

MEMOIRE

Pour l'obtention de diplôme de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Thème

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE
ENDEMIQUE ALGERO-TUNISIENNE : *Rumex
aristradis* Coss.**

Présentée par :

Sara HAFSI

Soutenue le : 11../07./2019

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

**BOUASLA Nabila
TOUDERT Nadia
ZERNIZ Nawel
MOKRANI Karima**

**MCB
MCB
MCB
MAA**

Univ. EL TARF
Univ. EL TARF
Univ. EL TARF
Univ. EL TARF

Président
Rapporteur
Examinatrice
Examinatrice

Année Universitaire : 2018/2019

DEDICACE

Mes remerciements vont tout d'abord au bon DIEU pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.

Je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes les plus chères au monde :
Mon père Malek (Kamel) et Ma mère Reguia, qui sont La lumière de mes yeux,
Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.*

À ma cher sœur : Roumaïssa

*À Tous Mes amies.
Pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors.*

*À Mon encadreur Nadia Toudert.
Pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leur modestie, leur générosité et leur encouragement.*

À toutes ma famille

Enfin, à tous ceux qui savent donner sans recevoir, qui aident sans retour et sans être égoïste.

Sara

REMERCIEMENT

*Avant tout propos, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.*

*Je remercie mon encadreur **Mme TOUDERT Nadia** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle m'a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Je remercie, Dr. **BOUASLA Nabila** pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie également, mesdames **ZERNIZ Nawel** et **MOKRANI Karima**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*J'adresse mon remerciements aux personnes qui nous ont aidé dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel du laboratoire de Synthèse et biocatalyse organique (université de Annaba), en particulier le **Professeur DJILANI Salah eddine**, le **Docteur Zakkad Farida** et **Mr. SAMAAI Zakaria**.*

Je tiens à remercier ma famille pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Un grand merci particulier à mes collègues et mes amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, je les remercie pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche, qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

SOMMAIRE

Titre	Page
ملخص	I
Abstract	II
Résumé	III
Abréviations	IV
Index des figures	VI
Index des tableaux	VIII
Introduction	01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : DESCRIPTION DE LA PLANTE ETUDIEE

I.1.Introduction	03
I.2.Description botanique	03
I.3.Classification	05

Chapitre II : GENERALITE SUR LES COMPOSES PHENOLIQUES

1. Métabolites secondaires	06
1.1. Introduction	06
1.2. Définition	06
1.3. Utilisation	06
1.3.1. En médecine	06
1.3.2. En alimentation	06
1.3.3. En cosmétique	06
1.4. Classification des métabolites secondaires	07
1.4.1. Les polyphénols	07
1.4.2. Les alcaloïdes	07
1.4.3. Les terpénoïdes	07
2. Les composés phénoliques	08
2.1. Introduction	08
2.2. Définition	08
2.3. Structure chimique	08
2.4. Propriétés biologiques	08
2.5. Classification des polyphénols	09
2.5.1. Les acides phénoliques	09
2.5.2. Les tanins	10
2.5.3. Les coumarines	11
2.5.4. Les stilbènes	11
2.5.5. Les lagnines	11
2.5.6. Les flavonoïdes	12

Chapitre III : SCREENING PHYTOCHIMIQUE

1. Définition	16
2. Principe	16
3. Importance de screening phytochimique	16

4. Techniques suivie lors de notre etude	16
4.1. Epuisement du matériel végétal de l'eau chaude	16
4.1.1. Amidon	16
4.1.2. Test des saponisides	17
4.1.3. Test des tanins	17
4.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol	17
4.2.1. Flavonoïdes	17
4.2.2. Tanins	18
4.2.3. Composés réducteurs	18
4.3. Autres métabolites secondaires	18
4.3.1. Coumarines	18
4.3.2. Test des stérols et terpènes	18
4.3.3. Test des alcaloïdes	18
4.3.4. Anthocyanes	18

Chapitre IV : EXTRACTION CLASIQUE ET PAR ULTRASONS

1. Extraction par macération	20
1.1. Principe	20
2. Extraction assisté par ultrason (EAU)	20
2.1. Historique	20
2.2. Définition	21
2.3. Principe	21
2.4. Utilisation des ultrasons en chimie (sonochimie)	21
2.5. Equipement à ultrasons	22
2.6. Avantage de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction végétale	23

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS ET METHODES	24
1.2. Matière végétale	24
1.2. Produits et Appareils utilisés	25
2. SCREENING PHYTOCHIMIQUE	25
2.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude	26
2.1.1. Amidon	26
2.1.2. Test des Saponosides	26
2.1.3. Test des Tanins	26
2.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol	27
2.2.1. Flavonoïdes	27
2.2.2. Tanins	27
2.2.3. Composés réducteurs	27
2.3. Autres métabolites secondaires	27
2.3.1. Coumarines	27
2.3.2. Test des Stérols et triterpènes	27
2.3.3. Test des Alcaloïdes	28

2.3.4. Anthocyanes	28
2.3.5. Amidon	29
3. Résultats et discussion	29
Chapitre II : DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES	
1. Préparation des extraits	31
2. Dosage des polyphénols totaux (PPT) :	32
2.1. Protocole	32
2.2. Résultats et discussion	32
3. Dosage des flavonoïdes	33
3.1. Méthode utilisée pour doser les FVT	33
3.2. Protocole	34
3.3. Résultats et discussion	34
4. Dosage des proanthocyanidines (PACs) ou tanins condensés	35
4.1. Protocole	36
4.2. Résultats et discussions	36
CONCLUSION	38
BIBLIOGRAPHIE	39

الملخص

إن الهدف الرئيس من هذا البحث هو القيام بدراسة نباتية كيميائية لنبتة مستوطنة بالجزائر وتونس وهي: *Rumex Aristidis Coss*.

وقد تم إجراء الفحص لمختلف المركبات الفينولية وأظهرت النتائج ثراء أوراق هذا النبات بالبوليفينول، الفلافونيد العفص والمركبات المرجعة والغياب التام للفلويات والنشا.

من جهة اخرى، تم حساب كمية المركبات الفينولية الاجمالية لمستخلصين من أوراق هذا النبات (إستخلاص كلاسيكي او نقع على البارد وإستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية) والقيم التي تم الحصول عليها أظهرت ثراء هذه النبتة بالبوليفينول والفلافونيدات. تمثل هذه الأخيرة أكثر من ثلث (1/3) المركبات الفينولية.

يلاحظ أيضاً أن عمليات الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية تكون دائما أكثر كفاءة من عمليات الاستخلاص الكلاسيكية.

الكلمات الدالة:

Rumex Aristidis Coss -- الفحص الفيتوكيميائي -- إستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية - البوليفينول- الفلافونويدات - بروانثوسيانيدين.

Résumé

ABSTRACT:

The main objective of this work is to establish a phytochemical study of an Algerian and Tunisian endemic plant: *Rumex Aristidis* Coss.

The phytochemical screening of the leaves has allowed us to highlight the strong presence of flavonoids, saponosides, tannins and reducing compounds and the total absence of alkaloids and starch.

On the other hand, the determination of the phenolic compounds of two extracts of the leaves of the plant (classical extraction or cold maceration and ultrasound-assisted extraction) was made and the values found showed the richness of this plant in polyphenols and flavonoids. . These last represent more than a third (1/3) of the phenolic compounds.

We also find that ultrasound-assisted extractions are always more efficient than conventional extractions.

KEY WORDS:

Rumex Aristidis Coss. - phytochemical screening – ultrasound assisted extraction - polyphenols – flavonoids – proanthocyanidines.

Résumé

RESUME :

L'objectif principal de ce travail est d'établir une étude phytochimique d'une plante endémique Algéro-tunisienne : le *Rumex Aristidis* Coss.

Le screening phytochimique des feuilles nous a permis de mettre en évidence la forte présence des flavonoïdes, des saponosides, des tanins et des composés réducteurs et l'absence totale des alcaloïdes et de l'amidon.

D'autre part, le dosage des composés phénoliques de deux extraits des feuilles de la plante (extraction classique ou macération à froid et extraction assistée par ultrasons) a été effectué et les valeurs trouvées ont montré la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes. Ces derniers représentent plus d'un tiers (1/3) des composés phénoliques.

Nous constatons également que les extractions assistées par ultrasons sont toujours plus efficaces que les extractions classiques.

MOTS CLES :

Rumex Aristidis Coss - screening phytochimique – extraction assistée par ultrasons – polyphénols - flavonoïdes - proanthocyanidines.

Liste des abréviations

EAM : Extraction par Macération.

EAU : Extraction par Ultrasons.

FeCl₃ : Trichlorure de fer.

FVT : Flavonoïdes Totaux.

g : gramme.

GAE : équivalent gramme d'acide gallique.

H₂SO₄: Acide sulfurique.

HCl: Chlorure d'hydrogène.

K : kelvin.

KHz : Kilohertz.

Mg : milligramme.

MHz : Milihertz.

ml : millilitre.

MS : matière sèche.

NaCl : Chlorure de Sodium.

NaNO₂ : Nitrite de sodium.

NaOH: Hydroxyde de sodium

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

Nm : nanomètre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAC : Pronthocyanidines.

PP : Polyphénols.

PPT : Polyphénols Totaux.

Liste des abréviations

SM : Les Métabolites Secondaires.

TCs : Tanins Condensés.

TH_s : Tanins Hydrolysables.

% : pourcentage.

µg : microgramme.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Rumex a feuilles obtuses.....	05
Figure 2	Structure chimique de polyphénol.....	08
Figure 3	Structure de l'acide ferulique.....	09
Figure 4	Structure de l'acide caféique.....	09
Figure 5	Structure de l'acide gallique.....	09
Figure 6	Structure des tanins condensés.....	10
Figure 7	Structure d'une molécule de coumarine.....	11
Figure 8	Structure chimique de stilbène.....	11
Figure 9	Structure de lignanine.....	12
Figure 10	Squelette de base des flavonoïdes.....	12
Figure 11	Anthocyanidines.....	13
Figure 12	Flavanols.....	13
Figure 13	Flavones.....	13
Figure 14	Flavanones.....	13
Figure 15 :	Isoflavones.....	13
Figure 16	Bain à ultrasons.....	22
Figure 17	Sonde à ultrasons.....	23
Figure 18	Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.....	24
Figure 19	L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydrobenzoïque).....	32
Figure 20	Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux.....	33
Figure 21	Structure de la catéchine.....	34
Figure 22	Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des flavonoïdes.....	35

Liste des figures

Figure 23	Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des proanthocyanidines.....	36
Figure 24	Teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des feuilles de <i>rumex aristidis</i> coss.....	37

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Comparaison entre différentes espèces rencontrées du Rumex.....	04
Tableau 2	Classification classique du <i>Rumex Aristidis</i> Coss.....	05
Tableau 3	Produits chimiques et appareils utilisés.....	25
Tableau 4	Screening phytochimique des feuilles de <i>Rumex aristidis</i> Coss.....	30
Tableau 5	Teneur en composés phénoliques de l'extrait de feuilles de <i>Rumex aristidis</i> Coss.....	33
Tableau 6	Teneur en flavonoïdes de l'extrait de feuilles de Rumex aristidis Coss.....	35
Tableau 7	Teneur en proanthocyanidines de l'extrait de feuilles de <i>Rumex aristidis</i> Coss.....	36

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées afin d'entretenir notre santé, prévenir nos maux voir les guérir, elles sont considérées comme étant une matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

De nos jours, cette utilisation traditionnelle pousse le domaine scientifique de la recherche à découvrir les principes actifs doués d'activités biologiques grâce à plusieurs domaines y compris la chimie, la biochimie et la physiologie afin d'identifier la structure chimique de ces substances et de cibler leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies et leurs propriétés thérapeutiques et pharmacologiques.

Les métabolites dits secondaires représentent une source importante de molécules utilisable par l'Homme en particulier illustrés dans le domaine thérapeutique [**Krief, 2003**].

Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plantes (racines, tige, feuilles...). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles sont métabolisées. On trouve ces métabolites dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles et cette distribution varie d'une plantes à l'autre. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsable de l'effet thérapeutique [**Hogan et Koler, 2002**].

Beaucoup de métabolites secondaires sont également important pour notre alimentation (goût, couleur), et d'autre ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, arômes, parfums et des insecticides [**Teixeira, 2004**].

La flore algérienne est particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques, avec plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces plantes, avec plus de 15 % sont endémiques ne sont que peu explorée [**Hanifi, 1991**].

C'est dans le cadre de la valorisation des substances naturelles des plantes de la flore Algérienne jouissant d'activités biologiques, que s'inscrit notre travail. Pour cela nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de *Rumex aristidis* Coss, plante appartenant à la famille des polygonacées.

Introduction

Ce présent travail est réparti en trois parties :

- * Une partie relative à l'étude bibliographique résumant les généralités sur la plante et les métabolites secondaires et spécialement les composés phénoliques.
- * Une partie abordant l'étude expérimentale avec la description du matériel végétale et des méthodes utilisées.
- * Une troisième et dernière partie qui présente les résultats obtenus et leur discussion.

Des références bibliographiques et des annexes viennent compléter le texte élaboré en mémoire inauguré par une introduction générale et clôturé par une conclusion.

CHAPITRE I : Description de la plante étudiée

I-1. INTRODUCTION

La position géographique de l'Algérie lui confère une flore très diversifiée qui intéresse de plus en plus les chercheurs. La curiosité, la possibilité d'identification des particularités et vertus de chaque plante guide notre intérêt croissant pour une meilleure valorisation de toute espèce végétale utilisée ou non en médecine traditionnelle.

Rumex aristidis Coss est une plante endémique Algéro-tunisienne de la famille des polygonacées.

I.2. DESCRIPTION BOTANIQUE :

La famille des polygonacées regroupe des plantes dicotylédones ; elle comprend 51 genres répartis en 1200 espèces. Ce sont principalement des plantes herbacées cosmopolites qui ont une préférence marquée pour les zones tempérées et froides de l'hémisphère nord.

Les plantes **polygonacées** de la famille **polygonaceae** sont des herbacées ou ligneuses à fleurs connues sous des noms populaires comme renouées, ficaires, sarrasin, rhubarbe, oseille, rumex, et blé noir.

Plusieurs espèces de polygonacées sont cultivées comme ornementales, la renouée bistorte ou la renouée aquatique. Les tiges, racines ou fruits sont utilisés en phytothérapie.

Les graines de deux espèces de fagopyrum sont connues sous le nom de sarrasin, fournissent du grain (sa farine noire est connu comme le blé noir).

Les feuilles de l'oseille commune *Rumex acétosa* sont consommées en salade ou comme légume-feuille.




La plupart des polygonacées sont des plantes vivaces herbacées avec des nœuds de racines enflées, mais des arbres, arbustes et vignes sont également présentes dans la famille.

Les feuilles de polygonaceae sont simples et alternes sur les tiges. Chaque feuille a une paire particulière stipules gainés connu sous le nom d'ochréa. Cette dernière a été diversement interprétée comme une extension de la base soudée des pétioles, comme stipules connues ou comme stipule axillaire hyperdéveloppé. Les espèces qui ne possèdent pas l'ochréa nodal peuvent être identifiées par leur possession de têtes de fleurs en involucre.

Le tableau suivant donne une comparaison entre différentes espèces de rumex :

CHAPITRE I : Description de la plante étudiée

Tableau 1 : Comparaison entre différentes espèces rencontrées du Rumex.

	Rumex à feuilles obtuses (obtusifolius)	Rumex crépu Crispus	Rumex petite oseille (ocetoseilla)
			
Forme des feuilles	Longues et larges	Longues et moins larges	Petites et hastées (triangulaires + 2 lobes pointus et écartés à la base
Base des feuilles	Cordiforme (forme de cœur)	Oblique ou droite	2 lobes pointus et écartés, divergents
Hauteur tige	50-120 cm	40-120 cm	10-40 cm
Fruits	Valves épineuses	Valves entières ou faiblement dentées à la base	
Préférence de Sols	Sols plutôt frais, bien drainés, acides et un peu ombragés	Nombreux sols, y compris terres sèches, calcaires et très éclairées	Sols acides et secs, plutôt limoneux

Rumex aristidis coss est un arbrisseau de la famille des polygonacées, au genre Rumex. Les rumex préfèrent les sols frais et humides mais se rencontrent à peu près sur tous types de sols. Ce sont des plantes plutôt nitrophiles. Ils peuvent indiquer des sols ayant été compactés et saturés en matière organique.



Figure 1 : *Rumex* à feuilles obtuses.

La floraison commence dès le mois de juillet jusqu'au septembre, les fleurs pédicellées disposées en verticilles, dépourvues de feuilles à l'exception de la base de la tige florifère.

I.3. Classification :

Tableau 2 : *Classification classique du Rumex aristidis Coss.*

Règne	Plante
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Polygonales
Famille	Polygonacées
Genre	Rumex L

CHAPITRE II : Généralités Sur Les Composés Phénoliques

1. METABOLITES SECONDAIRES

1.1 INTRODUCTION :

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultants de réactions chimiques ultérieures, on les appelle donc métabolites secondaires (**Chalandre, 2000**).

1.2. Définition :

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Plus de 200.000 structures ont été définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais ils sont produits en faible quantité.

1.3. Utilisation :

1.3.1. En médecine :

Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'Homme :

* en urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux.

* les maladies du stress, ces métabolites ont une activité antioxydante, tels le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composé phénoliques.

1.3.2. En alimentation :

Les épices et les herbes aromatiques contenant des diverses métabolites sont utilisées dans l'alimentation. Ils sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table, considérées comme condiments et aromates, ont été et restent très liées à leurs propriétés organoleptiques. Mais également ces métabolites trouvent leur utilisation comme suppléments diététiques (**Mohammedi, 2006**).

1.3.3. En cosmétique :

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (**Mohammedi, 2006**).

CHAPITRE II : Généralités Sur Les Composés Phénoliques

1.4. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles : les composés azotés (alcaloïdes), les composés phénoliques et les terpénoïdes [Lutge et al., 2002].

1.4.1. Les polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de hauts poids moléculaire.

1.4.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés qui ont la particularité de renfermer au moins un atome d'azote. De ce fait, ce sont des bases qui existent le plus souvent dans la plante sous forme de sels.

Les alcaloïdes sont caractérisés par :

- une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat).

-Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologiques.

-Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés.

1.4.3. Les Terpénoïdes :

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, ils sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal, 2011).

Ils constituent une importante classe de produits secondaires, hydrophobes quelquefois volatils et unis par une origine commune (SEAMAN,1982).

2. LES COMPOSÉS PHENOLIQUES

2.1. Introduction :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

2.2. Définition :

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (**Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006**).

2.3. Structure chimique :

La structure chimique des polyphénols est comparable à tous les polyphénols. Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (**Manallah, 2012**).

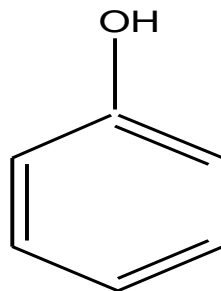


Figure 2 : *Structure chimique de polyphénol.*

2.4. Propriétés biologiques :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs divers propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective,

CHAPITRE II : Généralités Sur Les Composés Phénoliques

antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire.

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire.

2.5. Classification des polyphénols :

2.5.1. Les acides phénoliques :

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïques, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Ils sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales et présents chez toutes les céréales.

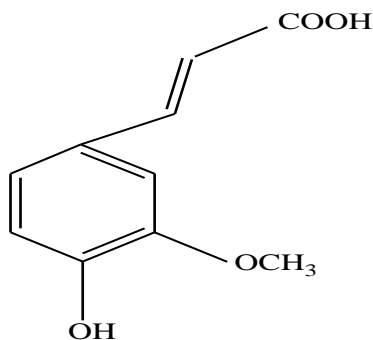


Figure 3 : Structure de l'acide férulique.

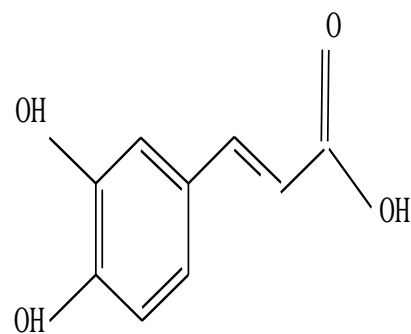


Figure 4 : Structure de l'acide caféique.

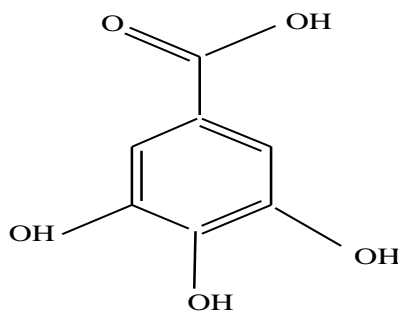


Figure 5 : Structure de l'acide gallique.

2.5.2. Les Tanins :

➤ Définition :

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir (**Bruneton, 1999**).

Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau.

➤ Classification :

• Les tannins hydrolysables :

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Mueller-Harvey, 2001**). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol : Les tannins galliques et Les tannins éllagiques. (**Hagerman, 2002**).

• Les tannins condensés :

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992 ; Bruneton, 1999**). Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine). liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992 ; Jean-Blain, 1998 ; Bruneton, 1999 ; Feucht et Treutter, 1997 ; Schofield et al., 2001**).

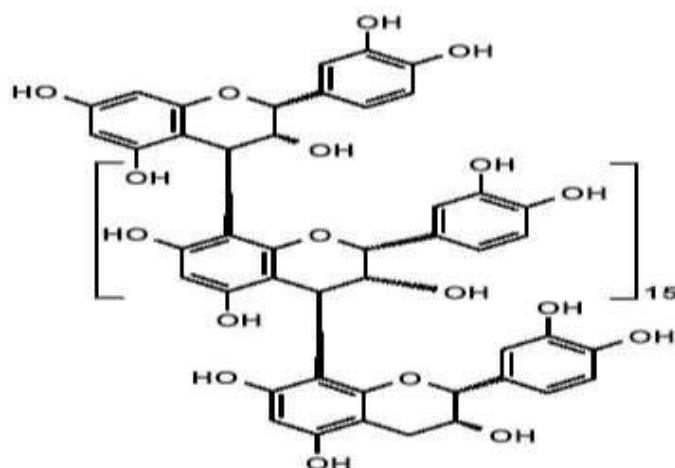


Figure 6 : Structure des tanins condensés.

2.5.3. Les coumarines :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (**Bruneton, 1993**). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**Ford et al., 2001**).

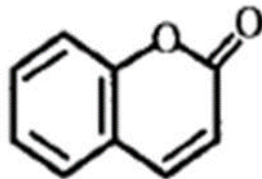


Figure 7 : Structure d'une molécule de coumarine.

2.5.4. Les stilbènes :

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule.

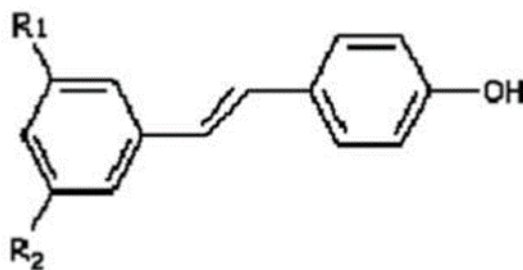


Figure 8 : Structure chimique de stilbène.

2.5.5. Les lagnines :

Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. Ils ont été découverts dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (**Midoun, 2011**).

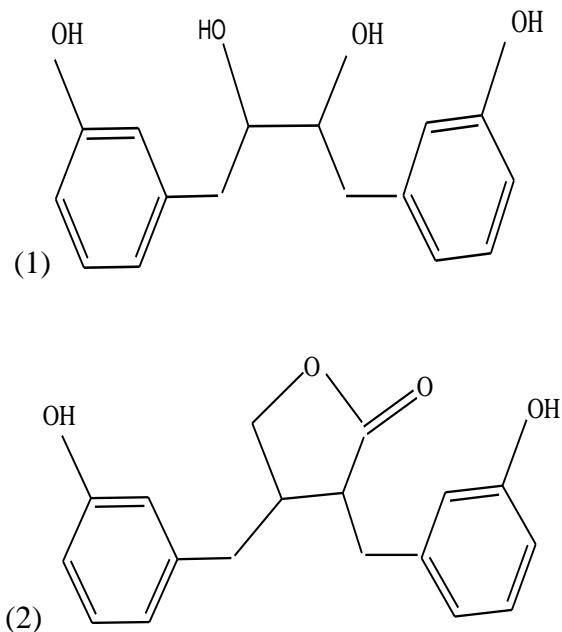


Figure 9 : Structures de lignanine.

2.5.6. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havasteen, 2002**).

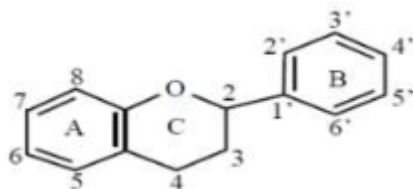


Figure 10 : Squelette de base des flavonoïdes.

➤ Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes :

anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones et auronnes (**Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003**).

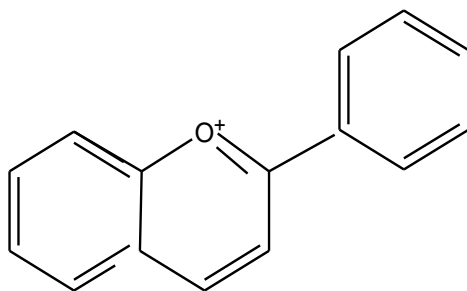


Figure 11 : *Anthocyanidines.*

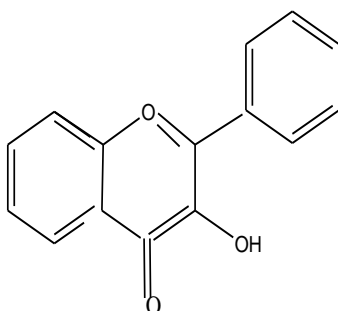


Figure 12 : *Flavanols.*

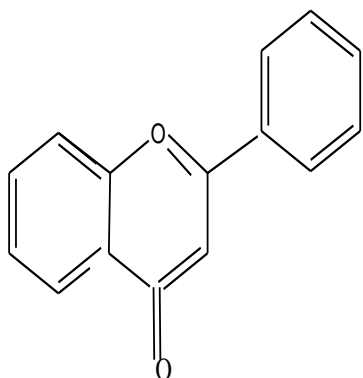


Figure 13 : *Flavones.*

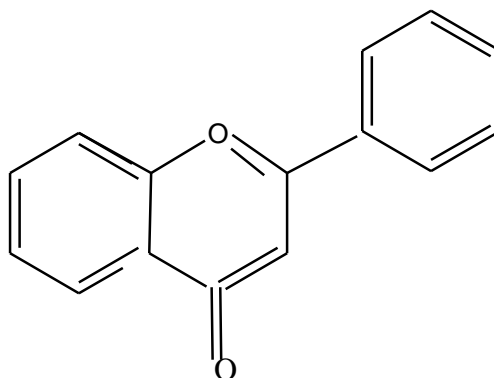


Figure 14 : *Flavanones.*

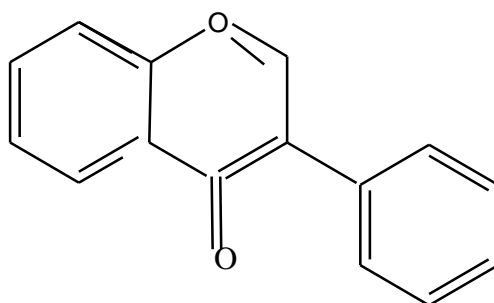


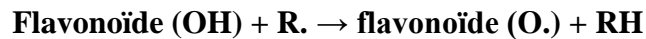
Figure 15 : *Isoflavones.*

CHAPITRE II : Généralités Sur Les Composés Phénoliques

➤ **Propriétés biologiques :**

• **Activité antioxydante :**

Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres, radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxy lipidiques, selon la réaction suivante :



Les radicaux libres sont générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (**Ghedira 2005; Messai 2011**).

• **Activité anti-inflammatoire :**

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique (acide gras C20 : 4) se métabolise respectivement en prostaglandines plus thromboxane et en leucotriènes, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoires. In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire.

C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. En outre, d'autres flavonoïdes tels que la lutéoline, la morine, l'apigénine et la chrysine agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (**Ghedira 2005 ; Yakhlef 2010**).

• **Activité antibactérienne :**

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* etc...) avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve (**Akroum 2011**).

• **Activité antivirale :**

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, l'adénovirus (ADV) (**Akroum 2011**).

• **Activité anti-allergique :**

CHAPITRE II : Généralités Sur Les Composés Phénoliques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca^{+2} ATPase. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (**Ghedira 2005**).

- **Autres activités biologiques :**

Aussi, plusieurs études biologiques ont montré que les flavonoïdes présentent des nombreuses activités tel que :

* Anti-cancérogène et inhibitrice de la croissance des cellules tumorale in vitro.

* Antifongique.

*Antiparasitaire.

*Insectide (**Azzouzi 2016**).

- **Rôle des flavonoïdes chez la plante :**

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape, fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne.

1. DEFINITION :

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante.

Le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans les plantes via une analyse qualitative des réactions de coloration/précipitation.

2. PRINCIPE :

La mise en évidence des composés chimiques est effectuée par des tests réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou macération à froid) ou directement sur la poudre d'échantillon à analyser.

3. IMPORTANCE DE SCREENING PHYTOCHIMIQUE :

Le but final de l'étude des plantes médicinales est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante. De ce point de vue, les techniques générales de screening phytochimique peuvent être d'un grand secours. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence ou non des produits appartenant à des classes de composés ordinairement physiologiquement actifs.

4. TECHNIQUE SUIVIE LORS DE NOTRE ETUDE :

4.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests suivants :

4.1.1. Amidon :

L'amidon est caractérisé par un réactif spécifique connu sous le nom d'amidon. Ce dernier a été préparé comme suit :

√ Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium ;

√ Chauffer pendant 5 minutes ;

√ Diluer jusqu'à 500 ml.

CHAPITRE III : Screening Phytochimique

La détection d'amidon s'effectue comme suit :

√ Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ;

√ Ajouter le réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-violacée (**Bruneton, 1999**).

4.1.2. Test des Saponosides :

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**)

4.1.3. Test des Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait aqueux, 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).

4.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol :

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivant :

4.2.1. Flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (**Debrayb et al., 1971 ; Paris et al, 1969**).

4.2.2. Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. Un test révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tanins galliques), bleu-verte (tanins cathéchiques) (Trease et Evans, 1987).

4.2.3. Composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Trease et Evans, 1987).

4.3. Autres métabolites secondaires :

4.3.1. Coumarines :

1 g d'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0,5 ml de NH₄OH dilué (10%) et on va mettre deux taches sur un papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

4.3.2. Test des Stérols et triterpènes :

Elle se fait sur une macération de 24 h à 5 % dans l'éther. L'extrait éthérique est ensuite évaporé à sec et repris avec de l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du tube contenant l'extrait de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageante était verte ou violette (Trease et Evans, 1987).

4.3.3. Test des Alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 24 h de 10 g de la poudre végétale dans 50 ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur un papier lavé à l'eau distillée et de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat, 1ml du macéré est introduit dans deux tubes à essai puis 5 gouttes de réactif de Mayer ont été ajouté dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Wagner ont été ajouté dans le deuxième.

CHAPITRE III : Screening Phytochimique

La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes.

4.3.4. Anthocyanes :

2 ml d'infusé aqueux sont ajoutés à 2 ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose- rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes.

1. Extraction par macération :

1.1. Principe :

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (**LEYBROS et FREMEAUX, 1990**).

2. Extraction assisté par ultrasons (EAU) :

L'utilisation des ultrasons en chimie n'était qu'une simple curiosité il y a quelques années. Le concept de la cavitation acoustique était peu connu dans le domaine de la chimie appliquée. Avec le prix élevé des réactifs en chimie organique et leur grande toxicité, l'utilisation des ultrasons est devenue une avenue intéressante pour le chimiste pour diminuer l'utilisation de réactifs et les temps de réaction. Depuis les 20 dernières années, plusieurs recherches ont été effectuées sur l'utilisation des ultrasons lors de réaction chimique.

2.1. Historique :

L'établissement des ultrasons a été effectué lors de la découverte des effets piézoélectriques par les Curie en 1880. (L'effet ultrasonique est obtenu par un convertisseur d'énergie qui est composé de matériaux piézoélectriques. Ces matériaux répondent à une induction d'un courant électrique sur des faces opposées avec des changements sur la dimension des matériaux.

Durant les années 1900, plusieurs types de matériaux ont été utilisés pour développer des convertisseurs ultrasoniques de plus en plus performants. La majeure partie des découvertes ont été effectuées durant la seconde guerre mondiale avec le développement des SONARS par les Britanniques pour la détection des sous-marins allemands dans l'océan atlantique. Depuis 1945, la compréhension du phénomène de cavitation acoustique s'est accentuée par les recherches appliquées de divers physiciens. Le développement de nouveaux matériaux piézoélectrique et le développement de nouveaux circuits électroniques a permis l'utilisation des ultrasons dans plusieurs domaines autres que militaire ; médical, analyse des matériaux, en chimie, etc.

2.2. Définition :

L'UAE est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons, ce qui par-ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur (VINATORU *et al.*, 1997).

2.3. Principe :

Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles sont principalement caractérisées par leur fréquence (15 kHz-500 MHz) (SANTOS *et al.*, 2009). À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière (BENAMOR, 2008).

Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (WANG et WELLER, 2006). Les séries de ces cycles de compressions et de raréfactions créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide (SUSLICK, 1998). Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression. La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (PETRIER *et al.*, 2008).

2.4. Utilisation des ultrasons en chimie (la sonochimie)

Dans un premier temps, l'utilisation de la puissance des ultrasons par les chimistes est une nouvelle avenue pour l'application d'une énergie d'activation différente de ce qu'il est présentement utilisé soit, le chauffage, la lumière et la pression. Le premier chimiste qui étudié l'effet des ultrasons au travers un liquide est Alfred L. Loomis en 1927, la sonochimie est née.

Les avantages des ultrasons viennent de la cavitation acoustique qui se traduit par la génération de bulles de cavitation. La formation de ces bulles se produit lors des cycles de raréfaction des vagues ultrasoniques qui crée des zones de vides dans le milieu. Ces zones de vide engendrent un secteur à haute pression (> 100 atm) et de hautes températures (>5000 K) La bulle de cavitation engendre la formation de radicaux pouvant être utiles pour diverses

réactions. L'éclatement de la bulle engendre une zone de haute vitesse qui produit une augmentation de la vitesse des molécules dans cette région.

2.5. Équipements à ultrasons

Il existe deux types d'équipement à ultrasons qui sont couramment utilisés dans le laboratoire.

1) Le premier est le **bain à ultrasons** qui est utilisé pour la dispersion de solides dans un solvant, pour le dégazage des solutions ou même pour le nettoyage du petit matériel par immersion de la verrerie. Les bains à ultrasons sont moins utilisés pour des extractions ou réactions chimiques, même s'ils sont faciles à manipuler et économiquement avantageux. D'une densité de puissance très faible, ils entraînent une faible reproductibilité des réactions. En fait, l'intensité délivrée est faible et est fortement atténuée par l'eau contenue dans le bain ainsi que par les murs de la verrerie utilisée pour l'expérience.



Figure 16 : *Bain à ultrasons.*

2) Le second équipement, une **sonde à ultrasons** ou un système dit «Horn», est beaucoup plus puissant en raison d'une intensité ultrasonore délivrée sur une petite surface (pointe de la sonde) par rapport au bain à ultrasons. Un autre changement provient du fait que la sonde est directement immergée dans le réacteur ce qui provoque moins d'atténuation du signal. Ce système de sonde est largement utilisé pour la sonication de petits volumes d'échantillons, mais une attention particulière doit être portée à ces derniers en raison de la hausse rapide de la température au sein du milieu. Un système de double enveloppe réfrigérée est ainsi nécessaire dans ce système.



Figure 17 : *Sonde à ultrasons.*

2.6. Avantage de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction végétale

La technique d'extraction végétale par Ultrasons est utilisée pour extraire les principes actifs des plantes officinales pour la réalisation d'extraits de plantes de haute qualité dans les secteurs pharmaceutique, de l'herboristerie, cosmétique, de la santé et alimentaire.

L'utilisation des Ultrasons dans ce procédé, par rapport à d'autres systèmes, a l'avantage d'obtenir une extraction totale, aussi bien en ce qui concerne les principes actifs de base contenus dans la matière première traitée, que les principes appelés secondaires mais qui sont tous aussi importants.

De plus, les cycles d'extraction sont très rapides et sont toujours effectués à basse température cela permet d'éviter la caramélisation des sucres naturellement présents dans les matières premières végétales.

Les extraits obtenus sont également stériles, grâce à l'abattage de la charge bactérienne par les Ultrasons.

Ces derniers sont aussi capable de fournir l'opportunité d'utiliser des solvants alternatifs propres et / ou verts en améliorant leurs performances d'extraction.

1. MATERIELS ET METHODES

1.2. Matière végétale

La collecte de la plante (*Rumex aristidis* Coss) a eu lieu auprès de la région de Ben Azouz (Skikda) vers la fin du mois de mars 2018. Une fois les feuilles sont isolées, elles sont mises dans un endroit sec et à l'abri de la lumière afin de les sécher, puis elles sont broyées .La poudre végétale obtenue est conservée à l'abri de la lumière dans des flacons hermétiquement fermées.

La démarche expérimentale suivie dans ce travail est illustrée par la figure suivante :

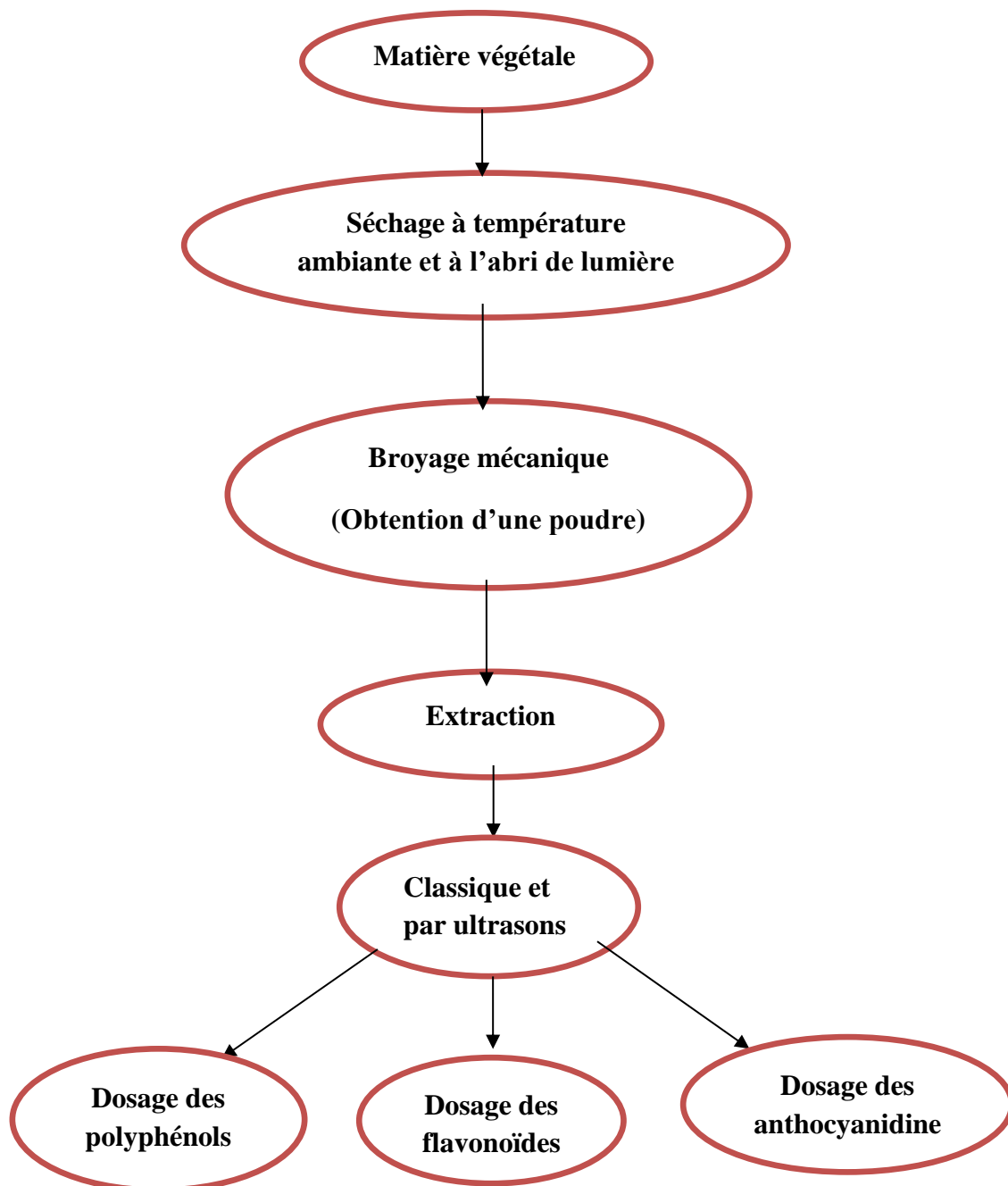


Figure 18 : Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.

1.2. Produits et Appareils utilisés :

Nous présentons dans le tableau suivant les différents produits chimiques et appareils utilisés dans cette étude :

Tableau 3 : Produits chimiques et appareils utilisés.

Produits chimiques	Appareils utilisés
Acide sulfurique(H_2SO_4), Acide chlorhydrique(HCl), Réactif de Folin-Ciocalteu, Acide acétique, Acide gallique Eau distillée. Chlorure ferrique ($FeCl_3$), Méthanol, trichlorure d'aluminium($AlCl_3$), hydroxyde de sodium $NaOH$, nitrite de sodium ($NaNO_2$) carbonate de sodium (Na_2CO_3) catéchine. quercétine	Spectrophotomètre UV-visible. Rotavapor. Bain marie, Balance. Agitateur magnétique, Etuve, Bécher. Pipette. Pissette. Tubes à essai.

2. SCREENING PHYTOCHIMIQUE :

C'est une technique qui a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans un organe végétal par des réactions physico chimiques avec une analyse qualitative.

La recherche des alcaloïdes, des anthocyanes, des flavonoïdes, des saponosides, des stéroïdes a été réalisé par différents méthodes.

2.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests suivants :

2.1.1. Amidon :

Le test effectué consiste :

- √ Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl ;
- √ saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ;
- √ Ajouter quelques gouttes du réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée (**Bruneton, 1999**).

2.1.2. Test des Saponosides :

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**)

2.1.3. Test des Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait aqueux, 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).

2.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol :

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivant :

2.2.1. Flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (**Debrayb et al., 1971 ; Paris et al, 1969**).

2.2.2. Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. Un test révélé par l'apparition d'une coloration bleu- noire (tanins galliques), bleu-verte (tanins cathéchiques) (**Trease et Evans, 1987**).

2.2.3. Composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Trease et Evans, 1987**).

2.3. Autres métabolites secondaires :

2.3.1. Coumarines :

1 g d'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0,5 ml de NH₄OH dilué (10%) et on va mettre deux taches sur un papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

2.3.2. Test des Stérois et triterpènes :

Elle se fait sur une macération de 24 h à 5 % dans l'éther. L'extrait éthérique est ensuite évaporé à sec et repris avec de l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du

tube contenant l'extrait de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageant était verte ou violette (**Trease et Evans, 1987**).

2.3.3. Test des Alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 24 h de 10 g de la poudre végétale dans 50 ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur un papier lavé à l'eau distillée et de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat, 1ml du macéré est introduit dans deux tubes à essai puis 5 gouttes de réactif de Mayer ont été ajouté dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Wagner ont été ajouté dans le deuxième. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes (**Paris et al, 1969**).

La caractérisation des alcaloïdes se fait par :

● **Réactif de Mayer** : la préparation de ce réactif s'effectue comme suit :

√ Dissoudre 1,358 g de HgCl₂ dans 60 ml d'eau ;

√ **Dissoudre** 5 g de KI dans 10 ml d'eau ;

√ Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc

● **Réactif de Wagner** : ce réactif a été préparé comme suit :

√ Dissoudre 2 g de KI et 1,27 de I₂ dans 75 ml d'eau ;

√ Ajuster le volume total à 100 ml d'eau.

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

2.3.4. Anthocyanes

2 ml d'infusé aqueux sont ajoutés à 2 ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (**Debrayb et al, 1971 ; Paris et al, 1969**).

2.3.5. Amidon :

L'amidon est caractérisé par un réactif spécifique connu sous le nom d'amidon. Ce dernier a été préparé comme suit :

√ Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium ;

√ Chauffer pendant 5 minutes ;

√ Diluer jusqu'à 500 ml.

La détection d'amidon s'effectue comme suit :

√ Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ;

√ Ajouter le réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-violacée.

3. Résultats et discussion :

➤ Réactions de caractérisation :

Les résultats seront classés selon :

*Test franchement positif : (+ + +).

*Test positif : (+ +).

*Test moyennement positif : (+).

*Test négatif : (-).

Les résultats du criblage phytochimique des feuilles de la plante sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : *Screening phytochimique des feuilles de Rumex aristidis Coss.*

Groupes chimiques	Feuilles de la plante
Alcaloïdes	-
Flavonoïdes	+++
Saponisides	++
Tanins	++
Lipides	+
Terpènes	+
Amidon	-
Composés réducteurs (Sucre)	++
Anthocyanes	-
Coumarines	+

On observe une forte présence des flavonoïdes, des saponisides, des tanins et des composés réducteurs et une faible présence des terpènes, des coumarines et des lipides. On constate aussi l'absence totale des alcaloïdes, des anthocyanes et de l'amidon.

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

L'estimation des composés phénoliques se fait généralement par des méthodes spectrophotométriques, utilisées principalement pour leur simplicité et leur sensibilité élevée.

Dans cette étude, la détermination des polyphénols [polyphénols totaux (PPT), flavonoïdes totaux (FVT) et proanthocyanidines (PAC)] a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Lightwave II WAP 7120 V1.8.0.

Sachant que les proanthocyanidines également nommée tanins condensés ou oligo-procyanidines ou oligo-proanthocyanidines ou encore en abrégé OPC ou PACs, est un sous-groupe de flavonoïdes naturels que l'on trouve dans divers plantes et végétaux.

1. Préparation des extraits :

L'objectif de cette étude consiste à étudier les effets des différents paramètres opératoires de l'extraction assisté par l'ultrason (Ultrasound Assisted Extraction UAE) sur la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en anthocyanidines des feuilles de *Rumex aristidis* Coss.

Généralement, lorsque l'UAE est employée, cinq paramètres majeurs peuvent avoir une influence essentielle sur le rendement d'extraction et la qualité de l'extrait :

- * La nature de solvant
- * Le temps d'extraction
- * La température d'extraction
- * La puissance
- * La fréquence des ultrasons

Dans notre étude, les extractions sont réalisées à la température ambiante (25-35 °C) en utilisant un solvant hydro-méthanolique (7/3 : MeOH/H₂O). La poudre séchée de (1.0 g) est mélangée avec 30 ml de solvant dans des fioles jaugées de 100 ml. Les fioles sont immergées dans le bain à ultrasons à température ambiante pendant une période de 30 minutes (meilleures conditions déjà trouvées [**Bouزيد et Aissani**]). Après, le mélange est filtré sur papier-filtre Wattman. Le filtrat ou l'extrait végétal obtenu est utilisé pour l'analyse.

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

2. Dosage des polyphénols totaux (PPT) :

2.1. Protocole :

Pour le dosage des PPT la méthode utilisée est celle décrite par **Kim et al. (2003)**, avec quelques modifications. Ainsi, dans des tubes à essai on a placé 0,5ml de chaque solution à étudier puis 4,5 ml d'eau distillée sont ajoutés, ensuite 0,5 ml de réactif de **Folin-Ciocalteu**. Le mélange est agité pendant 5 minutes auquel on ajoute par la suite 5 ml de Na_2CO_3 (7%). La solution finale est agitée une deuxième fois puis la solution est immédiatement diluée avec 4,5 ml d'eau distillée, après une incubation pendant 90 min à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance de chaque solution est directement mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 750 nm.

La quantification des polyphénols est faite à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a.x + b$) réalisé par une solution d'acide gallique (étalon standard) à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. et les résultats sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (EAG/g MS).

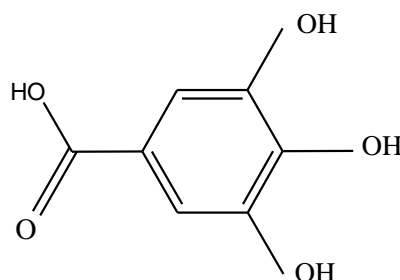


Figure 19 : L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydrobenzoïque).

2.2. Résultats et discussion :

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 19), représente l'absorbance en fonction de la concentration en acide gallique. Elle est obtenue avec un coefficient de corrélation de 0,9981. Sachant que l'équation de régression correspondante est la suivante : ($Y=0.0044x+ 0.0235$).

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

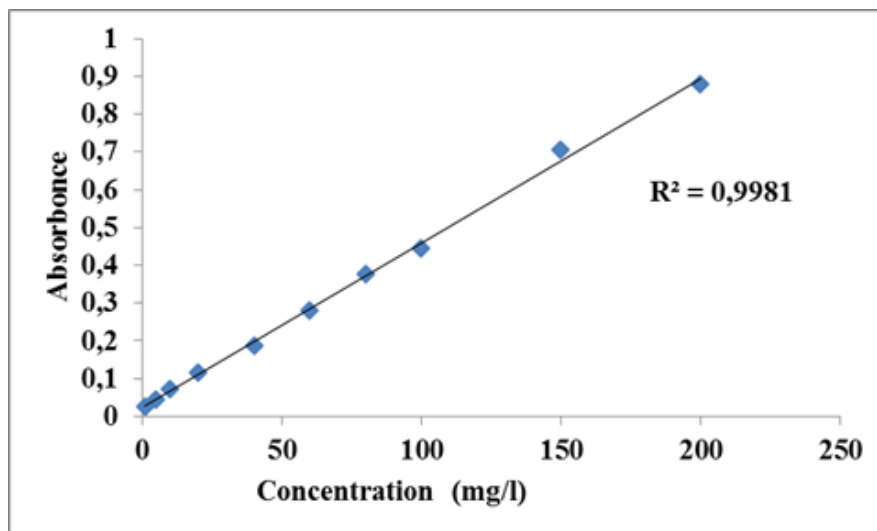


Figure 20 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats de l'analyse spectrophotométrique des composés phénoliques totaux sont résumés dans le **tableau 5**. Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm déviation standard.

Tableau 5 : Teneur en composés phénoliques de l'extrait de feuilles de *Rumex aristidis* Coss.

	Teneur en composés phénoliques ($\mu\text{g GAE}$)/g MS
Extraction classique	8345,454 \pm 5,68
Extraction assistée par ultrasons	9255,680 \pm 4,55

On remarque que les deux extraits renferment des quantités considérables de polyphénols par rapport à d'autres plantes.

3. Dosage des flavonoïdes :

3.1. Méthode utilisée pour doser les FVT

Pour le dosage des flavonoïdes totaux, la méthode utilisée est celle développée par **Zhishen et al. (1999)** avec quelques modifications.

D'abord, une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine. Des solutions de l'ordre (1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 mg/l) ont été préparées.

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

3.2. Protocole :

La méthode consiste à placer dans des tubes à essais et d'une manière successive, 1ml de l'extrait étudié et 4 ml d'eau distillée. A un temps initial (0 minute) on ajoute 0.3 ml d'une solution de NaNO_2 (5%), après 5 minutes 0.3 ml de AlCl_3 (10%) sont ajoutés. 6 minutes après 2 ml de NaOH (1N) sont ajoutés ainsi que 2,4 ml d'eau distillée. L'absorbance de chaque mélange obtenu est directement mesurée au spectrophotomètre UV visible à 510 nm.

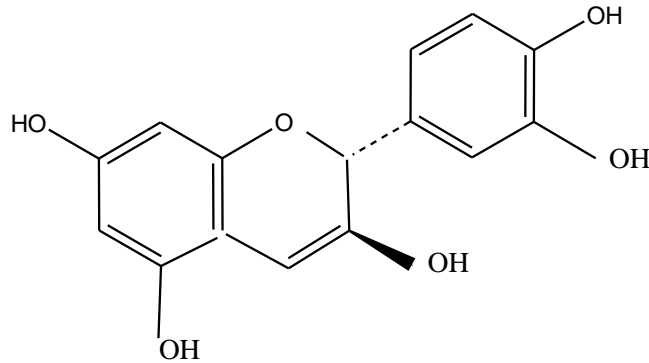


Figure 21 : *Structure de la catéchine.*

3.3. Résultats et discussion

La courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration en catéchine a été réalisée. Elle présente un coefficient de corrélation de l'ordre de 0,9981. ($Y=0.0058+0.0086X$).

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/g MS}$).

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

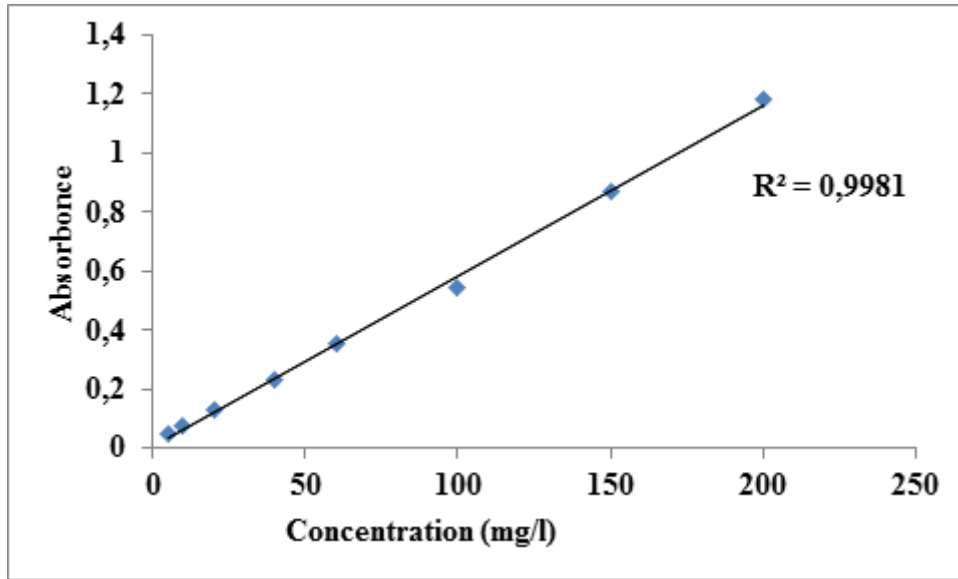


Figure 22 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des flavonoïdes.

Le tableau suivant résume les résultats d'analyse. Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm déviation standard.

Tableau 6 : Teneur en flavonoïdes de l'extrait de feuilles de *Rumex aristidis* Coss.

	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EC/g MS}$)
Extraction classique	3240,000 \pm 3,44
Extraction assistée par ultrasons	3868,448 \pm 2,59

On s'aperçoit, d'après ces résultats, que les flavonoïdes représentent plus d'un tiers (1/3) des composés phénoliques.

4. dosage des proanthocyanidines (PACs) ou tanins condensés :

La méthodologie du dosage des tannins condensés également connu sous le nom de proanthocyanidines (dérivés polymériques de flavan-3-ol), consiste à dépolymériser les tannins en milieu acide, puis à les transformer en anthocyanidols (après réaction avec la vanilline) analysables à 500 nm (Martin et al. 1987).

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

4.1. Protocole :

Ils ont été évalués selon la méthode de Sun, (Sun et al. 1998).

0.5 ml L d'échantillon ou d'étalon ont été mélangés avec 3 ml de solution de vanilline (4%) de vanilline – méthanol et 1,5 ml de HCl. Le mélange a été conservé à la température ambiante pendant 15 min et l'absorbance a été mesurée à 500 nm.

Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la catéchine qui est un flavonoïde de type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire.

4.2. Résultats et Discussions :

La courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction des différentes concentrations en catéchine figure présente un coefficient de corrélation de l'ordre de 0.9891. L'équation de régression linéaire correspondante est la suivante : $Y=0,008x + 0.0413$.

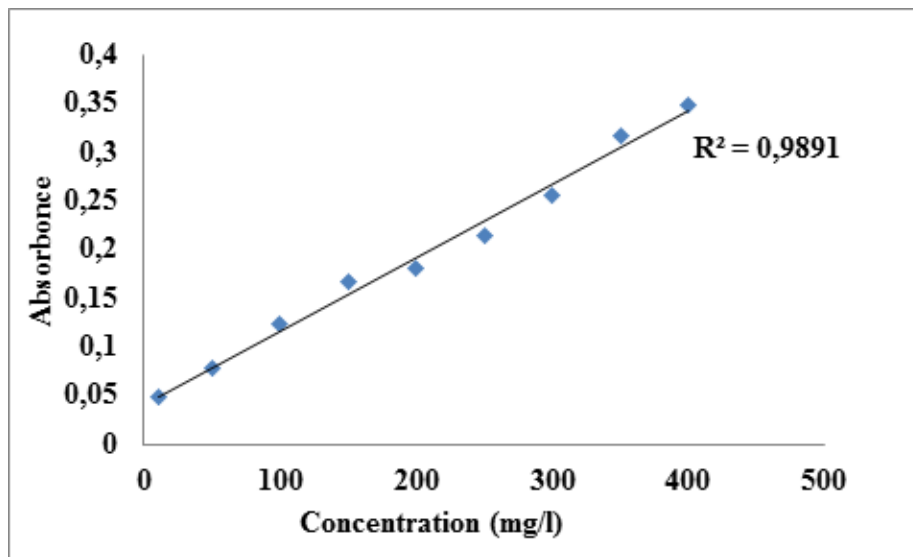


Figure 23 : Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des proanthocyanidines.

Les résultats de l'analyse spectrophotométrique des proanthocyanidines sont résumés dans le **tableau 7**. Sachant que la teneur est exprimée en microgrammes équivalents à la catéchine par gramme de matière sèche. Les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm déviation standard.

PARTIE EXPERIMENTALE : CHAPITRE II : Dosage des Composés Phénoliques

Tableau 7 : Teneur en proanthocyanidines de l'extrait de feuilles de *Rumex aristidis* Coss..

	Teneur en proanthocyanidines
Extraction classique	883,88±5,00
Extraction assistée par ultrasons	1063,88±1,25

Sur l'ensemble de ses résultats, il ressort que les feuilles de *Rumex aristidis* coss sont très riches en composés phénoliques, en l'occurrence les flavonoïdes.

D'après les résultats d'analyse, on constate que les extractions assistées par ultrasons sont toujours meilleurs que les extractions classiques.

La figure suivante qui illustre la variation de la teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des deux extraits (extraction classique et extraction assistée par ultrasons), confirme ses observations.

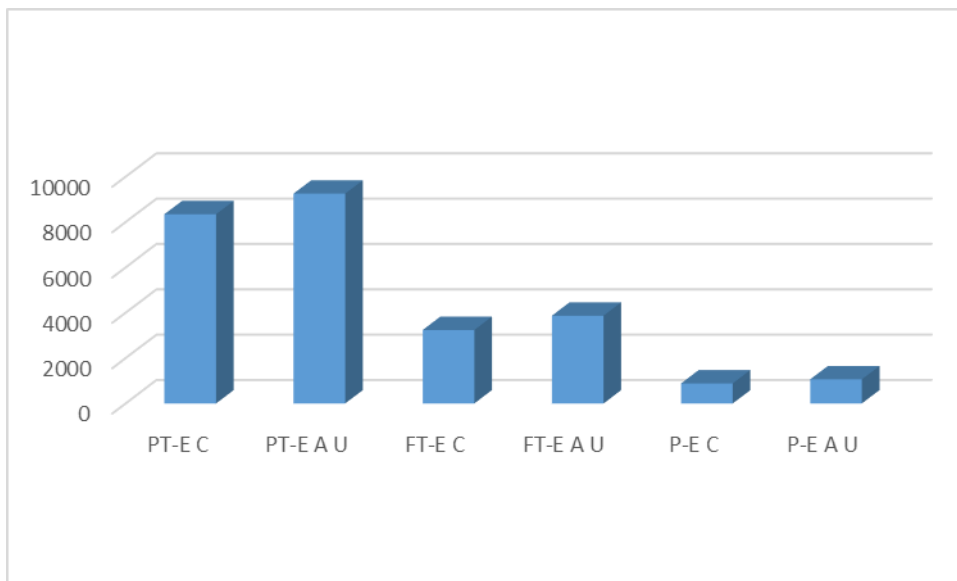


Figure : 24 : Teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en proanthocyanidines des feuilles de *rumex aristidis* coss.

PT : Teneur en polyphénols totaux ; **FT :** Flavonoïdes totaux ; **P :** proanthocyanidines ; **EC :** extraction classique ; **EAU :** extraction assistée par ultrasons.

Conclusion

Ce travail réalisé au *Laboratoire de Synthèse et Biocatalyse Organique - Annaba*, a été mené dans le cadre de la valorisation des substances naturelles de la flore Algérienne. L'objectif principal a porté sur l'étude phytochimique de *Rumex aristidis* Coss, plante endémique Algéro-tunisienne de la famille des polygonacées. Sachant que l'étude bibliographique réalisée a montré que l'on ne disposait que de peu d'informations de nature chimique ou biologique sur cette espèce.

Dans un premier temps, le screening phytochimique effectué sur les feuilles de cette plante, nous a permis de mettre en évidence la forte présence des flavonoïdes, des saponisides, des tanins et des composés réducteurs. Les résultats indiquent aussi que ces feuilles ne contiennent pas d'alcaloïdes, d'anthocyanes et d'amidon. Une faible présence des terpènes, des coumarines et des lipides a été aussi observée.

En outre, les résultats de la quantification par des méthodes spectrophotométriques des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés dans deux extraits différents (extraction classique et extraction assistée par ultrasons) confirment la richesse de cette plante en polyphénols et en flavonoïdes. Sachant que ces derniers représentent plus d'un tiers (1/3) des composés phénoliques.

Les résultats obtenus indiquent aussi que l'efficacité de l'extraction sera améliorée lorsqu'elle est assistée par ultrasons.

Ce modeste travail reste préliminaire mais il ouvre un large champ pour une étude plus poussée de *Rumex aristidis* dont la phytochimie est ignorée ainsi que ses activités biologiques. Il serait donc intéressant d'isoler et de caractériser les composés phénoliques de ces différents extraits et d'évaluer leurs activités biologiques.

Références Bibliographiques

Azzouzi S. (2016). Etude phytochimique et biologique de *Bituminaria bituminosa* (L.)

Batna.

Benamor B., (2008)- Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs ; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle, France. 186p.

Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.

Bouزيد A. et Aissani N., (2017). Évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de différents extraits des feuilles de *Brassica insularis* moris. Mémoire de master. Université BADJI Mokhtar Annaba.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. C.H .Stirton (fabaceae) et *Centaurea dimorphaviv.* (asteraceae). Thèse de doctorat.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozop W., Castillejos L., Ferret A., 2007- Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science.* Vol. (90): 2580–2595.

Cowan N. M., 1999- Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews.* Vol. 12(4): 564-582.

D.O. Kim, W.J. Seung and C.Y. Lee (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81 321–326.

Ed. Médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de diabète au maroc phytothérapie. 5 :194-203.

Edenharder, R., Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* p540, 1–18.

Feucht, W., Treutter, D., Christ, E. (1997). Rôle of flavanols in yellowingbeechtrees of the Black forest, *TreePhysiol.* p17, 335-340.

Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

Références Bibliographiques

Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001). The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.

Gavot A, (2009). Support des cours sur les métabolites secondaires. Université de Rennes 1-

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry, Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).

Hanifi, N. (1991). Importance des ressources phylogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. Publication de Actes éditions, p. 47-49.

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. p68, 2831–2846.

Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.

Hellal Z., 2011- Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.

Hogan D, koler R (2002). Why are bacteria refractory to antimicrobials. *Current opinion in Microbiology* 5 : 272-4.

Iserin P, Masson M, Restellini JP, Ybert E, Moulard F, Zha E, Dela Roque R, Dela Roque O, Vican P, Deesalle-Féat T, Biaujeaud, Ringuet J, Bloth F, Botrel A (2001). la rousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed La rousse. P10-12.

Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins, *Rev.Méd.*

Kambouche N, Merah B, Derdour A, Bellahouel S, Benziane MM, Younos C, Firkioui M, Bedouhene S, Soulimani R (2009). Etudes de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata*, plante utilisée traditionnellement en algérie phytothérapie ; 7: 197-201.

Kening Y ; Vincenzo D. L.et Normand B.1995. Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell*, 7 : 787-1799.

Khan N., Al-Daghri N. M., Al-Ajlan A.S., Alokail M.S. (2014). The use of natural

Konsole MR (2009). Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiales du Burkina Faso : cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *hoslundia opposita* Vahl et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Diplôme d'Études Approfondies, Université d'Ouagadougou.

Références Bibliographiques

Krief S (2003). Métabolites secondaires des plantes et composition animal : surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda, activités biologiques et études chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat en écologie et chimie des substances naturelles. Muséum National d'histoire naturelle.

Leybros J, Fremeaux P., 1990- Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, *Génie des procédés*. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.

Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

Martin L. Price, Steve Van Scoyoc, and Larry G. Butler. (1987). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 26, 1214-1218.)

Michelline MRK (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologiques de quelques lamiacée du Burkina Faso: Cas de *leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahi et *orthosiphon pallidus* royle ex benth.

Midoun, T. (2011). Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : *chimie appliquée*. Université Kasdi Merbah Ouargla. 53p.

Mohammedi, Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 155p.

Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. *Anim.FeedSci.Technol.* p91, 3-20.

Mueller-Harvey, I., Mc Allan, A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties, *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* p1, 151-217.

Nutrition and Metabolism. 1 (2): 100-106.

Perret C., 2001- Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel.Suisse. 184.

Petrier C., Gondrexon N., and Boldo P., 2008- Ultrasons et sonochimie. Techniques de l'ingénieur. Vol. (AF6310) : 1-14. Prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 3 (4): 162-169.

Quyoun A (2003). Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales.Exemples d'utilisation pratique de cette base. Thèse de doctorat. Université Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc : 110.

Références Bibliographiques

Santos H.M., Lodeiro C., Capelo-Martinez J.L., 2009- The Power of Ultrasound. Ultrasound in chemistry: Analytical Applications. Edited by José-Luis Capelo-Martinez, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. 32 p.

Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N. (2001).

Seaman FC., 1982-Sesquiterpenes lactones as taxonomic characters in asteraceae. In the botanical review. *Botanical garden*. Vol. (48): 121-594.

Sun, B. S., Ricardo-Da-Silva, J. M., & Spranger, M. I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, 4267–4274.) .

Suslick K.S., 1998- Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 4ème édition. Ed. *J. Wiley & Sons*, New York. USA. Pp 517-541.

Tabuti JRS, Lye KA, Dhillon SS (2003). traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda : plants, use and administration. *J. Ethnopharmacology* ; 88 : 19-44.

Teixeira da Silva J-A (2004). Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology* ; 12 : 706-720.

Vinatoru M., Toma M., Radu O., Filip P.I., 1997- The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry. T. J.* Vol. 4(2): 135-139.

Vulgaris I. et Laurus nobilis I. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar.

Wang L ., Weller C.L.,2006- Recent advances in extraction of nutraceuticals

Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus*

Zhishen et al. (1999) puis par Ghnimi Wafa., Dicko Amadou, Khouja Mohamed Larbi, El Ferchichi Ouarda Héla, Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L. *Industrial Crops and Products* 56 (2014) 43–51.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555–559.