2 = OCH<sub>3</sub> : rhapontine

R1 = glucose, R2 = R'1 = R'3 = H, R3 = R'2 = OH : picéide

**Figure 1:** Structure chimique de stilbène.

### I.1.2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), correspondant à la structure du diphenylpropane (**Figure 2**) [5].



**Figure 2:** Squelette de base des flavonoïdes.

On distingue :

- **Les flavonols**

Les flavonols se caractérisent par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé. Ils existent sous des formes glycosylées (glucose, xylose, arabinose, galactose, rhamnose) [5].

Ce sont des flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le Kaempférol et la quercétine [3].



- **Les flavones**

De tous les flavonoïdes, cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés. Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri[3].

- **Les flavanones**

Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents des quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'hespéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation [3].

- **Les isoflavones**

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, qui peuvent être glycosylées ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses[3].

- **Les flavanols**

Les flavanols existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine, et sous forme polymérique appelés les proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de nombreux fruits comme la pomme, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé [3].

- **Les anthocyanes**

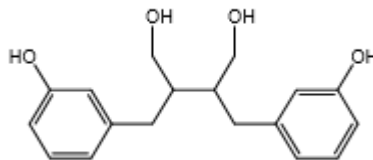
Les anthocyanes sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner[3].

- **Les proanthocyanidines**

Connus sous le nom de tanins condensés, ils peuvent être des dimères, des oligomères et polymères de catéchine qui sont liés entre eux en position C4, C8 ou encore C6. Ils entrent en grande partie dans la composition des raisins où ils sont localisés dans les graines et la peau. L'aptitude de ces composés à s'associer avec les protéines salivaires leur confère la propriété d'astringence que l'on retrouve chez certains fruits (raisin, pomme, poire) et certaines boissons (thé, vin, bière) [3].

#### **I.1.2.4. Les lignanes**

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3) [4], ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes (**Figure 3**) [3].



**Figure 3** : Structure chimique d'un lignane.

#### **I.1.3. Propriétés des polyphénols**

Les composés phénoliques sont des molécules réactives qui en fonction de leur nature jouent un rôle déterminant dans l'attractivité visuelle, les caractéristiques gustatives et stabilité des produits. Ces molécules actives sont parmi les plus puissants phyto-actifs conçus par les plantes. Ils sont de puissants antioxydants qui protègent notre organisme contre les effets délétères de l'oxygène et présentent diverses autres activités physiologiques, y compris anti-inflammatoire, antiallergique, anti-cancérigènes, antihypertenseurs, antiarthritiques et antimicrobiennes[6].

#### **I.1.4. Rôle des polyphénols**

##### **I.1.4.1. Chez les végétaux**

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions

moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini [7].

#### **I.1.4.2. Chez l'homme**

Les polyphénols jouent un rôle dans la prévention de la maladie cardiovasculaire, du cancer, de l'ostéoporose, mellitus de diabète et neurodegenerative. En particulier, on lui a montré que la consommation des polyphénols limite le développement des lésions atheromatous, empêchant l'oxydation de la lipoprotéine de faible densité, qui est considérée un mécanisme principal dans les lésions endothéliales se produisant dans l'athérosclérose [8].

Les polyphénols aussi permettent de baisser le facteur de risque pour de nombreuses affections telles que l'infarctus du myocarde, les cancers du poumon, du côlon, de l'estomac, des reins, de la prostate et du sein [9].

## **I.2. Description des plantes étudiées**

### **I.2.1. Sauge (*salvia officinal*)**

#### **I.2.1.1. Origine du nom**

*Salvia officinale* Surnommée l'herbe sacrée (herba sacra) par les Romains, l'étymologie même de son nom botanique réfère à ses propriétés médicinales. « Salvia » dérive du latin « salveo » et « salvaro », Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité qui signifie «sauver», «guérir» [10].De nombreux surnoms populaires lui ont été attribués en hommage à ses vertus telles que « herbe de vie » et « herbe de Jupiter »[11].

### I.2.1.2. Description

*Salvia officinale* est une plante herbacée vivace. Ses tiges dressées rassemblées en touffes portent des feuilles veloutées gris-vert de forme ovale et se terminent par de courts épis floraux. Les fleurs en forme de tubes sont colorées d'un bleu-mauve intense, visibles de mai à août. Les parties aériennes de la plante sont chargées en substances parfumées (**figure 4**) [11].



**Figure 4:** *Sauge Officinale*.

### I.2.1.3. Classification :

La sauge suit la classification Suivante (**tableau 1**) [12] :

**Tableau 1 :** Classification de la *sauge officinal*.

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophita
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Salvia</i>
<b>Espèces</b>	<i>Salvia officinalis</i> L., 1753

### I.2.1.4. Composition :

La sauge officinal contient certains composés comme : Pinène salviène, thuyone, cinéol, bornéol, camphrène, saponine, polyphénols (tanins), résine,

oestrogène, asparagine. Il est également une excellente source de vitamine K, A et C. On y trouve en outre un peu de fibres, des folates, du magnésium, du potassium, du calcium et du manganèse [13].

#### **I.2.1.5. Utilisation**

Pendant longtemps, des espèces sauges ont été employées dans la médecine traditionnelle, pour le soulagement de la douleur, protégeant le corps contre l'effort oxydant, des dommages de radicaux libres, angiogénèse, inflammation, bactérienne et l'infection de virus,...etc. Elle est aussi utilisée pour traiter des maladies communes mineures, et aussi pourraient potentiellement fournir des traitements normaux originaux pour le soulagement ou le traitement de beaucoup de maladies sérieuses telles que la dépression, la démence, l'obésité, le diabète, les lupus, la maladie cardiaque, et le cancer [14]. Elle est aussi employée comme épices dans l'industrie alimentaire et aromatisant dans l'industrie cosmétique et aromathérapie [15].

#### **I.2.2. Thym (*Thymus vulgaris*)**

##### **I.2.2.1. Origine de nom**

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "thymus" qui signifie «parfumé» ou du grec "thymos" qui signifie "courage" ou "force" [16].

##### **I.2.2.2. Description**

C'est un petit sous-arbrisseau vivace à tiges dressées, ligneuses, tortueuses et très rameuses. Les fleurs, petites, zygomorphes, sont groupées en glomérules ovoïdes.

La feuille est lancéolée ou linéaire (4-12 x 3 mm), elle possède un limbe coriace, fortement enroulé sur les bords vers la face ventrale. La face inférieure de la feuille est marquée par une nervure centrale déprimée ; les deux faces sont recouvertes d'un indument gris à gris-vert (**figure 5**) [17].



**Figure 5:** *Thymus Vulgaris*.

### I.2.2.3. Classification

Le thym suit la classification Suivante (**tableau 2**) [1] :

**Tableau 2 :** Classification du *thymus vulgaris*.

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Espèces</b>	<i>Thymus L., 1753</i>

### I.2.2.4. Composition

Les composés du thym sont assez nombreux, en particulier dans ses huiles essentielles : thymol, un anti-infectieux puissant, géranol, antifongique et antiviral (pour la peau) linalol, antifongique (pour les affections de type candidose) et vermifuge. Les huiles essentielles contiennent différents composants, et en particulier le paracymène (ou pcymène, antalgique) et le bornéol. Le thym contient aussi des flavonoïdes (apigénol, lutéolol, etc.), vitamine c (dans le thym frais), de calcium, de manganèse et de vitamine K (dans le thym séché) [18].

### **I.2.2.5. Utilisation**

Les romains appréciaient déjà son arôme stimulant et l'employaient comme désinfectant. On peut utiliser le thym à thymol et le thym à carvacrol pour les maladies respiratoires, les maladies digestives, les arthrites et les plaies. L'huile essentielle de thym et le thymol entrent dans la formulation de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour le traitement des affections des voies respiratoires, préparations pour inhalation [18].

### **I.2.3. Le Thé (*Camellia sinensis*) :**

#### **I.2.3.1. Origine du nom :**

Le terme « thé », utilisé dans certains dialectes chinois méridionaux, est à l'origine du nom « thé ». La drogue est nommée ainsi dans tous les pays européens s'étant procuré le thé par voie maritime, sauf le Portugal. Les autres pays comme le Japon, le Portugal, ainsi que le Tibet, l'Inde, l'Iran, la Russie et la Turquie, s'étant approvisionné en thé par voies de terre, utilisent un nom débutant par « tch » ou « ch », originaire du terme mandarin « ch'a » ou « cueillir » pour désigner la même drogue [19].

#### **I.2.3.2. Description :**

Le théier est un arbuste qui peut atteindre 5 à 15 mètres de hauteur à l'état naturel. Cultivé, il est maintenu à une taille d'environ 1,50 mètre afin de faciliter la cueillette de ses feuilles et la formation de bourgeons. Ses feuilles persistantes sont isolées, alternes et d'une couleur vert foncé brillante. Non stipulées, elles sont lancéolées et leurs bords dentés se recourbent en forme de griffes. Leur taille est de 5 à 14 cm sur 1,9 à 5 cm (**Figure 6**) [20].



**Figure 6 :** *Camellia Sinensis*.

### I.2.3.3. Classification

Le thé suit la classification Suivante (**tableau 3**) [21] :

**Tableau 3 :** Classification du *Camellia Sinensis*.

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophita
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Dileniidae
<b>Ordre</b>	Theales
<b>Famille</b>	Theaceae
<b>Genre</b>	<i>Camellia L., 1753</i>

### I.2.3.4. Composition

La composition chimique du thé vert est complexe et unique. Il contient des protéines (15 à 20% du poids sec), dont les enzymes qui occupent une fraction importante ; des acides aminés (1-4% en poids sec), dont la théanine, dérivée de la glutamine et propre au thé, l'acide glutamique, le tryptophane, la glycine, la sérine, l'acide aspartique, la tyrosine, la valine, la leucine, la thréonine, l'arginine, la lysine ; des hydrates de carbone (7.5% en poids sec) tels que la cellulose, les pectines, le glucose, le fructose, le saccharose; des lipides tels que les acides linoléiques ; des stérols comme le stigmastérol ; des vitamines (B, C, E) ; les bases xanthiques comme la caféine (3%) et la théophylline ; des pigments (caroténoïdes et chlorophylle) ; des composés volatils tels que des aldéhydes, des alcools, des esters, des lactones, des



hydrocarbures. Finalement, des minéraux ainsi que divers oligo-éléments (5% de poids sec) tels que Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F [22].

#### **I.2.3.5. Utilisation**

Le thé vert est utilisé dans la protection contre le cancer et pour traiter les verrues génitales. Les cliniques ont constaté que le thé vert peut également être utile dans la perte de poids et de gestion, et abaisse le cholestérol. Et comme il peut empêcher la maladie cardio-vasculaire [23].

Le thé vert est employé aussi dans l'alimentation (tisane, arômes, colorants alimentaires,...etc.), et dans l'industrie des cosmétiques (shampooing, produit à rincer, cosmétiques pour le bain, etc.).

### **I.3. Extraction solide-liquide**

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase qui contient la matière à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide » [24].

Elle offre un certain nombre d'avantages importants :

- Réduit l'utilisation de solvants et l'exposition.
- Rapidité de l'opération d'extraction (pas de longue agitation et la séparation des phases s'effectuent par simple filtration),
- Plus économique (faible consommation de solvants),
- Régénération de la phase solide par un simple lavage adéquat.

Parmi les méthodes les plus courantes on distingue :

#### **I.3.1. Infusion**

Opération consistant à laisser infuser plus ou moins longtemps des substances dans l'eau bouillante afin d'en extraire les principes solubles.

Le solvant n'est pas nécessairement de l'eau, cela peut être également une huile ou un alcool [25].

### **I.3.2. Décoction**

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale par dissolution dans un solvant approprié. Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, bois[25].

### **I.3.3. Macération**

Consiste à mettre une plante dans un solvant généralement froid pendant quelques heures à quelques semaines pour récupérer les arômes et les espèces colorées.

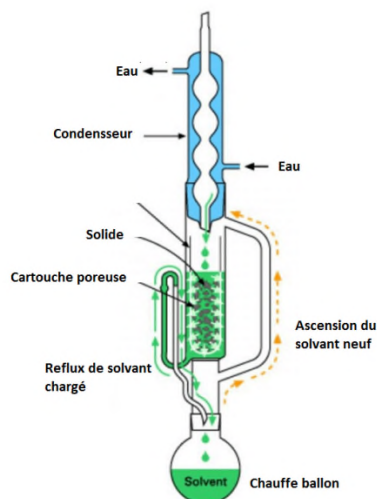
L'intérêt de la macération est généralement la conservation des principes actifs durant le procédé [25].

### **I.3.4. Extraction Soxhlet**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première [26]. Cette technique est utilisée pour les molécules peu ou pas volatiles et stables à la température.

Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre, d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche (**figure7**) [27].



**Figure 7 :** Schéma d'un soxhlet.

#### ✓ Facteurs influençant

L'extraction solide liquide dépend de certains facteurs [28]:

- Le choix de la phase solide : on prend en considération le nombre des sites disponibles pour la fixation des solutés,
- Le temps de contact : c'est le temps nécessaire pour que la phase solide sorbe le maximum de composés d'intérêt présents dans la phase aqueuse.

### I.4. Méthodes d'analyse

#### I.4.1. Spectroscopie UV-Visible

##### I.4.1.1. Définition

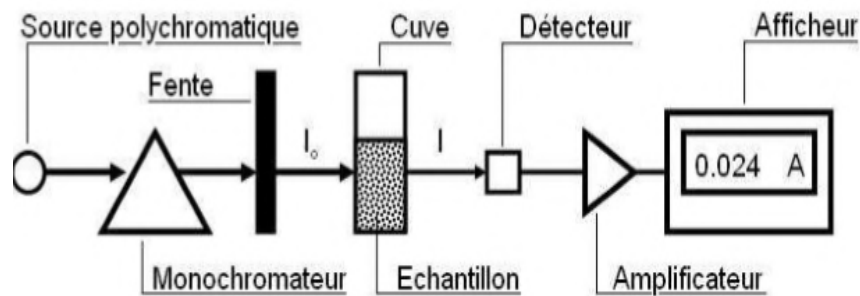
La spectroscopie UV-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (200 nm – 400 nm), du visible (400 nm – 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm -1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. Le spectre électronique est la fonction qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde [29].

### I.4.1.2. Principe

Le principe spectroscopie UV Visible repose sur la transition d'un électron d'un état fondamental vers un état excité par excitation grâce à une interaction avec une onde électromagnétique. Le passage d'un état électronique à un autre état électronique d'énergie plus élevé nécessite l'absorption d'énergie sous forme de photons. Le principe de spectromètre UV Visible consiste en une source munie de deux lampes qui permettent continuum d'émission sur toute la gamme de longueur d'onde UV Visible :

- Une lampe au deutérium qui émet des longueurs d'onde de 180 à 400 nm (UV).
- Une lampe au tungstène qui émet des longueurs d'onde de 40 à 800 nm (visible).

Un monochromateur permet de sélectionné les longueurs d'onde est donc de faire un balayage de la gamme en déplaçant ce monochromateur. Le faisceau de photon a la longueur d'onde sélectionné à travers un miroir qui synchronise le mouvement du monochromateur, puis le faisceau traverse l'échantillon et ou la référence, puis un amplificateur permet de comparer l'intensité en sortie par a apport à l'intensité d'émission (**figure 8**).



**Figure 8** : Schéma du principe du spectrophotomètre UV Visible.

Le spectre d'absorption ainsi obtenu est caractérisé par un coefficient d'extinction molaire pour chaque longueur d'onde. La loi de Beer Lambert dit que l'absorption est proportionnelle à la concentration  $c$  du produit et à la longueur  $l$  du chemin optique. Elle est décrite dans l'équation 1 :

$$T(\%) = \frac{I_0}{I}$$

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot l \cdot C$$

Ou  $T(\%)$  est la transmittance ;  $A$  est l'absorbance ;  $I_0$  est l'intensité de la lumière incidente ;  $I$  est l'intensité de la lumière sortante ;  $\epsilon$  est coefficient d'extinction molaire en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$  ;  $l$  est le chemin optique en  $cm$  ;  $c$  est la concentration en  $mol \cdot L^{-1}$  [29].

#### **I.4.1.3. Appareillage**

Le Spectroscopie UV-Visible est constitué des éléments suivants :

- Source
- Monochromateur
- Diviseur de faisceau ou photomètre
- Détecteur
- Cellule

#### **I.4.1.4. Application**

- Elles sont employées couramment dans beaucoup d'industries comprenant des semi-conducteurs, laser et fabrication optique, impression et examen légal, et aussi bien dans les laboratoires pour l'étude des substances chimiques.
- En biochimie, par exemple, elle est employée pour déterminer des réactions enzyme-catalysées.
- Dans des applications cliniques, elle est employée pour examiner le sang ou les tissus pour le diagnostic clinique [30].

#### **I.4.1.5. Avantages**

Les avantages de la spectroscopie UV-Visible sont nombreux [31]. :

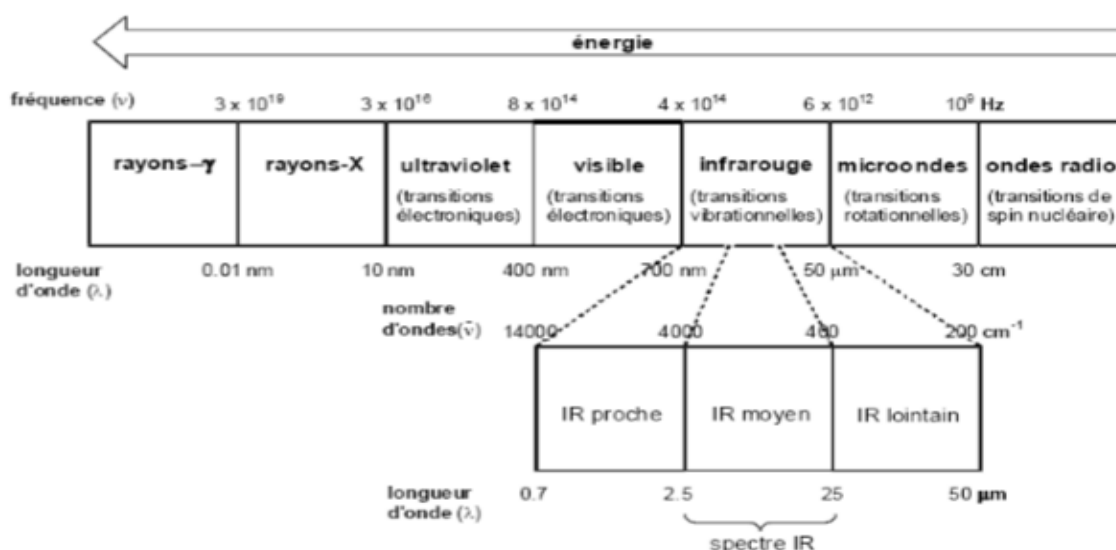
- un large domaine d'application (chimie minérale, organique, biochimie, ...).
- une grande sensibilité : les limites de détection atteignent couramment  $10^{-4}$  à  $10^{-5} M$  et jusqu'à  $10^{-6} M$  après certaines modifications,
- une sélectivité largement adaptable : il existe souvent une longueur d'onde que seul le corps à doser absorbe, ce qui dispense d'une séparation chimique des composants,

- une grande précision : les erreurs ne dépassent pas 5% et peuvent être réduites à quelques dixièmes de pour-cent sous certaines précautions,
- la simplicité et la rapidité d'utilisation.

## I.4.2. Spectroscopie IR

### I.4.2.1. Définition

La spectrométrie infrarouge (IR) s'utilise principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule. Elle permet de mettre en évidence la présence d'une liaison particulière. La région du spectre IR s'étend dans l'intervalle de longueur d'onde de 750 nm à 300  $\mu\text{m}$ , mais la majorité des applications se situe entre 2500 nm à 15  $\mu\text{m}$  soit en nombre d'onde de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 670  $\text{cm}^{-1}$  (**figure 9**) [32].



**Figure 9** : Spectre électromagnétique de la lumière et domaine IR.

### I.4.2.2. Principe

Pour obtenir un spectre infrarouge, une quantité d'échantillon d'un composé est placée dans un appareil muni d'une source de radiations infrarouges. Le spectrophotomètre émet une radiation qui traverse l'échantillon en balayant automatiquement une gamme de fréquences données, puis il trace un graphique du pourcentage de radiation transmise en fonction des nombres d'onde dans lesquels les radiations absorbées par les molécules apparaissent sous la forme de bandes (courbes orientées vers le bas) dans le spectre.

### **I.4.2.3. Appareillages**

Il existe 2 sortes de spectromètres IR: le spectromètre à balayage et le spectromètre à transformée de Fourier[32].

Un spectromètre IR à balayage est composé des éléments suivants :

- une source
- l'échantillon
- un système dispersif
- un détecteur

Un spectromètre IR à transformée de Fourier (IRTF) est composé des éléments suivants :

- une source
- un interféromètre de Michelson
- l'échantillon
- un détecteur

### **I.4.2.4. Application**

Elle est utilisée dans :

- La caractérisation et l'identification des molécules organiques.
- La photographie aérienne, pour prendre des vues panoramiques par temps couvert.
- Le chauffage domestique ou industriel et au séchage des vernis et peintures, du bois, des cuirs, ...etc.
- La thérapie, les rayons infrarouges activent les processus cellulaires, en particulier la cicatrisation.
- Chauffage domestique ou industriel.
- Applications militaires importantes : autoguidage par IR des missiles, appareils de visée nocturne.
- Les industries agroalimentaires (céréales, jus de canne à sucre, alimentation animale, lait et produits laitiers, produits carnés).

### **I.4.2.5. Avantages de la spectroscopie FT-IR**

- Rapidité : Mesure simultanée de toutes les fréquences dure quelques secondes.
- Reproductibilité et fiabilité.

- Haute résolution spectrale.
- Simplicité mécanique : la seule partie mobile de l'instrument est le miroir mobile.
- Calibration interne : auto-calibrés ; jamais de calibration par l'utilisateur.
- Un laser He-Ne permet de repérer avec précision la position du miroir mobile.
- Sensibilité : très largement améliorée par rapport aux systèmes dispersifs possibilité de réaliser plusieurs acquisitions.
- Son utilisation est simple et le coût de son instrumentation en fait un outil accessible à la plupart des laboratoires [33].

### **I.5. Méthodes Chimométriques**

La chimiométrie est une branche de la chimie dans laquelle on utilise la théorie et les modèles développés en statistiques, mathématiques et informatique pour extraire l'information utile présente dans des données de mesures chimiques [34].

Les méthodes d'analyses multidimensionnelles facilitent l'interprétation et l'utilisation des grands tableaux de données, qui contiennent un nombre important de variables mesurées pour un nombre d'individus élevé. Ces méthodes chimiométriques peuvent être :

- descriptives (analyse qualitative ou exploratoire), comme l'analyse en composantes principales (ACP) qui met en évidence les relations existantes entre les variables et les échantillons.
- discriminantes, qui ont pour objectif de rechercher la meilleure séparation possible des différents groupes prédéfinis d'échantillons.
- prédictives (de régression ou analyse quantitative), permettant d'estimer une ou plusieurs caractéristiques d'un échantillon à partir d'autres mesures effectuées sur le même échantillon, comme la régression en composantes principales, ou la régression PLS (« Partial Least Squares », ou régression des moindres carrés partiels) [35].



### **I.5.1. L'Analyse en Composantes Principales (ACP)**

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode d'analyse de données. Elle cherche à synthétiser l'information contenue dans un tableau croisant des individus et des variables quantitatives [36].

Elle consiste en un calcul de combinaisons linéaires des variables de départ, et elle est particulièrement adaptée à l'étude exploratoire des données spectrales, même si elle peut être appliquée à tout type de données. Elle permet de remplacer les variables d'origine (absorbances, ou autre), fortement redondantes, par des variables synthétiques (facteurs ou variables latentes). A l'aide de l'ACP, il est souvent possible de condenser la collection spectrale dans des proportions très importantes : 20 composantes sont en général largement suffisantes (même souvent trop) pour résumer l'information utile, et la taille de la matrice des données peut être réduite par un facteur de 10 à 100 ou plus.

L'ACP peut être réalisée par la décomposition en valeur singulière ou "Singular Value Decomposition" (SVD) qui décompose une matrice de données X en matrices orthonormées (indépendantes- linéaires), qui explore à la fois l'espace des lignes et l'espace des colonnes. Les vecteurs liés à l'espace des lignes de X sont désignés sous le nom de "Scores" (Coordonnées Factorielles) et ceux liés à l'espace des colonnes de X sont connus sous le nom de "Loadings" (Contributions Factorielles). Chaque composante principale se caractérise donc par trois ensembles de caractéristiques complémentaires : la variance qui y est associée, les contributions factorielles (ou "loadings") décrivant les contributions des variables initiales à cette composante, et les coordonnées factorielles (ou "scores ") décrivant la position ou les coordonnées des échantillons sur cette composante principale.

L'interprétation des résultats d'une Analyse en Composantes Principales est habituellement assurée par la visualisation des scores et des loadings. Les données condensées résultants de l'ACP peuvent servir de variables de base à d'autres traitements statistiques tels que l'analyse discriminante ou la régression [35].

### **I.5.2. Classification par regroupement (Cluster)**

La classification par cluster est une méthode mathématique d'analyse de données : pour faciliter l'étude d'une population d'effectif important (animaux, plantes, malades, gènes,...etc.), on les regroupe en plusieurs classes de telle sorte que

les individus d'une même classe soient le plus semblables possible et que les classes soient le plus distinctes possibles. Pour cela il y a diverses façons de procéder (qui peuvent conduire à des résultats différents...) [37].

# *Chapitre II : Matériels et méthodes*

## Chapitre II

### Matériels et méthodes

Cette partie est consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisées afin de mener à bien la présente étude.

#### II.1.Appareillages et logiciels utilisés

- Spectrophotomètre UV-Visible de marque « Thermo scientific, EVOLUTION 220 ».
- Spectromètre infra-rouge de marque « IRAffinity-1, SHIMADZU».
- Soxhlet de marque «behr, labor Technic ».
- Un ph- mètre « HANNA, ph 211 » pour la mesure du ph.
- Un conductimètre « inolab, Multi Level 1 ».
- Un agitateur «VIBROMATIC ».
- Etuve « Heraeus »
- Un purificateur de marque «ARIUM PRO ».
- Un distillateur de marque «GFL ».
- Un réfrigérateur.
- Excel 2003 pour les calculs et le traitement des résultats.
- Matlab R2013a.

#### II.2.Matériels et produits

##### II.2.1. Matériels

- Une plaque chauffante « World Lab, RS France ».
- Une balance électronique «OHAUS ».
- Dessiccateur.
- Thermomètre.
- Fiole jaugées de 25ml, 100ml, 200 ml et 250 ml.
- Becher de 25 ml, 50 ml, 100 ml et 1000 ml.
- Filtre à café.
- Papier aluminium.
- Para film.

- Entonnoir.
- Boite à pétri.
- Pissette d L'eau pure
- Pissette d'eau distillée.
- Erlenmeyers.
- Pipette.
- Spatule.
- Micro-spatule.
- Verre de montre.
- Papier absorbant.

### II.2.2. Réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences est récapitulé dans le tableau :

**Tableau 4** : l'ensemble des réactifs utilisés.

Réactif	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Formule chimique
Chlorure d'Aluminium hexa hydraté	241.33	100	(AlCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O)
Carbonate de sodium	105.99	99.8	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Folin ciocalteu	/	/	/
Méthanol	32.04	99	CH <sub>4</sub> O
Ethanol	46.07	99.8	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Acide gallique	188.14	98	(C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> , H <sub>2</sub> O)
Quercétine	302.24	95	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>

### II.2.3. Eau utilisée

L'eau utilisée est l'eau pure pour la préparation des infusions et des solutions ; obtenue après utilisation d'un purificateur de marque «ARIUM PRO » et l'eau distillée du laboratoire pour le rinçage obtenue en utilisant un distillateur de marque «GFL ».

### II.2.4. Matériel végétal utilisé

Nous avons utilisé les feuilles du thym (TACHFINE), du Thé (BARARI) et de la Sauge fraîche après séchage et broyage.



a)

b)

c)

**Figure 10 :** Echantillons des feuilles de: a) thé, b) thym, c) sauge.

### II.2.5. Préparation des échantillons

#### II.2.5.1. Séchage

Après lavage des feuilles de la sauge, afin de les débarrasser de la poussière et d'autres impuretés, elles sont aussitôt séchées avec les feuilles du thym et du thé dans une étuve à 50°C, jusqu'à obtenir une masse constante. La température de 50°C permet de préserver de la dégradation des substances thermolabiles telles que les polyphénols et les vitamines.

Le taux d'humidité des substances étudiées est calculé de la manière suivante :

$$\tau = \left[ \frac{(m_0 - m_f)}{m_f} \right] \times 100$$

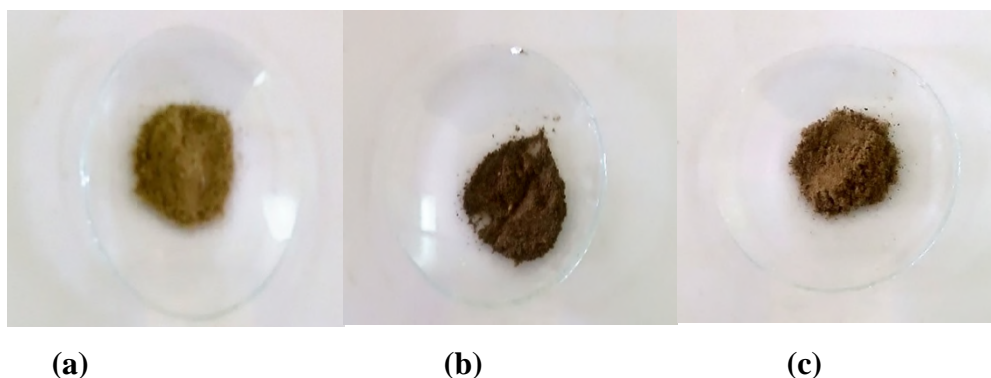
Avec  $m_0$  et  $m_f$  sont les masses initiales et finales des substances (la sauge, le thé et le thym) respectivement.

#### II.2.5.2. Broyage

Une fois séchées, la moitié des feuilles subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique de marque « RETSCH », jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène. Cette dernière a été tamisée à l'aide d'un tamiseur, contenant des mailles de

granulométrie  $0.5\mu\text{m}$ . Les poudres ainsi obtenues et les feuilles sont conservées dans des boîtes à pétri et stockées à l'abri de la lumière dans un dessiccateur pour les protéger contre l'humidité.

A chaque analyse nous prenons du dessiccateur la quantité de poudre voulue. Les échantillons de ces substances utilisées sont représentés dans la figure 11.



**Figure 11:** Echantillons obtenus après broyage : (a) thym, (b) thé, (c) sauge.

### II.2.6. Préparation des solutions

- **Solution de Folin Ciocalteu diluée**

Un volume du réactif 1ml est additionné avec 9 ml d'eau pure. Stocké à l'abri de la lumière dans le réfrigérateur.

- **Solution de chlorure d'Aluminium hexa hydraté**( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$  à 2 %)

On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 3.62 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg près) de chlorure d'aluminium, sous la hotte on ajoute une quantité de méthanol et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

- **Solution de carbonate de sodium (à 7.5 %)**

On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 7.5g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg près) de carbonate de sodium, on ajoute une quantité d'eau pure et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

- **Solution pour l'établissement de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux**

Une masse de 0,0236 g de l'acide gallique est introduite dans une fiole de 100 ml, Un volume d'eau pure est versé dedans, avec agitation jusqu'à dissolution totale, ensuite la fiole est remplie jusqu'au trait de jauge.

On prépare des échantillons dilués avec de l'eau pure dans des fioles de 25 mL à partir de la solution mère. Leurs concentrations sont assemblées dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Concentration des étalons de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

Concentration (mg /ml)	0,01	0,03	0,05	0,07	0,09	0,1
Volume (ml)	1,25	3,75	6,25	8,75	11,25	12,5

- **Solution pour l'établissement de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes**

Une masse de 0,0125 g de l'acide gallique est introduite dans une fiole de 250 ml, Un volume de méthanol est versé dedans, avec agitation jusqu'à dissolution totale, ensuite la fiole est remplie jusqu'au trait de jauge.

On prépare des échantillons dilués à partir de la solution mère avec de l'eau pure dans des fioles de 25 mL. Leurs concentrations sont assemblées dans le tableau 6.

**Tableau 6:** Concentration des étalons de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

Concentration(mg /L)	1,9	3,8	5,7	7,6	0,09	0,1	13,3
Volume (ml)	1	2	3	4	5	6	7

- **Liqueurs de thym, thé et sauge (poudre)**

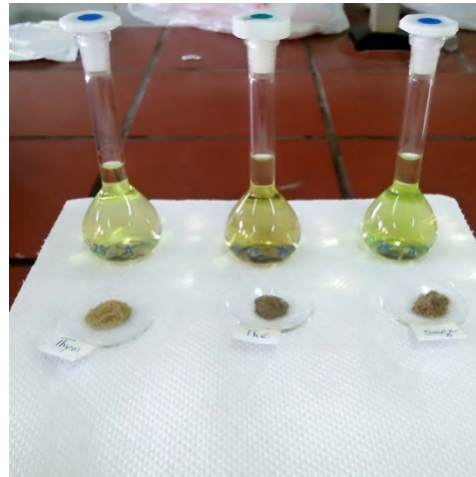
Nous avons procédé avec le même protocole pour les trois substances :

On pèse une masse de (0.1 g) de la poudre l'aide d'une balance. On chauffe une quantité d'eau pure (200 ml) dans un bécher jusqu'à sa température d'ébullition (environ 95C°), on introduit la masse pesée dans une fiole de 250 ml et on ajoute l'eau chauffée, on laisse en contact pendant 10min à l'abri de la lumière en maintenant l'agitation, le temps est contrôlé à l'aide d'un chronomètre.



On filtre la liqueur en utilisant un filtre à café. On laisse refroidir jusqu'à température ambiante et on mesure sa conductivité et son pH. A la fin de l'extraction, les échantillons sont dosés puis analysés par UV-visible, et les résidus sont récupérés, séchés à 50 C°, puis analysés par infrarouge.

Des extraits de l'infusion de sauge, thé et thym sont représentés dans (figure 12).



**Figure 12:** Echantillon des liqueurs obtenues après infusion.

### II.3. Effet de la cinétique sur l'extraction

Nous avons suivi le même protocole pour les trois plantes étudiées :

Une masse de 0.1 de poudre est mélangée avec 200 ml d'eau pure chauffée dans une fiole de 250 ml, la température de l'eau pure est fixée à 95 C, mise en contact avec agitation on faisant varier la durée d'infusion ( $t = 0\text{min}, 2\text{min}, 4\text{min}, 6\text{min}, 8\text{min}, 10\text{min}, 12\text{min}, 14\text{min}, 16\text{min}$  et  $20\text{min}$ ). Après refroidissement des liqueurs le PH et la conductivité ont été mesurés. Les échantillons sont dosés puis analysés par UV-visible, et les résidus sont récupérés, séchés à 50 C°, puis analysés par infra-rouge.

### II.4. Extraction par solvant « soxhlet »

Le soxhlet permet d'extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant. Dans notre étude nous avons choisi de travailler avec trois solvants : l'eau, l'éthanol, et le méthanol.

L'eau est connue comme un bon solvant d'extraction des composés polaires tels que les composés phénoliques (extrêmement polaire). Le méthanol et l'éthanol sont moyennement polaires.

Dans le but d'évaluer la capacité d'extraction de ces solvants, les extractions ont été réalisées dans les conditions opératoires suivantes : une masse de matière végétale « poudre de thym, de thé et de la sauge » de 0.1 g dans 200 ml d'eau pure, 100 ml de méthanol, et 70 ml de l'éthanol, après extraction, un volume de 50 ml près est récupéré.

A la fin de l'extraction, les échantillons sont deux fois dilués, dosés puis analysés par UV-visible, et les résidus sont récupérés, séchés à 50 C°, puis analysés par infrarouge.

## II.5. Dosage

### II.5.1. Dosage des polyphénols totaux

Après avoir récupéré les extraits obtenus après infusion et extraction par solvant organiques, et afin de déterminer la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits obtenus ; le protocole de dosage des polyphénols effectué était selon la méthode de Folin- Ciocalteu (FC) :

#### ➤ Principe

Le réactif FC est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [1].

Selon nos résultats l'absorbance maximale est comprise entre 760 et 765 nm.

#### ➤ Méthode

200 µl d'extrait sont mélangés avec 1000 µl du réactif FC et 800 µl de  $Na_2CO_3$  à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique [1].

### ➤ Préparation du blanc

200 µl d'eau pure sont mélangés avec 1000 µl du réactif FC et 800 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes.

### II.5.2. Dosage des flavonoïdes

1000 µl d'extrait sont mélangés avec 1000 µl chlorure d'Aluminium AlCl<sub>3</sub> à (2%), le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 15min. l'absorbance est mesurée à 430nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine /g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

- Préparation du blanc

1000 µl d'eau pure sont mélangés avec 1000 µl chlorure d'Aluminium AlCl<sub>3</sub> à (2%). le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 15min.

### II.6. Analyse spectroscopiques UV-Visible

- Méthode

Nous avons utilisé un spectromètre UV-visible de marque «Thermo scientific, EVOLUTION 220 » à double faisceaux. On utilise deux cuves en quarts de 1cm, l'une est remplie de la liqueur (échantillon à analyser), et l'autre est remplie de l'eau utilisée (l'eau pure, chauffée à sa température d'ébullition, et filtrée) pour préparer ces liqueurs (le blanc). Les spectres UV-Visible sont tracés dans l'intervalle dont la longueur d'onde est comprise entre [200nm-800nm] avec un pas de 0,5 nm pour les liqueurs obtenues par infusion et par extraction par solvants organiques [1].

Pour les liqueurs obtenues après dosage des PT et flavonoides, les spectres UV-Visible sont tracés dans l'intervalle [400nm-800nm] avec un pas de 0,5 nm.

### II.7. Analyse spectroscopique Infrarouge

- Méthode

Les pastilles sont faites d'un mélange de l'échantillon (de 0,1 à 1%) sous forme de poudre mélangée à du Bromure de Potassium (KBr), (0,09g) qui est transparent aux rayonnements IR dans la zone 4000 cm<sup>-1</sup> à 500 cm<sup>-1</sup>, le tout finement broyé et mélangé dans un mortier de manière à être homogène.

Le mélange est pressé sous une pression de 60 bar dans une pastilleuse pendant 2minutes.

L'acquisition des spectres est assurée par un ordinateur incorporé au spectromètre infrarouge de marque « IRAffinity-1, SHIMADZU».

# *Chapitre III : Résultats et discussions*

## Chapitre III

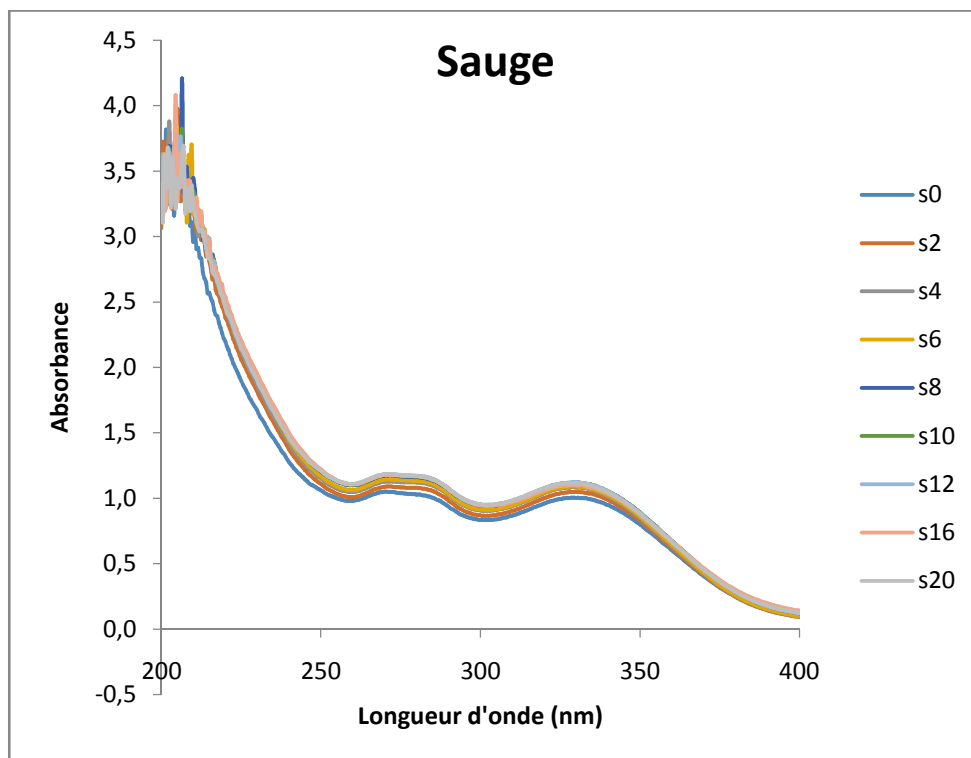
### Résultats et discussion

#### III.1. Etude de la cinétique de l'infusion

##### III.1.1. Spectre d'absorption UV-visible des liqueurs du thé, du thym et de la sauge

Les figures (13, 14 et 15) représentent respectivement les spectres d'absorption des liqueurs de la sauge, du thé et du thym, après avoir varié la durée d'extraction.

On constate une superposition des spectres les uns sur les autres pour les différents temps (à 0min (instantané), 2min, 4min, 6min, 8min, 10min, 12min, 16min et 20 min).



**Figure 13 :** Spectre UV-Visible de la liqueur de la sauge à différentes durées d'extraction.

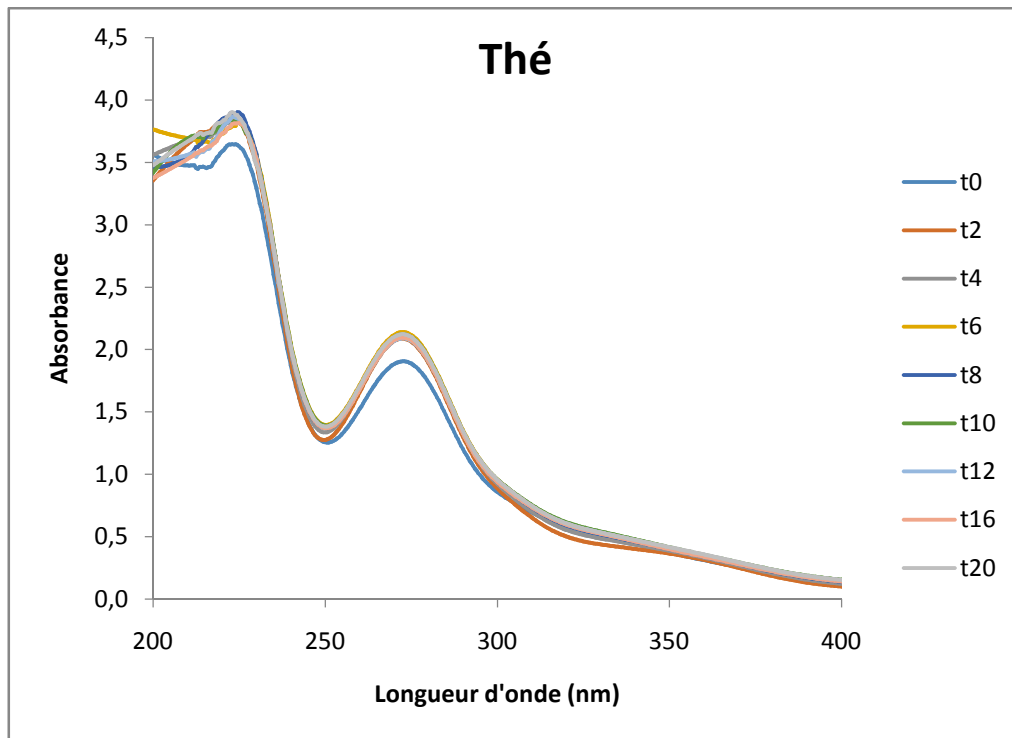


Figure 14 : Spectre UV-Visible de la liqueur du thé à différentes durées d'extraction.

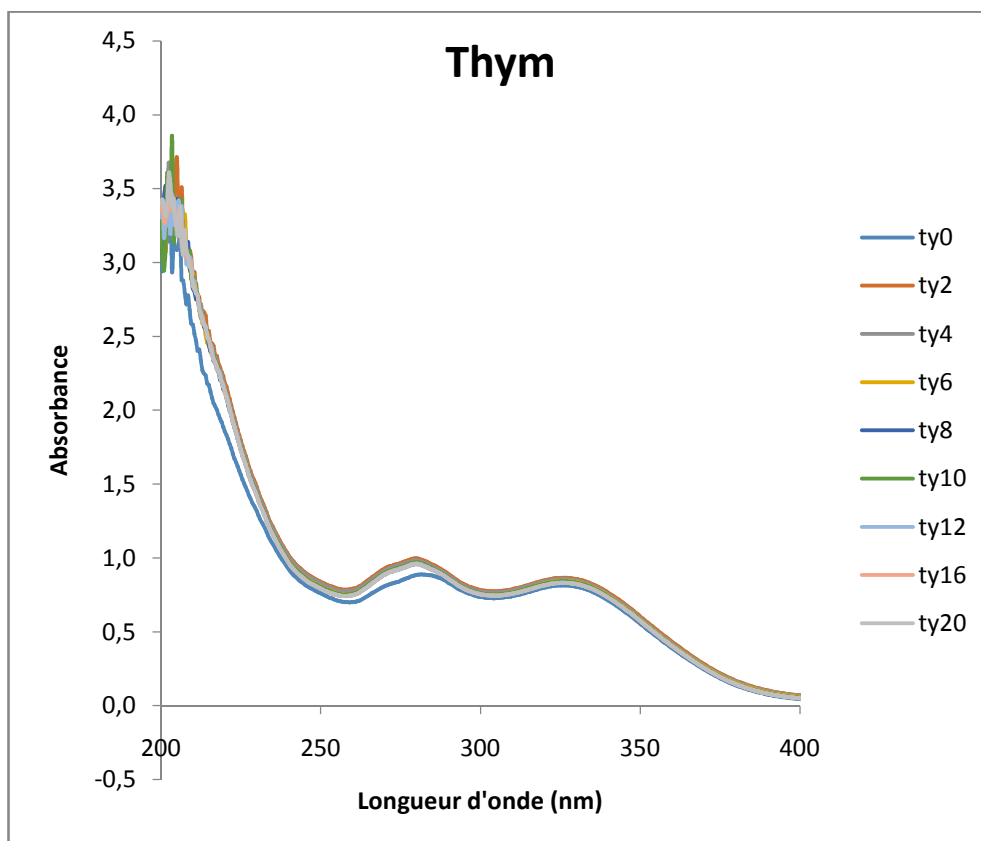


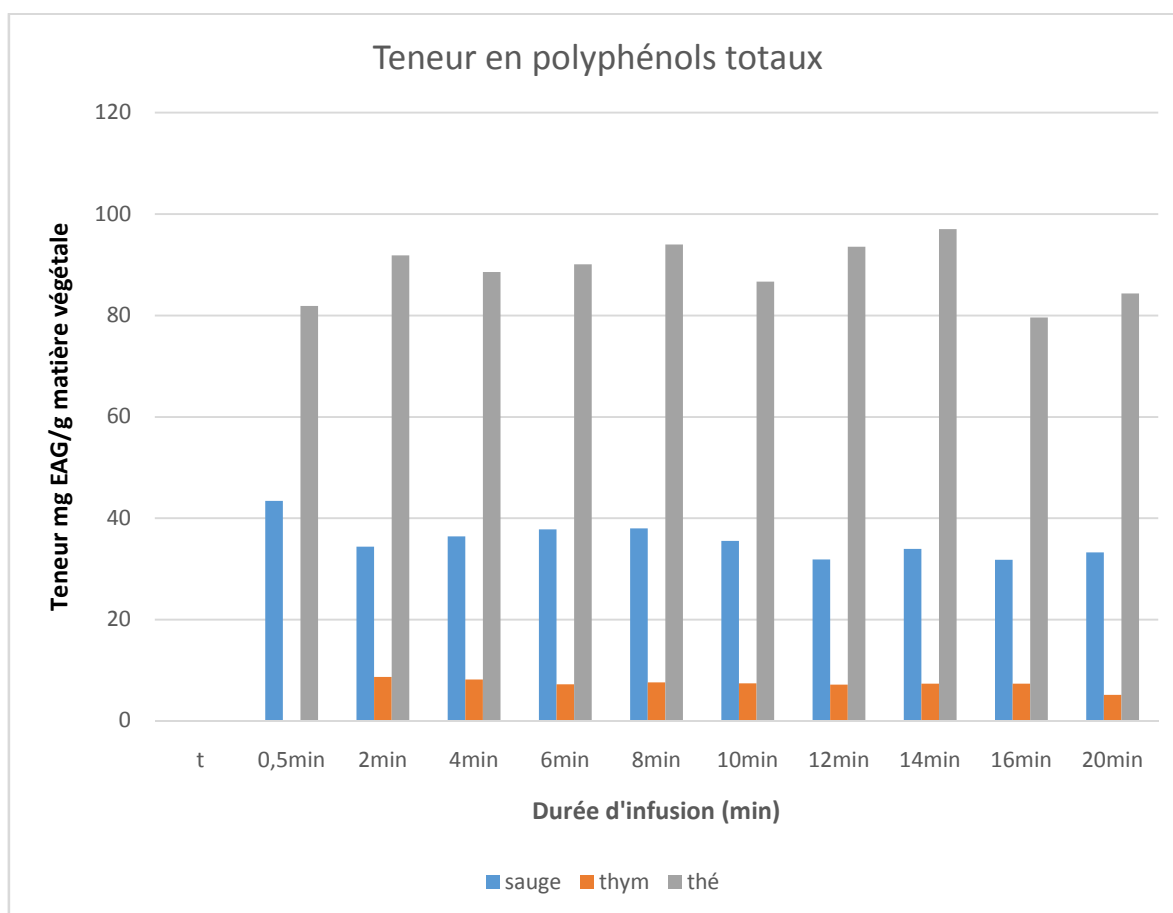
Figure 15 : Spectre UV-Visible de la liqueur du thym à différentes durées d'extraction.

On remarque apparition de deux bandes d'absorption importantes caractéristiques pour chaque substance à 283,5 et 325 nm pour la sauge, à 275,5 nm et 226,5 nm pour le thé et à 333 nm et 282,5 nm pour le thym.

L'extraction est instantanée et totale, cela peut être expliqué par la présence d'une grande surface de contact dans l'extraction entre la matière végétale et le solvant utilisé (eau pure), ce qui conduit à extraire le maximum de composés à des durées d'infusion très réduites.

### III.1.2. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des trois substances sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie par l'acide gallique et exprimées en mg E.AG/g de matière végétale (Annexe I).



**Figure 16 :** La teneur en polyphénols totaux à différentes durées d'extraction pour la sauge, le thym et le thé.

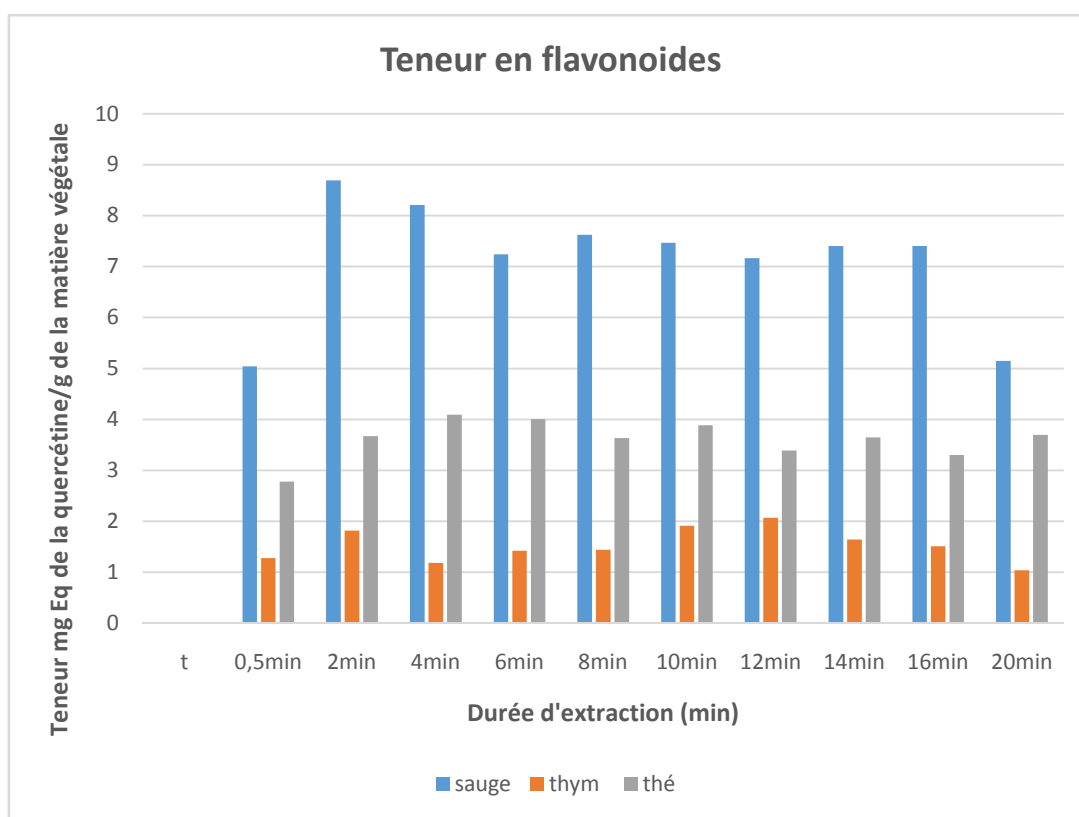
Les résultats montrent que les teneurs en polyphénols de chaque substance ne varient pas en fonction du temps, donc l'extraction des polyphénols est instantanée. Nous constatons aussi une forte teneur en polyphénols totaux pour le thé, dont les valeurs oscillent entre 79,604 et 93,976mg EAG/g thé, suivi par la sauge (les valeurs varient entre 31,81et 43,408



mg EAG/g sauge), et en dernier lieu, le thym qui a la teneur la plus faible en polyphénols et qui ne dépasse pas 8,69202 mg EAG/g thym.

### III.1.3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des trois substances sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie par la quercétine et exprimées en mg Eq. quercétine/g de matière végétale (Annexe I).



**Figure 17:** La teneur en flavonoïdes à différentes durées d'extraction pour la sauge, le thym et le thé.

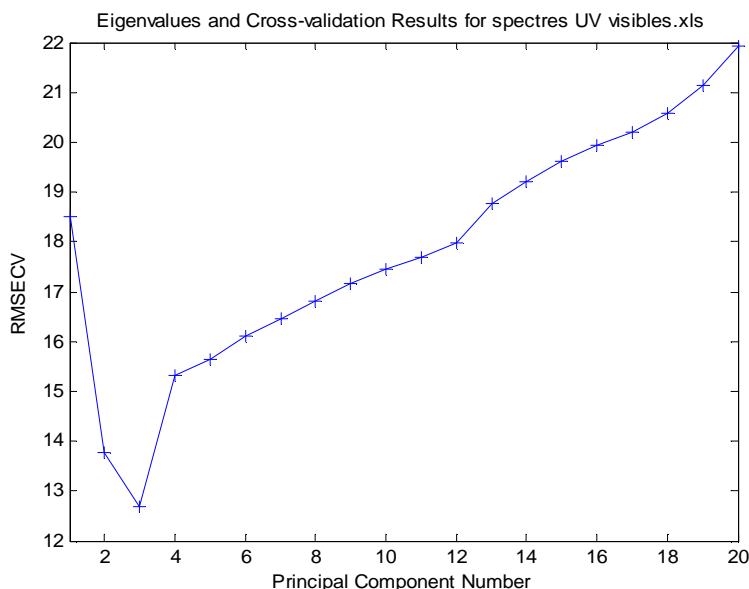
D'après la (**Figure 17**), les teneurs des flavonoïdes des extraits des trois plantes ne varient pas avec le temps d'infusion, nous déduisons que l'extraction de ces flavonoïdes est instantanée. Nous remarquons aussi que les teneurs les plus élevées en flavonoïdes sont celle de la sauge, les valeurs oscillent entre (5,04128 et 8,69202mg Eq. quercétine/g de matière végétale). En deuxième lieu le thé dont les teneurs en flavonoïdes sont comprises entre (2,7783 et 4,08906 mg Eq. quercétine/g de matière végétale), la plus faible teneur est toujours observée dans le thym, dont ces dernières ne dépassent pas 2,06958 mg Eq. quercétine/g de matière végétale.

En conclusion, le thé est plus riche en polyphénols totaux et la sauge est plus riche en flavonoïdes, par contre, le thym est le plus pauvre en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

La constance des teneurs en polyphénols et les flavonoïdes est due à La granulométrie de la poudre végétale, qui est considérée comme l'un des facteurs de détermination de l'homogénéité et de la reproductibilité des processus d'extraction. Evidemment la poudre qui a la plus grande surface de contact dans l'extraction liquide, offre une plus grande exposition du contenu cellulaire au solvant ce qui conduit à avoir presque la même teneur le long de la durée d'infusion, donc avoir une extraction maximale en polyphénols et à des durées d'infusion réduites (extraction instantanée).

### III.1.4. Analyse en composantes principales (ACP)

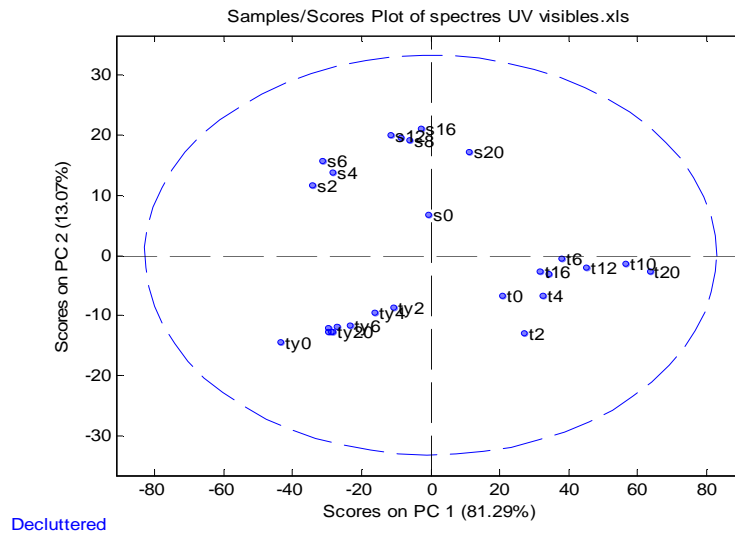
La méthode de la validation croisée permet de déterminer le nombre de composantes principales (variables latentes ou composantes factorielles) à retenir pour le modèle.



**Figure 18 :** la racine de la moyenne des carrés des erreurs de la validation croisée en fonction du nombre de composantes principales.

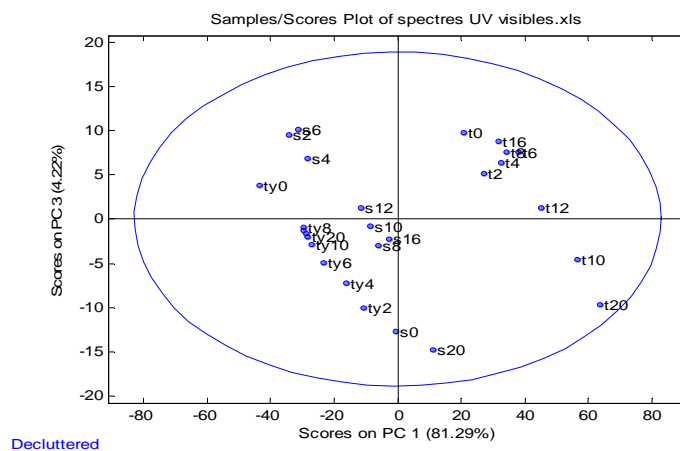
On remarque que la plus faible erreur est obtenue pour un modèle à 3 composantes principales, donc on choisit trois composantes principales (CP1, CP2 et CP3).

La figure 22 représente les coordonnées factorielles (scores) des échantillons sur le plan formé par les axes factoriels (CP1, CP2).



**Figure 19:** Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP2).

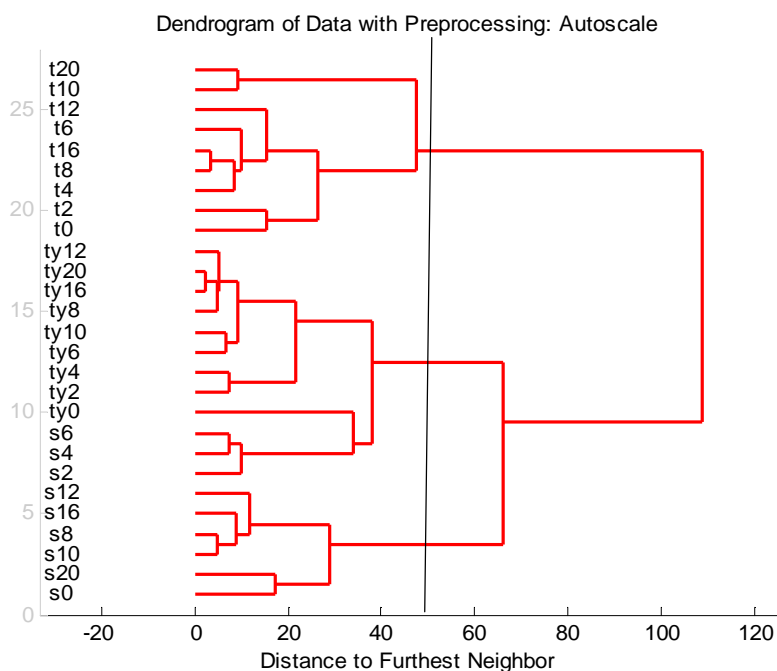
On remarque que tous les échantillons de même substance, à différentes durées d'extraction sont regroupés ensemble. Ce qui veut dire qu'il existe une similarité tout au long du temps, et on remarque aussi par projection sur l'axe CP1 que les échantillons de la sauge et le thym ont les mêmes coordonnées.



**Figure 20:** Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP3)

### III.1.5 Classification par regroupement (Cluster)

La Figure 20 représente un dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster des données des spectres UV-Visible des différents échantillons à différentes durées d'extraction.



**Figure 21 :** Dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster.

Après avoir fait une coupure du dendrogramme à 50%, les échantillons sont répartis en trois groupes :

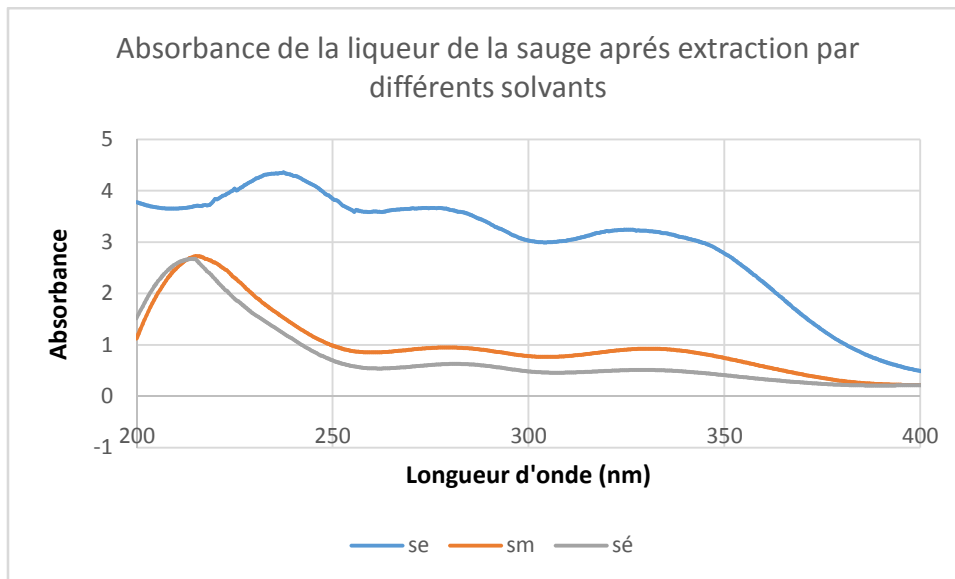
- Le premier groupe rassemble les échantillons du thé (t) à différentes durées d'extraction.
- Le deuxième groupe rassemble les échantillons du thym à différentes durées d'extraction et trois échantillons de la sauge à 6min, 4min et 2min.
- Le troisième rassemble les échantillons de la sauge.

On conclue que les composés organiques extraits dans chaque substance sont les mêmes dans toutes les durées d'extraction, et que le thym et la sauge ont des propriétés semblables (mêmes transitions électroniques).

## III.2.Extraction par soxhlet

### III.2.1. Spectre UV-Visible

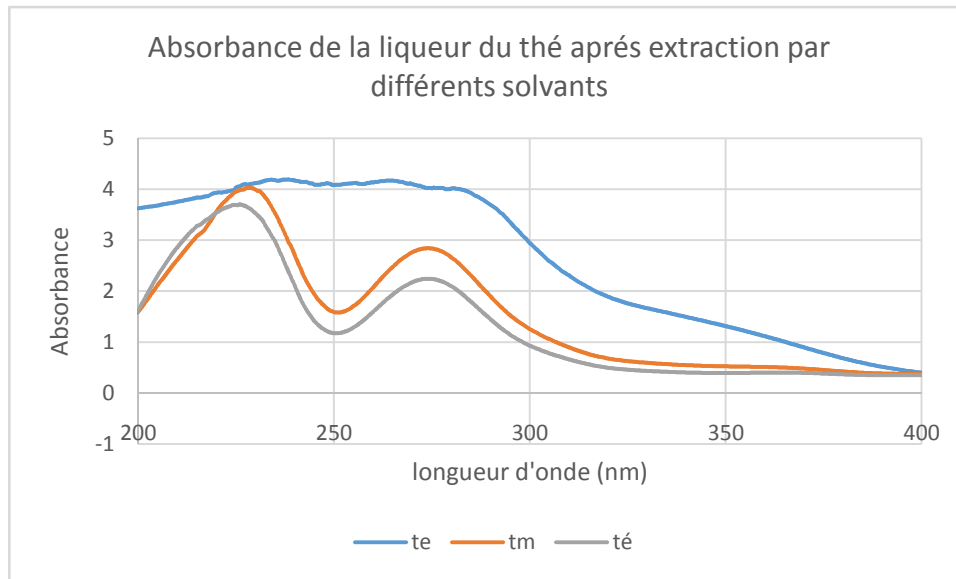
La Figure 21représente les spectres d'absorption des liqueurs de la sauge obtenues après extraction par différents solvants (eau, éthanol et méthanol).



**Figure 22:** Absorbance de la liqueur de la sauge après extraction par l'eau pure (se), le méthanol (sm) et l'éthanol (sé).

Nous constatons pour les trois spectres obtenus, trois bandes d'absorption aux environ de 332,5 nm, 281 nm et à 239 nm, ce qui signifie que l'extraction par différents solvant nous a conduit à extraire de mêmes composés, mais à des intensités différentes. Nous constatons aussi que l'extraction de la sauge par l'eau pure est plus importante. L'ordre de croissance de l'extraction est comme suit: éthanol < méthanol < eau.

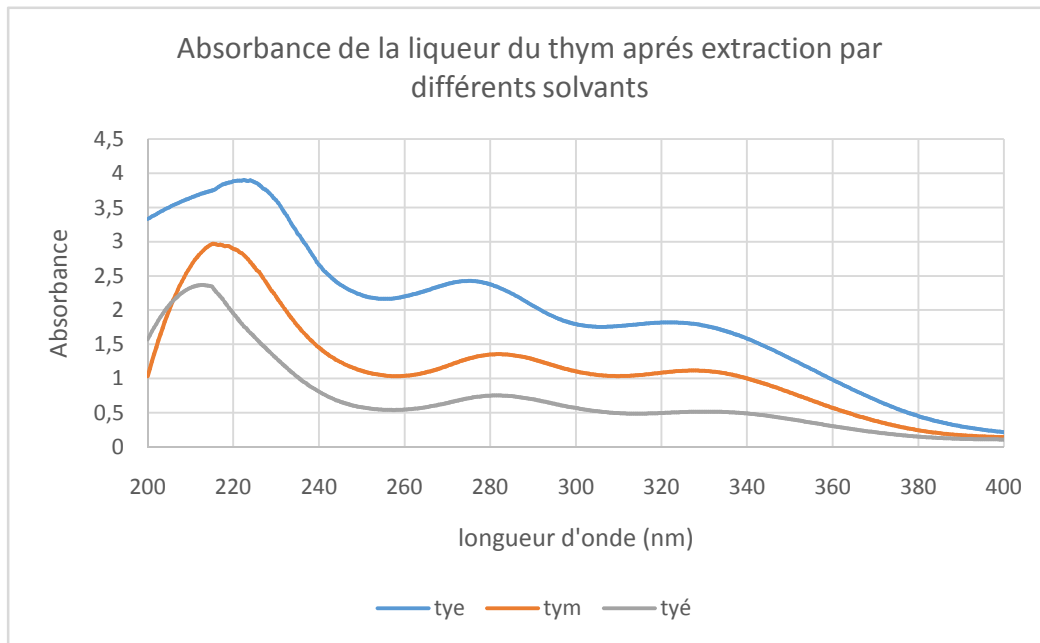
La Figure 22 représente les spectres d'absorption des liqueurs du thé obtenues après extraction par différents solvants (eau, éthanol et méthanol).



**Figure 23 :** Absorbance de la liqueur du thé après extraction par l'eau pure (te), le méthanol (tm) et l'éthanol (té).

Nous constatons pour les trois spectres obtenus, deux bandes d'absorption à 270,5 nm et 229,5 nm. Ce qui signifie que l'extraction par différents solvants nous a conduit à extraire de mêmes composés, mais à des intensités différentes. Nous constatons aussi que l'extraction du thé par l'eau pure est plus importante. L'ordre de croissance de l'extraction est comme suit : éthanol < méthanol < eau.

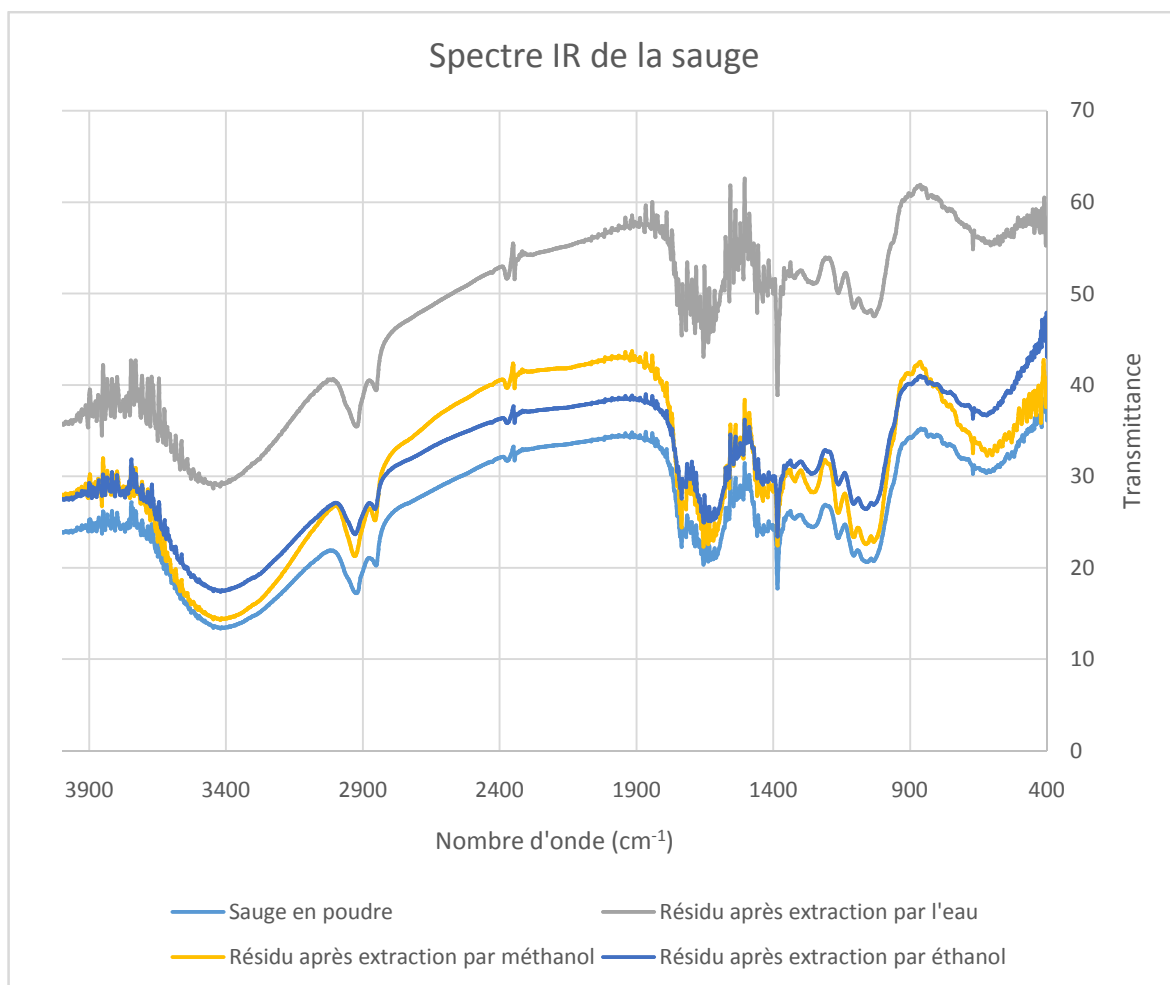
La figure 23 représente les spectres d'absorption des liqueurs du thym obtenues après extraction par différents solvants organiques (eau, éthanol et méthanol).



**Figure 24** : Absorbance de la liqueur du thym après extraction par l'eau pure (tye), le méthanol (tym) et l'éthanol (tyé).

Nous constatons pour les trois spectres obtenus, trois bandes d'absorption à 227 nm, 278 nm et 327 nm. Ce qui signifie que l'extraction par différents solvant nous a conduit à extraire de mêmes composés phénoliques, mais à des intensités différentes. Nous constatons aussi que l'extraction du thym par l'eau pure est plus importante. L'ordre de croissance de l'extraction est comme suit : éthanol < méthanol < eau.

### III.2.2. Spectres IR des résidus des trois plantes étudiées



**Figure 25** : Spectres IR de la sauge après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).

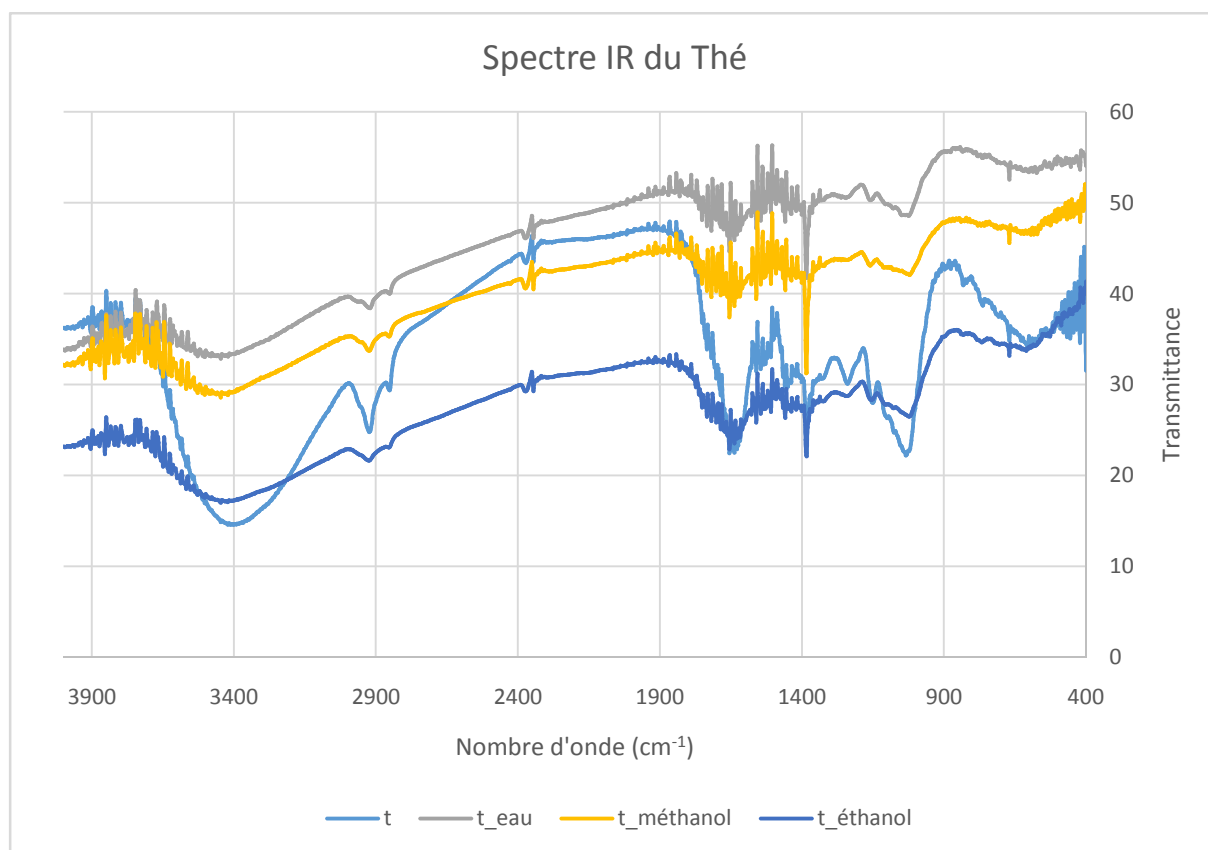
On remarque que tous les spectres ont les mêmes allures avec des intensités variantes, la transmittance après extraction par l'eau est la plus élevée, suivi de celle du l'éthanol, puis du méthanol. D'autre part la transmittance la plus faibles est celle de la sauge brute ce qui est logique.

Nous concluons que les groupements fonctionnels restants dans le résidu augmentent avec l'absorbance et diminuent avec la transmittance. Ils sont plus important dans l'ordre croissant, il est comme suit : méthanol<éthanol<eau.

Ce qui vérifie l'analyse UV-Visible des extraits.

Les spectres IR des résidus de *Camélia sinensis* après extraction par différents solvants est représenté dans(**Figure 26**).





**Figure 26 :** Spectres IR du thé après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).

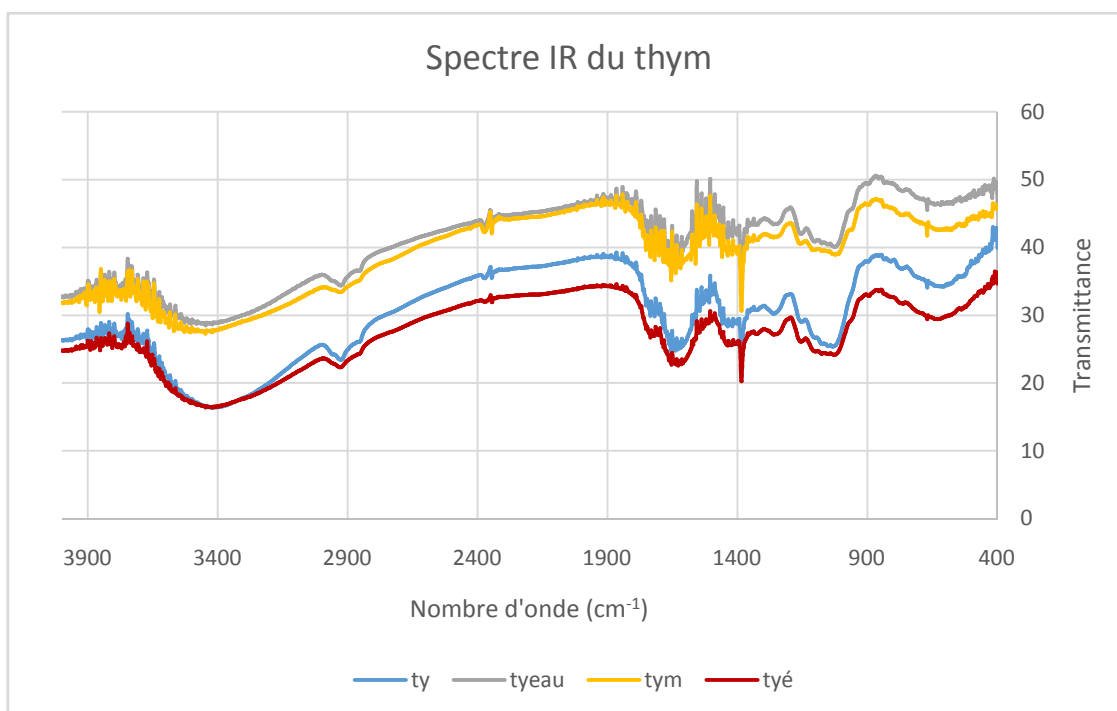
On remarque que tous les spectres ont les mêmes allures avec des différentes intensités, la transmittance après extraction par l'eau est la plus élevée, suivi de celle de l'éthanol, puis du méthanol. D'autre part la transmittance la plus faible est celle du thé brut ce qui est logique.

On remarque dans le spectre IR du thé brut un pic avec une intensité très forte et large dans l'intervalle 3400 et 3200  $\text{cm}^{-1}$ , ce qui signifie la présence de groupements alcools et phénols (liaison O-H associée).

Nous concluons que les groupements fonctionnels restants dans le résidu augmentent avec l'absorbance et diminuent avec la transmittance. Ils sont plus importants dans l'ordre croissant, il est comme suit : éthanol < méthanol < eau.

Ce qui vérifie l'analyse UV-Visible des extraits.

Les spectres IR des résidus de *Thymus vulgaris* après extraction par différents solvants est représenté dans (Figure 27)



**Figure 27 :** Spectres IR du thym après extraction par différents solvants (eau, méthanol, éthanol).

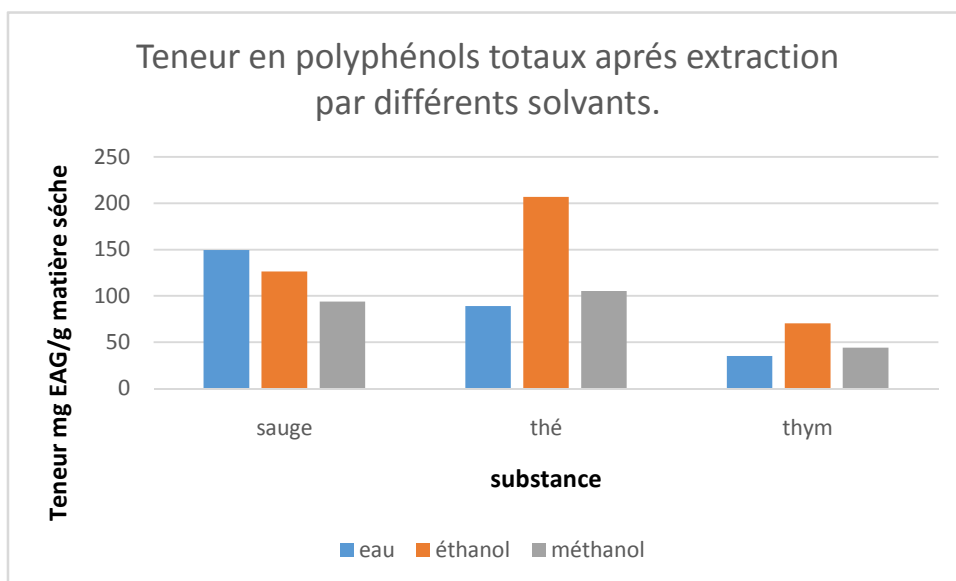
On remarque que tous les spectres ont les mêmes allures avec des intensités variantes, la plus élevée transmittance est celle après extraction par l'eau, suivi de celle du l'éthanol, puis du méthanol. D'autre part la transmittance la plus faibles est celle du thym brut ce qui est logique.

Nous concluons que les groupements fonctionnels restants dans le résidu augmentent avec l'absorbance et diminuent avec la transmittance. Ils sont plus important dans l'ordre croissant, il est comme suit : éthanol<méthanol<eau.

Ce qui vérifie l'analyse UV-Visible des extraits.

### III.2.3. Dosage des polyphénols totaux

La (**Figure 28**) présente la teneur en polyphénols totaux des liqueurs de la sauge, du thé et du thym. Des essais d'extraction de composés phénoliques ont été effectués avec différents solvants (eau, méthanol et éthanol).

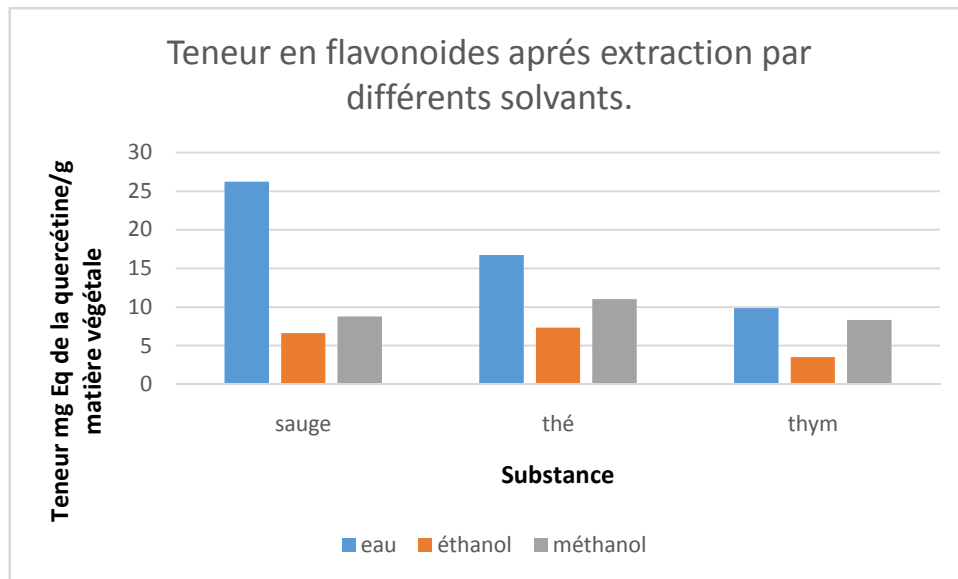


**Figure 28 :** la teneur en polyphénols totaux obtenues après extraction par différents solvants dans la sauge, le thé et le thym.

On constate la tendance d'extraire plus de composés phénoliques avec l'eau (solvant extrêmement polaire) qu'avec les autres solvants pour la sauge en raison de la richesse de sa en composés hydrophiles, en flavonoïdes polymères et en non-flavonoïdes qui sont plus solubles dans l'eau. Dont on a obtenu les teneurs les plus élevées en pp (149,388mg EAG /g de la matière végétale). Dans le cas du thé et du thym l'éthanol (un solvant moyennement polaire) est meilleur par rapport aux deux autres solvants, les teneurs sont respectivement (126,504 et 70,28 EAG /g de la matière végétale), on peut expliquer ces résultats par le pouvoir de l'éthanol d'extraire les composés polaires contenus dans ces deux substances.

#### III.2.4. Dosage des flavonoïdes

La figure 29 présente la teneur en flavonoïdes des liqueurs de la sauge, du thé et du thym. Des essais d'extraction des flavonoïdes ont été effectués avec différentes solvants (eau, éthanol et méthanol).



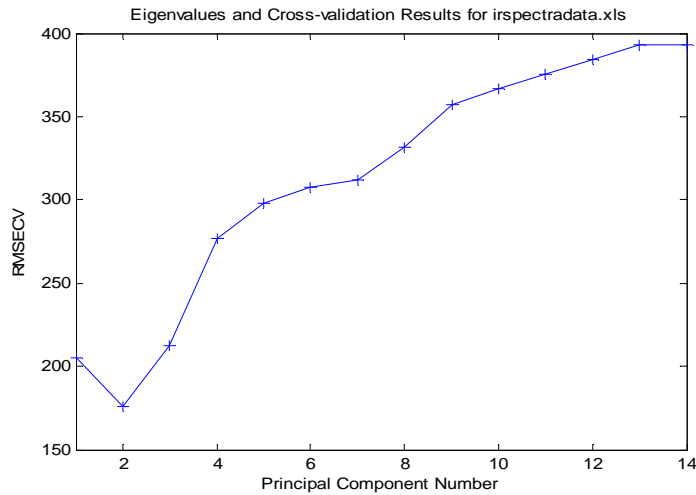
**Figure 29 :** la teneur en flavonoïdes obtenues après extraction par différents solvants dans la sauge, le thé et le thym.

On remarque les teneurs les plus élevées pour les trois substances sont celles obtenues après extraction par l'eau, ces teneurs ont dépassé 26 mg Eq de la quercétine /g de matière végétale, suivi de méthanol et en dernier lieu l'éthanol qui sont des solvants moyennement polaires.

Les résultats obtenus permettent de constater que l'eau est le meilleur solvant pour l'extraction des flavonoïdes, qui est un solvant extrêmement polaire.

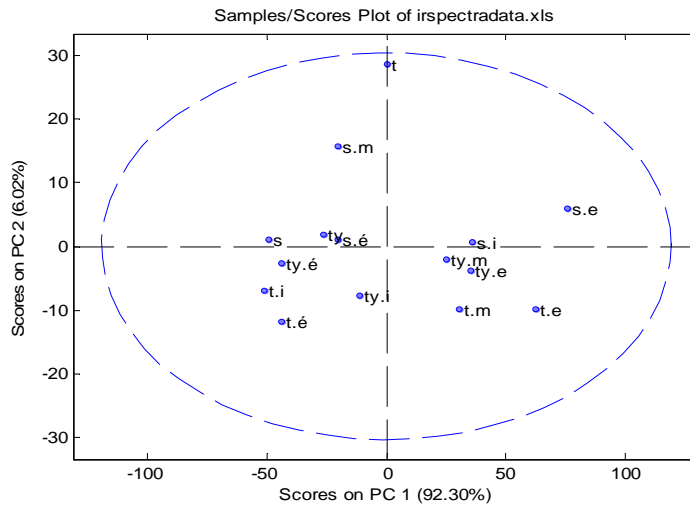
### III.2.5. Analyse en composantes principales (ACP)

La méthode de la validation croisée permet de déterminer le nombre de composantes principales (variables latentes ou composantes factorielles) à retenir pour le modèle.



**Figure 30 :** la racine de la moyenne des carrés des erreurs de la validation croisée en fonction du nombre de composantes principales.

Après analyser par l'ACP. On remarque une basse erreur au niveau de la 2<sup>ème</sup> composante principale, c'est pour cette raison qu'on choisit deux composantes principales pour cette méthode (CP1 et CP2). Réduire le nombre de composantes principale au augmenter au-delà résulte une sous-modélisation (avoir un manque des variables), ou une sur-modélisation (avoir une erreur importante) respectivement.

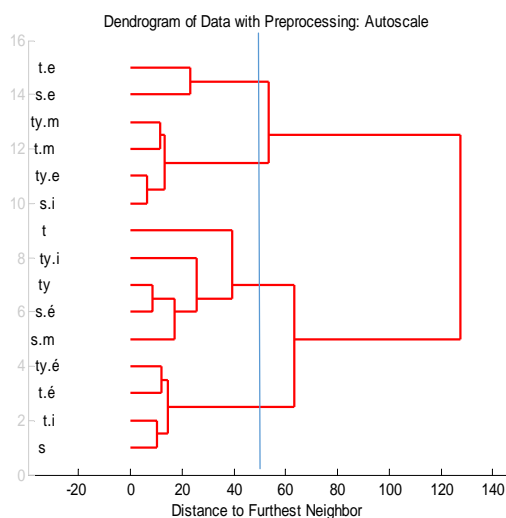


**Figure 31 :** Coordonnées factorielles sur le plan (CP1, CP2).

On remarque que les échantillons (résidus) qui sont obtenues après extraction par les mêmes solvants sont regroupés ensemble.

On conclut que chaque solvant (eau, méthanol et éthanol) extrait les mêmes groupements fonctionnels dans les trois plantes.

### III.2.6. Classification par regroupement (Cluster)



**Figure 32** : dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster.

La figure représente un dendrogramme obtenu par l'analyse Cluster des données des spectres UV-Visible des différents échantillons à différentes durées d'extraction. Après une coupure du dendrogramme à 50%, les échantillons sont répartis en quatre groupes.

Nous constatons qu'après utilisation des méthodes chimiométriques (ACP et Cluster) qu'elles nous ont pas permis de séparer les différents échantillons en utilisant les données de la spectroscopie infrarouge.

Par contre sur les données UV-Visible, nous avons constaté une ressemblance entre le thym et la sauge.

Nous concluons que chaque solvant (eau, méthanol et éthanol) extrait les mêmes groupements fonctionnels dans les trois substances. Néanmoins, l'eau pure extrait mieux les flavonoïdes et l'éthanol extrait mieux les polyphénols.

# *Conclusion*

## Conclusion

Dans le but de déterminer les teneurs en composés phénoliques de *Salvia officinale*, *Camellia sinensis* et *thymus vulgaris*, les extraits phénoliques de ces plantes ont fait l'objet de cette étude.

Une estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes, après l'étude de la cinétique, présente une constance des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans toute la chaîne d'extraction, les teneurs les plus élevées en polyphénols sont remarquées pour thé, la teneur la plus élevée atteint 97 mg EAG/g de matière végétale obtenue à 14min d'infusion. Et celle des flavonoïdes est atteinte pour la sauge à 2min avec 8,69202 mg Eq de la quercétine / matière végétale.

La méthode d'extraction appliquée est assez satisfaisante dans une certaine mesure où elle a permis d'obtenir des teneurs relativement élevées.

Dans l'étude de l'influence de solvant d'extraction sur les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, parmi les trois choisis, le meilleur solvant utilisé à extraire les composés phénoliques selon nos résultats est l'éthanol, dont la teneur extraite la plus élevée est 206,942 mg EAG/g de matière végétale.

Par ailleurs, l'eau est le solvant avec lequel les teneurs les plus élevées en flavonoïdes sont remarquées, celle la plus élevée est pour la sauge à 26,21828 mg Eq de la quercétine/g de la matière végétale.

D'autre part, les spectres UV-Visible et IR ont visualisé la ressemblance des deux plantes, la sauge et le thym.

En dernier lieu, L'analyse par composante principale (ACP) et classification par regroupement (Cluster) ont nous permis d'estimer la relation entre nos échantillons, et le degré de ressemblance entre eux pour les données de la spectroscopie UV-Visible, les résultats obtenus sont proportionnels avec ceux de l'UV-Visible et l'IR, ils montrent le regroupement de la sauge et du thym (ayant même coordonnées).

En perspective, loin d'être exhaustive, il serait conseillé de poursuivre cette étude, car l'étude réalisée ne permet pas la détermination des différents constituants des extraits des trois



plantes, d'où la nécessité d'effectuer d'autres études plus approfondies et plus sélectives, pour cela il serait intéressant :

- D'identifier les composés phénoliques en utilisant plusieurs techniques telle que HPLC.
- Utiliser des mélanges (solvants organiques, eau) pour avoir une extraction maximale en polyphénols.
- Orienter la recherche vers d'autres parties des plantes (les racines, les fleurs et les tiges) dans le but d'une estimation quantitative en polyphénols.

# *Références bibliographiques*

- [1] Zeghad, N. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine. 2008 / 2009.
- [2] Boizot, N., et autre. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, pp 79.2006.
- [3] Rezaire, A. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. 2012.
- [4] Benhamou, N. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. 2011/ 2012.
- [5] Collin, S., Crouzet J. Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition TEC et doc. 2011.
- [6] EL darra, N. Les composés phénoliques des raisins: étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction. Thèse doctorat. L'Université de Technologie de Compiègne. L'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen. 2013.
- [7] Munda, F.N., 2010. Identification de polyphénols, Evaluation de leur activité antioxydantes et leur propriété biologique. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine-Metz. 2010.
- [8] D'Archivio, M. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist super sAnItà* Vol. 43, no. 4: 348-361. 2007.
- [9] Virginie, G., et autre. Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 12 No. 2 Jul, pp. 325-33.2015.

- [10] Alloun, K. Composition chimique et activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anthum graveolens L.*) de la sauge (*Salvia officinalis L.*) et de la rue des montagnes (*Ruta montana*).Thèse doctorat. Ecole national supérieure agronomique El-Harrach Alger. 2013.
- [11] Vielle, A. Huiles essentielles Saugue officinale Balkans. Edition 23-05 2017.agreste camphrée. 2017.
- [12] Madi, A. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugue) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine. 2009/2010.
- [13] Fruleux, L. Monographie *Salvia officinalis*. PDF. 2008/2009.
- [14] Tosun, A., et autres. Essential Oil Composition and Anti-Inflammatory Activity of *Salvia officinalis L* (Lamiaceae) in Murin Macrophage. Tropical Journal of Pharmaceutical Research June; 13 (6): 937-942. 2014.
- [15] Ben Khedher, M.R., et autres. Chemical composition and biological activities of *salvia officinalis* essential oil from Tunisia. Excli Journal ; 16:160-173 – ISSN 1611-2156. 2017
- [16] Zenasni, L. Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *Nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse doctorat. Université Mohammed V-Agdal. 2014.
- [17] Arnaud, G. Etude des principes huiles essentielles utilisées en rhumatologie. Thèse doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier. 2013.
- [18] Allard, H. Contribution a l'étude de la phytothérapie et l'aromathérapie dans les élevages bovins : propriété antibacterienne et immunostimulantes de certaines plantes. Thèse doctorat Université Claude-Bernard Lyon. 2015.
- [19] Kriepps, M. Le thé : Origine, actualité et potentialités. Thèse doctorat. Université Henri Poincare Nancy 1. 2009.

- [20] Fillon, L. Le thé et le syndrome métabolique. Thèse doctorat. Université angers. 2014.
- [21] Jigisha, A., et autres. Green tea : A magical herb with miraculous outcomes : International Research Journal of pharmacy. ISSN 2230-8407.pp139. 2012.
- [22] Morin, M.P. Les polyphénols du thé vert : des molécules à double action contre la maladie parodontale. Mémoire de magistère. Université Laval. 2015.
- [23] Izzreen, N.Q., et autres. Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah, Malaysia. International Food Research Journal 20(1): 307-312. 2013.
- [24] Kadous, A. Extraction de l'ion Uranyle par procédés d'extractions Solide- Liquide & membrane liquide supportée. Thèse doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. 2011.
- [25] Kalla, A. Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse doctorat. Université Mentouri – Constantine. 2012.
- [26] Penchev, P.I. Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse doctorat. Université de Toulouse. 2010.
- [27] Genta-Jouve, G. Préparation des échantillons pour l'analyse en LC-MS. Cour. Université paris descartes.
- [28] Herzi, N. Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction ou CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse doctorat. Université de Toulouse. 2013.
- [29] Gross, J. Caractérisation des surfaces bios fonctionnalisées pour l'étude des protéines de la chaîne respiratoire par spectroscopie infrarouge couplée à l'électrochimie. Thèse doctorat. Université de Strasbourg. 2001.

[30] Hamri, S. Etude thermophysique de la diffusion de molécules de bas poids moléculaire dans des réseaux de polymères acryliques. Thèse doctorat. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. 2013.

[31] Filip, M.S. Spectrophotometric measurements techniques for fermentation process (part one) base theorie UV-Vis spectrophotometric measurements. A new method and system for real time fermentation process monitoring HURO 1001/121/2.2.2. 2012.

[32] Camut, A. Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectables par spectrométrie UV-visible-IRTF, Multispec® à l'Unité de Pharmacie Clinique et Cancérologique de l'Hôpital Bon Secours de Metz : Aspects analytiques et organisationnels. Thèses doctorat. Université Henri Poincare-Nancy I. 2009.

[33] Dumas, S. Développement d'une méthode d'analyse quantitative. PDF. 2003.

[34] Benoudjit, N., et autres. Utilisation de l'information mutuelle pour la sélection de variables spectrales avec des modèles non-linéaires. Paris (France), pp. 133-136. 2003.

[35] Benabid, H. Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimiométriques. Thèse doctorat. Université Mentouri de Constantine. 2009.

[36] Kaouani, A., et autre. Analyse en composantes principales Une méthode factorielle pour traiter les données didactiques Radisma, numéro 2. 2009.

[37] Celeux G et autres.biruni.tn. 1989.

## ***Résumé***

Le thym (*Thymus vulgaris*) et la sauge (*Sauge officinal*), et le thé vert (*Camellia sinensis*) sont utilisés depuis l'antiquité en médecine traditionnelle reconnues par leurs vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail porte sur le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) contenus dans ces plantes.

Dans le présent travail des différents extraits ont été préparés, à partir de l'infusion et de l'extraction par soxhlet.

L'estimation quantitative des flavonoïdes et des polyphénols totaux par l'extraction par les deux méthodes a montré que les extraits du thé sont les plus riches en ces composés phénolique, et que la sauge est la plus riche en flavonoïdes. En dernier lieu le thym qui a la teneur la plus faible en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'extraction par soxhlet a montré que l'éthanol est meilleur pour l'extraction des polyphénols totaux. La quantité maximale extractible a été évaluée à 206,948 mg EAG/ g matières sèche du thé, et que l'eau est le solvant le plus puissant à extraire les flavonoïdes, dont la teneur la plus élevée a été évaluée à 26,21428 mg Eq /g de matière sèche de la sauge.

Les analyses spectroscopiques et les méthodes chimiométriques portées sur les composés phénoliques de différentes plantes, montrent l'existence d'une ressemblance entre la sauge et le thym (avoir même groupement fonctionnels et même propriétés).

**Mots clés :** *Thymus vulgaris*, *Sauge officinal*, *Camellia sinensis*, composé phénoliques, chimiométrie.

### ***Abstract***

Thyme (*Thymus vulgaris*) and the sage (*Sage officinal*), and the green tea (*CAMELIA sinensis*) are used since antiquity in traditional medicine recognized by their therapeutic virtues. In this context, this work concerns the proportioning of the phenolic compounds (total polyphenols and flavonoids) contained in these plants.

In this work of the various extracts were prepared, starting from infusion and of the extraction by soxhlet.

The quantitative estimate of the flavonoids and total polyphenols by the extraction by the two methods showed that the extracts of tea are richest in these compounds phenolic, and that the sage is richest in flavonoids. Lastly the thyme which with the lowest content of total polyphenols and flavonoids.

The extraction by soxhlet showed that the ethanol is better for the extraction of total polyphenols. The extractable maximum quantity is to 206,948 mg EAG/g tea, and that water is the most powerful solvent to extract the flavonoids, whose highest content was estimated at 26, 21428 mg Eq /g of dry matter sage.

The spectroscopic analyzes and the chemiometric methods related to the phenolic compounds of various plants show the existence of a resemblance between sage and thyme (to have even grouping functional and even properties).

**Key Word:** *Thymus vulgaris*, *Sage officinal*, *Camellia sinensis*, phenolic compounds, chemiometric.

## Annexes

Eau utilisée	PH	Conductivité ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )
Eau pure	7.08	1.3
Eau distillée	5.90	8.7

**Annexe I :** pH et conductivité de l'eau utilisée.

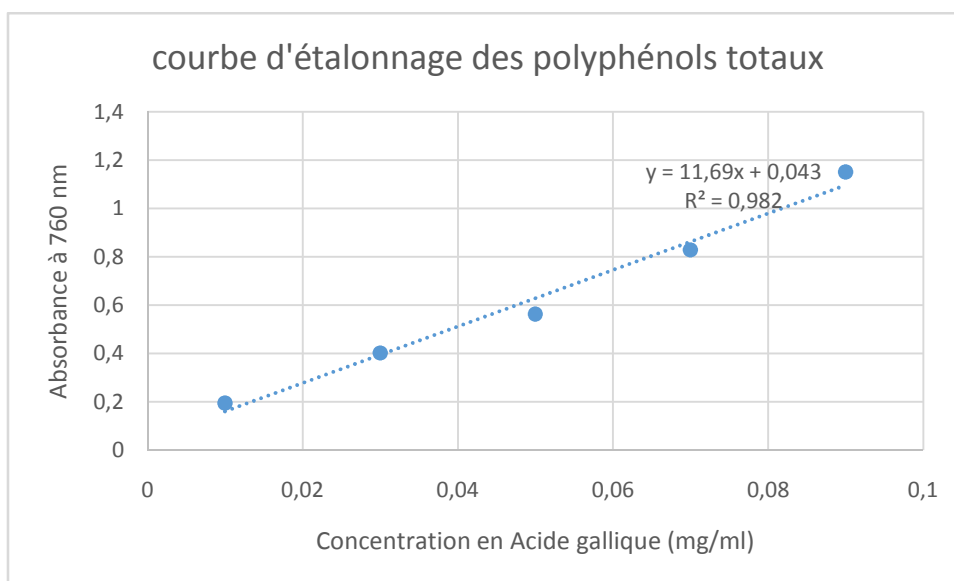
Substance	$m_0$	$m_1$	$m_2$	$m_3$	$m_4$	$m_5$
Sauge	4.9777	4.9706	4.9426	4.9188	/	/
Thé	11.438	11.4144	11.358	11.284	11.255	11.2284
Thym	3.5992	3.5639	3.5439	3.494	3.4755	3.4603

**Annexe II :** Evolution des masses des substances avant et après séchage.

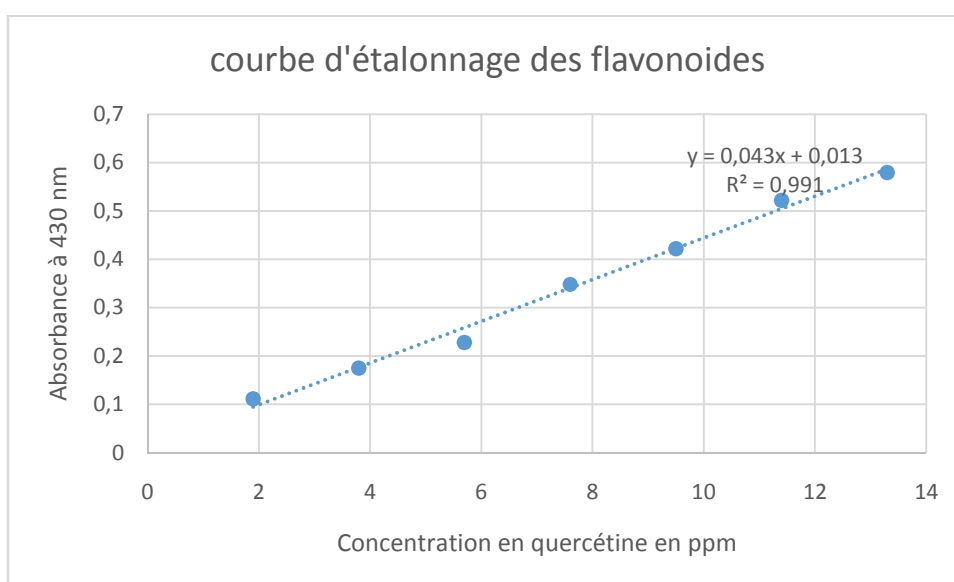
La substance	Sauge	Thé	Thym
Le taux d'humidité (%)	1,1974	1,8666	4,0141

**Annexe III :** Le taux d'humidité des substances utilisées.





**Annexe IV :** Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.



**Annexe V :** Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.