



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف
Université Chadli Bendjedid – El Tarf

كلية العلوم والتكنولوجيا
Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم الكيمياء
Département de Chimie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie Analytique

Thème

Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques des
fruits d'Arbousier, d'une plante médicinale récoltée à la région de PNEK
(W) El-Tarf

Présenté par:

Gharboudj Feriel

Devant le Jury :

M ^{me} S. Belaid	MAA	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Présidente
Dr : B. Boughrara	MCB	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Rapporteur
M ^{me} K. Mokrani	MAA	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Examinatrice

Année Universitaire 2019-2020

A decorative border with intricate floral and scrollwork patterns surrounds the text. The border is composed of repeating motifs in each corner and along the sides, featuring stylized flowers, leaves, and swirling lines.

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu, Il m'a donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme mon formation de master et j'ai réaliser ce travail de recherche

*je veux exprimer mon profonds remerciements à mon encadreur **Mr.bouhrara boudjema** qui ma a fourni le sujet de ce mémoire et ma a guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'il ma a témoigné tout au long de ce travail.*

J'adresse aussi mon remerciements à Mr.laacheb aissa et Mme.hayate les responsables du laboratoire pédagogique d'université Chadli bendjedid el Tarf qui nous a aidés a réalisè mon travail.

Mes enseignants de département de chimie analytique pour leurs efforts dans ma formation tout au long du cursus universitaire.

*Mes remerciements s'adressent à tous les membres de jury : **M^{me} S.Belaid** pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury, ainsi que pour ses remarques et ses critiques, mes remerciements aussi s'adressent aussi à **M^{me} k .Mokrani** qui nous avons fait l'honneur d'examiner ce travail*

Enfin, je réserve un vif remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.



✓ *Je tiens à dédier ce modeste travail à :*

✓ *Ma mère fatima, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour et
pour sa présence dans ma vie.*

✓ *Mon père **Abedlmalek**, qui être fier et trouver ici le résultat de
longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer
dans la vie.*

*Mes frères **Walid, Amir et Salah** et Mes sœur: **Sabrina, Soumia et Sara***

✓ *Les familles Gharboudj et hamdoud*

✓ *Mes oncles et mes tantes.*

✓ *Mes amies, tout particulièrement :*

✓ *Sana, fadila, Aida et Sawsen ... merci pour vos conseils et vos
encouragements.*

Résumé

Résumé

Ce travail a fait l'objet d'un criblage phytochimique et une étude ethnobotanique des fruits de l'espèce *Arbutus unedo* (l'arbousier) de la famille des Ericaceae, à fin de déterminer l'activité biologique de cet espèce.

Notre travail expérimental, a permis de faire une approche sur le contenu des métabolites primaires et secondaires de cette espèce par l'application des méthodes de dosage spectrophotométriques, le screening phytochimique, consiste à détecter les différentes familles de composés existantes dans la poudre des fruits de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Mots clés : phytochimique, étude ethnobotanique, *Arbutus unedo*, métabolite primaire et secondaire, dosage spectrophotométrique, le screening phytochimique.

Abstract

This work was the subject of a phytochemical screening and an ethnobotanical study of the fruits of the species *Arbutus unedo* (the strawberry tree) of the Ericaceae family, in order to determine the biological activity of this species

Our experimental work, made it possible to make an approach on the content of the primary and secondary metabolites of this species by the application of spectrophotometric assay methods, the phytochemical screening, consists in detecting the different families of compounds existing in the powder of the fruits of the plant by qualitative characterization reactions. These reactions are based on phenomena of precipitation or coloring by specific reagents.

Keyword: phytochemical, ethnobotanical study, *Arbutus unedo*, primary and secondary metabolite, spectrophotometric assay, phytochemical screenin

ملخص

يهدف هذا العمل الى فحص كيميائي نباتي ودراسة نباتية عرقية لثمار القطلب (شجرة الفراولة) من عائلة خنجية من أجل تحديد النشاط البيولوجي لهذا النوع

مكننا عملنا التطبيقي من اتخاذ نهج بشأن محتوى المستقلبات الأولية والثانوية لهذا النوع من خلال تطبيق طرق الفحص الطيفي الضوئي ، والفحص الكيميائي النباتي يتمثل في الكشف عن مختلف العائلات والمركبات الموجودة في مسحوق ثمار النبات من خلال التفاعلات النوعية للتوصيف. تستند هذه التفاعلات إلى ظاهرة الترسيب أو التلوين بواسطة كواشف محددة

الكلمات المفتاحية: كيمياء نباتية. القطلب، مستقلب اولي و ثانوي، المقايسة الطيفية، فحص كيميائي نباتي.

SOMMAIRE

Remerciement.....	
Dédicace.....	
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures.....	VI
Liste des photos.....	VIII
Symbole et Abréviations.....	X
Résumé	XII
Introduction générale.....	2

Partie I : Partie bibliographique

Chapitre I :

Généralité sur la phytothérapie et Les plantes

I. 1. La phytothérapie	6
I. 1.1. Définition.....	6
I. 2. Les plantes médicinales	6
1.2.1. Définition	6
1.2.2. Historique	6
I.3. Plantes médicinales en Algérie.....	8
I.4. Utilisation des plantes médicinales en thérapeutique.....	8
I.5. Méthodes d'utilisation des plantes médicinales.....	8
I.6. Parties de plantes médicinales utilisées.....	9
I.7. Les formes d'utilisation des plantes médicinales	9
I.8. Interaction entre plantes et médicaments.....	10
I.9.1. Définition Les test photochimique.....	11
I.10.1.Définition des métabolites secondaires	11
I.10.2.Classifications et fonctions des métabolites secondaires.....	11
I.10.2.1. Les composés phénoliques	12
I.10.2.1.1.Les acides phénoliques.....	12
I.10.2.1.2.Les flavonoïdes.....	13
I.10.2.1.3 Les tanins	13
I.10.2.1.3.1. Les tanins hydrolysables	13
I.10.2.1.3.2.Les tanins condensés.....	14

I.10.2.1.4. Les coumarines.....	14
I.10.2.2. Les alcaloïdes.....	14
▪ Les alcaloïdes vrais	15
▪ Les pseudo-alcaloïdes	15
I.10.2.3. Les terpenoïdes	15

Chapitre II
Etude ethnobotanique et la méthode d'extraction
des métabolites secondaires

II.1. Introduction.....	17
II.2. Définition de L'ethnobotanique	17
II.3. Informations ethnomédicales.....	17
II.4. L'extraction végétale.....	18
II.4.1. Définition	18
II.5. Méthodes d'extraction des métabolites secondaires.....	19
II.5.1. Méthodes conventionnelles : extractions par solvants	19
II.5.1.1. L'infusion.....	19
II.5.1.2. Extraction par macération.....	19
II.5.1.3. Extraction par décoction.....	20
II.5.1.4. Extraction par Soxhlet.....	20
II.5.2. Techniques non-conventionnelles.....	21
II.5.2.1. Extractions assistée par enzymes (EAE).....	21
II.5.2.2. Extraction par champs électrique pulsé (CEP).....	22
II.5.2.3. Extractions par fluides supercritiques (SFE).....	22
II.5.2.4. Extraction par fluides pressurisés (PFE) et explosion à la vapeur.....	22
II.5.2.5 Extraction assistée par Micro-ondes (MAE).....	22

Chapitre III : Matière grasse

III.1. Introduction.....	25
III.2. Définition de la matière grasse	25
III.3. Le rôle biologique.....	25

III.4.Composition générale des huiles végétales.....	26
Triglycérides.....	27
III.5.Classification des acides gras.....	27
a) Les acides gras saturés (AGS).....	27
b) Les acides gras mono-insaturés (AGMI).....	28
c) Les acides gras polyinsaturés (AGPI).....	28
Acides gras essentiels (AGE).....	29
Les acides gras libres(AGL).....	29
III.6.Les insaponifiables.....	29
III.7.Caractéristiques physico-chimiques.....	29
III.7.1.Les caractéristiques chimiques.....	30
a. Indice d'acide (I.A).....	30
b. Indice de saponification (I.S).....	30
c. Indice d'iode (I.I).....	30
d. Indice de peroxyde (I.P).....	30
III.7.2.Les caractéristiques physiques	31
a- Indice de réfraction(I.R).....	31
b- organoleptiques.....	31
III.8. Bactériologie.....	31
1. Définition.....	31
I.2. Morphologies des bactéries.....	32
I.4. Formes et associations des bactéries.....	32
I.4.1. Sphériques	32
I.4.2. Cylindriques ou en bâtonnets.....	32
I.4.3. Spirales.....	32

2^{ème} partie : Monographie de la plante sélectionnée

(Fruits d'arbousier)

I.1. Etude de la plante.....	34
I.2.Les caractéristiques de l'arbousier	35
I.3. Caractères botaniques.....	35
I.4. Principes actifs majeurs	35

1.5. Les utilisation de l'arbousier.....	35
1.5.1. utilisation interne	36
1.5.2. Utilisation externe.....	36
1.6 les bienfaits de l'arbousier sur la santé	36
1.7. Description	36

3^{ème} partie :

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes.....	38
1.1 Présentation de la région d'étude.....	38
▪ Matériel végétal et site de récolte	38
▪ Situation géographique	38
1.2. Séchage, broyage et conservation de la plante.....	39
▪ Séchage à l'étuve.....	39
▪ Broyage.....	39
▪ Tamisage	40
▪ Conservation.....	40
1.3. Paramètre chimique	40
1.3.1. Teneur en cendres.....	40
1.4. Screening phytochimique.....	41
1.4.1. Les alcaloïdes.....	41
1.4.2. Les saponosides (test de mousse).....	41
1.4.3. Les flavonoïdes.....	42
1.4.4. Les tannins.....	42
1.4.5. Les huiles volatiles.....	42
1.4.6. Quinones libre.....	42
1.5. Les dosages par spectrophotomètre.....	42
1.5.1. Dosage des sucres solubles	42
1.5.2. Dosages des Protéines.....	43
1.5.3. Dosage des polyphénols.....	43
1.6. Détermination du rendement d'extraction	44
1.7. Extraction solides-liquide	44

1.7.1. Extraction par soxhlet	44
1.7.2. Extractions des polyphénols par macération à froid	45
1.8. Analyse de l'extrait (méthanolique) par CCM	45
Principe.....	46
.Mode opératoire	46
A/ préparation de la phase mobile	46
B/ la phase stationnaire.....	46
C/ le dépôt des échantillons	46
D /Développement de la plaque.....	46
E/ Révélation du chromatogramme	47
2. Résultats et discussion	48
2.1. Paramètre chimique	48
2.1.1. Teneur en cendre	48
2.2. Testes phytochimiques	48
2.3. Les dosages	50
▪ Dosage des sucres	50
▪ Dosage des protéines.....	51
▪ Dosage des polyphénols.....	51
1.4. Le rendement d'extraction de la matière grasse.....	52
1.4.1. Le rendement d'extraction des polyphénols	53
1.4.2. Le rendement d'extraction de la matière grasse	53
1.5. La chromatographie sur couche mince.....	53
Conclusion	56
Références bibliographiques.....	58

Liste des figures

Liste des figures

N °	Titre	Page
01	Structures de quelques acides phénols	11
02	Structure de base des flavonoïdes	12
03	Structure de tanins hydrolysables	13
04	Structure de tanins condensés	13
05	Structure de base des coumarines	13
06	Structure de base de l'isoprène	14
07	Schéma générale d'une extraction végétale	17
08	Schéma d'un montage d'extraction Soxhlet	20
09	Représentation schématique d'un triglycéride	25
10 :	Réaction de formation de Triglycéride	25
11	Schéma d'un acide gras saturé (l'acide stéarique C18)	26
12	Structure exemple d'acide gras mono-insaturé Acide oléique	27
13	Exemples des acides gras polyinsaturés	27
14	Situation géographique du site de récolte (lac des oiseaux)	39
15	Contenu en sucre de fruit d'arbutus	50
16	Contenu en protéines de fruit d'arbutus	51
17	Contenu en polyphénols de fruit d'arbutus	52

Liste des tableaux

N °	Titre	Page
01	Identification scientifique de l'arbousier	18
02	Solvants utilisé	41
03	Résultats des screening phytochimiques	48
04	04 : Rendement d'extraction de la matière grasse et des polyphénols	52
05	les rapports frontaux du différent constituant de fruit d'arbutus	54

Liste des photos

N°	Titre	Page
01	exemple de l'extrait (thé) par l'infusion	18
02	exemple de l'extraction par macération	19
03	exemple de l'extraction par décoction	19
04	Extraction assistée par Micro-ondes	22
05	exemple de la matière grasse végétale	24
06	fruit de l'arbousier	33
07	la matière végétale (fruit d'arbutus)	38
08	séchage à l'étuve	39
09	broyeur électrique	40
10	poudres végétales obtenues après tamisage du fruit séché	40
11	Appareille de soxhlet	45
12	Rotavapeur	45
13	Eluant 01 : (hexane / acétate d'éthyle)	47
14	Eluant 02 : (toluène / acétate d'éthyle)	47
15	Résultat de test des tannins	48
16	Résultat des saponosides	49
17	Résultat de test flavonoïdes	49
18	Résultat de test des alcaloïdes	49
19	Résultat de test des Quinones	50
20	Résultat de test des huiles volatiles	50
21	Révélation chimique de plaque CCM sous UV	53

*Symbole et
Abréviation*

Symbole et Abréviation

T : Température.

° : Degré

°C : Degré Celsius.

m : Mètre.

nm : Nano- mètre

Km² : Kilomètre carré

Cm : Cent mètre.

% : Pourcentage.

h : Heure.

mn : Minute.

s : Seconde.

g : Gramme.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

Cd : La teneur en cendres.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

NH₄OH : Solution de l'ammoniaque

MeOH : Méthanol.

FeCl₃ : Le chlorure de fer

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

MS : Matière sèche.

µl : micro-litre.

BSA : Bovin Sérum Albumine.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

R_f : Le rapport frontal.

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale :

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. [1].

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme. En effet, le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'Homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux [2].

Les médecines « douces », particulièrement la phytothérapie, connaissent un succès considérable dans de nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, utilisent les plantes médicinales comme principal traitement, du fait de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations [3].

Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits du métabolisme secondaire celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal [4]. De plus, un grand nombre de ces molécules ont également des intérêts multiples, dans l'industrie alimentaire et en cosmétologie [5].

Parmi ces composés, on retrouve les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes [6].

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques. En effet, le mésusage des antibiotiques peut conduire à la colonisation ou l'infection de patients par des bactéries résistantes aux antibiotiques, tel que *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et des bacilles à Gram négatif multirésistants comme les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) ou de carbapénémases [7,8].

De ce fait, les végétaux sont de plus en plus utilisés pour l'extraction des substances physiologiquement actives ou pouvant être transformées en médicament. La recherche de nouvelles molécules possédant un pouvoir antibactérien est particulièrement très active, notamment au niveau des plantes de la pharmacopée africaine [9].

Introduction générale

L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou non connues dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs [10]. De plus, un regain d'intérêt envers la phytothérapie durant ces dernières années a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et surtout de son aspect toxicologique [11].

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies. L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation mondiale de la santé, environ 65-80 % de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne [12].

En Kabylie, des connaissances traditionnelles relatives aux plantes et à leurs propriétés sont encore assez répandues ; certaines espèces sont reconnues par la population comme étant bénéfiques pour la santé ou au contraire toxiques. [13].

Certaines espèces sont reconnues par la population comme étant bénéfiques pour la santé ou au contraire toxique.

Notre travail est présenté comme suit :

La première partie est essentiellement bibliographique, consacre à une présentation générale sur la phytothérapie et les plantes, une étude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires, une description botanique de l'espèce l'arbousier (*Arbutus unedo*), extraction solide –liquide et des généralités sur les activités biologiques.

La deuxième partie est expérimentale consiste à la réalisant d'un screening phytochimique de la partie aérienne de cette plante, un dosage des polyphénols, des sucres et des protéines.

La troisième partie est pour la discussion des résultats obtenus.

Enfin une conclusion générale sur cette étude.

Chapitre I :

Généralité sur la

phytothérapie et Les

plantes médicinales

I. 1. La phytothérapie

I. 1.1. Définition

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques «photon »et «thérapie »qui signifient respectivement «plante »et «traitement »[14].

D'après l'OMS(2000),la phytothérapie est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisés pour maintenir les être humains en bonne santé ainsi pour prévenir , diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques, mentales ou le déséquilibre social. Elle est reliée à une expérience pratique et à des observations faites de génération en génération, et transmises de façon orale ou écrite [15].

I. 2. Les plantes médicinales

1.2.1. Définition

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée française comme des drogues végétales qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie de plante et qui possèdent des propriétés médicamenteuses. L'expression « drogue végétale » désigne une plante ou une partie de plante, utilisée le plus souvent sous la forme desséchée, ou à l'état frais dans la fabrication des médicaments.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit la plante médicinale comme « une Plante sauvage ou cultivée utilisée à des fins médicinales » [3]. Ainsi, pour l'organisme international, les médicaments à base de plantes incluent : des plantes, des matières végétales, des préparations à base de plantes et des produits finis qui contiennent comme principes actifs des parties de plantes, d'autres matières végétales ou des associations de plantes. [16].

En d'autres termes, on qualifie de plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisés en médecine naturelle mais peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelé phytothérapie. Parmi les principes actifs les plus courants des plantes médicinales, on peut nommer les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes. [17].

1.2.2. Historique

Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaborés des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes médicinales à des fins

Chapitre I : Généralité sur la phytothérapie et Les plantes médicinales

thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. L'Homme, poussé par sa curiosité, fut tenté de goûter à tout ce qui lui tombait sous la main, s'exposant ainsi à l'immense pouvoir des végétaux apparemment inoffensifs. Au fil des siècles, apprenant à distinguer le comestible du mortel, à se servir des substances toxiques aux dépens de leurs ennemis, à reconnaître les vertus curatives cachées dans leur environnement naturel, nos ancêtres nous ont légué une longue chaîne de savoirs traditionnels dont l'ensemble constitue la médecine traditionnelle actuelle [18].

Le tout premier témoignage de l'utilisation des plantes médicinales est la découverte de graines de pavots et de graines de ricin dans certaines tombes anciennes égyptiennes, révélant leur emploi dans cette partie d'Afrique dès 1500 av. J-C. Des écritures retrouvées sur des papyrus tels que le papyrus d'Ebers confirment que des plantes médicinales furent utilisées en Egypte ancienne. Plus tard, la Grèce antique se distingue avec l'apparition des premiers thérapeutes comme Hippocrate. Il rassembla et écrivit quelques 400 remèdes simples à base de plantes. Parmi les plantes médicinales écrites par Hippocrate figurent le pavot, la verveine, la menthe, la sauge et le romarin [16]. Il différencia également l'usage interne et l'usage externe et définît la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique [19]. Théophraste d'Athènes, biologiste-botaniste, produisit un grand nombre de manuscrit dont le célèbre *Historia plantarum*, qui devint le livre de botanique standard en son temps et pendant des années après sa mort. Par la suite, Dioscoride publia la grande œuvre, *materia medica*, qui contenait la description de quelques 600 plantes médicinales (genévrier, bardane, pivoine, etc.) [16].

Au moyen âge, les écrits de Galien devinrent populaires avec plus de 500 livres. Il traitait les maladies essentiellement par les plantes médicinales. Les systèmes de médecine allopathique et homéopathique actuels sont basés sur les méthodes préconisées par Galien. [20,21,16].

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondées vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées [22]. La pharmacologie s'oriente de plus en plus vers des traitements à base de plantes, car l'efficacité de la synthèse chimique a largement atteint ses limites, comme en témoigne l'antibiorésistance microbienne, à l'origine de la recrudescence des maladies nosocomiales. [23].

I.3. Plantes médicinales en Algérie

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits aux IX^{ème} siècles par Ish à-Ben-Amran et Abdallah-Ben- Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVII^{ème} et au XVIII^{ème} siècles [24].

I.4. Utilisation des plantes médicinales en thérapeutique

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [23]. La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés.

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées, huiles essentielles [25]. Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques. Ces propriétés antifongiques ont été confirmées par de nombreux travaux sur les souches de levures, de dermatophytes et d'*Aspergillus*. [26].

I.5. Méthodes d'utilisation des plantes médicinales

En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches, ce qui n'est pas toujours possible, ou séchées, entrant ensuite éventuellement dans des préparations diverses préservant leurs principes actifs. On les administre sous forme de teintures alcooliques, macérats, tisanes, compresses, baumes... Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs [4].

Des procédés plus récents permettent d'obtenir l'ensemble des principes actifs, la plus rudimentaire consiste en un broyage fin (cryobroyage par exemple) de la plante après séchage et permet l'obtention d'une poudre. Cette poudre peut être ensuite présentée sous forme de comprimés, gélules, sachets, etc. Un autre procédé, l'extraction, optimisant le principe de la tisane, permet l'obtention d'une poudre purifiée et concentrée en principes actifs. Après le broyage grossier des plantes, la poudre est plongée dans une solution naturelle, le solvant (eau ou alcool), adapté aux propriétés physicochimiques des principes actifs recherchés. Cette phase cruciale permet d'isoler tous les principes actifs et de conserver leur synergie d'action.

Le liquide ainsi obtenu va ensuite subir une phase de filtration afin d'éliminer les composés solides non assimilables tels que la cellulose. Puis une phase de séchage modéré sous vide qui éliminera progressivement le solvant et d'éventuels contaminants [4].

I.6. Parties de plantes médicinales utilisées

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique.

Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée. Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui : [27]

Racine: Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues

Rhizome : le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.

Bulbe : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.

Tubercule: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse. Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante.

Écorce: L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice.

Bois: Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : Santalum album de la famille Santalaceae

Fleurs : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.

Fruits : Exemple (Punica granatum ; Citrus sp).

Graines : Exemple (Ricinus communis; Foeniculum vulgare

I.7. Les formes d'utilisation des plantes médicinales

Il existe plusieurs formes d'utilisation des plantes dont les plus connues sont :

- Les tisanes
- Les poudres
- Les extraits (teintures, suspensions intégrales de plantes fraîches...) •
- Les gâbles
- Les comprimés

- Les pommades
- Les huiles essentielles (substances volatiles obtenues le plus souvent par entraînement à la vapeur d'eau)

I.8. Interaction entre plantes et médicaments

Le sujet de l'interaction entre les plantes et les médicaments fait souvent l'objet de vives discussions dans les cercles de santé au naturel. Certains pensent que les plantes médicinales traditionnelles ne causeront jamais de problèmes même si elles sont prises en parallèle avec des médicaments. D'autres pensent que toute plante, quelle qu'elle soit, va interagir d'une manière négative avec un traitement en cours [28].

Aujourd'hui, nous évoluons dans un contexte nouveau. Historiquement, les gens n'avaient que les plantes pour se soigner. Ensuite, la médecine moderne et le médicament ont supplanté les herbes. Pendant des décennies, les herbes sont plus ou moins tombées aux oubliettes.

C'est uniquement au travers de ces dernières années que les gens ont commencé à réintroduire les plantes en parallèle avec les médicaments. Ceci s'est fait parfois sous la supervision du médecin traitant, souvent sans aucune supervision.

Compte tenu de cette situation relativement récente, nous n'avons donc que peu de cas documentés d'interactions négatives. Ceci ne veut pas dire que ces interactions n'existent pas, juste que nous sommes dans une situation nouvelle qui va demander encore plusieurs décennies de pratique.

Certes nous avons les études scientifiques pour nous aider à comprendre les interactions sections potentielles mais ceci n'est qu'une vue partielle souvent basée sur des constituants isolés de la plante. Ce qui se passe "in vivo" avec des extraits de plante entière est encore une autre histoire [28].

I.9. Les test photochimique

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette [29].

I.9.1. Définition Les test photochimique

Le screening Phytochimique est un test qualificatif qui permet de mettre en évidence les composés chimiques se trouvant dans un produit végétal ou autres, tel que :

- Les alcaloïdes
- Les saponines
- Les polyphénols
- Les flavonoïdes
- Les quinones

La présence de ces derniers est attestée par la formation d'un précipité, le changement de coloration du milieu [30].

I.10.M éabolites secondaires

Le métabolisme secondaire dérive du métabolisme primaire et fournit des métabolites à faibles quantités, mais dont l'application dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance [31].

I.10.1.D éinition des m éabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophe [32]. Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits [33].

Ces molécules constituent un groupe de produits naturels qui sont explorés pour des propriétés très divers : antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antifongiques, analgésique, etc [31.34].

I.10.2.Classifications et fonctions des m éabolites secondaires

Nous pouvons classer les métabolites secondaires en trois groupes, chacune renferme une très grande diversité biologique [34].

- Les composés phénoliques
- Les composés azotés (les alcaloïdes).
- Les terpènes.

I.10.2.1. Les composés phénoliques :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Ces composés sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc [34].

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. Ils peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes [35].

Les principales sous-classes des composés phénoliques sont :

I.10.2.1.1. Les acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ce sont des dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique ou l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique (fig.1) [34].

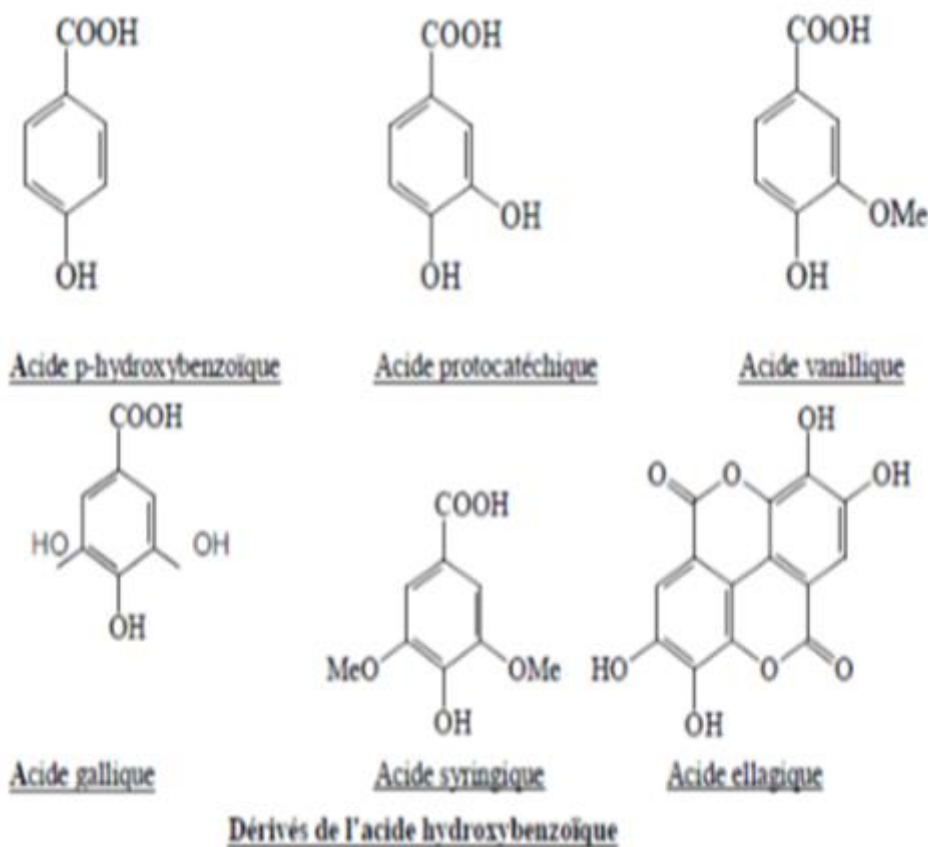


Figure 01 : Structures de quelques acides phénols

I.10.2.1.2. Les flavonoïdes

Ce sont des substances polyphénoliques de faible poids moléculaire. Ils ont en commun une structure chimique de base en C₁₅ (C₆-C₃-C₆) et possèdent un squelette carboné constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi un hétérocycle (C) (fig. 2) [36].

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [37,34].

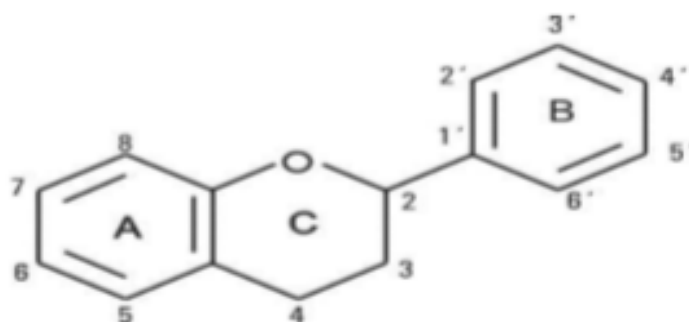


Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes

I.10.2.1.3 Les tanins

Ce sont des produits naturels polyphénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leur solution aqueuses [38]. Leur structure est formée par des unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation [37].

Nous distinguons habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétiques, les tanins hydrolysables et les tanins condensés. [34].

I.10.2.1.3.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont composés de deux types d'unités de base, à savoir un glucide (la plupart du temps le D-glucose) et des acides phénoliques. Il s'agit des gallotanins pour lesquelles le glucide est estérifié par l'acide gallique et des ellagitanins où le glucide est estérifié par l'acide ellagique (fig. 3) [39].

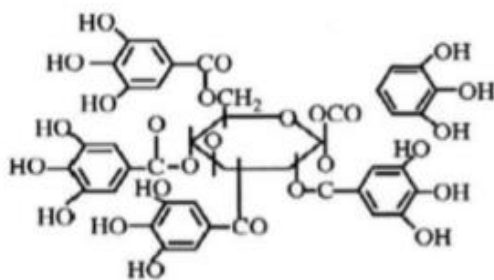


Figure 03 : La structure de tanins hydrolysables

I.10.2.1.3.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères de polyhydroxyflavan-3-ol, liés la plupart du temps par des liaisons entre C4 et C8 et sporadiquement entre C4 et C6. (fig. 4) [39].

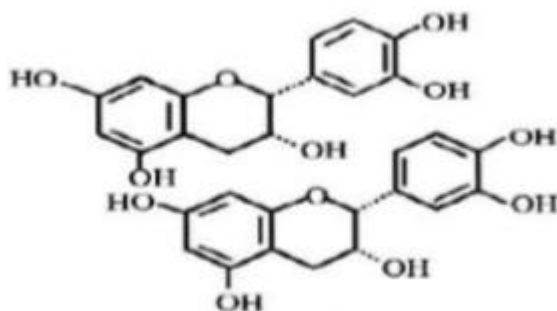


Figure04 : La structure de tanins condensés [37].

I.10.2.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques (fig.5) [34].

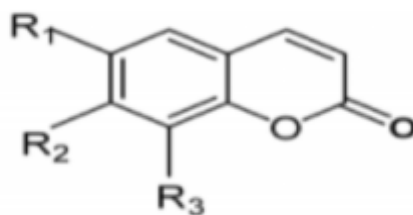


Figure 05: structure de base des coumarines [40].

I.10.2.2. Les alcaloïdes

Ce sont les principaux métabolites secondaires azotés, la plupart ont des propriétés basiques. Environ 12000 composés sont synthétisés à partir des acides aminés constitués d'un hétérocycle [41]. Nous distinguons 3 classes :

Les alcaloïdes vrais : ce sont des dérivés d'acides aminés, dont l'atome d'azote est inclus dans le système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. Ils représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes et ils sont toxiques .

Les pseudo-alcaloïdes : ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés [42]. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate [43].

Les proto-alcaloïdes : ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau [34].

I.10.2.3. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des dérivés d'unité isopréniques IPP (iso-pentényl-pyrophosphate) [44].

Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (fig. 6): hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40) et polyterpènes [45].

Dans la composition de la plupart des huiles essentielles, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie [45].

Les terpénoïdes sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (piments, curies) [46]

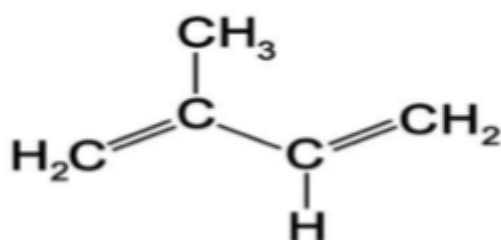


Figure 06 : Structure de base de l'isoprène [47].

Chapitre II

*Etude ethnobotanique et
les méthodes d'extraction
des métabolites secondaires*

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

II.1.Introduction

L'ethnobotanique étudie les relations entre les groupes humains, leur environnement et les plantes, à savoir l'utilisation et le développement des plantes dans différents espaces culturels et temporels. Cette discipline définit le rôle des plantes dans les sociétés humaines.

L'ethnobotanique, jusqu'ici cantonnée à la production de connaissances patrimoniales, pourrait être mobilisée pour répondre à d'autres enjeux, notamment environnementaux, comme la gestion durable des ressources naturelles et la conservation de la biodiversité

II.2.Définition de L'ethnobotanique

L'ethnobotanique est une science complétant l'ethnozoologie pour former l'ethnobiologie; elle s'intéresse aux rapports et interactions entre l'Homme et les végétaux, la flore. Lorsque les études portent sur l'histoire ancienne des interactions, il s'agit de paléoethnobotanique. La phytosociologie est impliquée en ethnobotanique.

L'ethnobotanique étudie l'interaction des groupes humains avec des plantes: leur utilisation pour la fabrication de leurs outils et instruments de protection (maisons, vestiaires), aliments pour animaux, guérir les maladies avec les plantes médicinales, communiquer avec leurs pairs (papier, encre, tatouages, tissus) et leur association dans la vie sociale (rituels, jeux, musique, etc.) [48].

L'utilisation traditionnelle de certaines espèces végétales a donné lieu à des spécialisations scientifiques réelles comme l'ethnomycologie avec les champignons.

L'ethnopharmacologie découle des études ethnobotaniques, en ce qu'elle concerne l'utilisation de la flore et les effets des substances naturelles dotées d'une activité biologique traditionnelle (les plantes et les animaux et les minéraux médicinales).

À l'heure actuelle, l'ethnobotanique exige une variété de compétences: la formation botanique pour l'identification et la conservation des spécimens de plantes, de la formation anthropologique pour comprendre les concepts culturels dans la perception des plantes, la formation linguistique, au moins assez pour transcrire des termes natifs et comprendre la morphologie native de la syntaxe et la sémantique. Les connaissances dans tous ces domaines ne sont pas nécessaires pour un seul ethnobotaniste; il est généralement composé d'une équipe [48].

II.3.Informations ethnométriques

L'enquête a été réalisée auprès de 600 personnes différentes sélectionnées de manière aléatoire, sous forme d'entretien individuel à fin d'obtenir toute l'information sur l'enquête et les plantes utilisées par celui-ci en phytothérapie et en nutrition.

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

En dernier temps, les données inscrites sur les fiches techniques ont été traitées et analysées. En parallèle, une recherche bibliographique a été faite pour une identification scientifique de l'espèce mentionnée [49].

Tableau 1 : Identification scientifique de l'arbousier

N°	Nom de la plante	La maladie traitée	Partie utilisée	Saison de collecte	Mode d'emploi	La famille
01	Arbousier	Uro-génitale	Le fruit	Hiver	Poudre-aigre (alimentation)	Ericaceae

II.4.L'extraction végétale

II.4.1.Définition

L'extraction végétale est un procédé visant à extraire certains constituants présents dans les plantes. C'est une opération de séparation solide/liquide : un corps solide (le végétal) est mis en contact d'un fluide (le solvant). Les composés d'intérêts végétaux sont alors solubilisés et contenus dans le solvant. La solution ainsi obtenue est l'extrait recherché.

Le solvant sera ensuite éventuellement éliminé afin d'isoler l'extrait végétal. Dans le cas où il est alimentaire, il n'est pas obligatoire de le dissocier de l'extrait. Dans le cas contraire, une deuxième opération de séparation permet d'obtenir un extrait sec.

Aujourd'hui, l'appellation d'« extrait » est fréquemment utilisée abusivement. En effet, seule l'extraction solide/liquide permet d'aboutir à leur production, mais parfois de simples poudres de plantes broyées sont commercialement appelées 'extraits'.

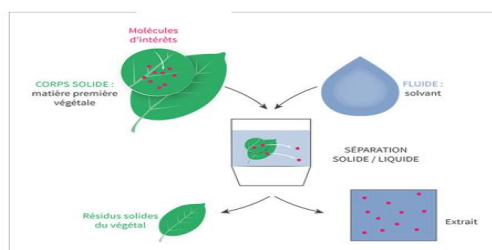


Figure07 : Schéma générale d'une extraction végétale

Les premiers extraits étaient obtenus par extraction aqueuse essentiellement ou fermentation alcoolique et selon des procédés tels que l'infusion, la macération, la décoction ou

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

l'hydrodistillation. La simplicité de ces procédés, les outils, les matériaux ou encore les modes de chauffe d'alors faisaient de l'extracteur un homme de l'art plutôt qu'un scientifique [50].

II.5.Méthodes d'extraction des métabolites secondaires

II.5.1.Méthodes conventionnelles : extractions par solvants

Les méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites se basent le plus souvent sur l'affinité des molécules pour différents solvants et sur l'utilisation de chauffage et/ou d'agitation.

II.5.1.1.L'infusion

Cette dernière est notamment nécessaire si l'on utilise les parties fragiles, nobles de la plante (telles que les fleurs, sommets fleuris). Elle consiste à recouvrir la substance dont on veut extraire le principe actif d'un solvant bouillant, en général de l'eau. On maintient ensuite le tout à température ambiante, le temps du refroidissement. On laisse infuser en général 10 à 20 minutes puis on filtre la solution et on consomme.

C'est un procédé simple et rapide qui permet une bonne extraction des principes actifs, ceux-ci étant peu altérés par la chaleur, car la température, qui est de 100 ° au début baisse très rapidement. On a un balayage de températures par le solvant qui permet de dissoudre les différents principes actifs dont la solubilité varie en fonction de la température. Par exemple : le thé [51].



Photo 01 : exemple de l'extrait (thé) par l'infusion

II.5.1.2.Extraction par macération

Ce procédé est utilisé pour les principes actifs très solubles à froid ou altérables à la chaleur. La substance dont on veut extraire le principe actif est mis en contact avec un solvant pendant un temps variable (plusieurs heures à plusieurs jours) suivant la nature de la drogue, à la température ambiante. Le solvant peut être différent suivant le but recherché (huile, alcool, eau ...)

On peut aussi associer la macération à la décoction, on réalise une décoction et ensuite on laisse macérer toute la nuit, après avoir retiré le récipient de dessus la source de chaleur.

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

L'inconvénient de cette méthode est qu'elle est longue à la réalisation et qu'elle est de faible rendement mais elle respecte le principe actif, elle ne modifie ni sa structure ni ses propriétés. [51].



Photo 02 : exemple de l'extraction par macération

II.5.1.3.Extraction par décoction

Elle est utile lorsque l'on utilise les parties compactes, dures, ligneuses de la plante, qui contiennent difficilement leurs principes actifs (racines, rhizomes, écorces).

La substance dont on veut extraire le principe actif est maintenue avec le solvant à ébullition pendant un temps déterminé (en général 10 à 20 minutes). Puis on filtre et on consomme à la température requise.

La décoction permet une extraction des principes actifs plus complète que l'infusion, mais ne s'applique pas partout, la température modifiant ou dégradant certains principes [51].



Photo 03 : exemple de l'extraction par décoction [51].

II.5.1.4.Extraction par Soxhlet

L'extraction en Soxhlet est représentée la méthode de référence pour les extractions de métabolites des plantes. L'efficacité des autres méthodes d'extraction est ainsi comparée aux résultats obtenus en Soxhlet. De la biomasse est mise en contact avec du solvant frais à chaque cycle permettant l'extraction complète des métabolites sans saturation du solvant extracteur. Cette méthode consiste en une succession de trois extractions, soit une extraction en Soxhlet au mélange éthanol/toluène suivie d'une extraction, toujours en Soxhlet, à l'éthanol, pour finir par une hydrodistillation à l'eau bouillante en erlenmeyer. D'autres

extractions en Soxhlet ont également été réalisées pour tester l'efficacité de différents solvants [52].

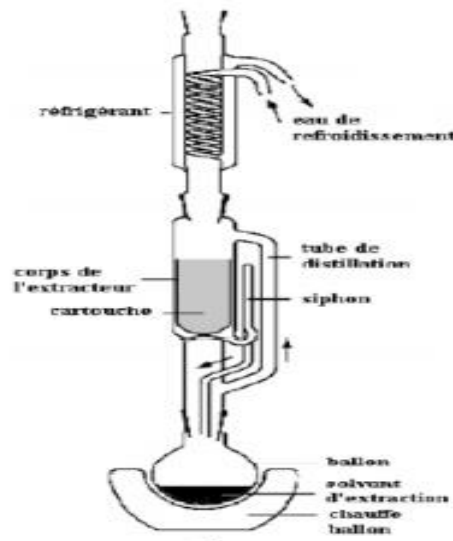


Figure : 08 Schéma d'un montage d'extraction Soxhlet [52].

II.5.2. Techniques non-conventionnelles

Pour pallier aux inconvénients des méthodes conventionnelles, comme les temps d'extraction longs et les quantités importantes de solvants utilisées, de nouvelles méthodes ont été développées. Parmi celles-ci, quelques méthodes semblent plus prometteuses comme les extractions assistées par enzymes, par micro-ondes, par fluides supercritiques, par liquide pressurisés, par champs électriques pulsés ou encore par ultrasons.

II.5.2.1. Extractions assistée par enzymes (EAE)

La digestion enzymatique de la lignocellulose permet la libération du contenu intracellulaire dans le milieu et facilite l'action ultérieure des solvants. Deux méthodes principales sont utilisées, l'extraction aqueuse assistée par enzymes et la pression à froid assistée par enzymes. L'efficacité de ces méthodes dépend de l'enzyme utilisée, de sa concentration, de la taille des particules à traiter ainsi que du temps d'exposition entre l'enzyme et la biomasse. Ainsi, Wang et coll. ont démontré que la combinaison d'un prétraitement biologique et d'une extraction à l'eau chaude permet d'augmenter les rendements jusqu'à 2,7 fois par rapport à l'extraction à l'eau chaude seule. Dans un premier temps, les enzymes produites par les champignons vont hydrolyser la matrice

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

lignocellulosique. Les composés solubles sont ensuite extraits lors de l'extraction à l'eau chaude [53].

II.5.2.2.Extraction par champs électrique pulsé(CEP)

L'extraction par champ électrique pulsé repose sur la destruction de la paroi cellulaire pour améliorer l'extraction par solvant suivant l'exposition au champ électrique. La biomasse est exposée à un champ électrique qui vient briser les interactions entre les molécules ce qui augmente la perméabilité de la membrane cellulaire. L'efficacité de ce traitement dépend donc, entre autre, de la force du champ électrique appliqué, de la température et de la biomasse à extraire. De plus, cette méthode permet de maintenir une température relativement faible, ce qui limite la dégradation de composés thermolabiles.

II.5.2.3.Extractions par fluides supercritiques (SFE)

L'extraction par fluides supercritiques est notamment utilisée pour l'obtention de café sans caféine. Un fluide supercritique est obtenu lorsqu'un produit est soumis à des conditions de température et de pression au-delà de son point critique. Au-delà de ce point, l'état gazeux n'est plus distingué de l'état liquide, ce qui fait que le fluide supercritique possède les propriétés d'un gaz (diffusion, viscosité et surface de tension) et celle d'un liquide (densité et pouvoir de solvatation). Un fluide supercritique permet l'extraction de métabolites dans des temps plus courts et avec des rendements plus élevés que les méthodes conventionnelles.

II.5.2.4.Extraction par fluides pressurisés (PFE) et explosion à la vapeur

L'extraction par fluides pressurisés est une méthode récente, 1996, aussi connue sous le nom d'extraction accélérée par fluide, extraction augmentée par solvant ou extraction par solvant à haute pression. L'extraction à haute pression permet de maintenir le solvant sous forme liquide, au-delà de son point d'ébullition, et facilite l'extraction des molécules.

L'explosion à la vapeur de biomasse lignocellulosique est un procédé physico-chimique de plus en plus utilisé. La biomasse est exposée à de la vapeur à haute température et à haute pression pendant quelques minutes, avant de passer à la pression atmosphérique.

II.5.2.5 Extraction assistée par Micro-ondes (MAE)

Cette méthode relativement récente combine l'utilisation de micro-ondes (300 MHz à 800 GHz) à la méthode conventionnelle d'extraction par solvant. L'énergie délivrée dans le milieu est absorbée et est convertie en énergie thermique.

Chapitre II : Etude ethnobotanique et les méthodes d'extraction des métabolites secondaires

Les micro-ondes augmentent la température du solvant et de la plante, augmentant les cinétiques d'extraction. Dans un premier temps, grâce à l'augmentation de température et de pression au sein de l'échantillon, les extractibles se séparent de la matrice lignocellulosique, le solvant se diffusant dans la matrice peut alors les solubiliser [53].

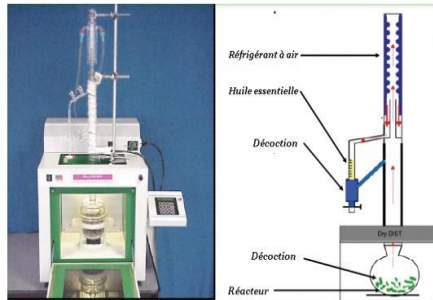


Photo 04 : Extraction assistée par Micro-ondes [53].

Chapitre III :
Matière grasse

Chapitre III : Matière grasse

III.1.Introduction

Les graisses végétales (MG) sont des matières grasses solides à 20°. Elles se différencient des huiles végétales qui sont liquides à 20°. Elles peuvent exister naturellement à l'état solide : c'est le cas des huiles de palme (on devrait dire « graisse), de palmiste (différente de l'huile de palme), de coprah ou de coco. Mais il existe un traitement industriel des corps gras, autorisé par la législation, qui permet de rendre des huiles plus solides et moins sensibles au rancissement : c'est l'hydrogénation. On obtient des margarines et autres corps gras solides[54].

Matières grasses elles fournissent de l'énergie sous forme de lipides (ou graisses), des acides gras essentiels et des vitamines liposolubles (A, D et E). Consommez modérément des graisses et variez leur origine. La consommation d'aliments présents dans les 5 groupes et le fait de varier les choix au sein de chaque groupe permet de couvrir les divers besoins de l'organisme. Sans oublier la satisfaction gustative, un besoin essentiel à l'appréciation de l'alimentation.



Photo 05: exemple de la matière grasse végétale

III.2.Définition de la matière grasse

L'huile végétale est une matière grasse, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température ambiante et qui est insoluble dans l'eau, les huiles se composent de lipides formées de triglycérides composés des molécules des acides gras estérifiées par le glycérol (une molécule d'alcool). Se sont des composants majeurs de l'énergie du corps humain, car les matières grasses fournissent des calories en grand nombre .les huiles les plus importantes de nos jours sont les huiles de soja,colza,olive [55].

III.3.Le rôle biologique

Les lipides naturels jouent de nombreux rôles dans le monde vivant :

- a- réserves intracellulaires d'énergie.

- b- matériaux de structure : couches de protection de cellules, composants des membranes biologiques.

Chapitre III : Matière grasse

c- molécules en concentration faible qui peuvent être :

- des précurseurs d'activité biologique : hormones stéroïdes, médiateurs extracellulaires et messagers intracellulaires, vitamines liposolubles...

- sensibles à des stimuli comme celles des photorécepteurs

III.4.Composition générale des huiles végétales

Les matières grasses végétales sont essentiellement constituées d'acides gras représentés par les triglycérides. A ces acides gras s'ajoutent d'autres constituants non glycéridiques encore appelés constituants mineurs ou acides gras libres ainsi que des insaponifiables. [55].

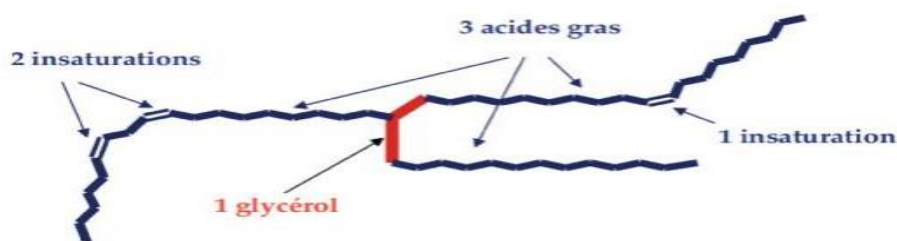


Figure 09:. Représentation schématique d'un triglycéride

Triglycérides

Les triglycérides représentent au moins 95% du poids des huiles ou graisses brutes et 98 % du poids des huiles ou graisses raffinées. Ces triglycérides résultent de la combinaison d'une molécule de trialcool (glycérol) avec trois molécules d'acides gras. Chaque molécule d'acides gras (R-COOH) possède une fonction acide (-COOH) qui peut réagir par estérification avec l'un des trois fonctions alcool (-OH) du glycérol pour former un triester (triglycéride).

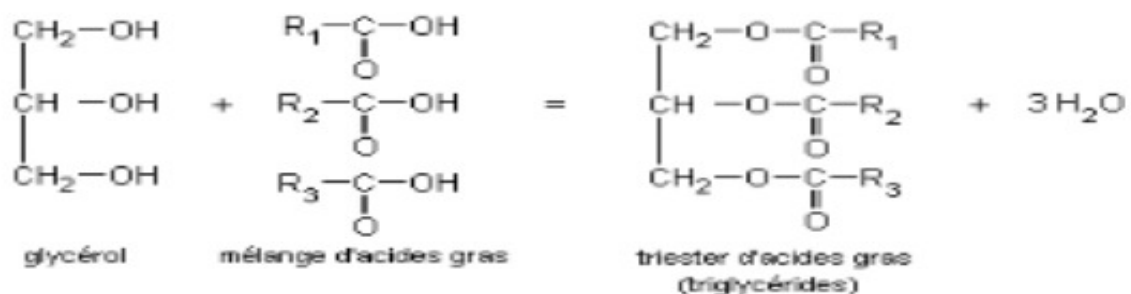


Figure 10 : Réaction de formation de Triglycéride [55]

Chapitre III : Matière grasse

III.5. Classification des acides gras

Les acides gras les plus abondants dans l'alimentation sont les acides gras à chaîne droite comportant un nombre pair d'atomes de carbone. Leur classification se fera selon deux critères:

✓ Selon la longueur de la chaîne carbonée :

Les longueurs des chaînes couvrent un large éventail, depuis un acide à 4 atomes de carbone contenu dans le lait jusqu'aux acides gras à 30 atomes de carbone qu'on trouve dans certaines huiles de poissons. Ainsi, on distingue:

- ❖ Les acides gras à chaîne courte comportant 4 à 8 atomes de carbones.
- ❖ Les acides à chaîne moyenne comportant 8 à 12 atomes de carbones.
- ❖ Les acides gras à chaîne longue comportant 14 à 18 atomes de carbones.
- ❖ Les acides gras à chaîne très longue renfermant 20 atomes de carbones et plus.

✓ Selon le degré d'insaturation de la chaîne carbonée :

Le nombre de double-liaison détermine trois groupes d'acides gras:

a) Les acides gras saturés (AGS)

Dans un acide gras saturé chaque atome de carbone a ses 4 valences engagées dans des liaisons avec d'autres atomes de 20 carbones ou d'hydrogène (ou d'oxygène pour le carbone du groupement Carboxyle). [55]

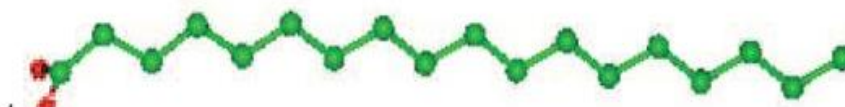
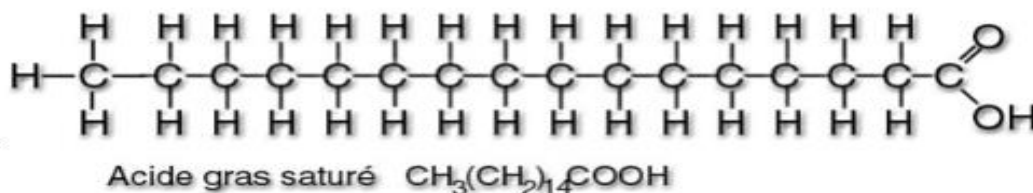


Figure 11: Schéma d'un acide gras saturé (l'acide stéarique C18)

Chapitre III : Matière grasse

Les principaux acides saturés dans les huiles végétales sont l'acide palmitique (C 16) et l'acide stéarique (C 18), accessoirement les acides myristiques (C 14) et lauriques (C 12). [55]

b) Les acides gras mono-insaturés (AGMI)

Il s'agit d'acides gras dans lesquels deux atomes de carbone adjacents de la chaîne ont chacun une valence libre, non saturée, qu'ils mettent en commun de telle sorte que deux atomes de carbones soient réunis par une double-liaison. Les principaux acides gras mono-insaturés dans les huiles végétales sont l'acide palmitoléique (C16) et surtout l'acide oléique (C18) qui représente 30 % des acides gras fournis par l'alimentation. Dans la plupart des acides gras mono insaturés alimentaires, la double-liaison se situe entre les carbones 9 et 10.

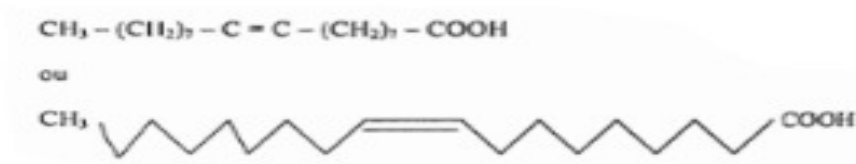


Figure 12: structure exemple d'acide gras mono-insaturé: Acide oléique

c) Les acides gras polyinsaturés (AGPI)

Ce sont les acides gras à 18, 20, et 22 atomes de carbone qui présentent dans leurs chaînes deux ou plusieurs double - liaisons séparées par un groupement méthylène (CH₂). Les principaux AGPI sont l'acide linoléique (18 : 2), l'acide linoléique (18 : 3) et l'acide arachidonique (20 : 4)

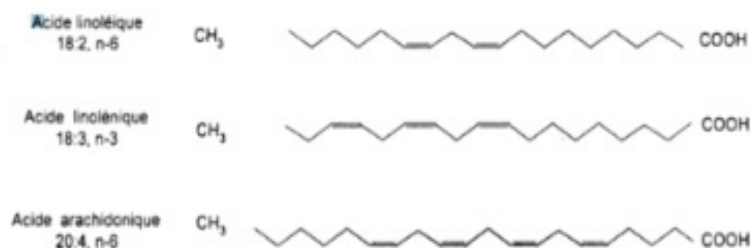


Figure 13: exemples des acida gras polyinsaturés [55]

Chapitre III : Matière grasse

Acides gras essentiels (AGE)

Les AGE appartiennent aux groupes des AGPI ; mais tous les AGPI ne sont pas essentiels. Ils sont indispensables à l'homme qui ne peut ni s'en passer, ni les synthétiser. Ces AGE sont alors apportés par l'alimentation. Ce sont les acides linoléique, alpha linoléique et arachidonique. Chez l'homme et les animaux supérieurs, l'acide linoléique et l'acide alpha linoléique ne peuvent être synthétisés *in vivo*, mais il y a allongement de la chaîne et désaturation entre le carboxyle et la première insaturation menant à l'acide arachidonique. [49].

Les acides gras libres(AGL)

Les acides gras libres ne sont pas fixés à une molécule de glycérol. Se sont les lipides alimentaires qui contiennent une gamme des constituants qui sont importants pour le maintien de la santé. Ces constituant non glycéridiques des lipides, encore appelés constituants mineurs, ne sont mineurs que du point de vue de leurs concentrations par rapport aux triglycérides [49].

III.6.Les insaponifiables

Les insaponifiables correspondent au sens littéral, à la fraction d'une huile qui ne peut pas être transformée en savon.

Ils sont principalement composés suivant les huiles de vitamines (A, D, E) Différents stérols (l'analyse de ces composants donne une carte génétique de l'huile et permet une identification sûre des huiles). Les stérols correspondent à la signature olfactive d'une huile ; il s'agit de la fraction d'huile essentielle Cires (longue chaîne carbonée comprenant de 30 à 60 atomes de carbones). Hydrocarbures naturels remarquables (par ex. carotène ou scaldène) [55].

III.7.Caractéristiques physico-chimiques

Après avoir extraire les huiles on va essayer dans ce cette partie de déterminer quelques indices chimiques qui caractérisent les matières grasses. Ces indices permettent de faire quelques estimations sur les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides déterminés par l'indice de saponification (I.S), sur le nombre des insaturations par la mesure de l'indice d'iode (I.I) et sur la teneur en acides gras libres par la détermination de l'indice d'acide (I.A). On peut également déterminer la teneur de l'huile en matières insaponifiables et quelques caractéristiques physiques telles que l'indice de réfraction et la densité [49].

Chapitre III : Matière grasse

III.7.1. Les caractéristiques chimiques

a. Indice d'acide (I.A)

L'indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire

pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

Cet indice apporte un renseignement précieux sur la qualité de la conservation soit des graines soit de l'huile.

b. Indice de saponification (I.S)

Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la saponification d'un gramme de corps gras suivant la réaction chimique suivante :



La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides qui renferment l'huile [49].

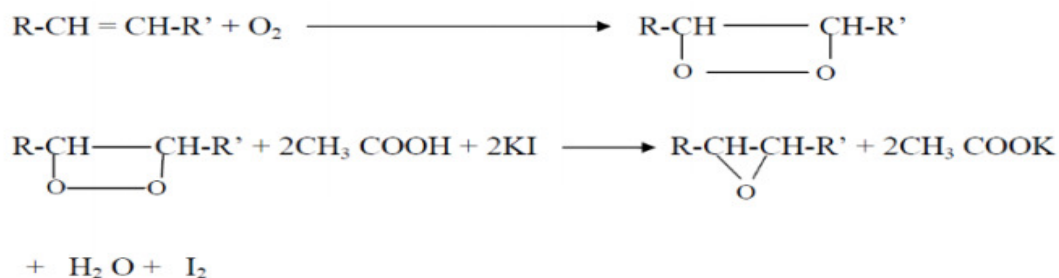
c. Indice d'iode (I.I)

L'indice d'iode (I.I) d'une matière grasse est le nombre de grammes d'halogène exprimé en

iode fixé par 100 grammes de corps gras. Le principe de sa détermination est basé sur la fixation d'halogènes par les doubles liaisons des acides gras insaturés, il permet donc d'évaluer le taux des insaturations moyennes de l'huile.

d. Indice de peroxyde (I.P)

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile : [49].



L'iode libéré réagit avec le thiosulfate de sodium selon la réaction suivante :



III.7.2. Les caractéristiques physiques

a- Indice de réfraction (I.R)

L'indice de réfraction d'une huile est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile maintenue à une température constante. La longueur d'onde spécifiée est (589,3 * 0,3) nm, correspondant aux radiations D1 et D2 du sodium. = + 0,0004(t' - t) : valeur lue, à la température t', à laquelle a été effectuée la détermination.

Et "t" : température de référence.

: Valeur de la lecture obtenue à la température t', à laquelle a été effectuée la détermination

^{t'}_D Valeur de la lecture obtenue à la température t', à laquelle a été effectuée la détermination.

b- organoleptiques

L'aspect, la couleur, l'odeur d'une huile seront déterminés afin de pouvoir apprécier la qualité, et émettre un avis, tant [49].

III.8. Bactériologie

1. Définition

C'est une branche de la microbiologie qui étudie les bactéries, leur classification et la prévention des maladies dues à des infections bactériennes [56].

I.2. Morphologies des bactéries

Les bactéries (Bacteria) sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes autonomes. Caractérisées par une absence de noyau et d'organites. On les trouve un peu partout sur Terre, on dit qu'elles sont ubiquitaires [56]. Ce sont les, plus petits des microorganismes (en dehors des virus): en moyenne de 0.1 à 0.21.µm de diamètre pour 0.5 à 5 µm de long. [57]. Il n'existe pas de classification officiel des bactéries, mais les bactériologistes utilisent la classification de BERGEY qui sépare les bactéries en 4 divisions: bactéries à gram+, bactéries a gram-, les mycoplasmes (sans paroi), les Archéobactéries. Par opposition aux Archéobactéries, les 3 autres sont qualifiés Eubactéries (bactéries vraies) [58].

I.4. Formes et associations des bactéries

Les formes des bactéries sont très diverses, elles peuvent être:

I.4.1. Sphériques

Elles caractérisent les cocci, leurs modes de division donnent naissances à des groupements typiques:

- Les diplocoques (pneumocoques et gonocoques) lorsque la cellule se divise dans un seul plan.
- En chaînette caractéristique des streptocoques.
- En tétrade lorsque les cocci se divisent en deux plan.
- En grappe de raisin ou en amas (staphylocoques) lorsque la multiplication se fait en 3 directions.

I.4.2. Cylindriques ou en bâtonnets

Se sont des cellules plus ou moins épais, elles peuvent être:

- droits (bacilles) caractérisent de nombreuses entérobactéries aux extrémités arrondis, elles peuvent être associées comme les cocci en diplobacille et en chaînettes.
- bâtonnets incurvés (vibrion) ne constitué qu'un seul genre le *vibrio cholerea*

I.4.3. Spirales

Beaucoup de bactéries ont une forme de long bâtonnet spiralée ou en hélice. Elles sont appelées spirilles lorsqu'elles sont rigides et spirochaètes lorsqu'elles sont flexibles.

Remarque : il y a d'autre forme mycélienne (Actinomycètes), pédonculée [59].

***2^{ème} partie : Monographie de la plante
sélectionnée (fruits d'arbousier)***

I.1. Etude de la plante

Les plantes mellifères attirent de nombreux insectes, notamment les pollinisateurs qui assurent la multiplication de plusieurs espèces végétales, et produisent une variété extraordinaire de miels.

Et l'arbousier (*Arbutus unedo*) est l'une de ces plantes mellifères. Cette plante vivace, de la famille des Éricacées, est également connue sous les noms d'arbose et d'arbre aux fraises, du fait de la ressemblance de ses fruits avec les fraises.[60]

L'arbousier, appelé également arbousier commun, arbre à fraises, arbose, olonie ou encore frêle, est un arbuste aux vertus thérapeutiques multiples utilisé depuis des siècles pour traiter divers maux. Sa racine est un remède contre l'hypertension artérielle, son écorce un diurétique et ses feuilles des astringents, antiseptiques et toniques digestifs. [61]



Photo 06: fruit de l'arbousier

- Nom scientifique : *Arbutus unedo*
- Noms communs : arbousier, arbousier commun, arbose, arbre à fraises, olonie, frêle
- Nom anglais : strawberry tree
- Classification botanique : famille des éricacées (Ericaceae)
- Formes et préparations : décoctions, infusions, poudres, extraits, teinture mère [61].
- Type : arbre fruitier
- Origine : bassin méditerranéen
- Couleur : fleurs blanches
- Plantation : automne.
- Récolte : automne.
- Hauteur : jusqu'à 5 m [62].

I.2. Les caractéristiques de l'arbousier

La taille : petite, entre 5 et 8 m.

Le tronc : de couleur brune.

L' écorce : couleur gris brunâtre, partie supérieure rougeâtre. Avec l' âge, l' écorce se détache par plaques

Les rameaux : couleur rougeâtre, se développent verticalement, ensuite ils finissent par s' élargir

Les feuilles : longues de près de 10 cm. Elles sont riches en tanins, persistantes, alternes, aux bordures dentelées, d'un vert foncé luisant en dessous et luisant au-dessus

Le fruit : des baies charnues, de forme sphérique, qui renferment plusieurs pépins. Leur peau est plutôt rugueuse et leur couleur varie, dans le temps, entre le vert, le jaune et le rouge. Ces fruits, à la chair molle et légèrement farineuse, mûrissent au bout d'une année, en saison hivernale. À ne pas confondre avec la fraise chinoise (la *Myrica rubra*) qui, contrairement au fruit de l'arbousier, possède un noyau.

Les fleurs : en panicules, en forme de clochettes de couleur blanche ou rose (pour la variété *Arbutus unedo* 'Rubra') [60].

I.3. Caractères botaniques

L'arbousier est un arbre de 5 à 15 m de hauteur, ses feuilles à bordure dentée sont persistantes ovales vert foncé luisant au dessus vert pâle dessous. Elles sont riches en tanins. Les fleurs blanches verdâtres, en forme de clochettes blanches pendant en grappes apparaissent en Septembre- Octobre. Le fruit s'appelle arbose ou fraise chinoise, rouge, orange à maturité est une baie charnue sphérique à peau rugueuse couvertes de petites pointes coniques. C'est un fruit comestible sans goût très prononcé qui est mûr en hiver, il est riche en vitamine C. La chair est molle, un peu farineuse, acidulée, sucrée et contient de nombreux petits pépins. [63]

I.4. Principes actifs majeurs

L'arbousier contient 2.7% d'arbutine, de la méthylarbutine, un principe amer et des tanins. L'arbutine est un puissant antiseptique de l'appareil urinaire..

On lui attribue des propriétés anti-inflammatoires, il est également efficace contre les rhumatismes. Le fruit peut être consommé cru, il possède une légère toxicité en très grande quantité et il peut induire des coliques bénignes. Le décocté est recommandé pour le traitement de certains cancers, la vitalité et le tonus [63].

1.5. Les utilisations de l'arbousier

L' écorce brun rouge est diurétique. En décoction sa racine est utilisée contre

2ème partie : Monographie de la plante sélectionnée (fruits d'arbousier)

l'hypertension on lui attribue des propriétés anti-inflammatoires, il est aussi efficace contre les rhumatismes. Le fruit peut être utilisé pour la confection de confitures et de pâtisseries, ou fermenté pour produire une boisson alcoolisée. Il possède une très légère toxicité : consommé cru en trop grande quantité il peut induire des coliques bénignes [64].

I.5.1. utilisation interne

Tonique digestif et antispasmodique intestinal, l'arbousier est conseillé pour traiter diarrhées et spasmes digestifs. C'est aussi un antiseptique naturel recommandé pour lutter contre les infections urinaires, comme la cystite et l'urétrite. Ses racines antihypertensives sont efficaces pour diminuer l'hypertension artérielle. Propriétés astringentes, diurétiques, purgatives et anti-inflammatoires [61].

I.5.2. Utilisation externe

Utilisé en gargarisme, l'arbousier soulage les maux de gorge [61].

I.6 les bienfaits de l'arbousier sur la santé

L'arbousier a des propriétés anti-inflammatoires, astringentes et diurétiques. Cet arbuste est utilisé en phytothérapie et aide à soulager les rhumatismes l'hypertension L'artériosclérose (épaississement des artères), les inflammations des voies urinaires et l'arthrite. Il est aussi prisé pour améliorer la circulation du sang. [65].

I.7. Description

L'arbousier est un arbre de 5 à 15 mètres. Ses feuilles à bordure dentée d'une dizaine de centimètres de long sont persistantes ovales, vert foncé luisant au-dessus, vert pâle dessous. Elles sont riches en tannins.

Les fleurs blanc-vertâtre, en forme de blanches pendent en grappes et apparaissent en septembre-octobre.

Le fruit, nommé arbose (ou fraise chinoise), rouge orangé à maturité est une baie charnue, sphérique à peau rugueuse, couverte de petites pointes coniques. C'est un fruit comestible, sans goût particulièrement prononcé qui est mur en hiver. Il est riche en vitamine C. La chair est molle, légèrement farineuse, acidulée et sucrée, et elle contient de nombreux petits pépins. Les fruits mettent un an pour arriver à maturité il n'est pas rare de voir le même rameau porter les fleurs de l'année et les fruits mûrs nés des fleurs de l'année précédente [66].

3^{ème} partie :

Expérimentale

3^{ème} partie : Expérimentale

1. Matériel et méthodes

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie et phytochimie du département de biologie, Université Chadli Bendjdid, El-Tarf pendant deux mois.

1.1 Présentation de la région d'étude

➤ Matériel végétal et site de récolte

Le matériel végétal est constitué de fruit de plante *Arbutus unedo* qui appartient à la famille des éricacées. La récolte a été effectuée en octobre 2019 à lac des oiseaux, wilaya d'El Tarf (Est Algérie).



Photo 07: la matière végétale (fruit d'arbutus)

➤ Situation géographique

Lac des oiseaux, wilaya d'El Tarf, Daïra : Bouteldja

Lac des oiseaux est une commune de la wilaya d'El tarf en Algérie, elle occupe une superficie de 85.88Km² située à 36°46'32" au nord, 8°07'05" à l'est à une altitude de 10m



Figure 14 : situation géographique du site de récolte (lac des oiseaux)(Google mappe)

1.2. Séchage, broyage et conservation de la plante

➤ Séchage à l'étuve

L'étape de séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des fruits récoltés afin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération des microorganismes. Les parties récoltées sont séchées dans l'étuve à une température de 40°C pendant 72h.



Photo 08: séchage à l'étuve

➤ Broyage

Les fruits séchés sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.



Photo 09 : broyeur électrique

➤ Tamisage

La poudre est tamisée par un tamis très fin.



Photo 10: poudres végétales obtenues après tamisage du fruit séché.

➤ Conservation

La poudre résultante est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans un pot en verre hermétiquement fermé. Pour que les échantillons garde toutes leur propriété jusqu'à la date d'extraction ou d'autre tests.

1.3. Paramètre chimique

1.3.1. Teneur en cendres

2g de la plante séchée est mise dans un four à moufle réglé à 550 ± 15 °C, pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre [67]. On exprime la matière organique par la formule suivante :

3 ème partie : Exp èrimentale

MO % = [(M1 - M2)/P] x100 [68].

Soit MO est la mati ère organique en (%)

M1 est la masse des capsules + prise d'essai

M2 est la masse des capsules + cendres.

P est la masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calcul ée comme suit :

Cd = 100 - MO % [69]

Tableau 02: Solvants utilis ée

Solvant	Formule chimique	T d'ébullition (°C)	Masse volumique (g.ml ⁻¹)	Polarit é
Hexane	C ₆ H ₁₄	69	0.655	Moins polaire ↓ Plus polaire
Tolu ène	C ₇ H ₈	110.58	0.867	
Di èthyle èther	C ₄ H ₁₀ O	34.6	0.713	
Chloroforme	CHCl ₃	62	1.4798	
Ac ètate d'èthyle	C ₄ H ₈ O ₂	77.1	0.924	
M èthanol	CH ₂ -OH	65	0.791	

1.4. Screening phytochimique

1.4.1. Les alcalo ìdes

1g de la poudre de la plante s èchée et broy ée sont m èlangés avec 10ml d'HCl à 5% dans un r ècipient. Apr ès une demi-heure de mac èration. On filtre le m èlange on additionne ou filtrat quelque gouttes de r èactif de Mayer, l'apparition d'un pr ècipit é blanc jaunâtre indique la pr èsence d'alcalo ìdes [70].

1.4.2. Les saponosides (test de mousse)

1g de la poudre s èche est pes é dans une fiole dans laquelle 10ml d'eau distill ée sont ajoutés et bouillis pendant 5mn, le m èlange est filtr é, 2,5ml du filtrat sont ajoutés à 10ml d'eau distill ée

3 ème partie : Exp ériméntale

dans un tube à essai. Le tube est secou é vigoureusement pendant 30s puis on laisse reposer une demi-heure. Une mousse alv éolaire r évé de la pr ésence des saponines [71].

1.4.3. Les flavono ìdes

10g de la poudre sont macérés dans 150ml à 1% d'HCl pendant 24h. Apr ès avoir filtr é le m élange, on procède au test suivant : On prend 10ml du filtrat, on le rend basique par l'ajout du NH₄OH, apr ès trois heures, l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie sup érieure du tube à essai indique la pr ésence des flavono ìdes [72].

1.4.4. Les tannins

10g de poudre s èche, sont places dans 100ml de MeOH à 80%. Apr ès 15mn d'agitation les extrait sont filters et mis dans des tubes. L'ajoute de gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1% permet de d éctecter la pr ésence au non des tannins. La couleur bleu ou vert indique la pr ésence des tannins [71].

1.4.5. Les huiles volatiles

Mac érer 10g de la poudre dans 40ml d'eau distillée avec agitation constante 30mn, l'extrait est filtr é 2ml du filtrat sont secou és avec 0,1ml de NaOH dilu ét et une petite quantit éde HCl dilu é un pr écipit éblanc est form éavec les huiles volatiles [71].

1.4.6. Quinones libre

1g de poudre broyé est placé dans un tube avec 15à 30ml d'éther de pétrole, Apr ès agitation et un repos de 24h, l'extrait est filtré puis concentré au rotavapeur, la pr ésence des quinones est confirmée par l'ajout de quelque goutte de NaOH1/10 lorsque la phase aqueuse vire au jaune rouge ou viole [49].

1.5. Les dosages par spectrophotom ètre

1.5.1. Dosage des sucres solubles

100 mg de poudre de la plante est m élangé à 3ml d'éthanol à 80%. On laisse le tout à une température ambiante pendant 48h, ensuite l'éthanol est évaporé à l'aide d'un bain marie à 100C°, puis on ajoute 20ml d'eau distillée au r ésidu sec. Dans un tube à essai contenant 2ml de l'extrait obtenu on met 4ml de r éactif d'anthrone ensuite il est placé au bain marie à 62C pendant 8min (la solution vire alors l ég èrement au bleu vert) apr ès refroidissement dans

3 ème partie : Exp éri mentale

un bain de glace le tube est mis au repos à l'obscurité pendant 30min, la lecture est faite au spectrophotom ètre à 585 nm [73].

La quantification se fait d'après l'équation de la courbe d'étalonnage suivante : $Y=ax+b$ ($\mu\text{g/g}$ de MS). Qui fait du glucose un standard et les teneurs en sucres solubles sont exprim ées finalement en $\text{mg}/100\text{g MS}$ [74].

1.5.2. Dosages des Prot éines

On prend 1g de poudre de la plante à la quelle on ajoute 5ml d'eau distillée ; pour le dosage, 200 μl de l'extrait est ajouté à 2ml de réactif de Bradford, le tube est agité et laissé reposer pendant 5min jusqu'à stabilisation de la coloration.

La lecture se fait par spectrophotométrie à 595nm après étalonnage de l'appareil par une solution témoin contenant 200 μl de BSA (Bovin S érum Albumine) et 2ml de réactif de Bradford. Les r ésultats sont exprim ées en g de prot éines par 100g de produit sec [75].

1.5.3. Dosage des polyph éols

(D étermination de la teneur en polyph éols totaux)

On introduit 3 g de poudre de la plante dans un mortier, avec 150 ml de m élange m éthanol-eau (60/40), après une mac ération de 24 h environ le m élange obtenu est filtr é par un papier filtre Whatman, la phase aqueuse r écup é ée est concentr ée au Rotavapeur à 45C °. On obtient ainsi un extrait visqueux qui est r écup é é dans 3ml de m éthanol.

La teneur en polyph éols totaux de la plante *Arbutus unedo* est d étermin ée selon la m éthode de Folin Ciocalteu [76].

Dans un tube en verre, on introduit 0.5ml de l'extrait obtenu et 0.5 ml de réactif de Folin Ciocalteu, on m élange correctement pendant 5mn, on ajoute 5 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 7% et 12.5ml d'eau distillée, Le m élange est agité au vortex et conservé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant une heure, on mesure l'absorbance à 750 nm. Le blanc est représenté par l'eau distillée. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard[76]

1.6. Détermination du rendement d'extraction

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénolique est celle de. L'objectif de l'extraction est de séparer les substances phénolique de la poudre solide, le solvant dissout le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les composés phénolique) à été déterminé par rapport à 1 g de broyat de échantillons

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre la boîte plein (après évaporation et le point de la boîte vide (avant évaporation)
Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) * 100$$

R : est le rendement en %

M_{ext} est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

M_{éch} : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg [77].

1.7. Extraction solides-liquide

1.7.1. Extraction par soxhlet

- On met 20 g de la matière sèche dans la cartouche de soxhlet
- On place dans un extracteur soxhlet, (marque Gerhardt bonn App Nr, 451260) la cartouche
- Notre extraction va dérouler selon 3 étapes avec 3 solvants de différentes polarités :(Diethyl éther / chloroforme / acétate d'éthyle)
- on verse dans un ballon rond à col rodé 250 ml de diéyle éther
- Conduire le chauffage T: 60-70 ° de façon d'obtenir 8 distillations
- Après 5 heure d'extraction, on évapore le diéthyle éther à l'aide d'une rotavapeur (heidolph type laborota 4000) pour éliminer le solvant
- On garde la cartouche avec la matière végétale pour le 2^{ème} solvant
- Pour une nouvelle cartouche, on refait l'extraction en utilisant l'hexane

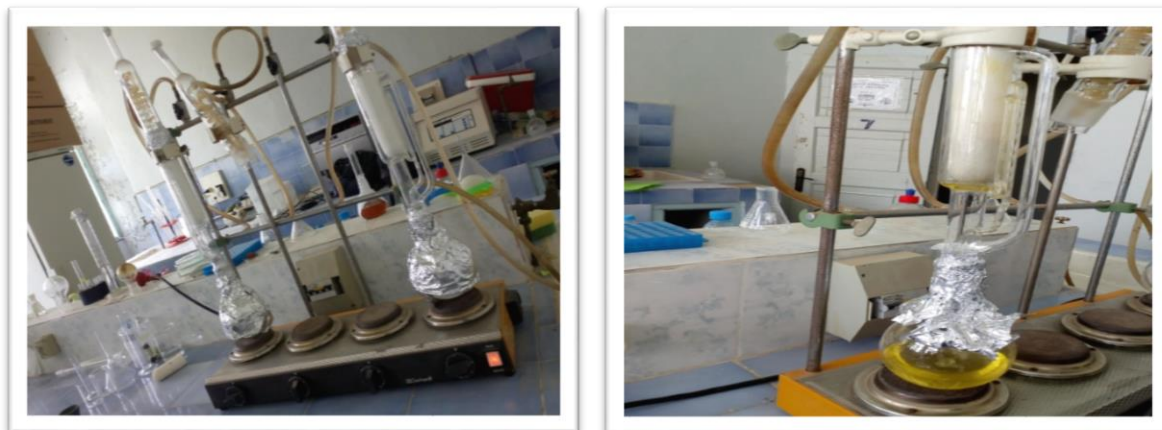


Photo 11 : Appareille de soxhlet



Photo 12 : Rotavapeur

1.7.2. Extractions des polyphénols par macération à froid

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le solvant utilisé dans cette présente étude est Le méthanol pur (99%) [78].[79], Celui-ci possède l'avantage d'être éliminé facilement sous vide.

Il donne en plus un meilleur rendement d'extraction dépassant celui de l'eau Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact.

On introduit 3 g des poudre de la plante dans un mortier, avec 150 ml de mélange méthanol pure, après une macération de 48 h environ le mélange obtenu est filtré par un papier filtre Whatman, la phase aqueuse récupérée est concentrée au Rota vapeur à 45C°. On obtient ainsi un extrait visqueux qui est récupéré dans 3ml de méthanol.

1.8. Analyse de l'extrait (méthanolique) par CCM

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange. Cette technique a été utilisée pour visualiser la séparation des molécules des deux extraits [80].

Principe

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption d'interaction et de polarité un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) plongé dans un solvant (phase mobile) qui se déplace par capillarité le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migrent à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. On peut ainsi caractériser les composés selon leur R_f [80].

.Mode opératoire

A/ préparation de la phase mobile

La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant ce qui facilite et améliore la migration. La phase mobile est constituée d'un mélange de solvant. Différents systèmes solvant ont été essayés pour définir celui qui donne une meilleure séparation l'analyse de l'extrait du *Arbutus unedo* a été réalisée par deux systèmes de séparation

Eluant 01 : (hexane / acétate d'éthyle) (70% / 30%) (v/v)

Eluant 02 : (toluène / acétate d'éthyle) (70% / 30%) (v/v)

B/ la phase stationnaire

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques préparées de gel de silice sur des plaques en aluminium

C/ le dépôt des échantillons

Les plaques sont découpées aux dimensions voulues. L'extrait est dissous dans le solvant qu'on utilise pour l'extraction. Le dépôt de quelques gouttes de extrait se fait avec une micro-seringue d'une façon perpendiculaire et linéaire à 1,5 cm du bord inférieur de plaque et à 1.3 cm à partir des bords latéraux, avec 1 cm d'espacement

D / Développement de la plaque

3^{ème} partie : Expérimentale

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (chromatographie ascendante).

E/ Révélation du chromatogramme

Les plaques sont bien séchées, si les constituants sont colorés, ils seront directement visibles sur la plaque, sinon la révélation peut se faire sous UV

On détermine alors, pour chaque constituant, le rapport frontal R_f :

$$R_f = \frac{\text{distance entre l'origine (dépôt) et le centre de la tache du produit}}{\text{distance entre l'origine (dépôt) et le front du solvant}}$$

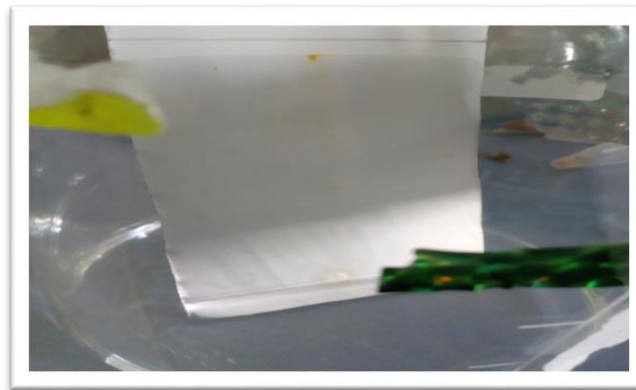
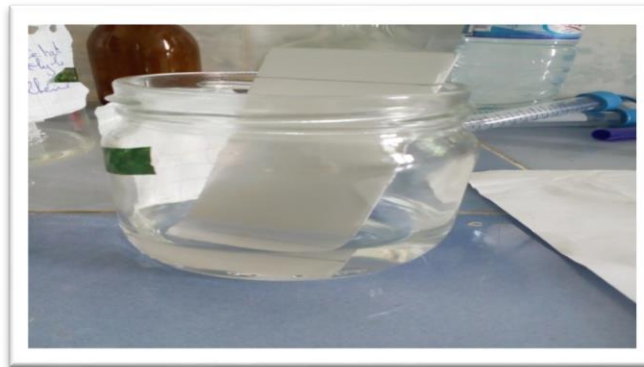


Photo 13 : Eluant 01 : (hexane / acétate d'éthyle)

Photo 14: Eluant 02 : (toluène / acétate d'éthyle)

2. R ésulta et discussion

2.1. Param ètre chimique

2.1.1. Teneure en cendre

Le r ésultat du test de la teneure en cendre montrent que la plante *Arbutus unedo* est caract éris ée par une teneure en cendre de **10.75%**

2.2. Testes phytochimiques

L'analyse qualitative de la poudre de plante qui a pour but la mise en évidence la pr ésence de certains types de m étabolisme secondaire, a é é faite par des r éactions de colorations en tubes à essai. Les r ésultats des testes sont caract éris éer dans le tableau 02.

Tableau 03 : R ésultats des screening phytochimiques

Teste	R ésultat
Les alcalo ìdes	+
Les saponosides	+
Les flavono ìdes	+
Les tannins	++
Les huiles volatiles	-
Quinones	-

Signification des symboles : ++ abondamment pr ésent ; + pr ésente ; - absence

Tannins



Photo 15: Résultat de test des tannins

Le screening phytochimique montre que les tannins présents dans la plante de *Arbutus unedo* avec un taux important

Les saponosides

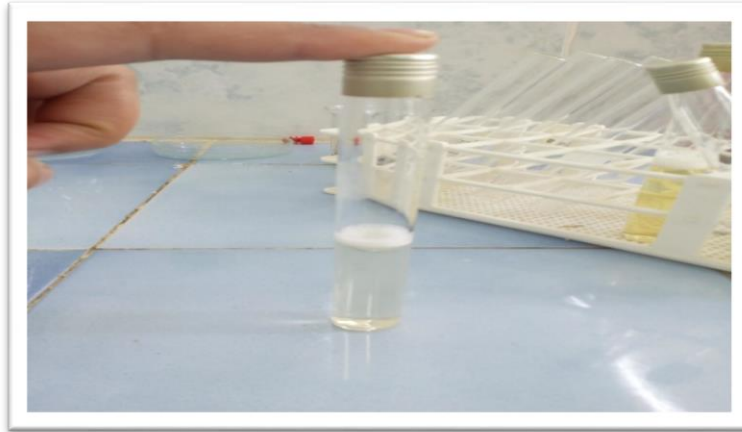


Photo 16: Résultat des saponosides

Le test de mousse confirme la présence de saponosides dans le fruit des arbutus

Les flavonoïdes et les alcaloïdes



Photo 17: Résultat de test flavonoïdes



Photo 18: Résultat de test des alcaloïdes

Selon les résultats du screening phytochimique effectué sur la plante de fruit de *Arbutus* on remarque la présence moyenne de flavonoïdes et des alcaloïdes

Les Quinones libre et les huiles volatiles



Photo 19: Résultat de test des Quinones



Photo 20: Résultat de test des huiles volatiles

Les résultats montrent l'absence des huiles volatiles ainsi que les Quinones dans la plante

Sur l'ensemble du résultat obtenu, nous remarquons que la plante de arbutus sont plus ou moins riches en métabolites secondaire. Les testes phytochimiques réalisés nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique de nos échantillons étudiés

2.3. Les dosages

➤ Dosage des sucres

Selon le protocole de dosage des sucres par utilisation de la courbe d'étalonnage en glucose comme référence nous avons obtenue les résultats dans la figure 15

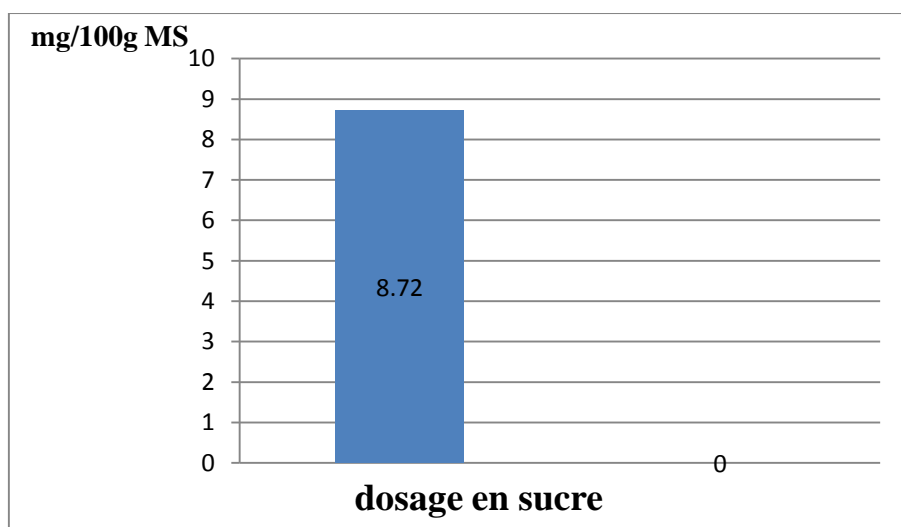


Figure 15 : Contenu en sucre de fruit d'arbutus

3^{ème} partie : Expérimentale

Le résultat montre que la plante est riche en sucre avec une teneur plus élevée égale 8.72mg/g MS

➤ Dosage des protéines

Après lecture des absorbances à 595nm. On trace une gamme étalon à différentes concentrations de BSA à pour but de déterminer la teneur en protéine dans notre solution. Le résultat est présenté dans la figure 16

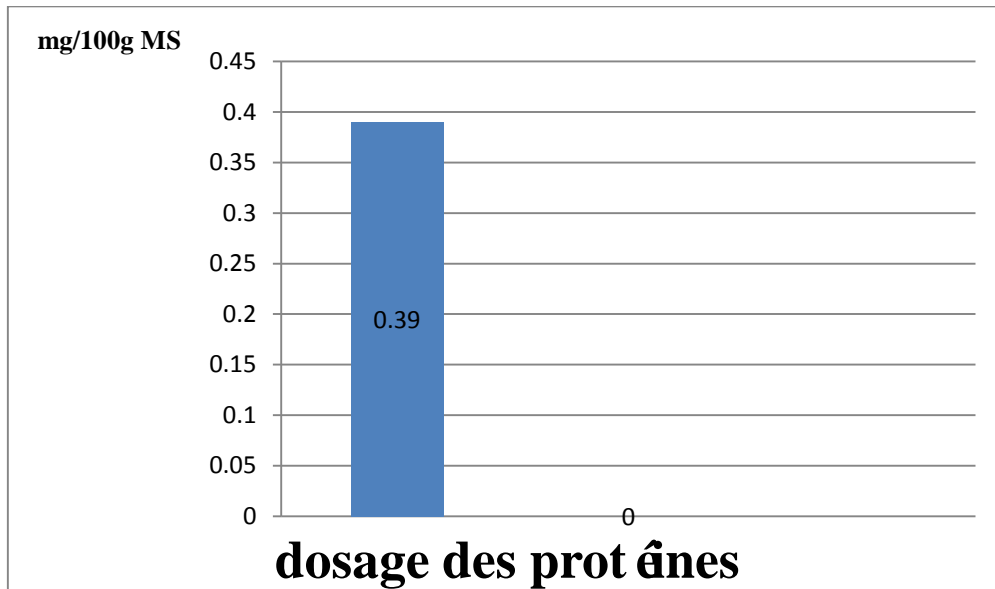


Figure 16 : Contenu en protéines de fruit d'arbutus

Le résultat de dosage des protéines montre que le fruit d'arbutus contient une teneur de protéines faible environ 0.39mg/100Ms

➤ Dosage des polyphénols

La détermination de la teneur en polyphénols effectués à partir de l'extrait est réalisée selon la méthode en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu

Au cours de dosage des polyphénols, après l'addition du réactif Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des polyphénols dans l'extrait de la plante. Le résultat est présenté dans la figure 17

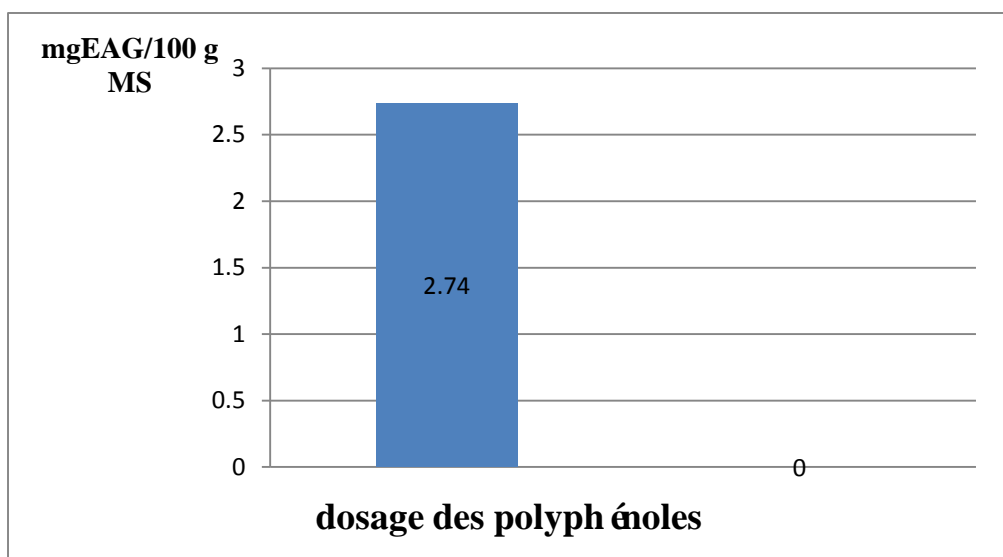


Figure 17 : Contenu en polyphénols de fruit d'arbutus

Résultat montré que l'extrait méthanolique de fruit d'arbutus présenter un teneur moyenne en polyph énoles Avec une valeur égale à 2.74mg/g MS

1.4. Le rendement d'extraction de la matière grasse

Tableau 04 : Rendement d'extraction de la matière grasse et des polyphénols

Extraction par soxhlet «de matière grasse»				
Solvant	Diethyle éther	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Hexane
Rendement	0.61%	2.5%	1.5%	3.5%
Total : 8.11%				
Extraction par mac ération «des polyph énoles»				
Solvant	m éthanol			
Rendement	2.82%			

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les condition de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité et la temps d'extraction les rendements enregistrés avec les extrait bruts

1.4.1. Le rendement d'extraction des polyphénols

Le méthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols. Le résultat de macération par méthanol montre que le fruit d'arbutus est pas riche en polyphénol avec une rendement égale à 2.82%

1.4.2. Le rendement d'extraction de la matière grasse

Les lipides sont des constituants biologiques nutritionnellement important du point de vue calorique et apport en acide gras essentiels ainsi qu'en vitamine liposolubles.

Le rendement des lipides du fruit d'arbutus, exprimées en pourcentage de matière sèche (MS) Les résultats obtenus montrent que les fruits d'arbutus contiennent un taux élevé (8.11%) en matière grasse.

Ces résultats confirment que l'arbutus est très riche en lipides et en d'autres composés de stockage comme les protéines, les glucides...ect.

1.5. La chromatographie sur couche mince

Pour l'éluant 01 : (hexane / acétate d'éthyle) on observe aucun résultat pas de migration de la tache sur la plaque.

Pour l'éluant 02 : (toluène / acétate d'éthyle) l'analyse qualitative après CCM, révélation chimique et visualisation sous UV, a permis de mettre en évidence de cinq taches confirmant la présence des différents composés dans le fruit d'arbutus

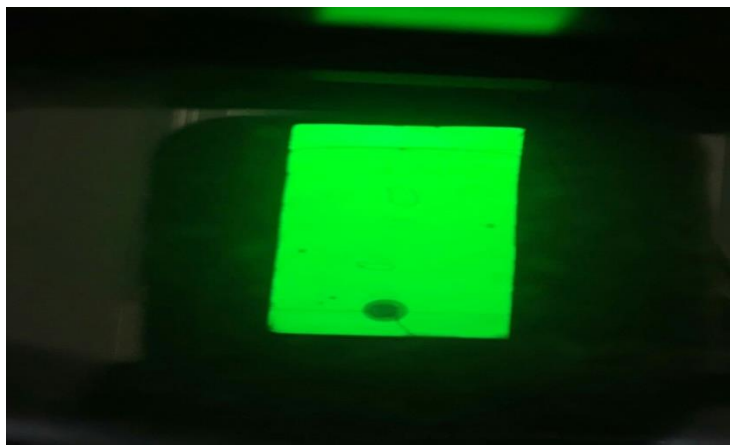


Photo 21 : Révélation chimique de plaque CCM sous UV

3^{ème} partie : Expérimentale

On détermine alors, pour chaque constituant, le rapport frontal R_f . Les résultats sont présentés dans le tableau

Tableau 05 : les rapports frontaux du différent constituant de fruit d'arbutus :

N° des Constituants	Rapport frontale
1	0.03
2	0.06
3	0.26
4	0.35
5	0.53

On observe que l'éluant 02 : (toluène / acétate d'éthyle) mieux que l'éluant 01 : (hexane / acétate d'éthyle) pour la séparation des constituants par CCM.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail représente une contribution à l'étude phytochimique de la plante de la flore algérienne *Arbutus unedo* (l'arbousier) de la famille des Ericaceae.

Le screening réalisé a révélé la présence des saponines, des tanins en quantités importantes et une présence modeste des flavonoïdes, et les alcaloïdes, avec une absence des Quinones libre et des huiles volatiles. La présence de ces composés attribué à cette espèce plusieurs caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

L'espèce *Arbutus unedo* promet une diversité structurale intéressante des métabolites secondaires, ce qui nous encourage à entreprendre une étude phytochimique plus approfondie sur cette plante très répandue en Algérie et qui représente une source naturelle renouvelable.

Il serait donc intéressant de poursuivre ce travail expérimentale, de faire une extraction sur une masse de matériel végétal plus important et procéder à la séparation, la purification et la détermination structurale des différents métabolites secondaires de cette espèce en combinant les méthodes spectroscopique et notamment les séquences les plus performantes de RMN.

Les résultats obtenus sont très encourageants pour terminer des études très spécialisés sur les plantes, donc notre présent ici n'est qu'un début pour bien explorer ces plantes étudiées, à fin de les utiliser pour la préparation des produits extraits entrant dans la fabrication des médicaments.

*Références
bibliographique*

Références bibliographique :

- [1] : Gao, Z., Huang, K., Yang, X., Xu, H. 1999. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem. Biophys. Acta.*,1472: 643-650.
- [2] : BABA-AISSA F., 2000. Encyclopédie Des Plantes Utiles, Flore D'Algérie Et Du Maghreb, Substances Végétales D'Afrique, D'Orient Et D'Occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie. 368 P.
- [3] : OMS, L'organisation mondiale de la santé 2008
- [4] : M. Eddouks, M. L. Ouahidi, O. Farid, A. Moufid, A. Khalidi, A. Lemhadri, 2007. L'utilisation Des Plantes Médicinales Dans Le Traitement Du Diabète. *Phytothérapie* , Volume 5, Pp 194–203.
- [5] : Awono A, Manirakiza D, Ingram V. 2009. Mobilisation Et Renforcement des Capacités Des Petites Et Moyennes Entreprises Impliquées Dans La Filière Des Produits Forestiers Non Ligneux En Afrique Centrale. CIFOR: Cameroun .
- [6] : Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C., Pinkas M., 1996. Oxygen Species Scavenging Activity Of Phenolic Extracts From Hawthorn Fresh Plant Organs And Pharmaceutical, Preparations. *Arznei. Forschung*. Vol (46): 1086-1089.
- [7]: Safdar N, Maki DG. 2002. The Commonality Of Risk Factors For Nosocomial Colonization And Infection With Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus*, Gram-Negative Bacilli, *Clostridium Difficile*, And *Candida*. *Ann Intern Med*. Jun 4; 136(11):834-44.
- [8] : Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Mantengoli E, Spanu T, Pan A, . 2009. Antibiotic Usage And Risk Of Colonization And Infection With Antibiotic- Resistant Bacteria: A Hospital Population-Based Study. *Antimicrob Agents Chemother*; 53(10): 4264-9. *Tec & Doc*. 4^{ème} Ed, Paris. France. 1288 P
- [9] : Atefbeibu E.S.I., 2002. Contribution A L'étude Des Tanins Et De L'activité Antibactérienne de *Acacia Nilotica* Var *Adansonii*. Thèse De Doctorat. Université Cheikh Anta Diop. Dakar, Sénégal. 37 P.
- [10] : TEIXEIRA DA SILVA J. A., 2004- Mining The Essential Oils Of The Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol*. Vol. (3): 706-720.
- [11] : Ali Amine Zeggwagh, Younes Lahlou, Et Yassir Bousliman.2013.Enquete Sur Les

Références bibliographique

Aspects Toxicologiques De La Phytothérapie Utilisée Par Un Herboriste A Fes, Maroc
Citethis : Thepanafricanmedicaljournal2013;14:125. Doi:10.11604/Pamj..14.125.1746

[12] : Mlle OUIS NADIA ép. Mlle BAKHTAOUI HANANE 2017 L'étude phytothérapie des plantes médicinales dans la région Relizane mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme de licence en génétique

[13] : Mohand Ait Youcef, 2006

[14] : Evolution de l'effet anti-inflammatoire de trois médicinales *Artemisia obsitinthuim*L, *Artemisia herba alba* Asso, et *hypericum scarboides*. Etude in vivo. Thèse de doctorat Unio Mohamed Boudiaf, Oran, p19.

[15] : Contribution de l'ethnobotanique à la restauration des Jardins historiques recherches appliquées sur l'histoire des végétaux .Ed les nouvelles de l'archliéologie paris, 83-84.

[16] : Abayomi Sofoworaplantes Médicinales Et Médecine Traditionnelle d'Afrique. Editions Karthala, 2010.

[17] : Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales*. 4e Ed : Lavoisier ; Paris. P.1269.

[18] : M. Eddouks, M. L. Ouahidi, O. Farid, A. Moufid, A. Khalidi, A. Lemhadri, 2007. L'utilisation Des Plantes Médicinales Dans Le Traitement Du Diabète. *Phytothérapie*, Volume 5, Pp 194–203

[19] : Colette-Keller D. 2004. Les Plantes Médicinales. ALS (Séance Du 25 Avril 2004). P 58

[20] : Callery, E. Le Grand Des Herbes.1998. Le Guide Pratique De La Culture, Du Séchage Et Des Vertus De Plus De 50 Herbes.

[21] : Wichtl, M., Anton, R., 1999. *Plantes Thérapeutiques : Tradition, Pratique Officinale, Science Et Thérapeutique*. 3ed. Paris : Tec& Doc Lavoisier,

[22] : Carillon E. 2000. *La Phytothérapie Face A L'évolution Médicinale*. Ed :Phyto . 10-15.

[23] : Iserin P., 2001. *Encyclopedie Des Plantes Médicinales*. Ed : Larousse Bourdasse.Paris P.335

[24] : Benhouhou S., (2015) A brief over view on the historical use of medicinal aromatic d'Algeria consulté.Université Mohamed khider-Biskra Faculte des Sciences de la Nature et de

Références bibliographique

la vie. Exacts et de la vie .D épartement des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes m édicinales dans la r égion m édicinale des Aur ès.

[25] : Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes M édicinales*. 4e Ed : Lavoisier ; Paris. P.1269.

[26] : Pinto, E., Palmeira, A., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Goncalves, M.J., Pina-Vaz, C., Rodrigues, A., Oliveira, S. 2003. Antifungal Activity Of Oregano Oils (Lippia Graveolens And Origanum Virens) On Dermatophyte Species. *Clin Microbiol Infec.* 9 (1), 222- 230.

[27] : GURIB-FAKIM A., 2006. Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*. Vol. (27): 1-93.

[28] : Christophe BIRNARD 2011. Interaction m édicinales – m édicaments

[29]: Hagerman AE, Muller-Harvey I, Makkar HPS (2000): Quantification of tanins in tree foliage. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture. Vienna, 26p.

[30] : Yllande KONGO-NZUZI. 2009. Evaluation in vitro des pouvoirs antifongique des extraits de feuille de papayer sur des couches de candidas albicans . ISTM kinshasa – Gradu é en technique de laboratoire .

[31] : Harbone J.B. 1998. *Phytochemical Methods A Guide To Moderns Techniques Of Plants Analysis*, 3rd Edition. P. 412.

[32] : Abderrazak M, Joel R. 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, p. 177.

[33] Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens P. 2002; Botanique Syst ématique: une perspective phylog énéique; Ed 1: DEBOECK, p. 84-336.

[34] : Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes m édicinales. 4 éne Edition, lavoisier. Paris.

[35] : Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005. Les compos és ph énoles des v ég éaux un exemple de m étabolites secondaires d'importance économiq ue. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne.

[36] : Cook NC and Samman S. 1996. flavonoids, Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The journal of Nutritional Biochemistry*. 7(2):66-76.

[37] : Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni AM. 2001. Le pr éparateur en pharmacie dossier 2 éne Ed Techniques et documentation. Paris, p. 275.

[38]: Silanikove N, Perevolotsky A, Provenza FD. 2001. Use of tannin- binding chemicals to assy for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal feed Science and Technology*. 91(1): 69-81.

Références bibliographique

- [39] : Kogel-Knabner I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and biochemistry*. 34:139-162
- [40]: Ford RA, Hawkins DR, Mayo BC. 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*. 39: 153 -162.
- [41]: Meyer S, Reeb C, Bosdeveix R. 2008. Botanique : biologie et physiologie végétales. 2 Edition Maloine. Paris. Pp 14, 15.
- [42] : Badiaga M. 2011. Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.
- [43] : Rakotonanahary M. 2012. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier: 16, 19, 27, 28.
- [44] : Richard D, Giraud N, Pradere F, Soubaya T. 2010. Biologie : Les métabolites secondaires des végétaux. Duonod, Paris. pp : 192, 193.
- [45] : Maleeky M., Enjalbert F. Feinberg M., 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris.
- [46]: Langenheim JH. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*. 20: 1223-1280.
- [47] : Khenaka K. 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine.
- [48] : <https://www.aquaportail.com/definition-10498-ethnobotanique.html>
ethnobotanique[url]
- [49] : Mr BOUGHRARA Boudjema 2016. Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala, Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en Sciences (phytochimie), Université badji mokhtar-annaba
- [50] : BERKEM. Extraction végétale : le cœur de métier de BERKEM. Marais ouest . 24680 Gardonne – France
- [51] : Dr Eric Lorrain. *100 questions sur la Phytothérapie*. La Boîte, 2013.
- [52] : Nait Sidi Ahmed, A. (2012). Mise en place d'un procédé d'extraction et de purification de molécules bioactives à partir d'une culture énergétique «*Salix miyabeana* SX67 ». Maîtrise en génie chimique, Université de Sherbrooke, Canada.

Références bibliographique

- [53] : Bénédicte GÉLÉBART 2016. Optimisation de l'extraction, en réacteur «batch », de biomasse énergétique à l'aide d'émulsions ultrasoniques de solvants verts. Maitrise en génie chimique et biotechnologique, Université de Sherbrooke, Canada.
- [54] : <https://sante.lefigaro.fr/mieux-etre/nutrition-aliments/grais-vegetales/quest-ce-que-cest>
- [55] : Abdelilah DOUTAYEB 2013, Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales licence Université Ibn Tofail
- [56]: PIERRE & MARIE CURIE, (2003) : «Bactériologie »Ed Service de Bactériologie Faculté de médecine ; PP 09, 12, 13, 14, 16, 17, 29, 31, 34, 35, 69, 70, 71.
- [57]: LARPENT, (2003) : Serening Methods for antibacterial and antiviral agent from higher plants
- [58]: YANG, KAINE & WOESE (1985) : «Systematic and Applied Microbiology », P6.251.256.
- [59]: LECLERC.H, (1975) : «Microbiologie générale ». ED. DOIN Editeur, Paris ; P7.8.41.43.44.
- [60] : www.apiculture.net
- [61] : Dr Jesus Cardenas, Directeur médical de Doctissim 2010, Arbousier
- [62]: Binette & Jardin Fruits et légumes du potager Arbres fruitiers du verger Arbousier (*Arbutus unedo*) ou arbre aux fraises
- [63] : Samia AOUDHI 2010 Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. à % tube de [57] : plantes recommandées par les herboristes – Master en toxicologie, Faculté de médecine de Tunis.
- [64] : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Arbousier>
- [65] : Julie Pilat 2018 L'arbousier : les bienfaits de l'arbre à fraises
- [66] : manuel du ministère de l'Environnement, des Eaux et Forêts (MINENVEF) malgache, avec l'agence japonaise de coopération mondiale (JICA) sur la lutte contre les feux de végétation ; compilation du savoir-faire actuel, Série I : Les techniques existantes dans la lutte contre les feux de végétation, 2003.
- [67] : AFNOR (Association Française de Normalisation). 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de Fruits. Ed. AFNOR, 325 p.
- [68] : hompson HJ., Heimendinger J., Haegele A., Sedlacek SM., Gillette C., O'Neill C *etal.*, 1999. Effect of increase vegetable and fruit consumption on markers of oxidative cellular damage. *Carcinogenesis*. 20:2261–6.

Références bibliographique

- [69]: Broekmans WM., Klopping-Ketelaars IA., Schuurman CR., Verhagen H., van den Bertg H., Kok FJ., van Poppel G., 2000. Fruits and vegetables increase plasma carotenoids and vitamin C and decrease homocysteine in humans J. 130:1578–83.
- [70]: Harborne J.B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plants analysis* (3rd ed.) Landon: chapman & Hall.ISBN:0412572702
- [71]: Sofowora, E. A; (1994). *Medical plant and traditional Medicine in Africa*.
- [72]: Harborne, J.B; (1984). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London; New York : chapman and Hall. ISNB: 0412255502
- [73] : Mehdi GD., Vijayanand., Kulkarnib VG, Ramana KVR.,(2006). Effect of different pre-treatments and dehydration methods on quality characteristics and storage stability of tomato powder. LWT 40 (2007) : 1832–1840.
- [74] : Sassi K., Abid G., Jemni L., Dridi-Al Mohandes B., Boubaker M., 2012. Étude comparative de six variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) vis-à-vis du stress hydrique. *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol.15, Issue .2: 2160 -2163
- [75] : Zidani S., 2009. Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine. Diplôme Magister Technologie Alimentaire. Univ M'hamed Bougara-Boumerdes .P34, 47, 55-77.
- [76] : Waterman PG and Mole S., 1994. *Analysis of phenolics plant metabolite*. Oxford Blackwell Scientific Publication. 83-91.
- [77]: BIPEA 1978. *Collection OF analysis methods from Europeans communit* , pp,29-31
- [78] : Benakmoum A., Abbedou S., Ammouche A., Panagiotis K., Dimitrios G., 2008. Valorisation of low quality edible oil with tomato peel waste. *Food Chemistry*. 110 684- 690.
- [79] : Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., Maïga A., 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisés traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie* 7, pp 1073–1080.
- [80] : Abedini.A.(2013/2014) .Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit.(Lamiaceae),sélectionné par un criblage d'extraits de 42 plantes .Thèse de doctorat. Université du Droit et de la sante, lille II. p 84-85