

MEMOIRE

Présentée par

BENAZOUZ Houda

Pour l'obtention de diplôme de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Thème

**Dosage des poly-phénols, des sucres et des protéines d'un extrait d'une
plante**

Soutenue le : 11/07/2019

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Dr.TOUDERT Nadia

MCB Univ. Chadli Bendjedid-El Tarf

Présidente

Dr. BOUGHRARA Boudjema

MCB Univ. Chadli Bendjedid-El Tarf

Promoteur

Dr BOZAATA Chahira

MCB Univ. Chadli Bendjedid-El Tarf

Co-promoteur

Mme MOKRANI Karima

MAA Univ. Chadli Bendjedid-El Tarf

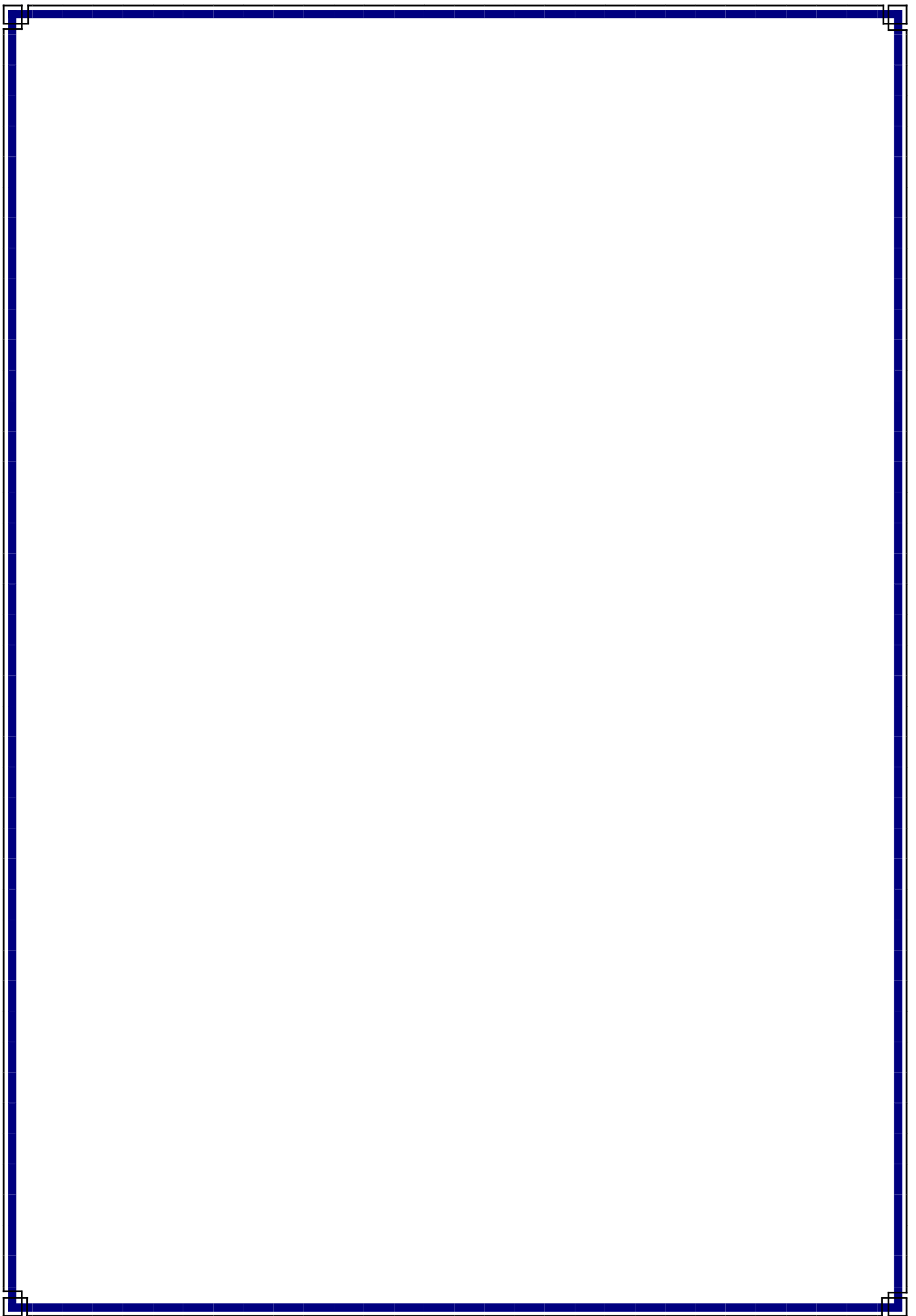
Examinatrice

Dr. ZERNIZ Nawel

MCB Univ. Chadli Bendjedid-El Tarf

Examinatrice

Année Universitaire : 2018/2019



Remerciements

*Tout d'abord nous remercions Dieu qui nous encourager à
réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à tous ceux qui nous ont
aidés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Particulièrement mes encadreures : Dr BOUQHRARA
et Mme BOUZAATA Chahira pour son aides et conseils qui mon été très
précieux.*

*Je remercie, Dr TOUDERT Nadia pour l'honneur qu'elle m'à fait en
acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie également mes dames Mme MOKRANI Karima, et Mlle
ZERNIZ Nawel d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos sincères remerciements aux membres de jury.

*Nos remerciements vont aussi à tout qui contribués de près ou de loin à la
réalisation de ce modeste travail.*



Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A mes chers parents qui ont fait de moi ce que je suis maintenant.

Pour leurs amours et leurs sacrifices.

A mes frères Anoir, Aymen, Borii

A mes sœurs Chahra, Randa, Saoussen, Hanane

A Sara, Narimane, Amina, Faten, Alla et Naziha

A mes amis: Nabiha, Hafsi, S, Souha, Wisale, Nourhane et

*Louai, ainsi que tous les Collègues de ma promotion de chimie
analytique année 2019.*

Houda

Résumé

La phytothérapie est une médecine qui utilise les plantes médicinales, L'usage des remèdes vertus thérapeutiques des plantes présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives et aux progrès des méthodes d'analyses structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs.

Cette étude a été conçue pour le dosage des micro-constituants (composés phénoliques) et des macronutriments (sucres, protéines) présents chez les végétaux et qui jouent un rôle très important. Nous sommes intéressés à déterminer leur teneur dans les fruits de chêne liège (les glands) séchée réduit en poudre.

Le screening phytochimiques réalise a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, et des saponines, la présence de ces composés attribue à cette espèce plusieurs caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

L'extraction par des solvants organiques et l'extraction de la matière grasse a permis de donner un rendement important qui traduit la richesse de cette plante en métabolites primaires et secondaires.

Ce qui conclure que cette plante a un effet thérapeutique par sa richesse en composés naturelles.

Abstract

Herbal medicine is a medicine that uses medicinal plants. The use of the therapeutic virtues of plants is gaining renewed interest thanks to the improvement of extraction techniques and advances in structural analysis methods for the discovery of new active ingredients.

This study was designed for the determination of micro-constituents (phenolic compounds) and macronutrients (sugars, proteins) present in plants and which play a very important role. We are interested in determining their content in dried cork oak fruits (acorns) reduced to powder.

The phytochemical screening carried out revealed the presence of flavonoids, tannins, and saponins, the presence of these compounds attributes to this species several therapeutic and pharmacological characteristics.

Extraction by organic solvents and fat extraction have resulted in a high yield that translates the richness of this plant into primary and secondary metabolites.

This means that this plant has a therapeutic effect due to its richness in natural compounds.

المُلخَص

طب الأعشاب هو دواء يستخدم النباتات الطبية. يكسب استخدام الفضائل العلاجية للنباتات اهتمامًا متجددًا بفضل تحسين تقنيات الاستخراج والتقدم في طرق التحليل الهيكلي لاكتشاف المكونات النشطة الجديدة.

تم تصميم هذه الدراسة لتحديد العناصر الدقيقة (المركبات الفينولية) والمغذيات الكبيرة (السكريات والبروتينات) الموجودة في النباتات والتي تلعب دورًا مهمًا للغاية. نحن مهتمون بتحديد محتواها في ثمرة شجرة الفلين (البلوط) مجففة و مسحوقة.

كشفت الفحص الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه عن وجود مركبات الفلافونويد والعفص والسابونين ، ووجود هذه المركبات ينسب إلى هذا النوع العديد من الخصائص العلاجية والصيدلانية.

أدى الاستخلاص بالمذيبات العضوية واستخراج الدهون إلى إنتاجية عالية تترجم ثراء هذا النبات إلى نواتج أولية و ثانوية.

هذا يعني أن هذا النبات له تأثير علاجي بسبب ثرائه بالمركبات الطبيعية.

Liste des figures, des tableaux et des photos

1. Liste des figures :

| Titre | Page |
|---|-------------|
| Figure 01: Structures chimiques des acides phénoliques | 06 |
| Figure 02 : la structure commune des flavonoïdes (A) et leurs Classification(B) | 07 |
| Figure 03 : Structure des tanins condensés | 07 |
| Figure 04 : structure de base des tanins hydrolysables | 08 |
| Figure 05: Effets bénéfiques des polyphénols sur la santé | 10 |
| Figure 07 : Caractéristiques générales du chêne liège | 20 |
| Figure 08 : Distribution du chêne-liège dans son aire géographique méditerranéenne et atlantique. | 21 |
| Figure 09 : situation géographique du site de récolte (El Aïoune). | 26 |
| Figure 20 : contenu en sucres des glands: au niveau de l' Amande et au niveau du Péricarpe. | 38 |
| Figure 21 : contenu en protéines des glands: au niveau de l' Amande et au niveau du Péricarpe. | 38 |
| Figure 22 : Teneur en polyphénols des Péricarpe et des Amandes du gland de chêne liège. | 39 |

Liste des figures, des tableaux et des photos

2. Liste des tableaux :

| Titre | Page |
|--|-------------|
| Tableau 01: Table des solvants | 17 |
| Tableau 02 : Répartition et superficies des peuplements de chêne-liège en Algérie. | 22 |
| Tableau 03: Les principaux domaines d'utilisation du liège | 23 |
| Tableau 04 : les résultats de screening. | 35 |
| Tableau 05 : les résultats de rendement d'extraction. | 37 |

Liste des photos :

| | |
|---|----|
| Photo 06 : Chêne Liège. | 19 |
| Photo 10 : Préparation des échantillons. | 27 |
| Photo 11 : Les échantillons en poudre. | 27 |
| Photo 12 : La conserver des échantillons. | 28 |
| Photo 13: appareille Soxhlet | 32 |
| Photo 14 : rote à vapeur | 32 |
| Photo 15 : appareille spectrophotométrie | 32 |
| Photo 16 : Le résultat de test des tanins. | 35 |
| Photo 17 : Le résultat de test des Flavonoïdes. | 35 |
| Photo 18 : Le résultat de test des Quinones libres. | 36 |
| Photo 19 : Le résultat de test des Saponines. | 36 |

Liste des abréviations

AA : acide aminé.

AAE : acide aminé essentielle.

BSA: Bovine Sérum Albumine.

C : Carbone.

°C : température en degré Celsius.

Cd : Teneur en cendre.

Cm : centimètre.

C6-C3 : Chaîne de Carbone contient 9 atomes de carbone.

C6-C3-C6 : Chaîne de Carbone contient 15 atomes de carbone.

EAG : Equivalent Acide Gallique

FeCl₃ : Perchlorure ferrique ou chlorure ferrique

g: gramme.

H : heure.

Ha : hectare.

HCl : Acide chlorhydrique.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

Km² : Kilomètre carré.

MeOH : Méthanol.

m : mètre.

mg : Milligramme.

mg/100gMS : milligramme par 100 gramme matière sèche.

mg Eq AG /100g : milligramme Equivalent Acide Gallique par 100 gramme matière sèche.

ml : Millilitre.

Min : Minutes.

Mm : Millimètre.

MAE: microwave assisted.

Liste des abréviations

MO : matière organique.

MS : Matière Sèche.

MG(%) : taux de la matière grasse en Pourcentage.

NaOH : hydroxyde sodium.

nm : nanomètre.

NH₄OH : Ammoniaque ou hydroxyde d'ammonium.

S : seconde.

T° : Température.

TRE en % : Teneur en eau en Pourcentage.

UV: Ultraviolet.

W: watt.

KHz: kilo Hertz.

% : Pourcentage.

µg : Microgramme.

µL : Microlitre.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Remerciement | |
| Dédicace | |
| Résumé | |
| Liste des figures et des tableaux | |
| Partie 1 : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| Introduction..... | 2 |
| Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs | |
| I.1 Définition de la phytothérapie | 5 |
| I.2 Plantes médicinales | 5 |
| I.2.1 Définition des plantes médicinales | 5 |
| I.3 Les principes actifs | 5 |
| I.3.1 Définition des principes actifs | 5 |
| I.3.2 Différents groupes des principes actifs..... | 6 |
| I.3.2.1 Poly-phénols | 6 |
| I.3.2.1.1 Acides phénoliques | 6 |
| I.3.2.1.2 Flavonoïdes | 7 |
| I.3.2.1.3 Tanins | 7 |
| I.3.2.1.4 Lignines | 8 |
| I.3.2.2 Alcaloïdes | 8 |
| I.3.2.2 .1 Quinones..... | 8 |
| I.3.2 .3 Terpènes et stéroïdes | 9 |
| I.3.2.3.1 Saponosides | 9 |
| I.3.2.3.2 Huiles essentielles | 9 |
| I.3.3. Propriétés physico-chimiques des poly-phénols..... | 9 |
| I.3.4. Rôle des poly-phénols dans la santé humaine..... | 10 |
| I.3.5. Biosynthèse des poly-phénols..... | 10 |
| I.4. Les macronutriments | 10 |
| I.4.1 Les protéines végétales | 10 |
| I.4.1.1 Les protéines végétales peuvent être classées en six groupes | 11 |
| I.4.1.2 La différence entre les protéines végétales et les protéines animales..... | 11 |
| I.4.1.3 Les avantages des protéines végétales | 12 |
| I.4.2 Les glucides..... | 12 |
| ➤ Le glucose..... | 12 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| ➤ Le fructose | 12 |
| ➤ Le saccharose | 12 |
| ➤ Le lactose et le galactose | 12 |
| I.4.3 Caractéristiques des glucides..... | 12 |
| I.4.4 La différence entre glucide et sucre | 13 |
| I.5 Testes phytochimiques | 13 |
| ➤ Définition | 13 |
| Chapitre II : Techniques d'extraction des métabolites secondaires | |
| II.1 Généralité | 15 |
| II.2 Techniques d'extraction des composés phénoliques | 15 |
| II.2. 1 Les méthodes classiques | 15 |
| II.2.1.1 Extraction par macération | 15 |
| II.2.1.2–L'infusion | 15 |
| II.2.1.3 Extraction par décoction | 16 |
| II.2.1.4 Extraction par Soxhlet | 16 |
| II.2.2 Les méthodes alternatives | 16 |
| II.2.2.1 Extraction assistée par micro-ondes | 16 |
| II.2.2.2 Extraction assistée par ultrason | 16 |
| II.2.3 Les solvants organique..... | 16 |
| II.2.3 1 Définitions | 16 |
| II.2.3.2 Table des solvants | 17 |
| II.2.3.3 La solvation | 17 |
| Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège) | |
| III.1 Place des chênes dans la classification | 19 |
| III.2 Chêne Liège (Quercus Suber.L) | 19 |
| III.2.1 Place taxonomique et systématique du chêne-liège | 19 |
| III.2.2 Caractéristiques générales du chêne liège | 20 |
| III.2.3 Caractères botaniques et forestiers | 20 |
| III.2.4 Ecologie | 21 |
| III.2.5 Aire de répartition | 21 |
| III.2.6 Les ennemies..... | 22 |
| III.2.6.1 Les insectes | 22 |
| III.2.6.2 Les champignons | 22 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| III.2.6.3 Les incendie | 22 |
| III.2.7 Importance économique du liège..... | 23 |
| III.2.8 Utilisation..... | 23 |
| III.2.9 Propriétés Médicinales | 23 |
| III.2.9.1 Usage Interne | 23 |
| III.2.9.2 Usage Externe | 24 |
| Partie 2 : PARTIE EXPERIMENTALE | |
| 1 matériels et méthodes | 26 |
| 1.1 Présentation de la région d'étude | 26 |
| ➤ Matériel végétal et site de récolte | 26 |
| ➤ Situation géographique | 26 |
| 1.2 Séchage et conservation de la plante | 27 |
| ➤ Préparation de la matière première | 27 |
| ➤ Séchage à l'étuve | 27 |
| ➤ Broyage | 27 |
| ➤ Tamisage | 27 |
| ➤ Conservation | 28 |
| 1.3 Paramètres chimique | 28 |
| 1.3.1 taux d'humidité ou teneur en eau | 28 |
| 1.3.2Teneur en cendres | 28 |
| 1.4 screening phytochimiques | 29 |
| ➤ Principe | 29 |
| ➤ Saponines : (test de mousse) | 29 |
| ➤ Huiles volatiles | 29 |
| ➤ Tannins | 30 |
| ➤ flavonoïdes | 30 |
| ➤ Alcaloïdes..... | 30 |
| ➤ Quinones libres | 30 |
| 1.5 Détermination du rendement d'extraction | 30 |
| 1.6 Extraction de la matière grasse par soxhlet | 31 |
| ➤ Principe | 31 |
| ➤ Mode opératoire | 31 |
| ➤ Expression des résultats | 31 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| 1.7 Les Dosages..... | 32 |
| ➤ Dosage des sucres solubles | 32 |
| ➤ Dosages des protéines..... | 33 |
| ➤ Dosage des poly-phénols..... | 33 |
| A/Extraction des poly-phénols | 33 |
| B/Détermination de la teneur en poly-phénols totaux | 33 |
| ➤ Expression des résultats | 34 |
| 2 résultats et discussions..... | 34 |
| 2.1 Paramètres chimique | 34 |
| ➤ Teneur d'humidité..... | 34 |
| ➤ Teneur en cendre..... | 34 |
| 2.2 Testes phytochimiques | 34 |
| ➤ Tanins | 35 |
| ➤ Flavonoïdes | 35 |
| ➤ Quinones libres | 36 |
| ➤ Saponines..... | 36 |
| ➤ Huiles volatiles et Alcaloïdes | 36 |
| 2.3 Le rendement de l'extraction | 37 |
| 2.4 Détermination de la teneur en matière grasse | 37 |
| 2.5 Les dosage | 37 |
| ➤ Dosage des sucres | 37 |
| ➤ Dosage de la protéine..... | 38 |
| ➤ Dosage des poly-phénols | 39 |
| CONCLUSION | 41 |
| BIBLIOGRAPHIE | |

Sommaire

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements [01]. 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 souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux [02]. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité [01].

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [03].

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes [04].

Les poly-phénols possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, anti-cancérogène, anti-inflammatoire, antioxydante etc....) liées à leur caractère réducteur et à leur affinité pour les protéines et les ions métalliques. Les poly-phénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique. Ces substances suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies citées précédemment, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs implications, en particulier, sur la saveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires. Ainsi, ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT), qui ont montré des effets nuisibles (effet cancérigène) [05].

Les nutriments sont des composants élémentaires contenus dans nos aliments, dans le cas idéal, ils sont issus de la nature ambiante. Ainsi, notre corps peut les utiliser pour couvrir ses besoins physiologiques, notamment de croissance et de développement (site 01).

Introduction

Les macronutriments forment les ingrédients essentiels de l'alimentation et représentent pour une partie, la matière donc le corps est fait (les protéines et lipides constituent respectivement 44% et 36% du corps déshydraté) et pour une partie, une ressource énergétique nécessaire à son fonctionnement (les glucides et les lipides fournissent respectivement 55% et 30% de notre énergie **(site 01)**).

L'espèce *Chêne liège*. fait partie des plantes médicinales, qui poussent spontanément en Algérie. Le rhizome de la plante est utilisé dans l'alimentation des animaux (parfois pour l'homme), l'isolation thermique et acoustique, et peut être utilisé pour traiter les hémorroïdes, les leucorrhées et d'autres maladies en médecine traditionnelle.

Le but de notre étude est de quantifier les composés phénoliques, les protéines et les sucres.

Notre travail est organisé en trois chapitres principaux, dont le premier concerne la recherche bibliographique où on définit la phytothérapie, les plantes médicinales, les métabolites secondaires, les composés phénoliques, les protéines et les sucres.

Le deuxième chapitre définit les méthodes d'extraction des métabolites secondaires ainsi que composés phénoliques, et les solvants organiques.

Le troisième chapitre représente et caractérise la plante utilisée; le gland du *chêne liège*.

La deuxième partie qui est matériels et méthodes présente les méthodes d'extraction et les protocoles expérimentaux des dosages utilisés, et les résultats et discussions obtenus de ce travail.

Et en fin, on termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats.

Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs

1.1 Définition de la phytothérapie :

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales"[06].

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages [06].

1.2 Plantes médicinales :

1.2.1 Définition des plantes médicinales :

Dans le code de la Santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales [07].

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents [8].

1.3 Les principes actifs :

1.3.1 Définition des principes actifs :

La plante est le siège d'une intense activité métabolique, processus dynamique subdivisé différemment, par exemple toutes les cellules renferment des glucides, des acides aminés et des lipides, ces molécules qui sont à la base moléculaire des cellules sont dénommées métabolites primaires. Egalement, les plantes synthétisent une foule importante d'autres molécules organiques qui peuvent n'avoir aucun rôle manifeste dans la croissance et le développement (**métabolites secondaires**), qui sont lié aux conditions de vie de la plante. Les substances les plus diverses face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit, prédateurs, microorganismes pathogènes... [9].

Le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante. Les métabolites secondaires ne sont pas vitaux pour l'organisme

Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs

mais jouent nécessairement un rôle important. Plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des radiations UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation. Il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes et les stéroïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques [10].

1.3.2 Différents groupes des principes actifs :

1.3.2.1 Poly-phénols :

Les poly-phénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés phytochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... [11]

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires. [11]

1.3.2.1.1 Acides phénoliques :

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [12].

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) [13].

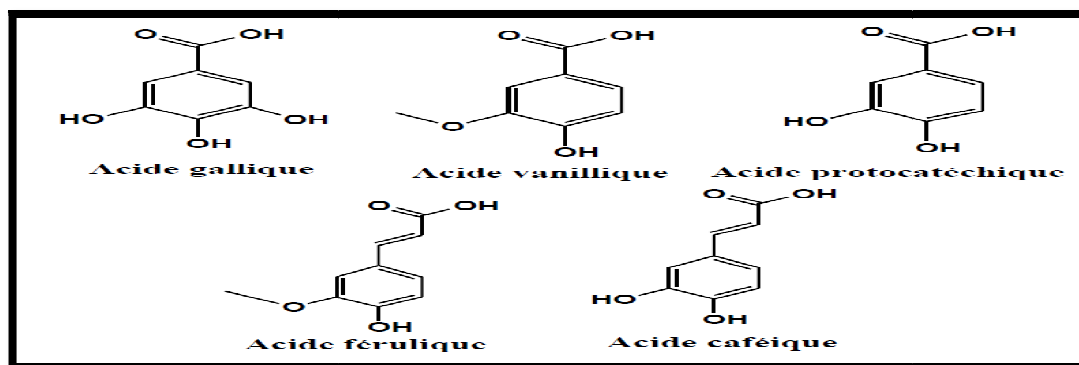


Figure 01: Structures chimiques des acides phénoliques [14].

1.3.2.1.2 Flavonoïdes :

Terme en latin ; flavus= jaune. Ont une structure de C₆-C₃-C₆ à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes [12].

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné [15].

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes [12]. Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales [13].

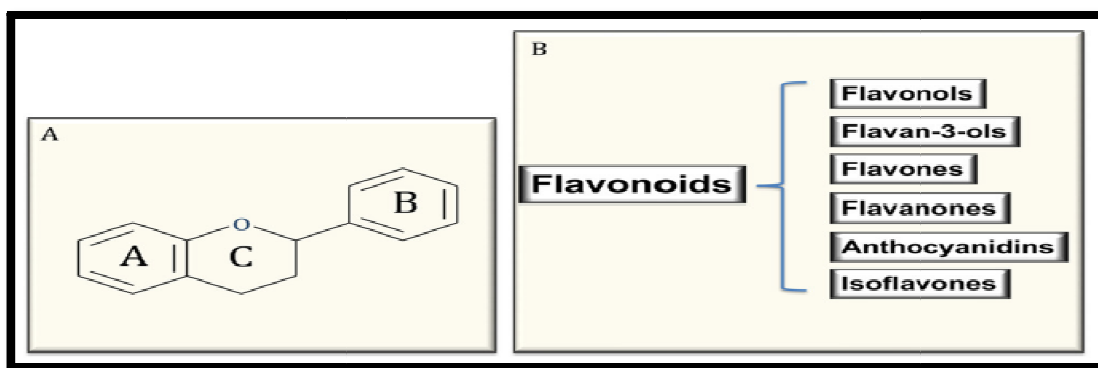


Figure 02 : la structure commune des flavonoïdes (A) et leurs Classification (B) [16].

1.3.2.1.3 Tanins :

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux [17]. On distingue deux catégories : Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines [18].

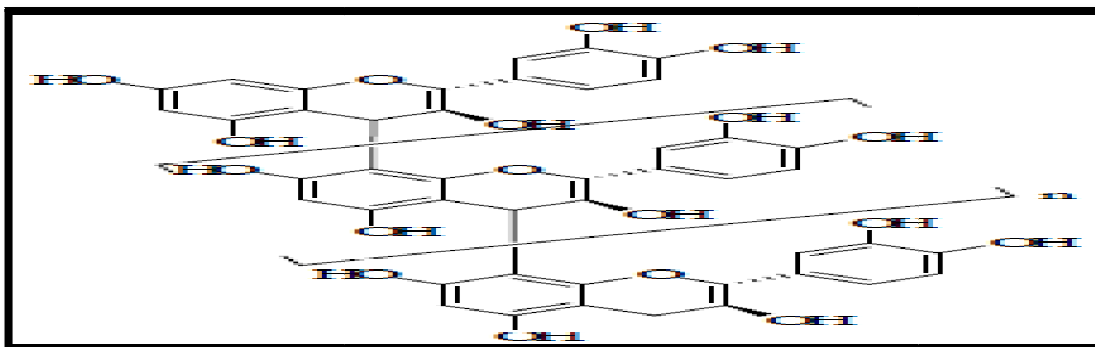


Figure03 : Structure des tanins condensés [17].

Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique [18].

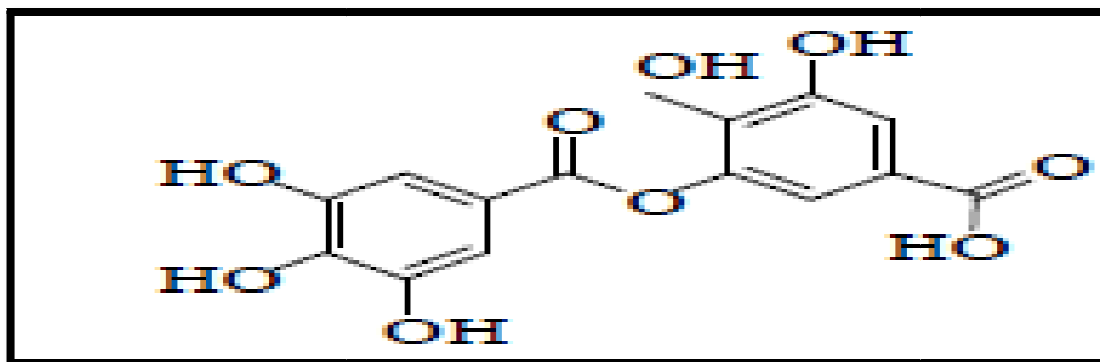


Figure 04 : structure de base des tanins hydrolysables [19].

Les tanins peuvent former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. Par voie interne, elles exercent un effet antidiarhéique, par voie externe, elles imperméabilisent les couches les plus externes de la peau (brûlures, exéma) [20].

Les tanins ont une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux ; cette propriété explique leur emploi dans les hémorroïdes et les blessures superficielles [21].

Des études menées en Nouvelle-Zélande ont montré que la consommation des plantes à tanins pouvait affecter la biologie de certaines espèces de parasites intestinaux en diminuant la production des œufs, De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différents bactéries, virus et champignons [22].

1.3.2.1.4 Lignines :

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante dix familles [23].

1.3.2.2 Alcaloïdes :

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques [12].

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) [17].

1.3.2.2 .1 Quinones :

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-

Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs

2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) [20]. Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactives [18].

1.3.2 .3Terpènes et stéroïdes :

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 des molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule (C₅H₈)ⁿ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... [12]. Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide asismique), des stérols (cholestérol) [17].

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique [17].

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés **les stérols**; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme: B-Sitostérol, Stigmastérol [17].

1.3.2.3.1 Saponosides :

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre [21]. Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes [16].

1.3.2.3.2 Huiles essentielles :

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs [16].

Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs [24].

Ils sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma, favorise l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs frais ou séchées de plante « camomille » [18].

1.3.3 Propriétés physico-chimiques des poly-phénols :

Les poly-phénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc. [25].

Les poly-phénols moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans d'autres solvants tels que l'éther et le chloroforme [26].

1.3.4 Rôle des poly-phénols dans la santé humaine :

Les poly-phénols et autres produits alimentaires phénoliques font l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de leurs effets bénéfiques possibles sur la santé humaine en offrant une protection contre le développement des cancers, les maladies cardiovasculaires, diabète de l'ostéoporose les maladies neurodégénératives (**Figure 05**) [27].

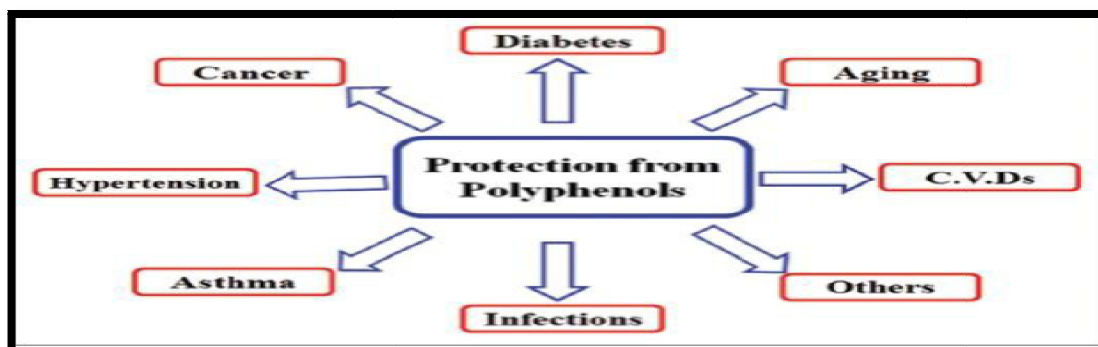


Figure 05: Effets bénéfiques des poly-phénols sur la santé [28].

1.3.5 Biosynthèse des poly-phénols :

Les poly-phénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques:

- Celle de l'acide shikimique (shikimate).
- Celle issue de l'acétate-malonate [29].

De plus la diversité structurale des composés poly-phénoliques due à ce double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte [30].

1.4 Les macronutriments :

Les macros nutriments sont les protéines, les lipides, et les glucides. L'ensemble de ces trois groupes de nutriments est indispensable pour que le corps ait de l'énergie pour fonctionner, ainsi que les éléments pour se développer (**Site 02**).

1.4.1 Les protéines végétales :

Les protéines végétales sont des protéines issues des végétaux tandis que les protéines animales proviennent d'une source animale (viande, poisson, œuf). Les protéines font partie des sept constituants de base de notre alimentation avec les glucides, les lipides, les vitamines, les oligoéléments et minéraux et l'eau (**Site 03**).

Ce sont les seules sources d'azote (N) que l'homme peut utiliser, l'azote étant indispensable à la vie. Les protéines sont des macromolécules constituées de chaînes d'acides aminés (20 AA), dont huit sont dits essentiels (AAE) ou indispensables (c'est-à-dire non

synthétisés par notre organisme) chez l'adulte. Les vingt AA sont l'alanine, la valine (AAE), la leucine (AAE), l'isoleucine (AAE), la proline, la phénylalanine (AAE), la méthionine (AAE), le tryptophane (AAE), la cystéine, la tyrosine (AAE chez l'enfant), la sérine, la thréonine (AAE), l'arginine (AAE chez l'enfant), la glutamine, l'aspartame, l'asparagine, le glutamate, l'arginine, la lysine (AAE) et l'histidine (**Site 03**).

Biochimiquement, c'est la fonction « anime » de l'AA qui apporte la molécule d'azote. Les AA se lient entre eux grâce à une liaison spécifique dite peptidique. La biosynthèse protéique se réalise dans les cellules, selon des mécanismes assez complexes qui aboutissent à la formation d'une chaîne d'AA dont l'agencement dépend d'un gène spécifique. Contrairement aux protéines animales, les protéines végétales sont dites « incomplètes » car elles ne contiennent pas simultanément les huit AAE dans leur formule biochimique (**Site 03**).

1.4.1.1 Les protéines végétales peuvent être classées en six groupes :

- les céréales (avoine, blé, riz, millet, orge, maïs, seigle pour les plus classiques, amarante, sorgho).
- les légumineuses (haricot, fèves, lentilles, petits pois, pois chiches, soja et tofu).
- les noix (cajou, amande, noisette).
- les graines (tournesol, sésame, citrouille, chanvre, luzerne).
- les légumes (brocoli, pommes de terre).
- les algues (spiruline).

L'intérêt des sources végétales de protéines repose sur l'apport concomitant de nombreux nutriments reconnus comme bénéfiques sur le plan nutritionnel : fibres, vitamines et oligo-éléments (**Site 03**).

1.4.1.2 La différence entre Les protéines végétales et Les protéines animales

Les protéines végétales présentent généralement une teneur limitée en certains acides aminés indispensables tels que la lysine pour les céréales et les acides aminés soufrés pour les légumineuses. Aucune source de protéines végétales recensée ne couvre l'intégralité des besoins, ce qui n'est pas le cas des protéines animales dont certaines sont complètes. Mais il est très facile de pallier ce manque en mélangeant les sources de protéines végétales. Légumineuses et céréales sont complémentaires et permettent un apport complet. On conseille alors d'associer soja bio et riz, quinoa et lentilles ou encore blé et pois chiches (**Site 04**).

1.4.1.3 Les avantages des protéines végétales :

Si les sources animales offrent un apport protéique plus complet, elles sont également plus riches en lipides. En consommer en quantité trop importante peut donc encourager la formation du cholestérol. Les protéines animales sont également acidifiantes, ce qui peut, à terme et en trop grande quantité là-encore, être nuisible à l'organisme. Au contraire, les protéines végétales sont riches en glucides complexes et en fibre. En plus de favoriser le confort digestif et d'être source d'énergie, une consommation importante en protéines végétales par rapport aux protéines animales réduit les risques de surpoids ou de maladies cardiovasculaires (**Site 04**).

1.4.2 Les glucides

Un glucide est une classe de composés organiques. Il existe deux types de glucides : les glucides simples et les glucides complexes. Les glucides simples comprennent le glucose, le fructose et le galactose qui peuvent à leur tour former du saccharose (= sucre de table), du lactose ou du maltose. Les glucides complexes comprennent l'amidon, le glycogène ainsi que les fibres (**Site 05**).

- **Le glucose** est présent dans la plupart des produits végétaux au goût sucré (fruits, miel, certains légumes) mais aussi à l'état libre dans les fluides biologiques (notamment le sang) (**Site 06**).
- **Le fructose** est très répandu dans la nature, dans les fruits en particulier et dans beaucoup de légumes. Il est présent dans l'inuline de racines ou les tubercules de certaines plantes (artichaut, oignon, chicorée, topinambour) (**Site 06**).
- **Le saccharose** (le « sucre de table » dans le langage courant) se compose d'une unité de glucose liée à une unité de fructose. Le saccharose est le sucre de référence pour définir le pouvoir sucrant des sucres, polyols et édulcorants intenses (**Site 06**).
- **Le lactose** et **le galactose** sont des sucres naturellement présents dans les produits laitiers (**Site 06**).

1.4.3 Caractéristiques des glucides :

- Substrats énergétiques préférés des cellules
- On distingue les glucides simples et les glucides complexes
- Stockés dans l'organisme sous forme de glycogène
- Se trouvent majoritairement dans les produits sucrés, les féculents et les fruits

Chapitre I : les plantes médicinales et les principes actifs

- Un excès de glucides peut entraîner l'hyperinsulinisme et le diabète de type 2 à long terme (**Site 05**).

1.4.4 La différence entre glucide et sucre :

Un sucre simple est le plus petit maillon de la famille des glucides. C'est lui qui est responsable du goût sucré des aliments. Le fructose, le galactose et le glucose sont composés d'une seule molécule. Associés, ils forment des molécules plus complexes.

Par exemple, le saccharose (sucre blanc) renferme du fructose et du glucose et le lactose (sucre du lait), du galactose et du glucose (**Site 07**).

1.5 Testes phytochimiques :

➤ Définition:

Sont des tests préliminaires pour identifier le principe actif de la plante, au bien un ensemble des réactions de caractérisation des différentes classe des composés chimiques [31], les classe chimiques recherchées dans cette plantes : les flavonoïdes, les alcaloïdes, saponosides... par contre, le screening phytochimiques il ne permet pas d'identification ou de déterminer la structure chimique des composés présentes [32].

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. [32].

Le screening phytochimique a été réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques [32].

Chapitre II : Techniques d'extraction des métabolites secondaires

II.1 Généralité :

L'extraction initiale est la première étape de l'isolement et de l'analyse des métabolites secondaires. Elle est toujours réalisée sur une petite quantité de matière végétale pour obtenir un extrait primaire [33].

Une fois le métabolite spécifique a été identifié dans l'extrait initial, il peut alors être souhaitable de l'isoler en plus grandes quantités [33].

En raison de la composition souvent très complexe de la matière végétale et la quantité infime des phytoconstituants présents, la sélection d'une technique d'extraction pertinente et stratégique est d'une importance primordiale [33].

En générale, la technique d'extraction des métabolites secondaires est la méthode et les moyens utilisés pour extraire sélectivement un (ou plusieurs) de ces composés d'un mélange initial, sur la base de la différence de leurs solubilités dans un solvant.

Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique [33].

II.2 Techniques d'extraction des composés phénoliques :

L'extraction est la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales [34]. Les différentes méthodes d'extractions sont:

II.2.1 Les méthodes classiques :

II.2.1.1 Extraction par macération :

La poudre de la plante médicinale est macérée à température ambiante pendant quelques heures à une nuit dans des solutions aqueuses des solvants : éthanol, acétone, méthanol ([35] ; [36]).

II.2.1.2 L'infusion :

L'infusion est la forme de préparation la plus simple ; on l'applique généralement aux organes délicats de la plante : fleurs, feuilles aromatiques, sommités. Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines, huiles... [37].

L'infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes, il s'agit d'un procédé semblable à la préparation d'un thé commun dans une théière. On emploie, en général, comme pour la décoction, un produit végétal pour dix parts d'eau [38].

II.2.1.3 Extraction par décoction :

La matière végétale broyée est ajoutée à la solution du solvant d'extraction (éthanol, acétone ou méthanol). Chaque mélange est porté à ébullition dans un bain Marie durant 30 min puis filtré sur un filtre spécifique [35].

II.2.1.4 Extraction par Soxhlet :

Le Soxhlet est un appareil qui porte le nom de son inventeur Franz Von Soxhlet, il est utilisé pour l'extraction solide-liquide [33].

L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction [33].

II.2.2 Les méthodes alternatives :

II.2.2.1 Extraction assistée par micro-ondes :

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : microwave assisted extraction » consiste à irradier par micro-ondes la matière végétale broyée, en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes(hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement ([39] ; [40]).

II.2.2.2 Extraction assistée par ultrason :

La poudre de la plante médicinale est mélangée avec un solvant (n-hexane ; méthanol ; acétone) dans un récipient en verre (tube à essai, bêcher...). Le récipient et son contenu sont plongés dans le bain à ultrasons contenant de l'eau ou de la glace. Cette extraction est généralement réalisée à 20-25 kHz et 150 W pendant 15 à 45 min à une température inférieure à 30 °C ([41] ; [42] ; [43]).

II.2.3 Les solvants organique:

II.2.31 Définitions :

Les solvants sont des produits chimiques capables de dissoudre et de diluer d'autres substances sans les modifier ni se modifier eux-mêmes. Un solvant est un liquide dans lequel on introduit une ou plusieurs substances – les solutés – de manière à constituer une phase homogène : la solution [44]. Le solvant est donc défini non par sa structure chimique, mais par son état physique – l'état liquide – et par l'usage qui en est fait ; il existe ainsi une variété infinie de solvants : l'eau, les composés organiques (alcools, acides, hydrocarbures, etc.) sont

Chapitre II : Techniques d'extraction des métabolites secondaires

les plus classiques, et des gaz condensés ou sous pression, comme l'ammoniac ou le dioxyde de carbone [45].

Le terme solvant organique se réfère aux solvants qui sont des composés organiques qui contiennent des atomes de carbone. D'après Cohr, un solvant organique est un composé chimique ou un mélange qui est liquide entre 0°C et 200°C approximativement, qui est volatil et relativement inerte chimiquement. Les solvants peuvent aussi être utilisés pour extraire les composés solubles d'un mélange, l'exemple le plus commun étant l'infusion de thé dans de l'eau chaude (L'eau est le solvant le plus courant) [46].

II.2.3.2 Table des solvants :

| Polarité | Solvant | Formule chimique | T d'ébullition | Constante diélectrique | Masse Volumique (g.ml⁻¹) |
|----------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------|-------------------------------|--|
| apolaires | Hexane | C ₆ H ₁₄ | 69C° | 2.0 | 0.655 |
| Polaires aprotiques | Acétone Diméthylsulfoxyde (DMSO) | CH ₃ COCH ₃ CH ₃ SOCH ₃ | 56 C° 189 C° | 21 47 | 0.786 1.092 |
| Protiques polaires | Ethanol Méthanol Eau | C ₂ H ₅ -OH CH ₃ -OH H-O-H | 79 C° 65 C° 100 C° | 24 33 80 | 0.789 0.791 1.000 |

Tableau 01: Table des solvants [source (Site 08)]

II.2.3.3 La solvation :

La solvation est le phénomène physico-chimique observé lors de la dissolution d'un composé 'soluté' chimique dans un solvant [47].

Lors de l'introduction d'une espèce chimique initialement à l'état solide (sous forme de cristal ou bien amorphe), liquide ou gazeux dans un solvant, les atomes, ions ou molécules de l'espèce chimique se dispersent dans la solution et interagissent avec les molécules de solvant. Cette interaction s'appelle la solvation [48].

Quand le soluté est en phase condensée (liquide ou solide), la solvation entre dans le bilan énergétique qui met en jeu la séparation des molécules ou des ions dans le soluté avant sa dispersion dans le solvant. Le soluté ne se dissout que si les interactions soluté-solvant compensent la perte des interactions soluté-soluté et solvant-solvant du fait de la dissolution :

- Soit par réaction chimique.
- Soit en affaiblissant suffisamment les liaisons (par exemple, l'eau divise les forces électrostatiques par environ 80) [48].

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

III.1 Place des chênes dans la classification :

Les chênes appartiennent, à l'ordre des fagales et à la famille des fagacées. L'ordre des fagales, comprend des végétaux de grandes tailles, à feuilles simples et à floraison monoïque. Les autres familles de cet ordre, sont les bétulacées (bouleau et aulne) et les corylacées (noisetier et charme). dans la famille des fagacées on distingue les genres *Fagus*, *Castanea*, *Quercus*,... [49].

Les chênes habitent, presque tout l'hémisphère Nord, depuis les régions tempérées froides jusqu'à l'Equateur. En Afrique, ils sont limités à sa partie Nord [49].

Les caractères les plus apparents, qui permettent habituellement de comparer et de distinguer les chênes sont tirés de la cupule. On peut, ainsi séparer, la section des chênes chevelus (section cerise) qui comprend le chêne kermès, le chêne afares et le chêne liège et la section des chênes à cupule lisse (section Lépidos – balanus) qui comprend le chêne rouvre, le chêne pédoncule, le chêne zeen et le chêne vert [49].

III.2 Chêne Liège (Quercus Suber.L) :



Photo 06 : Chêne Liège

III.2.1 Place taxonomique et systématique du chêne-liège :

Le chêne-liège (*Quercus suber L.*) est une espèce végétale qui appartient à la famille des Fagacées (sous famille des Quercoïdées), ordre des Fagales, classe des Dicotylédones, sous embranchement des Angiospermes, embranchement des spermaphytes et genre *Quercus*, un genre qui comprend 200 à 500 espèces dont 6 existent en Afrique du Nord [50]. L'arbre a été décrit pour la première fois par LINEE en 1753 [51].

[52], signale que le genre *Quercus* pose un problème polygénétique qui n'est toujours pas résolu, il met l'accent sur le problème posé par *Quercus suber* et les espèces voisines : *Quercus pseudo suber* et *Quercus cerise*.

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

III.2.2 Caractéristiques générales du chêne liège :

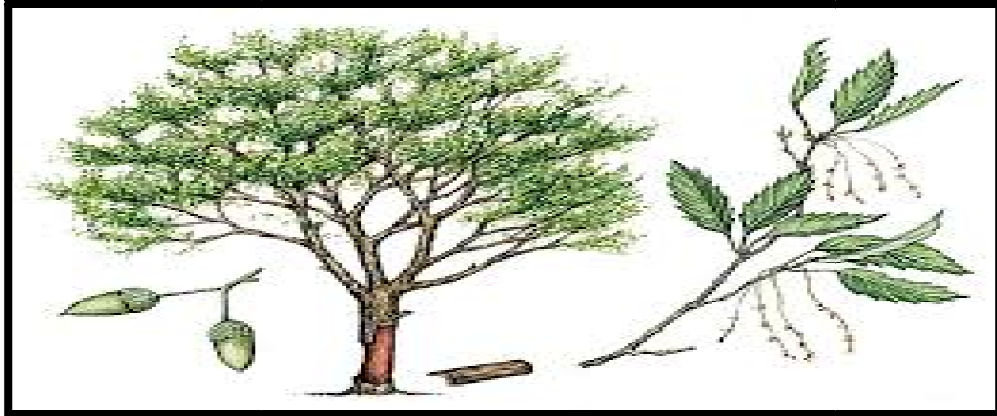


Figure07 : Caractéristiques générales du chêne liège (site09).

III.2.3 Caractères botaniques et forestiers :

Le chêne liège est un arbre de petite taille, ne dépassant guère les 13 m, mais pouvant néanmoins atteindre 25 m. Son port est variable en fonction de la densité du peuplement : tronc court et houppier étalé dans les peuplements clairs (impact anthropique marqué) ou tronc long et houppier élancé dans les peuplements denses. Le chêne liège est toutefois une espèce héliophile, il présente un couvert léger laissant passer la lumière. Il peut vivre jusqu'à 250 à 300 ans mais les levées successives, les éventuels incendies et les conditions situationnelles, diminuent fortement cette longévité [53].

Il s'agit d'un chêne avec des feuilles persistantes, de forme ovale, coriace vert foncée et lisse sur sa face supérieure, blanchâtre et tomenteuse sur sa face inférieure. Le pétiole est court. Les feuilles de plus d'un an meurent et tombent quelques mois après le développement des jeunes feuilles. Le chêne liège est essentiellement allogame bien qu'il soit monoïque comme tous les chênes d'où sa grande richesse génétique. Les fleurs mâles apparaissent en bouquet entre avril-mai à l'extrémité des pousses de l'année. Le fruit ou gland, rarement comestible par l'homme à cause de son goût amer, et présente une forme et des dimensions très variables 2 à 5 cm en longueur et 1 à 2 cm en largeur, il se forme dans l'année et tombe d'octobre à novembre jusqu'à janvier [54], [55].

La durée de maturation annuelle de glands nous permet de différencier le chêne liège du chêne occidental qui lui est identique mais dont les glands présentent une durée de maturation biannuelle. C'est une espèce qui fleurit et fructifie de bonne heure, quelques fois dès l'âge de 12 à 15 ans [56].

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

L'originalité de cette espèce est de produire une écorcée paisse périodiquement récoltable sans trop affaiblir les arbres, fournissant du liège, matériau assez unique pour ses propriétés physiques, chimiques et esthétiques [57].

III.2.4 Ecologie :

Le Chêne-liège est une espèce endémique méditerranéenne. Dans son aire, il occupe les bioclimats humides et subhumides ou les températures moyennes annuelles oscillent entre 10° C et 17° C, une humidité de l'air de 60% et une tranche pluviométrique moyenne annuelle de 700mm [58]. D'après [59], le chêne liège peut être même végéter dans le semi-aride il prospère sur des sols siliceux frais et profonds.

III.2.5 Aire de répartition:

Le chêne-liège est une essence typiquement méditerranéenne par sa distribution et par ses qualités biologiques. Son habitat est exactement et uniquement le bassin méditerranéen occidental et déborde sur les côtes atlantiques, du Maroc au golf du Gascogne recouvrant une superficie de 2 250 000 [54]. Il se situe entre 34° et 44° de latitude nord (Carte 1). On ne le trouve nulle part ailleurs à l'état spontané dans le monde.

Les principales subéraies algériennes sont localisées dans le Tell Oriental, situées essentiellement en zones subhumides et humides au Nord-est de l'Algérie jusqu'à la frontière tunisienne [57].

Le chêne liège s'étend d'une manière assez continue le long de la zone littorale et reste disséminé sous forme d'îlots de moindre importance dans la partie Ouest [60].

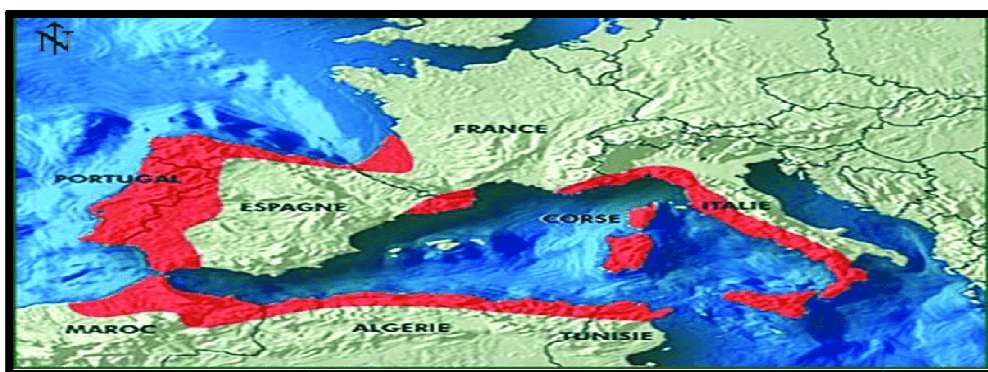


Figure08: Distribution du chêne-liège dans son aire géographique méditerranéen net atlantique (**site10**).

Cette espèce couvre une superficie totale d'environ 1 704 000 ha, éparpillés sur sept pays : Portugal, Espagne, France, Italie, Algérie, Tunisie et Maroc [61].

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

Tableau 02 : Répartition et superficies des peuplements de chêne-liège en Algérie [61].

| Subéraies orientales | | Subéraies occidentales | |
|----------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| Skikda | 40 000 ha | Tlemcen | 2 000 ha |
| Jijel – El-Milia | 40 000 ha | Chleff | 3 000 ha |
| Guelma | 20 000 ha | Médéa | 2 00 ha |
| Annaba - El-Tarf | 30 000 ha | Blida | 1 000 ha |
| Tizi-Ouzou | 10 000 ha | | |
| Bouira | 1 500 ha | | |
| Total | 141 500 ha | | 6 200 ha |

Source : [61]

En Algérie, le chêne liège est reconnu selon les noms suivants :

El Féline : cette dénomination est probablement due au fait de la dénomination grecque Phelloderus (Phellos : liège).

Aqchouch: dans les régions de grande Kabylie.

Fernane: dans les régions de petite Kabylie [62].

Belloute: dans notre région d'étude.

III.2.6 Les ennemies :

III.2.6.1 Les insectes :

Les principaux insectes qui attaquent le chêne-liège sont : le grand capricorne (*Cerambyx cerdo L*), qui attaque le bois du tronc et des branches, le bombyx disparate (*Lymantria dispar L*) et la tordeuse verte (*Tortrix viridana*), qui attaquent les feuilles et les bourgeons, le carpocapsedes glands (*Cydia fagiglandana*), la fourmi du liège (*Crematogaster scutellaris*) [63].

III.2.6.2 Les champignons :

Ils provoquent des dégâts touchent généralement, les feuilles et le bois tels que : la truffe, *Armillaria* et *Polyporus* [64].

III.2.6.3 Les incendie :

Le chêne-liège est une espèce le plus résistant au feu. Les arbres exploités résistent encore plus au feu (sauf si le feu vient juste après le démasclage), parce que le liège, un des tissus végétaux le plus isolant, renforce la résistance du chêne-liège vis-à-vis du feu [66].

En Algérie, la surface de la forêt de chêne-liège affectait par les incendies (1992 à 1997 et 2001) est de 90 987.39 ha avec 31.66%, [66].

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

III.2.7 Importance économique du liège :

En raison de la qualité, de la valeur de son écorce et de son bois, le chêne-liège est de point de vue économique l'essence forestière la plus importante d'Afrique du nord [67]. Son écorce (liège) est une ressource exploitable dans plusieurs domaines, il est utilisé dans la fabrication des bouchons, des panneaux d'agglomérés et l'isolation, pour la décoration et le revêtement et article divers. Il contient du tanin utilisé dans l'industrie de tannage. Son bois sert à la fabrication des traverses de chemin de fer, et de tonneaux et autres usages en menuiserie. C'est un bois rouge clair compact [68].

III.2.8 Utilisation :

Utilisé pour ses glands dans l'alimentation des animaux domestiques, pour son bois pour le chauffage et la construction, c'est avec son écorce que le chêne-liège est le plus utilisé. De nos jours, son liège est concassé pour former des granulés qui, portés à 300° C, se dilatent et s'agglomèrent avec sa propre résine sans adjonction d'aucun liant. Sous cette forme, il est employé pour réaliser des panneaux d'isolation thermique et acoustique (site11).

Tableau 03: Les principaux domaines d'utilisation du liège [61].

| Domaine | Description | Propriété |
|---------------------|---|--|
| Cristallerie | Ponçage au liège | Abrasives du liège |
| Construction | Ponçage de marbre, granit Isolation d'espaces restreints Isolation thermique, phonique | Produit abrasif Encombrement réduit Pouvoir retardant au feu |
| Construction navale | Circuits de calorifugeage Gainages de ventilation Revêtements avec caoutchouc | Isolant thermique Imputrescible Antidérapant |
| Aérospatiale | Isolation épaisseur 3-15 mm | Ecran thermique |
| Nucléaire | Capsule à isotope radioactif | Doublage contre choc et feu |
| Mécanique | Jauge de flottaison Joints mixtes avec caoutchouc Joints d'étanchéité Joints paliers transmission | Flottabilité, résistance aux agents chimiques Elasticité Compressibilité |
| Maroquinerie | Sacs, nécessaire de bureau, portefeuilles... | |
| Bouchage | Pharmacie, bouteilles d'huile, tonneaux... | |
| Loisirs | Balles, jouets, raquettes de tennis, jeu de fléchettes, flotteurs (pêche), bourres pour cartouches de chasse. | |

III.2.9 Propriétés Médicinales:

On utilise principalement l'écorce, les feuilles et les glands (site12).

III.2.9.1 Usage Interne:

En usage interne, le Chêne peut être utilisé pour traiter les hémorroïdes, les leucorrhées, les hémorragies, les hémoptysies, les diarrhées tenaces, les selles sanglantes, les gastralgies

Chapitre III : monographie de la plante sélectionnée (le gland : le fruit du chêne liège)

persistantes, la paresse digestive, la dysenterie, et l'incontinence urinaire. Il sert aussi comme traitement d'appoint de la tuberculose. Contre les leucorrhées, les hémorragies, les hémoptysies, les diarrhées et l'incontinence urinaire, vous pouvez prendre une décoction constituée d'une poignée de feuilles de Chêne par litre d'eau, à laisser bouillir 10 minutes. Cette décoction est à prendre à raison de 3 tasses par jour. Contre les métrorragies, l'hémoptysie et les selles sanglantes, vous pouvez prendre de la poudre d'écorce de Chêne à raison de 3 g dans du miel, le matin à jeun (**site12**).

Contre la tuberculose, vous pouvez prendre une décoction constituée de 5 g d'écorce de Chêne pour un litre d'eau, à laisser bouillir 10 min. Cette décoction est à prendre à raison de 3 tasses par jour entre les repas (**site12**).

Contre les gastralgies rebelles, vous pouvez prendre une infusion constituée de 30 g de poudre de glands par litre d'eau. Cette infusion est à sucrer et à prendre à raison d'une tasse après les repas.

Contre la paresse digestive, les diarrhées et les dysenteries, vous pouvez prendre une infusion de poudre de glands torréfiés, appelée café de glands (**site12**).

III.2.9.2 Usage Externe:

En usage externe, le Chêne peut être utilisé pour soigner les angines, les stomatites, les pharyngites, les ulcères atones, les engelures, les dermatoses, la transpiration des pieds, les fistules anales, les leucorrhées, les métrites, la blennorragie et les hémorroïdes (**site12**).

Contre la blennorragie, les métrites et les leucorrhées, vous pouvez vous faire des injections vaginales froides avec une décoction constituée de 2 poignées d'écorce ou de feuilles de Chêne par litre d'eau, à laisser bouillir 10 min (**site12**).

Contre les dermatoses, les ulcères de jambes, l'impétigo, les gerçures, les fissures anales et les hémorroïdes, vous pouvez vous faire des pansements ou des bains de siège avec cette décoction.

Contre les angines, les stomatites et les pharyngites, vous pouvez vous faire des gargarismes avec une décoction constituée de 15 g d'écorce ou de feuilles de Chêne par litre d'eau. Contre les engelures et la transpiration excessive des pieds, vous pouvez utiliser la décoction d'écorce moulue en bains de pieds chauds de 20 à 30 min (**site12**).

Contre la faiblesse générale, le lymphatisme et le rachitisme vous pouvez ajouter une décoction d'écorce à votre bain (**site12**).

1. Matériels et méthodes :

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie et Phytochimie du département de biologie, Université de Chadli Bendjdid, El-Tarf pendant trois mois (du 14 Mars jusqu'à mai).

1.1 Présentation de la région d'étude :

➤ Matériel végétal et site de récolte :

Le matériel végétal est constitué de fruits de la plante : Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) qui appartient à la famille des Fagacées, la récolte a été effectuée en décembre 2018, à El Aïoune; Wilaya d'El Tarf (Est Algérie).

➤ Situation géographique :

El Aïoune; Wilaya El Tarf; Daïra: El Kala

El Aïoune est une commune de la wilaya d'El Tarf en Algérie; elle occupe une superficie de 45,85 Km² située à 36° 52' 15" au nord et de 8° 35' 47" à l'est, à une altitude de 263 m (site13).



Figure09 : situation géographique du site de récolte (El Aïoune) ; source (site14).

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

1.2 Séchage et conservation de la plante :

➤ Préparation de la matière première :



Photo 10 : Préparation des échantillons.

Les fruits du gland liège ont été séparés en deux parties (Péricarpe-Amande) et découpées avec un couteau, en lamelles.

➤ Séchage à l'étuve :

Le séchage est fait à une température de 40°C pendant 48 heures.

➤ Broyage :

Les écorces ainsi que les noyaux séchées vont être réduits en poudre à l'aide d'un batteur électrique.

➤ Tamisage :

La poudre est tamisée par un tamis très fin.



Photo 11 : Les échantillons en poudre.

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

➤ Conservation :

La meilleure façon de conserver de l'échantillon préparé est de les placer dans une boîte en verre, les ranger à l'abri de la lumière et de l'humidité ; pour que l'échantillon garde toutes leur propriétés jusqu'à la date d'extraction ou d'autres tests.



Photo 12 : La conserver des échantillons.

1.3 Paramètres chimique :

1.3.1 Taux d'humidité ou teneur en eau :

La teneur en eau est la différence entre le poids frais et le poids sec d'un gramme de l'échantillon, on le place dans l'étuve réglée à 105 ± 2 °C pendant 3 heures; jusqu'à l'obtention d'un poids constant [70].

Cette différence est exprimée en pourcentage par rapport à la matière fraîche selon la formule déterminée par la relation :

$$\text{TRE en \%} = (\text{PF} - \text{PS}) \times 100 / \text{PF}. \text{ [71,72]}.$$

TRE : teneur en eau des 2 échantillons (noyau, écorce) (en %)

PF : poids frais juste après récolte (en g)

PS : poids sec après séchage à l'étuve (en g).

1.3.2 Teneur en cendres :

2g de chaque échantillon séchées de la plante 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 [70]. On exprime la matière organique par la formule suivante :

$$\text{MO \%} = [(M1 - M2)/P] \times 100 \text{ [73]}.$$

Soit MO est la matière organique en (%)

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

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 calculée comme suit :

$$Cd = 100 - MO \%, [74].$$

1.4 screening phytochimiques:

➤ *Principe:*

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimique essentiellement les composés phénolique tanins et flavonoïdes, les composés azotés en particulier les alcaloïdes.

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimique réalisés, généralement sur les extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur la poudre d'échantillon à analyser.

Ils sont basés sur :

-les essais de solubilité des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organique de polarité différente ; l'eau, l'éthanol, l'éther diéthylique.

-réaction de coloration et de précipitation [75].

➤ *Saponines : (test de mousse) :*

1 g de la poudre sèche est pesé dans une fiole dans laquelle 10 ml d'eau distillée sont ajoutés et bouillis pendant 5mn. Le mélange est filtré, 2.5 ml du filtrat sont ajoutés à 10 ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le tube à essai est secoué vigoureusement pendant environ 30 s puis on laisse reposer une demi-heure. Une mousse alvéolaire révèle la présence des saponines [75].

➤ *Huiles volatiles :*

Macérer 10 g de la poudre dans 40 ml d'eau distillée avec agitation constante pendant 30 mn. L'extrait est filtré.

2 ml du filtrat sont secoués avec 0.1 ml de NaOH dilué et une petite quantité de HCl dilué.

Un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles [75].

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

➤ ***Tannins :***

Une portion de l'infusé à 10% est diluée avec l'eau distillée dans un rapport de 1:4 et ajouté 3 gouttes de chlorure ferrique FeCl_3 de 10%. Une couleur bleu ou vert indique la présence de tanins [75].

➤ ***flavonoïdes :***

Macérer 10 g de la poudre dans 150 ml de HCl dilué à 1% pendant 24 h, filtrer et procéder au test suivant :

Prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout de NH_4OH , l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieur du tube à essai indique la présence des flavonoïdes [76].

➤ ***Alcaloïdes :***

Macérer 5g de la poudre dans 50 ml de HCl à 1%, filtrer puis additionner au filtrat quelques gouttes de réactif de Mayer. Un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes [77].

➤ ***Quinones libres :***

1 g de poudre broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, l'extrait est filtré puis concentré au rot à vapeur.

La présence des quinones est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10 lorsque la phase aqueuse vire au jaune rouge ou violet [78].

1.5 Détermination du rendement d'extraction:

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle de. L'objectif de l'extraction est de séparer les substances phénoliques 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 phénoliques) à été déterminé par rapport à 1g de broyat de chaque échantillon (noyau, écorce).

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre la boîte pleine (après évaporation) et le poids de la boîte vide (avant évaporation).

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante (Falleh *et al.*, 2008):

$$\mathbf{R(\%)} = (\mathbf{M_{ext}/M_{éch}}) \times \mathbf{100}$$

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 [79].

1.6 Extraction de la matière grasse par soxhlet :

➤ *Principe :*

Elle a pour base les méthodes de la communauté européenne et ceci à travers le bulletin inter professionnel des études analytiques [80], pour la détermination de la composition chimique de nos matières premières.

Principe : il consiste en extraction des matières grasses contenues dans la poudre par un solvant.

➤ ***Mode opératoire :*** elle est obtenue par extraction à l'éther diéthylique pendant 6 heures.

- Peser 12g de la poudre + 0.5g d'un catalyseur (sulfate de sodium) dans une cartouche à extraction
- Placer dans un extracteur « Soxhlet » la cartouche contenant la poudre
- Verser dans un ballon rond à col rodé 125 ml d'éther diéthylique
- Conduire le chauffage T° : 60°-70°C de façon à obtenir 8 distillations par heure
- Après 6heurs d'extraction, évaporer l'éther du ballon et mettre ce dernier à l'étuve à 103°C pendant 75min pour éliminer l'éther résiduel.

Peser le ballon après dessiccation jusqu'à poids constant

➤ *Expression des résultats :*

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante

$$\mathbf{MG(\%)} = (\mathbf{P_1 - P_2/M_E}) \times \mathbf{100}$$

P2 : poids du ballon vide.

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

P1 : poids du ballon après évaporation.

ME : masse de la prise d'essai.

MG : taux de la matière grasse.

100: pour le pourcentage.



Photo 13: appareille Soxhlet



Photo 14 : rote à vapeur

1.7 Les Dosages : Tous les dosages son fait par le spectrophotomètre



Photo 15 : appareille spectrophotométrie

➤ ***Dosage des sucres solubles :***

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de [81]. 100mg de chaque échantillon broyée est mélangé 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 résidu sec. Dans un tube à essai contenant 2ml de l'extrait obtenu on met 4ml de réactif d'anthrone ensuite il est placé au bain marie à 62C° pendant 8min (la solution vire alors légèrement au bleu vert) après refroidissement dans un bain de glace le tube est mis au repos à l'obscurité pendant 30min, la lecture est faite au spectrophotomètre à 585 nm [82].

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

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 exprimées finalement en $\text{g}/100\text{g}$ MS. [83].

➤ Dosages des Protéines :

Le dosage des protéines totales solubles des extraits de chaque échantillon a été réalisé selon la méthode de (**Bradford, 1976**). C'est une méthode colorimétrique qui permet la détermination des concentrations d'une solution protéique à partir de la variation de coloration du bleu de Coomassie lorsqu'il se fixe aux protéines. On prend 1g de poudre des échantillons à laquelle 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 Sérum Albumine) et 2ml de réactif de Bradford. Les résultats sont exprimés en g de protéines par 100g de produit sec [84].

➤ Dosage des poly-phénols :

A/Extraction des poly-phénols :

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le solvant utilisé dans cette présente étude est le méthanol pur (99%), [85,86]. 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 [87,88]. Le rendement d'extraction en poly-phénols augmente aussi avec le temps de contact.

On introduit 1 g des de chaque échantillon dans un mortier, avec 50 ml de mélange méthanol-eau (30/20), après une macération de 15 mn 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.

B/Détermination de la teneur en poly-phénols totaux :

La teneur en poly-phénols totaux de chaque échantillon est déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu [89].

Dans un tube en verre, on introduit 0.5ml de l'extrait obtenu et 0.5 ml de réactif de FolinCiocalteu, on mélange correctement pendant 5mn, on ajoute 5 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 7% et 12.5ml d'eau distillée, Le mélange est agité au vortex et conservé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant une heure, on mesure

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

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.

➤ ***Expression des résultats :***

Le taux de poly-phénols totaux dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) établie avec des concentrations précises d'acides gallique Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon

2 Résultats et discussions :

2.1 Paramètres chimique :

➤ ***Teneur d'humidité***

Les résultats du test d'humidité montrent que le Péricarpe du gland est caractérisé par un taux d'humidité de **35.48%**, par conséquent l'Amande de gland est caractérisée par une teneur plus élevée en eau **47.43%**.

➤ ***Teneur en cendre :***

Les résultats du test de la teneur cendre montrent que les Péricarpe du gland est caractérisé par une teneur en cendre de **17.4%**, par conséquent l'Amande de gland est caractérisée par une teneur plus élevée en eau **31.86%**.

2.2 Testes phytochimiques:

L'analyse qualitative de la poudre qui a pour but la mise en évidence la présence de certains types de métabolites secondaires, a été faite par des réactions de colorations en tubes à essai. Quant aux alcaloïdes, leur présence est détectée par une réaction de précipitation les résultats sont caractériser dans **le Tableau04**.

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau 04 : Résultats de screening phytochimique.

| Tests | Amande | Péricarpe |
|------------------|--------|-----------|
| Saponines | + | + |
| Huiles volatiles | - | - |
| Tannins | ++ | ++ |
| Flavonoïdes | ++ | ++ |
| Alcaloïdes | - | - |
| Quinones libres | - | + |

Signification des symboles : ++Abondamment présent ; +Présence ; - Absence.

➤ ***Tanins*** :

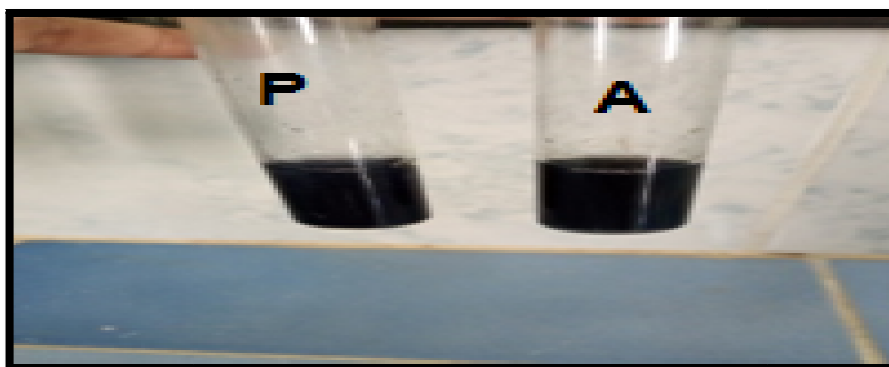


photo 16 :Le résultat de test des tanins.

Le screening phytochimique montre que le gland du chêne liège un taux élevée des tanins au niveau des deux parties (Amande ; Péricarpe).

➤ ***Flavonoïdes*** :

Ils sont présents dans les deux parties de gland avec un taux important. .

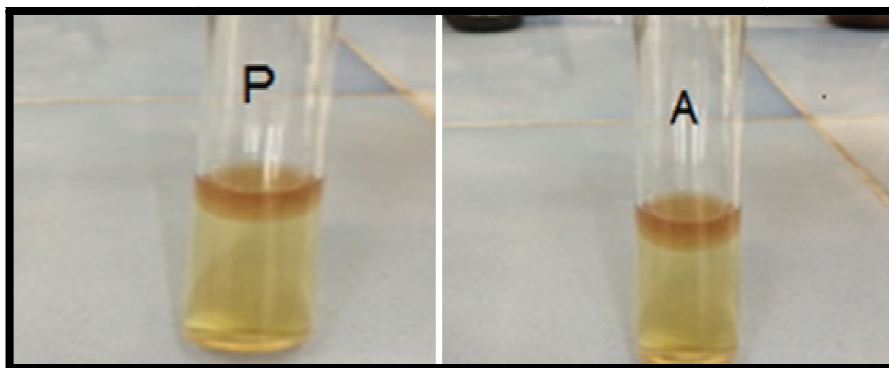


photo 17 :Le résultat de test des Flavonoïdes.

➤ *Quinones libres*

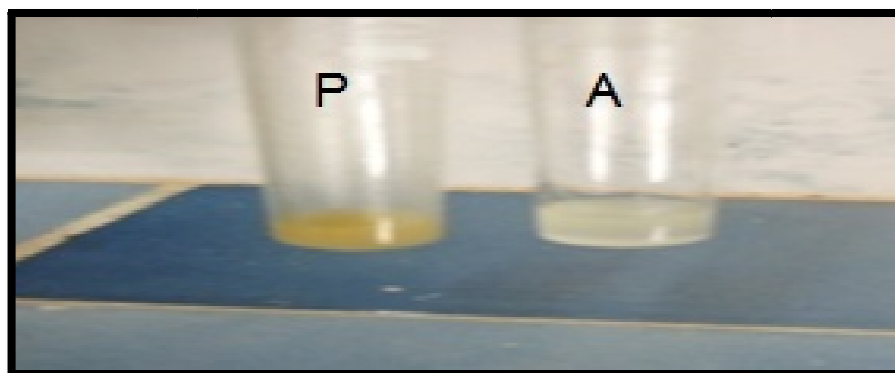


Photo 18: Le résultat de test des Quinones libres.

Les composés de type (quinones libres) sont présents dans le Péricarpe et absents dans l'Amande des glands.

➤ *Saponines*

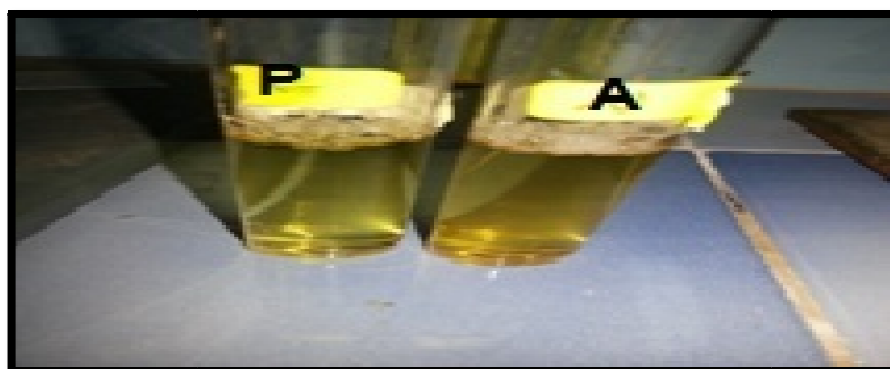


photo 19 :Le résultat de test des Saponines.

Ils sont présents dans les deux parties de la plante en quantité moyenne.

➤ *Huiles volatiles et Alcaloïdes*

Les résultats montrent une l'absence des huiles volatiles ainsi que les alcaloïdes au niveau des deux partie des glands.

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les glands étudiées sont plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique de nos échantillons étudiés.

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

2.3 Le rendement de l'extraction :

Tableau 05 : les résultats de rendement d'extraction :

| Solvant/rendement | Amande | Péricarpe |
|--------------------------|----------------|------------------|
| MeOH | 17.52 % | 4.60 % |
| Hexane | 1.96 % | 0.7 % |
| Acétone | 0.8 % | 2.23 % |

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions 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 le temps d'extraction. Les rendements enregistrés avec les extraits bruts.

Les résultats montrent que le méthanol est le meilleur solvant pour extraire les polyphénols avec un rendement de 17.52% (Amande) 4.60% (Péricarpe),

A la fin de l'extraction on a trouvé que la plante est riche en substances phénoliques naturelles avec une prédominance dans les Amandes.

2.4 Détermination de la teneur en matière grasse :

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

Les teneurs en lipides du gland étudiées, exprimées en pourcentage de matière sèche (MS).

Les résultats obtenus montrent que les glands contiennent un taux élevé (**8.33%**) en matière grasse. Ces résultats les glands sont très riches en lipides et en d'autres composés de stockage comme les protéines, les glucides, ...

2.5 Les dosage :

➤ Dosage des sucres :

Selon le protocole de dosage des sucre par utilisation de la courbe d'étalonnage en glucose comme référence nous avons obtenue les résultats présentée dans la **Figure 20**.

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

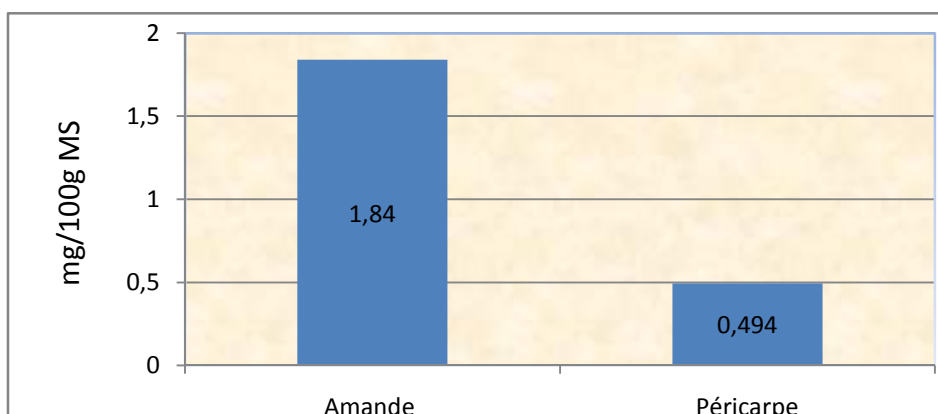


Figure 20 : contenu en sucres des glands: Au niveau de l' Amande et au niveau du Péricarpe.

Les résultats montrent que les Amandes à une teneur en sucres plus élevée ($1,84 \pm 0,08$ mg/100g MS) que ça teneur dans le Péricarpe ($0,494 \pm 0,021$ mg/100g MS).

➤ *Dosage de la protéine :*

Après lecture des absorbances à 540 nm. On trace une gamme étalon à différentes concentrations de BSA à pour bute de déterminer la teneur en protéine dans notre solution les résultats sont présenter dans la **Figure 21**.

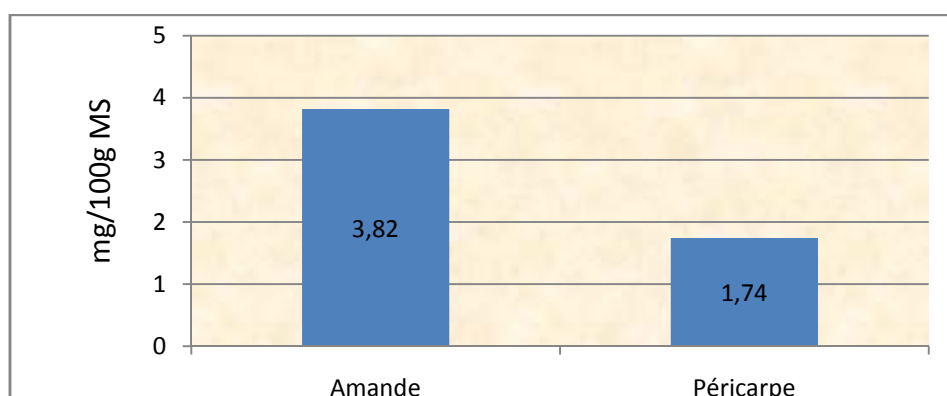


Figure 21 : contenu en protéines des glands: Au niveau de l' Amande et au niveau du Péricarpe.

Les résultats de dosage des sucres montrent que les Amande sont plus riche en protéines avec une teneur de ($3,82 \pm 0,041$ mg/100g MS) par apport aux péricarpes qui contient une teneur de ($1,74 \pm 0,015$ mg/100g MS).

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

➤ Dosage des poly-phénols :

Les poly-phénols sont des molécules bioactives très recherchées car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc...).

La détermination de la teneur en poly-phénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Au cours du dosage des poly-phénols, après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des poly-phénols dans les extraits des Noyaux et Péricarpes.

La quantité des poly-phénols correspondante de chaque phase a été rapportée inéquivalent d'acide gallique par gramme d'extrait où les barres représentent les écarts-type.

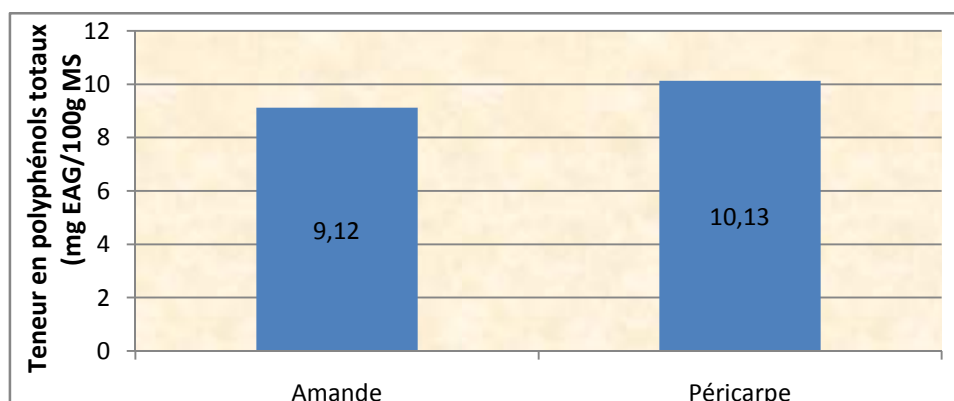


Figure 22: Teneur en poly-phénols des Péricarpe et des Amandes du gland de chêne liège.

Les résultats montrent que tous l'extraits éthanolique des Péricarpe, présentent une teneur élevées en poly-phénols ($10.13 \pm 0,46$ mg Eq AG /100g de la matière sèche).

Ainsi que les Amandes présente une teneur en poly-phénols de $9.12 \pm 0,26$ mg Eq AG /100g de la matière sèche.

Conclusion

Ce travail représente une contribution à l'étude phytochimique de la plante de la flore algérienne. Le Chêne-liège de la famille des *Fagacées*.

Le screening phytochimique réalisé a révélé la présence des saponines, des tanins, et des flavonoïdes, en quantités importantes et l'absence des alcaloïdes.

La présence de ces composés attribue à cette espèce plusieurs caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

La détermination de la teneur en eau a indiqué que l'espèce est riche en eau avec des valeurs de 35.48%, 47.43% pour le péricarpe et l'Amande respectivement, la teneur en cendres est donnée par un pourcentage de 17.4% pour le péricarpe, et 31.86% pour l'Amande.

Le dosage spectrophotométrique de l'espèce gland du Chêne-liège, a montré une teneur considérable en sucres solubles totaux qui se donne par une concentration élevée de (1,84mg/100g MS) pour l'Amande, par contre ça teneur dans le Péricarpe et moyenne (0,494mg/100g MS), le dosage des protéines a présenté des teneurs assez considérables qui varient de 3,82mg/100g MS, 1,74 mg/100g MS pour le Péricarpe et l'Amande respectivement, et le dosage des poly-phénols totaux nous donne une teneur élevée en polyphénols totaux de 10.13 mg EAG /100g MS pour le Péricarpe et de 9.12 mg EAG /100g MS pour l'Amande.

L'extraction par Soxhlet, des glands de Chêne-liège nous a permis d'évaluer le pourcentage en matière grasse, les résultats ont indiqué une valeur assez grande de 8.33%. Ce qui implique la richesse des glands en lipides.

Les résultats de notre travail sont très encourageants pour bien explorer la plante et préparer des extraits qui entrent dans la fabrication des médicaments.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- GURIB-FAKIM A., 2006-** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol. (27): 1-93.
- 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- MAURICE N., 1997-** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
- 4- 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.
- 5- He Z., Xia W. et Chen J. (2008).** Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album L.*) fruit. *European Food Research and Technology*. 226: 1191-1196.
- 6- Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie, Mohammédi Zohra** Année Universitaire 2012/2013.
- 7- GHABRIER J. Y., 2010.** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): 165.
- 8- SANAGO R., 2006.** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- 9- Kansole M.M.R., 2009-** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis (Jacquin) R. Brown*, *Hoslundia opposstavahl* et *Orthosiphon Pallidus royle ex benth.* mémoire d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, (BurkinaFaso): 34-42.
- 10- Vermerris, W., 2006-** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht.ISBN,10 (1): 4020-5163.
- 11- SARNI-MANCHADO P., VERONIQUE C., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.
- 12- WICHTL M., ANTON R., 2009.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

BIBLIOGRAPHIE

- 13- ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J. P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DEELESALLE -FEAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOTH J., BOTREL A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- 14- Xiong X., Zhao X., Song Z. (2014).** Exploring host–guest interactions of sulfobutylether- β - cyclodextrin and phenolic acids by chemiluminescence and site-directed molecular docking. *Analytical Biochemistry*, volume 460, pp: 54–60.
- 15- HELLER W., FORKMANN G., 1993.** Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, London: 499-535.
- 16-Grassi D, Desideri G, Ferri C (2010)** Flavonoids: Antioxidants Against Atherosclerosis. *Nutrients*.2(8) : 889- 902.
- 17- HOPKINS W. G., 2003.** Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.
- 18- Cowan.M.M.(1999).**Plant product as antimicrobial agents. *Clinical microbially reviews*.,12(4) :564-570.
- 19- Hartzfeld.P.W., Forkner R., Hunter .M.D., Hagerman.A.E.(2002).** Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction With Potassium Iodate.*J.Agric.Food Chem*.50, 1785-1790.
- 20- Bruneton .J.(1993).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales.2^{ème} Edition Tec & Doc (Ed). Paris ,210-338p.
- 21- Atefeibu .E.S.I (2002).** Contribution à l'étude des tannins et de l'activité antibactérienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p.
- 22- Backous.N., Delporte.C., Andrad .C.(1997).** Phytochemical and biological study of *Radallomatiahirsuta* (Proteaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 57 : 81-83p.
- 23-Benarous K., 2009-** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: α -amylase, trypsine et lipase. Mémoire d'ingénieur en génie biologique, université Amar Telidji (Laghout): 24.
- 24-DUNSTAN H., FLORENTINE S. K., CALVIÑO-CANCELA M., WESTBROOKE M.E., PALMER G. C., 2013.** Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. *CSIRO PUBLISHING*, 113: 168-176.

BIBLIOGRAPHIE

- 25- Iuthria D (2006)** Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.86(14) : 2266 -2272.
- 26- Benkrief, R. (1990).** Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " Hammada articulata"(Moquin) Iljin ssp. scoparia Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes, Paris 5.
- 27- Verykokidou-Vitsaropoulou, E., and Vajias, C. (1986).** "Methylated flavones from *Teucrium polium*." *Planta medica*, 52(05), 401-402.
- 28- Bahorun, T (1998).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius. 83-94.
- 29- Mahmoudi, S., Khali, M., and Mahmoudi, N. (2013).** "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)." *Nature & Technology* (9), 35.
- 30- Bernatova, I., Kopincova, J., and Puzserova, A. (2010).** "Chronic stress deteriorated nitricoxide production in Wistar rats exposed to a low dose of L-NAME." *Act Nerv Super Rediviva*, 52(3), 200-205.
- 31- Wagner, H., Blatt.S.Zgainski, E .M; (1984).** Plant drug analysis. Springer-verlog Ed. Berlin.
- 32- Bruneton J; (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier technique et documentation. Paris, 4eme Edition.
- 33- Penchev. (2010)** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.
- 34- Handa, S.S. (2008).** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and AromaticPlants. *In*: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologies, for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy , p :21-54.
- 35- Mahmoudi. S, Khali. M, Mahmoudi. N. (2013)** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus* L.). *Nature & technologie. b- sciences agronomiques et biologiques*, N° 09 : 35-40.
- 36- Talbi.H, Boumaza. A, El-mostafa. K. Talbi J. Hilali A. (2015)** Evaluation de l'activitéantioxydanteet la composition physicochimique des extraitsméthanolique et

BIBLIOGRAPHIE

aqueux de la *Nigellasativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigellasativa* L.). *Mater. Environ. Sci.* 6 (4):1111-1117.

37- BABA AISSA F., Encyclopédie des plantes utiles .Flore d'Algérie et du Maghreb.1999.

38- SOFOWORA A., Les plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique 2^{ème} Ed. Khartala .Suisse. p171. 201.

39- Pan. Y, Wang. K, Huang. S, Wang. H, Xiaomei. M, Chunhuan. H, Xiaowen. J, Zhang. J, Huang. F. (2003) Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *sciencedirect, food chemistry.*

40- Lucchesi. M. E. (2006) Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes
Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.

41- Boizot. N, Charpentier. J. P. (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques.79-82.

42- Adjé.F.Lozano.Y. F , Lozano.P, Adima. A, Chemat. F, Gaydou.E.M. (2010)
Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extraction from *Delonix regia* tree flower using ultrasound-assisted water extraction, *Industrial Crops and Products. Science Direct.*

43- Da Porto. C, Porretto. E, Decorti. D. (2012) Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry, SciVerse Science Direct.*

44- Moore, J.W., Stanitski, C.L. & Wood J.L). *The chemical world: Concepts and applications.* (2nd ed.) USA: Harcourt Brace & Company. **1998**

45- Yves GAUTIER, Pierre SOUCHAY .rôle de solvant, p4, 2004.

46- Polycopié du Cours: Techniques d'extraction, de purification et de Conservation , Présenté par Dr. BENABDALLAH Hassiba, Année: 2015/ 2016.

47- Solvation (Yizhak Marcus. Ion solvation, Ed. J. Wiley & sons limited.), 1985.

48-Cramer, CJ; Truhlar, DG, "modèles de solvation pour les énergies libres en solution aqueuse", *Chem. Rev,* 99, 216, 1999.

BIBLIOGRAPHIE

- 49- Détermination des aptitudes technologiques du bois de *Quercus rotundifolia* Lamk et possibilités de valorisation 2010/2011**, Université ABOU BAKR BELKAID TLEMCEM.
- 50- EL AANTRY TAZI S., ABOUROUH M et AAFIA., 2008:** Etat des connaissances scientifiques sur les subéraies : bilan et perspectives. Ann. Rech. For. Maroc. Tome spécial 39 : 9-18.
- 51- NATIVIDADE JV., (1956),** Subériculture. ED Française de l'ouvrage Portugais Subériculture. E.N.E.F. (Nancy), 303 p.
- 52- AIME S., (1976),** Contribution à l'étude écologique du chêne-liège. Etude de quelques Limites. Thèse Doc de spécialité, univ de Nice, France, 180 p.
- 53- Etude des facteurs de dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L.).** Etat sanitaire des subéraies du Nord-Est Algérien ; Présenté par : Mme Chaabna Bouzitoune Sihem Année universitaire **2011/2012**.
- 54- Seigue A. (1985).** La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. *Maisonneuve et Larose, France*, 67-81.
- 55- Piazzetta R. ,2005-** Etat des lieux de la filière liège française .Institut Méditerranéen du liège -Vivés. pp13-17.
- 56- Margot P. (2006).** Du chêne-liège au bouchon, "Partie 1 : Histoire et géographie", *Cepdivin.org*.
- 57- Zeraia L. (1981).** Essai d'interprétation comparative des données écologiques, phénologiques, et productions subéro-ligneuse dans les forêts de chêne liège de provenance cristallines (France méridionale) et d'Algérie. *Thèse de doctorat en Science*, 200p.
- 58- Caractérisation de deux taillis de chêne liège (*Quercus suber* L.) de la forêt domaniale de Béni-Ghobri .**Cas des cantons d'Ahmil el Tala N'Rbéa (Yakouren) Présenté par : Mr GUETTAS ALI. Mr MESSAOUDENE M. Directeur de recherche (INRF) Promoteur **08-12-2012**.
- 59- QUEZEL P., 1976.** Les forêts du pourtour méditerranéen. Forêts et Maquis méditerranéens Ecologie, conservation et aménagement. Notes techniques du M.A.B ; UNESCO, 2 :14-32p.
- 60- Adaptation du chêne liège (*Quercus suber* L.) aux conditions extrêmes de température,** Présentée par RACHED-KANOUNI Malika Année : **2012/2013**.

BIBLIOGRAPHIE

- 61- YESSAD S.A., (2000)-** Le chêne-liège et le chêne dans les pays du méditerrané occidental. Edition ASBL foret Wallonne. 190P.
- 62- Bouhraoua R. T; Villemant C; Khelil M. A.; Bouchaour S., 2002-** Situation sanitaire de quelques subéraies de l'Ouest algérien : impact des xylophages, *IOBC/wprs Bull.*, 25 (5), pp : 85-92.
- 63- DJALOS., (1980)-** Ecologie des insectes forestiers. Borde, Paris, 102-116pp.
- 64- HEIM R., (1965)-** Champignon d'Europe. Ed. Bondée. Net Cie, Paris ; 155-158 pp.
- 65- VARELA M., (2004)-** Le chêne-liège et les incendies de forêts. E.F.N, Portugal (Poste de forêt national).
- 66- MEZALI M., (2003)-** Situation de la subéraie et la production du liège. Atelier sur le liège, Bejaia, 2003. 12 p.
- 67- BOUDY P., (1952) –**Guide du forestier en Afrique du Nord Paris, Maison rustique, 509p.
- 68- Etude comparative de trois provenances de chêne liège (*Quercus suber L*) élevées sur différents substrats en pépinière hors-sol de Guerbes (Wilaya de SKIKDA).**
Présenté par : Mr. BELAIDI Abd el ouahab Année universitaire : **2009 – 2010**
- 69- AFNOR (Association Française de Normalisation),, 1982.** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de Fruits. Ed. AFNOR, 325 p.
- 70- Calvo MM., Garcia ML., Selgas MD., 2007.** Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. Meat Science xxx .P125.
- 71- Miller ER., Appel LJ., Risby TH.,1998.** Effect of dietary patterns on measures of lipid peroxidation results from a randomised clinical trial.98:23905.
- 72- Thompson 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. Carcinogenis. 20:2261–6.
- 73- 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.
- 74 - Contribution a l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des grains du figuier de barbarie (*Opuntiaflcus-indka*) de la région de Tlemcen**
Présenté par: M' 'BJELfISR93I 'Fouzia Année Universitaire: 2009/2010.

BIBLIOGRAPHIE

75- Harborne, J. B. *Phytochemical methods a grid to modern technique of plants analysis.* 1984.

76- Bouquet, A. *Travaux et documents de l'ORSTOM, N°13 Paris*1972.

77- BOUGHRARA Boudjema ;(2016). Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. Thèse de doctorat ,Faculté des Sciences UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA.

78- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C.(2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*, 331: 372–379.

79- BIPEA; (1978). collection of analysis methods from Europeans communit, pp, 29-31.

80- Dubois M., Gilles KA., Hamilton JK., Roben FA., & Smith F., 1956, Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350-356.8.

81- 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.

82- 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.

83- 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.

84- 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.

85- Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traoré A., Coulibaly K., Maïga A., 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie* 7, pp 1073–1080.

BIBLIOGRAPHIE

86- Owen P.L., Johns T., 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. Journal of Ethnopharmacology, 64, pp 149-160.

87- Vercauteren J., Cheze C., Triau J., 1996. Polyphenols 96. Edition : INRA, Paris : pp 31-43.

88- Waterman PG and Mole S., 1994. Analysis of phenolics plant metabolite. Oxford Blackwell Scientific Publication. 83-91.

Les Cites web:

Site 01: <https://naturolistique.fr/introduction-aux-nutriments-les-composants-elementaires/>

Site02: <https://www.all-musculation.com/nutrition/fondamentaux-nutrition/sont-macro-nutriments.html>

Site03 : <http://sante.lefigaro.fr/mieux-etre/nutrition-nutriments/proteines-vegetales/absorption-metabolisme>

Site 04 : <https://www.bioalaune.com/fr/actualite-bio/31306/quelle-difference-entre-proteines-vegetales-animales>

Site05:

<https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=glucides>

Site 06 : <https://www.anses.fr/fr/content/sucres-dans-l%E2%80%99alimentation>

Site 07 :

<https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=glucides>

Site 08 :

<https://www.google.com/search?q=les+solvant+organiques+pdf&oq=les+&aqs=chrome.3.35i39j69i57j69i60j69i59l2j0.8599j0j8&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

Site 09 :

https://www.google.com/search?q=LE+CH2NE+LI2GE&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiX4vKzrLLhAhUm3OAKHcvlDs8Q_AUIDygC&biw=1010&bih=486&dpr=1.25#imgsrc=ErGOWhZ3n8cUWM:

BIBLIOGRAPHIE

Site 10 :

https://www.google.com/search?q=repartition+du++chene+liege&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjtwuiu7LhAhWq1eAKHb1TDGwQ_AUIDigB&biw=1010&bih=486#imgrc=QsyiFGf_xDhCHM:

Site 11 :

<https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-chene-liege-8939/>

Site 12: <http://creativecommons.org/licenses/byncnd/2.0/be/>

Site 13 : https://fr.wikipedia.org/wiki/El_A%C3%AFoun

Site 14 :

<https://www.google.com/maps/place/El+A%C3%AFoun/@36.8725841,8.3703054,10.96z/data=!4m13!1m7!3m6!1s0x12fac0527aad7527:0xf3bba14b39c6af2d!2sWilaya+d'El+Tarf!3b1!8m2!3d36.7558581!4d8.2212979!3m4!1s0x12fb2f6e94925ac1:0x4355e8a7cb6d4f47!8m2!3d36.8233021!4d8.6271>