



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université d'El-Oued

Faculté des sciences et de la technologie

Département des sciences et de la technologie

# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

## Master

Filière : Génie de procédés

Option : Génie Chimique

**Etude phytochimique comparative des extraits  
de feuilles de Phoenix dactylifera .L obtenue par  
différents méthodes**

Soutenu le 23 /06/2014

Présentée par : BadereddineMouna ; MoussaouiHana

Devant le jury :

President	Mr.BoughezalAbdesselam	M.A.A	Université d'El- Oued
Examineur	Mr. RebiaiAbdelkerim	M.A.A	Université d'El-Oued
Directeur de mémoire	Mr .Laouini Salaheddine	M.A.A	Université d'El-Oued

Promotion : 2013/ 2014



# Remerciements

Langage tout d'abord à Dieu qui nous a donné la force Pour terminer ce modeste travail.

Ce travail a été entrepris au sein du laboratoire de valorisation et technologie des ressources sahariennes (VTRS) à l'Université d'El-Oued sous la direction de Monsieur T. LANEZ qui a mis à nos disposition tout le matériel nécessaire et disponible pour bien mener à ce travail.

On tient à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à l'encadreur de ce travail, Mr. LAOUINI SALAHEDDINE pour son assistance et ses conseils pour assurer le succès de ce travail.

On n'oublie pas d'exprimer nos sincères remerciements à monsieur à étudiant H .HEMMAMI

Mr.Boughezal Abdesselam et Mr. Rebiai Abdelkerim d'avoir accepté de juger ce travail en qualité d'examineur.

On exprimer encor nos sincères remerciements à tous travailleurs du laboratoire dans l'Université qui nous' accompagne au début de cette recherche et qui est soucieuse de notre recherche de son attention pendant les analyses pour obtenir des bons résultats.

On vous remercie chaleureusement et on espère que vous aller passer une bonne carrière dans ce laboratoire.

Nous remercions aussi les membres de jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter le jugement de notre travail.

Notre sincère reconnaissance à nos enseignants du département:.. sciences et de la technologie .

Enfin nous remercions nos parents et tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de notre profondes gratitudes et respects .

*Badereddine Mouna , Moussaoui Hana*

# Liste des abréviations

Abréviatiion	Désignation
CT	Tannins condensé
FVT	Flavonoïdestotaux
C éq	Concentration équivalent
PAF	Platelet Activating Factor
PPT	Polyphénolstotaux
DN	DegletNour.
H	Hamraya
G	Ghars.
UV	Ultra Violet

# Liste des symboles

Symbole	Désignation
ml	Millilitre
mM	Millimolaire
min	Minutes
mg	Milligramme
g	Gramme
h	Heure
t	Tours

# Liste de figure

<b>I - Généralité sur la plante</b>	
Figure I . 1: Un palmier dattier en fructification	7
Figure I . 2 : Représentation schématique du palmier dattier	7
Figure I . 3 : l'espèce P. canariensis	8
Figure I . 4 : l'espèce P. reclinata	8
Figure I . 5 : Différents types de feuilles produites par le palmier dattier au cours de son cycle de développement. a : feuille juvénile, b : feuille semi juvénile, c : feuille adulte ou palme (d'après Bouguedoura, 1991)	11
<b>II - Etudes phytochimiques des extraits des feuilles</b>	
Figure II .1: Structures des différentes classes des flavonoïdes	22
Figure II .2: Exemple de Structure de Tanins hydrolysables	25
Figure II .3: Exemple de Structure de Tanins condensés	25
<b>III- Extraction et teneurs en composés phénoliques</b>	
Figure III.1. Les trois variétés à étudiées	37
Figure III.2: Tests phytochimiques 1	40
Figure III.3 : Tests phytochimiques 2	41
Figure III.4. Extraction type macération	43
Figure III.5. Extraction type ultrason	44
Figure III.6. Extracteur type soxhlet	44
Figure III.7. Les trois variétés à étudiées extraie au trois méthodes	45
Figure III.8. La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage	46
Figure III.8. La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le Dosage des flavonoïdes	46
Figure III.9. La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage	47
<b>IV- Résultats et discussion</b>	
Figure. IV.1 : Comparaison en composés phénoliques des différents extraits	51
Figure. IV.2. Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphenole )	53
Figure . IV. 3 . Teneurs en polyphénols totaux pour les trois parties de la plante étudiée	54
Figure.IV.4. Courbe d'étalonnage de Quercitine (flavonoïde)	55
Figure. IV.5 : Teneurs en flavonoïdes totaux pour les trois parties de la plante étudiée	56
Figure.IV.6. Courbe d'étalonnage de Rutine (flavanols)	57

# Liste de tableau

<b>I .Généralité sur la plante</b>	
Tableau I . 1 : Classification du palmier .....	10
<b>II . Etudes phytochimiques des extraits des feuilles</b>	
Tableau II. 1: les différentes classes des composés phénoliques.....	21
Tableau II. 2: l'activité biologique des quelques composés phénoliques.....	31
<b>III .Etude phytochimique</b>	
Tableau III.1. Description des feuille palmier échantillonnées.....	37
Tableau III.2. Description générales d'extraits.....	45
<b>IV. Résultats et discussions</b>	
Tableau IV-1 : la teneur en eau (exprimée en %) .....	49
Tableau IV-2 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques.....	50
Tableau IV .3: Les rendements en extraits obtenus à partir des trois variétés de la plante.....	51
Tableau IV.4. Taux en polyphénols totaux des différents extraits .....	53
Tableau IV.5. Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits.....	55
Tableau IV.6. Teneur en flavonoles totaux des différents extraits.....	57

# Sommaire

Introduction générale.....	01
<b>Partie théorique</b>	
<b>I .Généralité sur la plante</b>	
I.1. Introduction .....	06
I.2. L'origine.....	06
I. 3. Systématique du palmier dattier .....	07
I. 4. Les espèces voisines des palmiers dattiers .....	08
I. 4. 1. L'espèce <i>P. canariensis</i> .....	08
I. 4. 2. L'espèce <i>P. theophrasti</i> .....	08
I. 4. 3. L'espèce <i>P. reclinata</i> .....	08
I. 5. Présentation biologique.....	09
I. 5. 1. Introduction.....	09
I.5.2.Classification.....	10
I. 6. Structure générale d'un palmier dattier .....	10
I. 6. 1. Les fruits .....	10
I. 6. 2. Les feuilles de <i>Phoenix dactylifera L</i> .....	11
I. 6. 3. Le tronc ou stipe de <i>Phoenix dactylifera L</i> .....	12
I. 6. 4. Le système racinaire.....	12
I. 6. 4. 1. La zone de respiration .....	12
I. 6. 4. 2. La zone à racine de nutrition .....	12
I. 6. 4. 3. La zone supérieure à racine d'absorption .....	13
I. 6. 4. 4. La zone inférieure à racine d'absorption .....	13
I. 6. 5. La pollinisation et la fructification .....	13
I.7. Utilisation des palmiers .....	13
I.7.1 Usages traditionnels, et importance des palmiers .....	13
I.7.1.1 Utilisationsculinaires .....	14
I.7.1.2 Utilisations médicinales.....	14
I.7.1.3 Utilisations artisanales.....	15
I.8. Critères économiques.....	15
I.9. Critères scientifiques .....	15

## II - Etudes phytochimiques des extraits des feuilles

II.1. Introduction .....	18
II.2. Classification des métabolites secondaires .....	20
II.2.1. Les composés phénoliques .....	20
II .2.2 Les flavonoïdes .....	21
II.2.3. Les tanins.....	24
II.2.4. Les alcaloïdes .....	25
II.2.5. Les terpènes .....	27
II.2. 6 Les stérols .....	28
II.2.7. Stéroïdes .....	29
II. 3. Rôle et intérêt des composés phénoliques .....	30
II.3.1. Chez les végétaux .....	30
II.3.2. Chez les humains .....	30

### Partie pratique

## III - Etude phytochimique

III-1. Introduction .....	34
III-2. Matériels et méthodes.....	35
III-2-1- Matériels de laboratoire .....	35
III-2-2- Matériel végétal.....	36
III.2.2.1. Echantillonnage et description.....	36
III.2.2.2. Préparation des échantillonssecs .....	37
III.3. Méthodes.....	38
III-3-1-Tests phytochimiques.....	38
III-3-1-1- La Teneur en eau .....	38
III-3-1-2- Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude.....	39
III-3-1-2-1. Amidon.....	39
III-3-1-2-2. Saponosides.....	39
III-3-1-2-3. Tanins.....	39
III-3-1-3- Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol .....	40
III-3-1-3-1. Flavonoïdes .....	40

III-3-1-3- 2 .Tanins .....	41
III-3-1-3- 3 .Composés réducteurs .....	41
III.3.2 .Protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques.....	41
III.3.2.1. Définition d'extraction .....	41
III.3.2.2. Choix des solvants .....	42
III.3.3. Les différentes méthodes d'extraction .....	42
III.3.3.1. L'extraction solide-liquide par méthode macération .....	42
III.3.3.2. L'extraction solide-liquide par méthode ultrason .....	43
III.3.3.3. L'extraction solide-liquide par méthode soxhlet .....	44
III.3.4.dosage des composées phénoliques par les méthodes colorimétries « Analyse qualitative » .....	45
III.3.4.1.Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	45
III.3.4.2.Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	46
III-3-4-3-Dosage des flavanols totaux .....	47
<b>IV - Résultats et discussion</b>	
IV.1.Screening phytochimique.....	49
IV.1 1.Phytochimie de <i>Phoenix dactylifera L.</i> .....	49
IV.1.2. Rendement d'extraction des composés phénoliques.....	50
IV.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique .....	52
IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes.....	52
IV.2.2. Quantification des polyphénols totaux (PPT).....	52
IV. 2.3. Quantification de flavonoïde total (FVT) .....	54
IV . 2 . 4 .Quantification des flavanols totaux .....	56
CONCLUSION GENERALE .....	60
Référence.....	61
ANNEXE .....	63



# INTRODOCTION

## GENERAL

# Introduction générale

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques et pharmacologique. Actuellement, environ 25-30% de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons) ou sont des dérivés de produits naturels. En dépit de cela, dans les dernières décennies, principalement en raison de l'avancée de la chimie de synthèse, la recherche sur les produits naturels dans l'industrie pharmaceutique a connu un lent déclin. Toutefois, des données récentes de l'industrie pharmaceutique montrent que, pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques, car ils représentent des structures privilégiées choisies par les mécanismes d'évolution sur une période de millions d'années [1].

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les flavonoïdes et les tannins.

Elles ont été utilisées dans de nombreux domaines incluant par exemple la médecine, la nutrition, l'assaisonnement, les boissons, les teintures et les cosmétiques. L'effet conservateur de plusieurs plantes aromatiques (épices, condiments) suggère la présence de constituants antioxydants et antimicrobiens [2].

Ces dernières années, nous avons assisté à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en oeuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les flavonoïdes ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé[3].

De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L'apport régulier en phytonutriments possédant des capacités anti-oxydantes significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif (cancers, maladies cardiovasculaires et athérosclérose)[4]. C'est pourquoi nous sommes intéressés de faire une étude phytochimique de les feuilles de la plante *Phoenix dactylifera L.* poussant à l'état spontané dans les monts de la région d'El-Oued.

L'espèce *Phoenix dactylifera L.*, famille des Arecaceae (palmae) est connue par ses propriétés antiseptiques désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur effet hypoglycémique. Reconnu également dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires :

**Dans le premier chapitre**, nous rappelons la description (les caractères botaniques et la systématique) des différentes espèces végétales, l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur cette plante.

**Dans le deuxième chapitre**, nous avons commencé par une étude bibliographique des composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés.

**Dans le troisième chapitre**, nous avons envisagé la partie expérimentale qui on a réalisé l'extraction et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et flavanole).

**Enfin**, nous avons rapporté les résultats obtenus les rendements, les teneurs des composés phénoliques des extraits des différentes plantes.



# PARTIE THEORIQUE

A decorative border in a light teal color, forming an oval shape. It features four ornate floral motifs at the corners, each with green leaves, yellow and red flowers, and a small white flower with a red center.

# CHAPITRE I :

## Généralité sur la plante

# I .Généralité sur la plante

## I.1. Introduction:

[Le palmier dattier] (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante pérenne de la famille des Arecaceae (figure 1). Cultivé depuis plus de 4000 ans, le palmier demeure une ressource vitale dans les zones arides et semi-arides du globe. Il fut propagé en dehors de son aire de culture non seulement pour ses fruits mais aussi pour ses intérêts culturels et ornementaux .

La première description du palmier dattier est le fruit du travail du botaniste suédois Linné qui, en 1753, attribuent le nom botanique de *Phoenix dactylifera*. [5] Son nom de genre *Phoenix* dérive de phoinix, nom donné à cette plante par les grecs de l'antiquité qui le considéraient comme l'arbre des phéniciens (un peuple à la peau de couleur rouge foncé, de tradition phoenicicole et originaire du pays de Pount ou corne de l'Afrique). Une autre origine du nom de Phoenix fait allusion à un oiseau mythique égyptien, le phénix, qui renaît de ses cendres après l'incendie, comme se régénère le palmier après le passage d'un feu. [6] Son nom d'espèce *dactylifera* comprend les mots latins *dactylus* signifiant doigt par référence à la forme des fruits semblables à des doigts et *feras* signifiant « je porte ». Cette appellation fait référence aux phéniciens, porteurs de dattes, qui auraient participé à la diffusion de la culture du palmier dattier au sein de la mésopotamie.

Le palmier dattier est le nom commun en français de cette plante. Il est aussi appelé nakhilen arabe, timiren afar et en somali. [7]

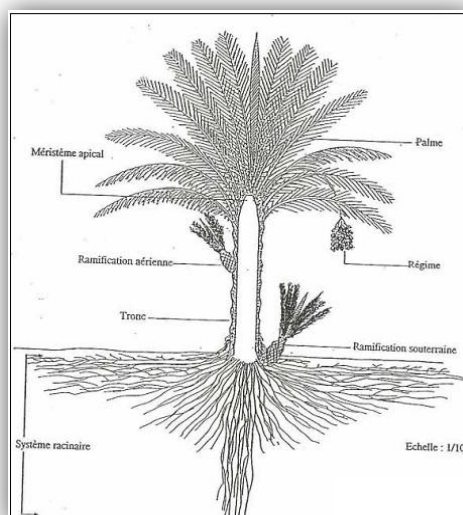
## I.2. L'origine :

L'origine géographique précise du palmier dattier paraît très controversée. Elle fait l'objet de plusieurs hypothèses. Selon Munier (1973), le palmier dattier résulterait de l'hybridation de plusieurs types de *Phoenix* et sa domestication aurait eu lieu dans la région orientale du Sahara. Cependant, des travaux de Zohary et Hopf (1988) ont rapporté l'existence d'un ancêtre sauvage du palmier dattier, qui serait localisé dans la région méridionale chaude et sèche du Proche Orient, au Nord Est du Sahara et au Nord du désert d'Arabie. Des travaux plus récents ont montré que le palmier dattier proviendrait de la domestication d'une population sauvage de la même espèce. [8]

Sur la base d'études archéobotaniques, la domestication du palmier dattier remonterait vers 6000 ans avant J.C. dans la région du Golf Persique comme témoignent des fossiles de graines trouvées dans la région de Dalma aux Emirats. [9]

Cette domestication serait associée à la naissance des premières civilisations agricoles du croissant fertile, entre la Mésopotamie et l'Égypte, vers 4000 ans avant JC. Depuis ce lieu d'origine, la culture du palmier dattier s'est étendue vers l'Est et vers l'Afrique orientale (XV e siècle) et du nord (XI e siècle). Dès le XX e siècle, le palmier dattier est introduit en Amérique et en Australie.

Sa propagation s'est effectuée en suivant plusieurs voies : par les navigateurs arabes, par la colonisation et par les anciennes transactions commerciales où les dattes étaient utilisés comme monnaie d'échange.[10]



**FigureI.1: Un palmier dattier en fructification**    **FigureI.2 : Représentation schématique du palmier dattier**

### **I. 3. Systématique du palmier dattier :**

Son nom commun est palmier dattier en français, « *date palm* » en anglais et à Toliara « *Asenjy* ». Sa classification botanique d'après LINNÉ, 1753 (tableau 2). Ils existent de nombreuses variétés. Dans la zone étudiée, six variétés femelles, ont été recensées. Le nombre de variété est basé sur les caractères morphologiques (de fruit, feuille, graine et même du stipe) et les noms vernaculaires.[11]

#### **I. 4. Les espèces voisines des palmiers dattiers :**

Le genre *Phoenix* comporterait 12 espèces d'après Auguste Chevalier (1952) : *Phoenix dactylifera*L., *P. atlantica*A. Chev., *P. canariensis*Chabaud, *P. reclinata*Jacq., *P. sylvestris*Roxb., *P. humilis* Royle, *P. hanceana*Naudin, *P. roebelinii*O'Brien, *P. farintifera*Roxb., *P. rupicola*T. Anders, *P. acaulis*Roxb., *P. paludosa*Roxb.[12]

Dans les différents genres de *Phoenix*, seul le genre *P. canariensis* et le *P. theophrasti* sont les plus proches du palmier dattier avec le *P. reclinata*. [13]

##### **I. 4. 1. L'espèce *P. canariensis* :**

Le dattier des Canaries ou palmier des Canaries (*Phoenix canariensis*), parfois appelé faux dattier a un stipe solitaire de couleur marron ou gris qui atteint jusqu'à 20 mètres de hauteur et 60 cm de diamètre à l'âge adulte. Leur couronne se compose de plus d'une centaine de feuilles Pennées qui mesurent plus de 5 mètres de longueur. Le pétiole peut mesurer jusqu'à un mètre, et est recouvert d'épines sur ses bords. Les folioles sont de couleur verte. Elles sont étroites, rigides et disposées de manière irrégulière sur le rachis. C'est une des espèces arborescentes des forêts thermophile et endémique des Canaries.[14]



**Figure I. 3 : l'espèce *P. canariensis***

##### **I. 4. 2. L'espèce *P. theophrasti* :**

*Phoenix theophrasti*, ou palmier de Théophraste, dattier de Crète, « vayi » en crétois est proche morphologiquement du *P. dactylifera*. Il est cespiteux comme lui et un peu moins haut: 17 - 20 m et plus trapu avec 50 cm de diamètre. Les palmes sont gris bleuté et plus nombreuses le faisant aussi ressembler à *P. canariensis*. Il est dioïque comme tous les *Phoenix*. [15]



**Figure I. 4 : l'espèce *P. reclinata***

##### **I. 4. 3. L'espèce *P. reclinata* :**

*Phoenix reclinata* Jacq, le faux dattier, "kalalo" en sakalava est rencontré dans l'Océan indien et Madagascar. Les fruits sont petits et de couleur orange. Ce palmier n'est pas

inféodé aux marais maritimes tropicaux puisqu'on trouve ce petit palmier (7 mètres maximum) dans certaines forêts rivulaires continentales. Sur les littoraux, en arrière des mangroves, il est commun à la limite de la terre ferme en Afrique tropicale, à Madagascar. [16]

## I. 5. Présentation biologique :

### I. 5. 1. Introduction :

*Phoenix dactylifera* (Arecaceae) est une plante monocotylédone. C'est un grand palmier de 10 à 30 mètres au tronc cylindrique (figure 2). Le stipe porte une couronne de feuilles (palmes). Les feuilles sont pennées finement divisées et longues de 4 à 7 mètres.

Les inflorescences mâles et femelle appelées spadices sont enveloppées d'une très grande bractée membraneuse, la spathe. C'est le palmier le plus cultivé dans le monde avec le cocotier *Cocos nucifera*. Un palmier a une espérance de vie de 250 à 300 ans. [17]

### I . 5.2. Classification :

Le tableau représente le classification du palmier dattier .

**Tableau I . 1 : Classification du palmier dattier :**

Classification	
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylidones
Sous classe	Asteridae
Ordre	Arecales (palmales)
Famille	Arecaceae (palmae)
Genre	<i>Phoenix</i>
Espèce	Dactylifera

## **I. 6. Structure générale d'un palmier dattier:**

On distingue quatre parties de le palmier dattier : le stipe, les racines, les feuilles et l'appareil reproducteur (figure 2).

### **I. 6. 1. Les fruits :**

Le fruit ou datte est une baie contenant une seule graine improprement appelée noyau à cause de sa dureté (figure 2). La datte comporte un mésocarpe charnu (pulpe) protégé par un fin péricarpe et un tégument interne blanc et fibreux, l'endocarpe directement appliqués sur la graine. Ce fruit se présente en grappe ou régime (nombre de 4 à 10) de quatre au minimum sur un pied et dix au maximum.[18]

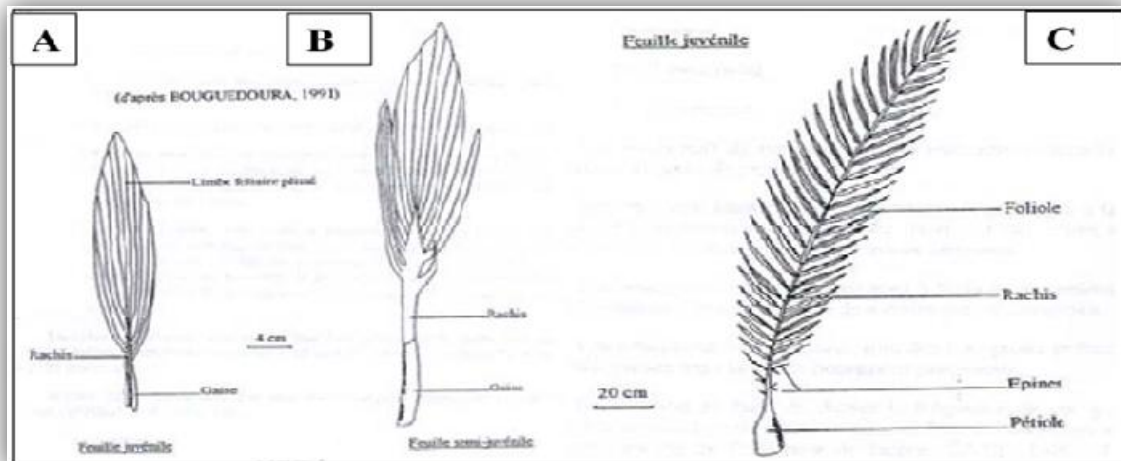
### **I. 6. 2. Les feuilles de *Phoenix dactylifera L* :**

Les feuilles des jeunes plants issus des graines présentent un pétiole peu développé et un limbe entier. Ce type de feuille se forme durant les deux ou trois premières années qui suivent la germination des graines (feuilles primordiales).

La première feuille formée est réduite à une gaine. C'est la gaine post-cotylédonaire. Les feuilles suivantes sont formées par un limbe vert entier de plus en plus grand et présentant des plis dont le nombre va de 3 à 8 selon l'âge et peut-être selon les cultivars. Le bourgeon terminal initie ensuite les feuilles définitives.

Les jeunes palmes sont d'abord de grandes feuilles entières à nervation pennée, pliées sur elles-mêmes; puis en se développant, le limbe se déchire aux plissements et chaque élément se sépare pour former une feuille pseudo-composée ou palme.

Les palmes sont disposées sur le tronc en hélice. Elles demeurent en activité pendant 4 à 7 ans; puis elles jaunissent, se dessèchent et meurent. Un palmier adulte peut produire de 20 à 30 palmes par an et porter 50 à 150 palmes actives.[19]



**Figure 1.5 :** Différents types de feuilles produites par le palmier dattier au cours de son cycle de développement. a : feuille juvénile, b : feuille semi juvénile, c : feuille adulte ou palme (d'après Bouguedoura, 1991)

### **I. 6. 3. Le tronc ou stipe de *Phoenix dactylifera L.* :**

Le palmier dattier, en tant que Monocotylédones, ne s'accroît pas par genèse de tissus secondaires. Le tronc, perpétuellement en structure primaire quels que soient son âge et sa taille, est appelé stipe mais pas tronc comme la tige des Dicotylédones. Le stipe est généralement cylindrique sans ramification. Certains cultivars peuvent cependant avoir une forme tronconique. L'élongation du dattier se fait dans sa partie coronale par le bourgeon terminal ou phyllophore. La hauteur de l'arbre peut atteindre 10 à 30 m.

Le tronc des jeunes palmiers est recouvert par les bases des pétioles des anciennes palmes mortes depuis 10-20 ans.[20]

### **I. 6. 4. Le système racinaire :**

Le système racinaire du dattier est de type fasciculé comme chez presque la totalité des Monocotylédones. Les racines de premier ordre ne ramifient pas et n'ont relativement que peu de radicelle. Il y aurait quatre zones d'enracinement chez les palmiers dattiers.

L'extension de ces quatre zones d'enracinement est fonction de la nature du sol, du Mode de culture, de la profondeur de la nappe phréatique, de la variété cultivée et de l'origine de la plante.[21]

#### **I. 6. 4. 1. La zone de respiration :**

Cette zone est appelé aussi zone à radicelle qui est localisée dans la partie superficielle du sol, près de la base du tronc et ne dépassant pas 0,25 mètre de profondeur. Ces racine ont un géotropisme négatif et jouent un rôle de respiration.

Grâce à la présence de plusieurs méats aérifères (et d'un aerenchyme ou tissu lacuneux aérifère interne) permettant les échanges gazeux avec l'air de l'atmosphère ambiante.

#### **I. 6. 4. 2. La zone à racine de nutrition :**

Cette zone est étendue et renferme la plus forte proportion des racines. Ces racines présentent une faible inclinaison au fur et mesure de l'éloignement du stipe. Elles se développent dans un horizon allant de 40 cm à 100 cm de profondeur et s'étendent souvent au-delà de la zone de projection orthogonale de la frondaison.

#### **I. 6. 4. 3. La zone supérieure à racine d'absorption :**

Cette zone est plus ou moins importante selon le mode de culture et la profondeur de la nappe phréatique. Elle se situe dans un horizon qui va de 100 cm à 180 cm de profondeur.

#### **I. 6. 4. 4. La zone inférieure à racine d'absorption :**

L'importance de cette zone dépend de la profondeur de la nappe phréatique. Si celle-ci est peu profonde, cette zone se confond avec la précédente. Par contre, si la nappe phréatique est profonde, les racines de cette zone peuvent atteindre 3 à 6 m de profondeur.

Ces racines présentent généralement un géotropisme positif très prononcé et sont en forme de faisceaux.[22]

#### **I. 6. 5. La pollinisation et la fructification :**

La pollinisation du palmier dattier présente des aspects spécifiques. C'est une plante dioïque à régime de reproduction allogame. La pollinisation naturelle est effectuée par le vent et les insectes quand la proportion des mâles dans une palmeraie est très importante. Avec la diminution considérable de l'effectif des palmiers mâles cette pollinisation est devenue insuffisante d'où la nécessité d'une pollinisation. La pollinisation artificielle peut être réalisée selon une méthode traditionnelle ou de manière mécanique.

La période de pollinisation chez les palmiers dattiers dépend de la variété mais ne dépasse pas un mois, de 30 à 50 jours suivant la température journalière moyenne. La plupart des pollinisateurs pollinisent en février et mars rarement au mois de mai. [23]

## **I.7. Utilisation des palmiers :**

### **I.7.1 Usages traditionnels, et importance des palmiers :**

Les utilisations traditionnelles des palmiers, qu'elles soient culinaires, médicinales et artisanales, font partie intégrante de la culture des populations amazoniennes ; jusqu'alors ces applications n'étaient transmises que de façon orale de génération en génération. Aujourd'hui, ces usages sont reconnus scientifiquement, et de plus en plus d'études et de documents traitant des usages des palmiers sont disponibles, ce qui permet de se rendre compte de l'importance de ces plantes pour les populations locales.[24]

#### **I.7.1.1 Utilisations culinaires :**

Des palmiers marquant le paysage amazonien, sur la centaine d'espèces connues et présentes en Amazonie, quelques-unes sont très appréciées dans l'alimentation. Une des principales qualités du palmier réside dans l'utilisation culinaire de chaque partie de la plante.

La sève tirée du stipe, après fermentation, permet d'obtenir un vin de palme alcoolisé. Cette pratique, encore très courante en Afrique, s'est perdue en Amérique du Sud.

Le bourgeon terminal de tous les palmiers, qui n'est autre que la feuille dernière-née encore repliée sur elle-même, est comestible ; il a un goût très fin, et sert à faire de salades.

La partie la plus tendre est coupée en tronçons d'une dizaine de centimètres de longueur, et est mise en conserve. Elle est connue commercialement sous le nom de coeur de palmier.

Certains fruits peuvent être consommés crus, ou entrer dans la confection de plats traditionnels (*Astrocarym*vulgare, *Bactris*gasipaes), ou encore être utilisés pour la réalisation d'une boisson, sorte de lait ou de jus avec lequel on peut réaliser un sorbet.

Le « lait » qui peut être consommé nature, salé ou sucré s'obtient par trempage des fruits dans l'eau à 40 – 50°C pendant 10 à 30 minutes. Dès que les fruits sont broyés, le jus est recueilli, filtré et ensuite dégusté (*Euterpe*, *Oenocarpus*, *Mautitia*flexuosa).

Chez la plupart des palmiers, l'albumen est liquide dans le fruit immature. Lors de marches en forêt, les Amazoniens cassent les noyaux pour boire cette eau rafraîchissante (l'eau de coco).

L'huile issue des palmiers, également très appréciée, est obtenue en travaillant la pulpe et la graine écrasées dans l'eau chaude afin de faire fondre les graisses, et de les récolter

dans le surnageant. Le noyau de certains fruits contient une amande d'où l'on peut extraire une graisse alimentaire.[25]

#### **I.7.1.2 Utilisations médicinales :**

Les palmiers sont assez peu représentés dans la pharmacopée traditionnelle. On peut tout de même citer quelques exemples d'applications aux vertus reconnues.

Les racines de plusieurs espèces (*Euterpe precatoria*, *Oenocarpus bataua*) sont préconisées en décoction pour soigner les fièvres, les maux de têtes, les diarrhées, et éliminer les parasites intestinaux.

Dans la pharmacopée traditionnelle en Guyane, seules neuf espèces de palmiers sont signalées, dont le cocotier. On retiendra que l'huile extraite de l'amande de l'espèce *Astrocarym vulgare* a la propriété de soigner les furonculoses. [26]

#### **I.7.1.3 Utilisations artisanales**

Tout comme l'aspect culinaire, plusieurs parties du palmier trouvent leurs intérêts et leurs applications dans le domaine artisanal.

De nombreux objets décoratifs ou fonctionnels sont fabriqués à partir des feuilles, des graines, des amandes et du stipe.

Les différentes parties du palmier font aussi office de parfaits substituts en matière de construction, en particulier pour les populations locales au revenu modeste.[27]

### **I.8. Critères économiques**

La démarche de ces travaux de thèse s'inscrit dans une tendance globale qui associe biomolécules et bien-être. Le marché des substances naturelles connaît, depuis quelques années, une très forte croissance, tant dans le domaine alimentaire que dans les domaines cosmétique et pharmaceutique.


Le développement de produits innovants à partir des bio-ressources issues de l'Amazonie et aussi de la Guyane aurait des répercussions réelles et positives sur une économie locale émergente en permettant, à terme, de développer de véritables filières pour les secteurs agroalimentaires et cosmétiques, à l'instar du modèle brésilien. On peut citer les exemples du camu-camu qui, avec sa grande richesse en vitamine C, rentre dans la fabrication de produits diététiques, du guarana qui, avec sa composition en alcaloïdes et en polyphénols, sert d'additifs et de compléments alimentaires et de l'acérولا dont les qualités nutritionnelles sont largement exploitées pour la fabrication de produits alimentaires et pharmaceutiques. [11]

### **I.9. Critères scientifiques**

Le choix particulier de l'espèce *OenocarpusBataua*Mart. réside, d'une part, dans son utilisation traditionnelle par les communautés locales, et, d'autre part, dans sa disponibilité et son accessibilité géographique en Guyane. De plus, peu d'informations relatives aux données phytochimiques de ce palmier sont accessibles actuellement mis à part les études mettant en jeu ses fractions lipidiques.

L'hypothèse selon laquelle cette espèce de palmier renfermerait des biomolécules aux propriétés biologiques intéressantes ayant notamment des capacités antioxydantes, repose sur la similitude des caractères organoleptiques de ce fruit avec celui de l'espèce *Euterpe oleracea*, caractérisé par ses anthocyanes (molécules appartenant à la famille des polyphénols), espèce référente dans cette étude.

La justification de la recherche scientifique de l'activité antioxydante issue de ressources végétales, n'est plus à démontrer, en raison, d'une part, de l'apport positif de ces molécules naturelles sur la conservation des denrées alimentaires, et, d'autre part, de leurs rôles protecteurs vis-à-vis du stress oxydatif dû à l'excès de radicaux libres, et associé notamment à de nombreuses pathologies.[10]

A decorative border in a light teal color, featuring four ornate floral motifs at the corners. Each motif includes green leaves, yellow and red flowers, and a small white flower with a red center. The border forms an oval shape around the text.

**CHAPITRE II :Etudes  
phytochimiques des  
extraits des feuilles**

## **II. Etudes phytochimiques des extraits des feuilles :**

### **II.1. Introduction:**

Les plantes présentent une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires [ 28 ].

- Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.
- Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures.

Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs.

On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques.

L'isolement de principes actifs au XIXème siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Au début du XXème siècle, des synthèses de composés analogues (métabolites secondaires) ont commencé à naître; et afin d'augmenter leurs efficacités pharmacologiques, des études des structures et des activités biologiques issues des dérivés

prénylés de ces métabolites ont été réalisés. La prénylation consistait à la fixation d'une chaîne latérale (pentényle, géranyle et farnésyle) sur une molécule acceptante.

Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes [ 29].

Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt. A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme.

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable [30]. Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers. D'où l'importance croissante de l'étude consacrée à ces composés.

Leurs mode d'action et leurs signification physiologique ne sont pas encore suffisamment claires, d'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs fonctions.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins.
- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relarguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.
- Les mucilages: Ces sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucorinique et d'acide manuronique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).

Les gommes et les résines: Ces sont des substances produites par la plante à la suite d'une blessure.

- Les huiles essentielles: Ces sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.
- Les latex: Ces sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air. Dans cette étude, nous nous intéresserons plus particulièrement aux composés phénoliques dont nous présenterons quelques exemples ainsi que leur biosynthèse.

## **II.2. Classification des métabolites secondaires :**

### **II .2.1. Les composés phénoliques :**

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène. Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal ; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arome, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins).

Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes [ 31]. Plusieurs classes de composés polyphénoliques sont définies selon le squelette de base (tableau II.1).

**Tableau II . 1: les différentes classes des composés phénoliques [ 32 ]**

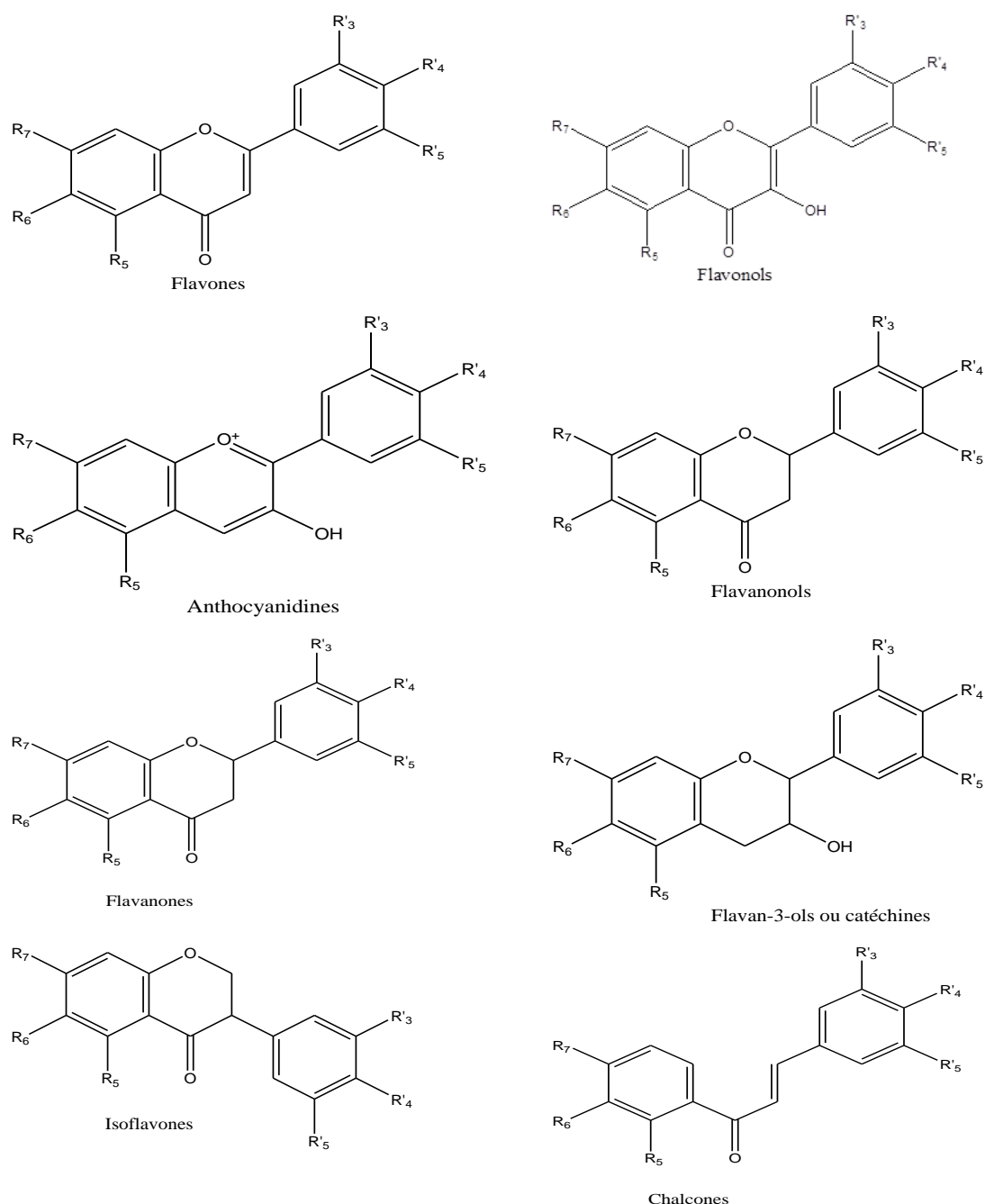
Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthones
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1) <sub>2</sub>	Tannins hydrolysables
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines
(C6) <sub>n</sub>	Catéchols
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins condensés

### **II.2.2. Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C<sub>15</sub>, caractérisée par un enchaînement de deux noyaux aromatiques A et B liés une unité de trois carbones Ar (A)-C<sub>3</sub>-Ar (B), les différentes classes sont déterminées par le degré d'oxydation de l'unité de liaison (C<sub>3</sub>), tandis que, les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution, du noyau A ou B.

Ils sont généralement solubles dans l'eau et stockés dans des vacuoles ainsi que dans les chloroplastes. [ 33 ]



**Figure II-1. Structures des différentes classes des flavonoïdes**

Les flavonoïdes dérivent d'une structure 1,3-diphénylpropane.

L'enchaînement propanique est le plus souvent sous forme d'hétérocycle pyranique, à l'exception de deux groupes : les chalcones et les aures.

Au plan biosynthétique, l'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation de trois molécules de malonyl- CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4- coumaroyl-CoA, pour obtenir la 4, 2, 4', 6'-tetrahydrochalcone (réaction catalysée par la chalconesynthase). Dans les conditions physiologiques normales, cette chalcone tend à s'isomériser en flavanone sous l'action de la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone.

Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. Il est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes [ 33 ]

❖ **Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes :**

- L'activité la plus remarquable c'est qu'ils sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde par transfert d'hydrogène ou par la chélation des ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives. Autres études aussi ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase.
- L'effet antiallergique des flavonoïdes sur la production de l'histamine, par l'inhibition des enzymes (l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Calcium-dépendante) responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles.
- Des études ont montré que certains flavonoïdes comme : quercétine, myricétine, l'apigénine et la chrysin ont des effets anti-inflammatoires par l'action inhibitrice des enzymes responsables du métabolisme de l'acide arachidonique.
- D'autres flavonoïdes : rutine et kaempférol ont montré une action inhibitrice sur le PAF (Platelet Activating Factor), agent ulcérogène potentiel, et ainsi la réduction des dommages gastro-intestinaux.
- Effets anticancéreux par différents modes : l'inactivation du t-PA (tissue-type plasminogen activator) en lui greffant la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la mort cellulaire.

Le blocage de certaines phases du cycle cellulaire ou des sites récepteurs des hormones, la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes.

- Les flavonoïdes préviennent le diabète en inhibant l'aldose réductase.
- La réduction du risque des maladies cardiovasculaires en entravant l'athérosclérose.
- On attribue aux flavonoïdes d'autres propriétés: veinotonique, anti tumorale, analgésique, antispasmodique, antibactérienne, hépato-protectrice, etc. [ 34 ]

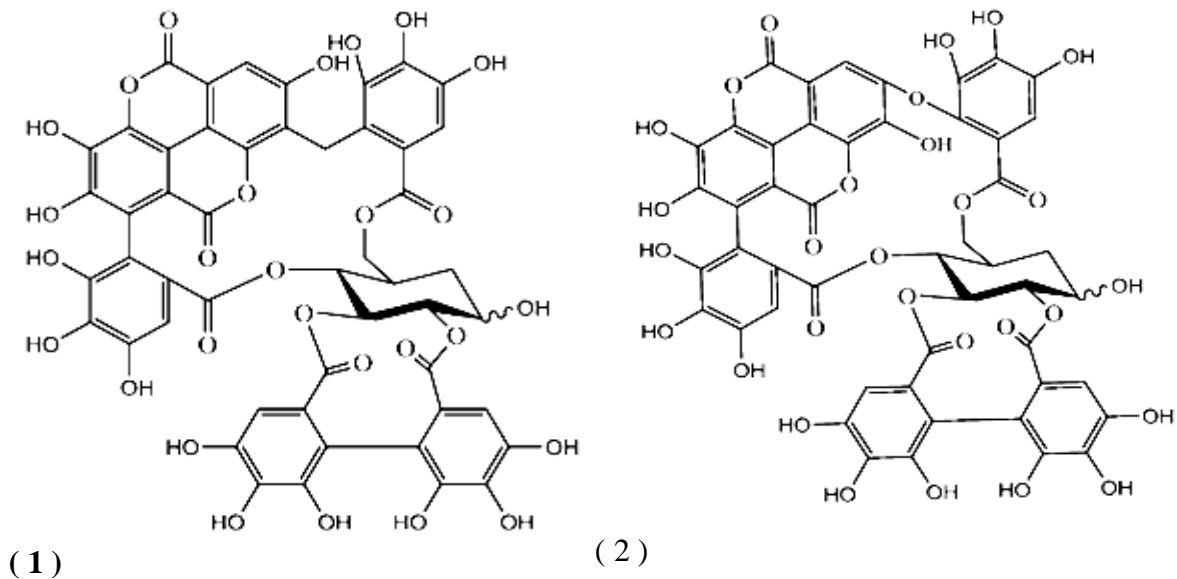
### **II . 2. 3. Les tanins :**

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux [ 35].

On distingue: les tanins hydrolysables et condensés.

❖ **Les tanins hydrolysables :**

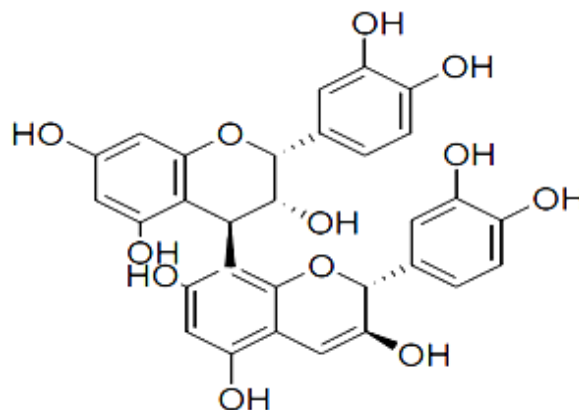
Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle , Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique (1,2). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude [ 36 ].



*Figure II.2. Exemple de Structure de Tanins hydrolysables*

❖ **Les tanins condensés :**

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués des unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent 4→8 ou 4→6, résultante du couplage entre le C-4 électrophile d'un flavanyle issu d'un flavan-4-ol ou d'un flavan-3,4-diol et une position nucléophile (C-8, plus rarement C-6) d'une autre unité, généralement un flavan-3-ol [37] .

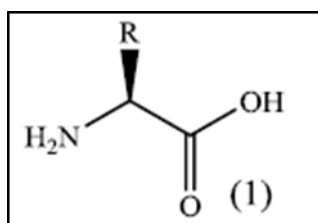


*Figure II. 3. Exemple de Structure de Tanins condensés*

## II.2.4. Les alcaloïdes

Les composés azotés se divisent en deux groupes: les acides aminés et les alcaloïdes. Les acides aminés (qui n'appartiennent pas aux métabolites secondaires), sont à la base de la constitution des protéines et des autres peptides, même s'ils n'en sont pas toujours les mêmes uniques constituants, c'est le cas de l'hème, qui est un groupement prosthétique de l'hémoglobine.

La structure générale des acides aminés (1) et de quelques acides aminés porteurs du groupement fonctionnel guanidinium sont représentés ci-dessous (2-4). La plupart des composés de ces deux groupes sont très hydrosolubles.



Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotée et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). La morphine a été le premier alcaloïde isolé dans l'opium (vers 1805). Puis on découvrit la strychnine (1818).

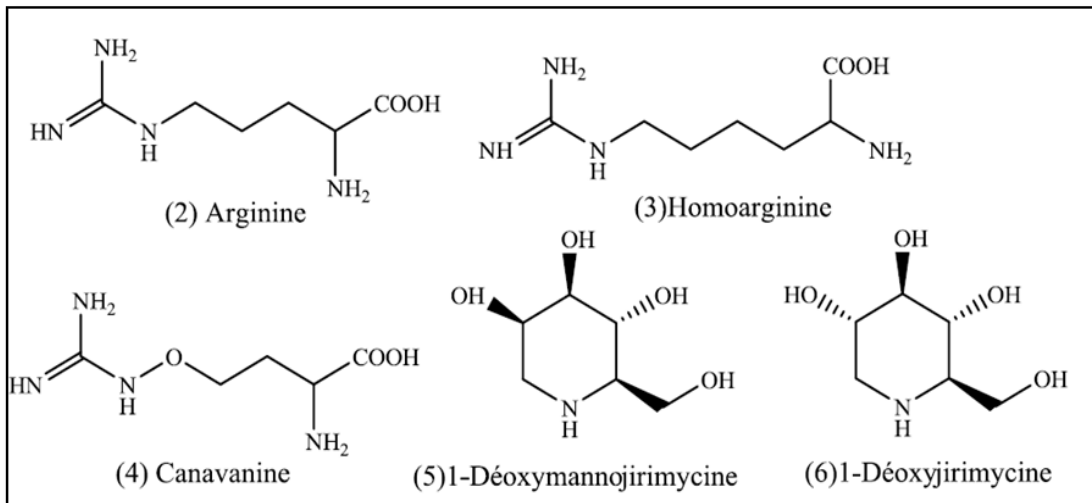
Les autres alcaloïdes plus connus sont : la colchicine, l'atropine, le tubocurarine, la théine, la cocaïne, la mescaline, l'acide lysergique et l'aconitine.

Les pyrazoles forment un groupe d'alcaloïdes contenant deux atomes d'azote dans le noyau aromatique, ceux-ci ne sont pas d'origine naturelle.

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéroatome.

Leurs structures moléculaires sont complexes, plus ou moins basiques et douées des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [ 38 ]. Ils constituent un des groupes de métabolites secondaires contenant plus de 10000 à 12000 différentes structures [ 39 ].

Les structures de deux imino-sucres ayant des propriétés antibiotiques appartenant à la famille des alcaloïdes sont représentées ci-dessous (5-6).



### ❖ Activités pharmacologiques :

Les alcaloïdes exercent généralement leurs activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, epinephrine, norepinephrine, acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), dopamine et la sérotonine.

Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques :

Analgésique (cocaine), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (reserpine), antitussive (codeine), dépressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaine), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (ephedrine), ect...

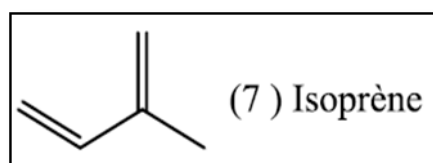
Plusieurs alcaloïdes servent de model pour la synthèse d'analogues avec des propriétés meilleures. [ 40 ]

### II.2.5. Les terpènes :

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine.

Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène  $C_5H_8$  (7) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci  $(C_5H_8)_n$ .

On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature.



Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

En fonction du nombre  $n$  (entier) d'unités, on peut distinguer pour;  $n = 2$  : les monoterpènes ( $C_{10}$ ),  $n = 3$ : les sesquiterpènes ( $C_{15}$ ),  $n = 4$ : les diterpènes ( $C_{20}$ ),  $n = 5$ : les sesterpènes ( $C_{25}$ ),  $n = 6$ : les triterpènes ( $C_{30}$ ).

Le carotène est un tétraterpène ( $C_{40}H_{64}$ ). Il joue le rôle de pigment en photosynthèse végétale. Des matières aussi diverses que le caoutchouc, la vitamine A1 ou le cholestérol sont construites essentiellement des «briques» d'isoprènes.

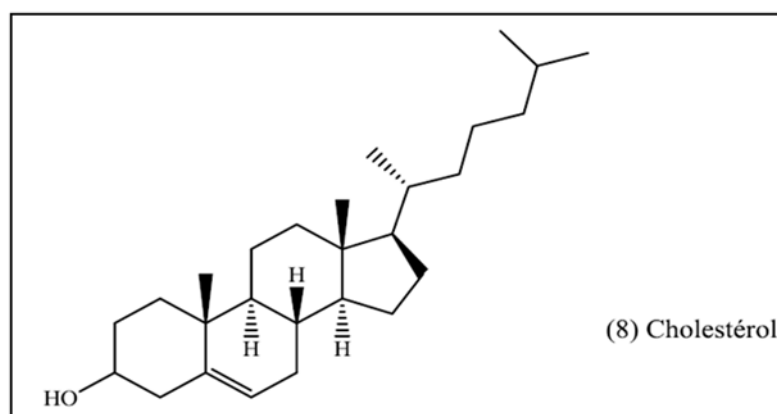
Parmi les terpènes les plus importants on trouve: l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -pinène, le  $\delta$ -3-carène, le limonène, le carotène...

En revanche, les caroténoïdes qui contiennent des atomes d'oxygènes, ne sont pas à proprement parler des terpènes, mais des terpénoïdes (luteine).

Deux de propriétés fondamentales de terpènes sont leurs caractères odoriférants (géranium) et leurs sensibilités à la lumière. [ 37]

## II. 2 .6. Les stérols :

Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés sont naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal, ils ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle. L'exemple le plus courant de stérol est le : cholestérol (8). Leur structure générale est composée de 4 cycles dont les trois premiers 6 chaînons et le dernier à 5.



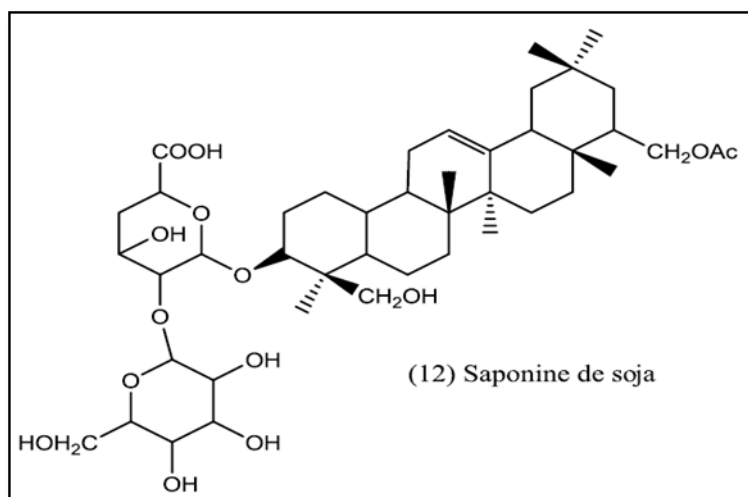
## II.2.7. Stéroïdes :

Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones), majoritairement le squalène (9). Ils se caractérisent par un noyau cyclopentanophénanthrénique hydrophobe (cortisol (10)) partiellement ou totalement

hydrogéné. Habituellement, les carbones C10, C13 sont liés à un groupe méthyle - CH<sub>3</sub> et le carbone C17 à un groupe alkyle.

Par extension, les stéroïdes incluent également les lipides dont le noyau cyclopentanophénanthrénique a été modifié par scission d'une liaison et l'ajout ou la déletion d'un carbone. En médecine le terme «stéroïde» fait référence aux hormones stéroïdiennes.

Dans un contexte sportif, «stéroïde» est habituellement employé pour désigner les stéroïdes anabolisants.



Dans le schéma 9 nous avons établi une classification des certains métabolites secondaires et en relations avec les quelques composés phénoliques .

## II. 3. Rôle et intérêt des composés phénoliques :

### II.3.1. Chez les végétaux :

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini [ 42 ].

### II.3.2. Chez les humains :

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes [ 42 ]. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères). Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau (II.2) .

*Tableau II.2 : l'activité biologie des quelques composés phénoliques. [ 43 ]*

phénoliques	activité
AcidesPhénoliques	Antibactériennes, Antifongiques et Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoides	Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, Antioxydantes, Antitumorales, Antifongiques et Anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes



# Partie Pratique

A decorative border in a light teal color, featuring four ornate floral motifs at the corners. Each motif includes green leaves, yellow and red flowers, and a small white flower with a red center. The border is shaped like a rounded rectangle.

**CHAPITRE III :**  
**Etude phytochimique**

### III- Etude phytochimique:

#### III-1. Introduction :

La famille des polyphénols devient le point de départ de toutes les recherches scientifiques en particulier la découverte des molécules naturelles à très forte activité antioxydante. Notant que, les oxydants quelques soit leurs origines constituent un très grave problème non seulement au niveau de la santé publique mais aussi au niveau de l'industrie agro-alimentaire.

Dans cette partie expérimentale, deux axes ont été envisagés :

#### Le premier partie :

Concerne l'extraction des composés phénoliques par différents méthodes d'extraction la première méthode est macération et le deuxième et ultrason, la troisième méthode soxhlet ;

#### Dans le deuxième partie :

Nous nous sommes intéressés quantification des teneurs de ces composés. Les dosages obtenus exprimées en mg/g sont déterminés en utilisant les réactifs suivants : le Folin-Ciocalteu pour les polyphénols, le trichlorure d'alumine pour les flavonoïdes et la vanilline pour les tannins condensés.

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de valorisation et technologie des ressources sahariennes (VTRS) de l'université d'EL OUED.

#### III-2. Matériels et méthodes :

##### III-2-1- Matériels de laboratoire :

##### A. Appareillage et matériels :

<b>UV spectrophotomètre (UV-1800 SHIMADZU)</b>
--

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• cuves de plastique et de Quartz</li></ul> |
|---|

<b>Ultrason extracteur ( j.p . SELECTA , S . a Fuse (A ) 5 )</b>
--

<b>Extracteur type soxhlet .</b>
----------------------------------

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• cartouche en cellulose</li></ul> |
|--|

<b>Evaporateurrotatif (Rotavapor BUCHI Heating bath R-210).</b>
---

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Ban marie , pompe sous vide .</li></ul> |
|---|

<b>Etuve (Mommert, Beschickung-Loadig Modell 100-800).</b>
--

<b>Balance analytique (Shanghai Sunrise Instrument précision 0.001g ) .</b>
---

<b>Verrerie :</b> béchers, pipettes, ballons, éprouvettes graduées, tubes à essais, le pipete et micro pipete .
---

## B. logiciels :

- Logiciel OriginPro 8, pour dessiner les voltamogrammes, aussi que pour l'élaboration des courbes d'étalonnages et facteur de corrélations.
- Logiciel Microsoft office Excel 2007, pour le calcul des concentrations à partir des courbes d'étalonnage et pour la présentation des résultats

## C. Réactif et produit chimiques :

Solvants et réactifs
• Trichlorure d'aluminium $AlCl_3$
• Trichlorure de fer $FeCl_3$
• Réactif FolinFiocalteu ( $3H_2O, P_2O_5, 13WO_3, 5MoO_3, 10H_2O$ ) Production par (PROLABO)
• Eau Ultra pure (Bi distillé)
• Eau distillée ( $H_2O$ ).
• Ethanol 95% ( $CH_3-CH_2-OH$ ) Production par (Biochromchemopharma).
• Carbonate de sodium $Na_2CO_3$ par (ALFA AESAR)..
• méthanol 95% ( $CH_3-OH$ ) (99%) Production par (ALFA AESAR).
• acide sulfurique $H_2SO_4$ .
• Phosphate de sodium.
La solution standard utilisée
• Acide ascorbique $C_6H_6O_6$ (99%) Production par (ALFA AESAR)
• acide gallique $C_7H_6O_5$ (99%) Production par (PROLABO)
• Rutine ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ) (97%) Production par (ALFA AESAR)
• Quercitaine dihydrate $C_{15}H_{10}O_7$ (97%) Production par (ALFA AESAR)

## III-2-2- Matériel végétal :

### III-2-2-1- Echantillonnage et description :

Les échantillons utilisés lors de la réalisation de notre travail proviennent d'un agriculteur situé dans un village El-oued, les feuilles palmier triturés sont des variétés «DegletNour, Hamraya et Ghars » planté où le climat chaud et sèche.

Nous les avons prélevées en février 2014.

Tous les feuilles ont été récoltées sous les conditions de mûrissement standard et ont constitué un matériel végétal intéressant de notre étude. Le tableau (III.1) regroupe l'origine, la couleur et la forme d'extrait et la codification des échantillons.

**Tableau III.1. Description des feuille palmier échantillonnées.**

La variété		Code de cultivars	Origine	Couleur
01	DegletNour .	DN	El-Oued	Vert
02	Hamraya	H	El-Oued	Vert
03	Ghars.	G	El-Oued	Vert

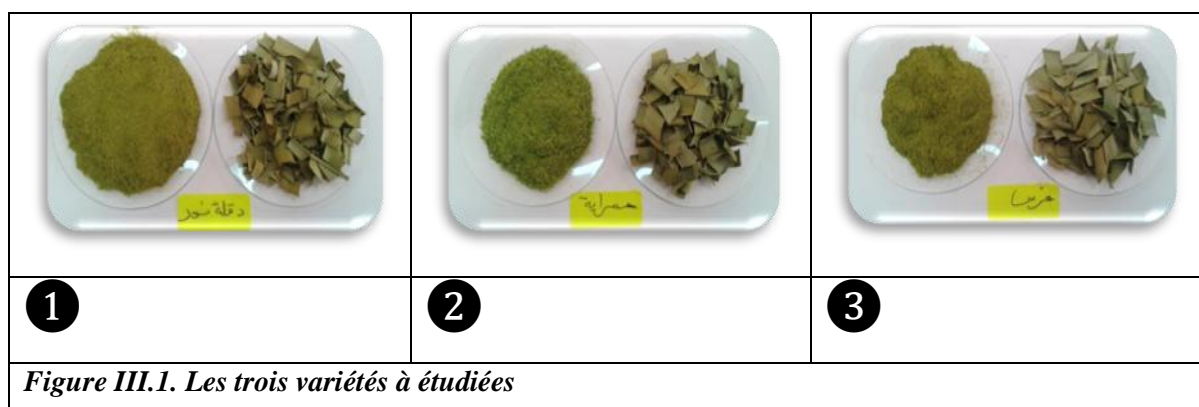
### III-2-2-2- Préparation des échantillons secs :

#### ✓ séchage des échantillons :

Après l'opération de cueillette vient l'opération de purification et de séchage ou on choisit les feuilles sains et touts murs, ensuite on les lave et les nettoie de résidus Microscopiques pour séparer après les parties grossières et les composées parasites.

Après avoir le bon feuille , on le découpe pour des petites morceaux afin de faciliter l'opération de séchage puis on devise les différentes qualités dans l'ombre, sous forme de fines couches ,sur une feuille blanche ou de même sur un tissu épais dans le but de faciliter l'opération de renverse pour deux fois par jour en mettant considération de ne pas exposer les plantes à certains facteurs qui peuvent aboutir à perdre l'efficacité de matière comme les rayons de soleil pour un longtemps. A' la fin on doit s'assurer que les feuilles ne contiennent pas de l'eau ou l'odeur parce que facilité le fait de mouliner et Protéger les plantes contre la pourriture.

La figure III.1 suivante représente les photos des feuilles de palmier étudiées :



#### ✓ Conservation:

Après le broyage par brayeun, on conserve différents types dans des récipients de verre et tout formées et loin de lumière mais avant, on doit s'assurer que les plantes ne sont pas infectées.

### III.3. Méthodes :

Notre étude a été basée spécifiquement sur le :

1. Les tests phytochimiques .
2. Dosage des polyphénols totaux.

3. Dosage des flavanoides .

4. Dosage des flavanole.

### **III-3-1-Tests phytochimiques :**

#### **III-3-1-1- La Teneur en eau :**

Elle est déterminée par la Méthode gravimétrique qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

##### ✓ **Matériel :**

– Balance analytique de précision, Etuve réglée à 110°C, Verre de montre, Pince, Spatule métallique, Capsules en verre, Dessiccateur.

##### ✓ **Technique :**

- Nous avons opéré sur un échantillon homogène, broyé ou concassé.
- Faire une prise d'essai de 1 à 2 g (peser au mg près).
- Dessécher de façon à obtenir une masse constante après plusieurs pesées consécutives.
- Le refroidissement avant pesé se fait dans un dessiccateur renfermant un desséchant (Chlorure de calcium, anhydride phosphorique)

✓ **Calcul:** Masse drogue essai = masse avant étuve - tare

Masse eau = masse avant étuve – masse après étuve

% Eau = (masse eau ÷ masse drogue essai) × 100 [ 44 ]

#### **III-3-1-2- Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :**

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests suivants (Figure III.2.) :

##### **III-3-1-2-1. Amidon :**

❖ Le test effectué consiste :

1. 1 Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ;
2. Ajouter quelques gouttes du réactif d'amidon . (Annexe 1) .

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée. [ 45 ]

##### **III-3-1-2-2. Saponosides :**

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

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif

– Mousse plus de 2 cm = test très positif [ 46 ]

### III-3-1-2-3. Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins [ 46 ]

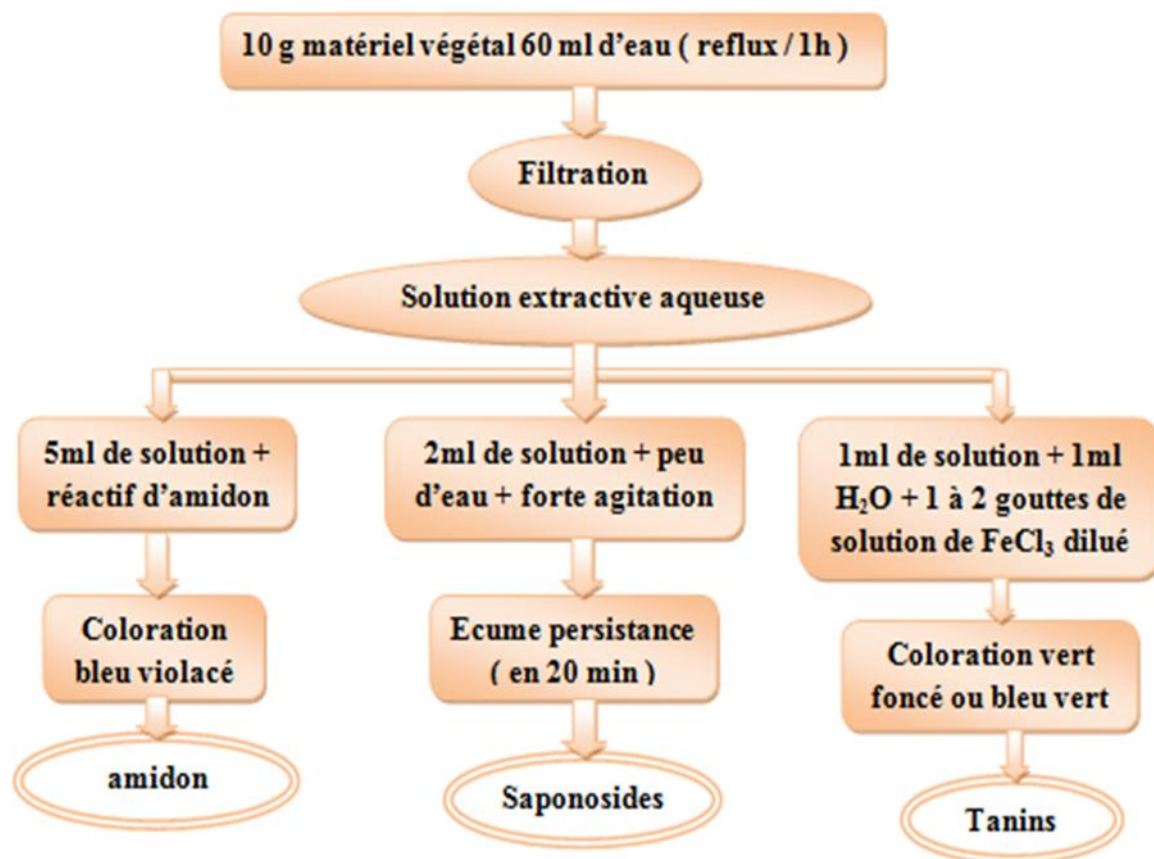


Figure III.2: Tests phytochimiques 1

### III-3-1-3- Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol :

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivant (Figure III.3) [45]

#### III-3-1-3-1. Flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes. [47]

#### III-3-1-3- 2 .Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée. Un test révélé par

l'apparition d'une coloration bleu- noire (tanins galliques), bleu-verte (tanins cathéchiques) [46]

### III-3-1-3- 3 .Composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique. [46]

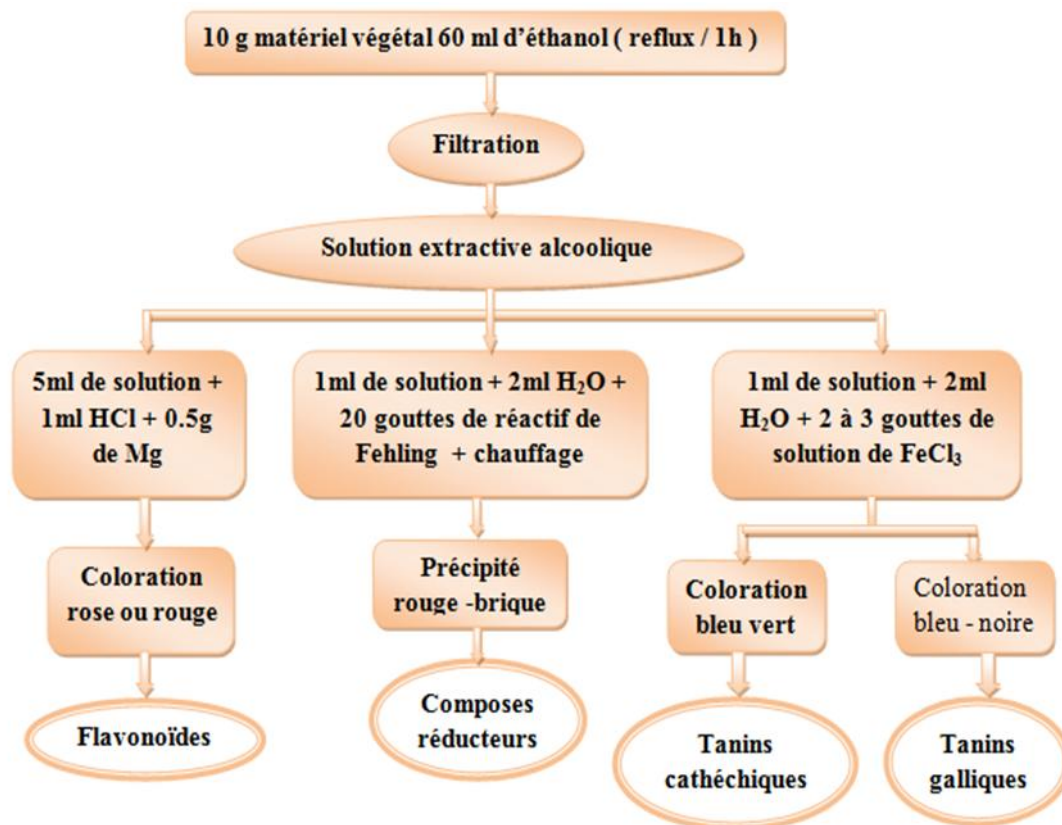


Figure III.3 : Tests phytochimiques 2

### III-3-2-Protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques :

#### III-3-2-1- Définition d'extraction :

C'est le fait d'isoler les matières naturelles ou composées de la matière première (la plante) avec l'utilisation des solvants organiques, si la matière que l'on veut la séparer est liquide on applique la méthode liquide-liquide ; si la matière est solide on applique l'extraction solide-liquide.

La méthode d'extraction des biomolécules utilisée au laboratoire est la sonication, en raison de sa simplicité d'exécution : un gain de temps, une température ambiante ainsi que des quantités plus faibles de solvant utilisées et une grande reproductibilité. [48]

#### III-3-2-2- Choix des solvants :

Les polyphénols, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. Ainsi, les solvants qui ont été retenus pour

notre étude sont-ils le méthanol et l'acétone qui présentent une polarité moyenne, et l'eau dont la polarité est la plus élevée. Des mélanges de solvants sont aussi utilisés les mélanges méthanol/eau (70/30, v/v) dont la polarité sera qualifiée d'intermédiaire. [49]

### **III-3-3- Les différentes méthodes d'extraction :**

Les feuilles palmier préalablement nettoyées et broyées sont mise à macérer dans un mélange méthanol/eau (7 :3 V/V) à un rapport de 1/5(P/V), sous agitation douce pendant une nuit à température ambiante. L'extrait hydroalcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange sur verre fritté (entonnoir N°03), le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur. Permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par un différent couleur, qui est considéré comme étant l'extrait brut.

#### **III-3-3-1- L'extraction solide-liquide par méthode macération :**

20 g de poudre de feuilles et échantillon (DegletNour . Ghars . Hamraya) ont fait l'objet d'une macération dans un mélange méthanol-eau (70% . 30%), la macération est maintenue constante pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire sous agitation magnétique constante puis centrifugé à 350 tours/min. [50]



*Figure III.4. Extraction par macération*

Après l'épuisement, on a procédé à la filtration de nos extraits obtenus afin d'éliminer les substances insolubles. Par la suite, on a transvasé l'extrait dans un ballon pour éliminer tous les solvants à partir d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 45°C puis à 65°C pour éliminer le solvant. Dans cette dernière étape, on prendra soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction, le résidu sec obtenu, et on a conservé cette échantillon à une température de (4°C à 6°C) pour protéger ses caractéristiques physicochimique pour l'étudier après son efficacité.

### III-3-3-2- L'extraction solide-liquide par méthode ultrason :

20 g de poudre de feuilles et échantillon (DegletNour . Ghars . Hamraya) ont fait l'objet d'une macération dans un mélange méthanol-eau (70% . 30%), l'incubation est maintenue on a procédé à la filtration de nos extraits obtenus afin d'éliminer les substances insolubles. Par la suite, on a transvasé l'extrait dans un ballon pour éliminer tous les solvants à partir d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe a vide à une température de 65°C puis à 83°C pour éliminer le solvant. Dans cette dernière étape, on prendra soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction, est on a refroidie cette échantillon à une température de (4°C à 6°C) pour protéger ses caractéristiques physicochimique pour l'étudier âpre son efficacité. [51]



*Figure III.5. Extraction par ultrason*

### III-3-3-3- L'extraction solide-liquide par méthode soxhlet :

L'échantillon préparé de chaque variété (poids en grammes) a été mis dans une cartouche en cellulose. Cette dernière est ensuite introduite dans un extracteur de type soxhlet fixé sur un ballon qui contient 150 ml du solvant et surmonté d'un réfrigérant. On procède à l'épuisement par un solvant polaire: « mélange méthanol/eau (7 :3 V/V) » pendant 6 h.

La température de chauffage est légèrement réglée au-dessus de la température d'ébullition du solvant d'extraction (~65°C) pendant un temps nécessaire à l'épuisement du végétal.

L'indice d'épuisement de notre échantillon est donné par la clarification du solvant d'extraction dans le siphon du soxhlet .

Après épuisement , nous avons procédé à la filtration de nos extraits obtenus afin d'éliminer les substances insolubles .



*Figure III.5. Extraction par soxhlet*

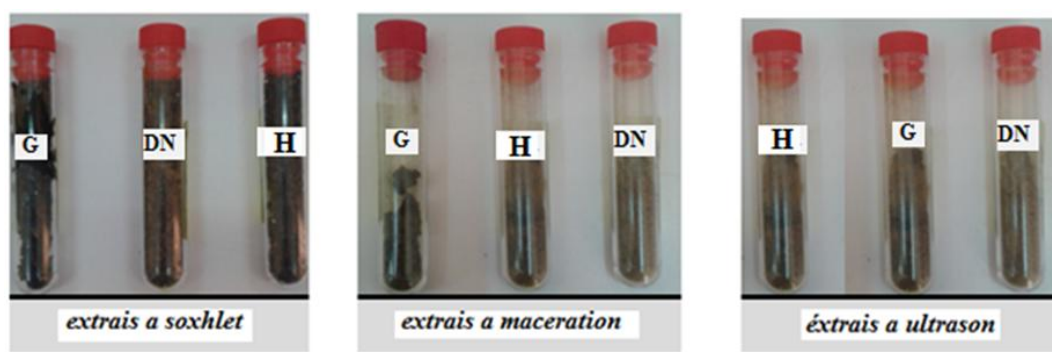
Par la suite , nous avons transvasé l'extrait dans un autre ballon puis nous avons concentré à sec l'extrait dans un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 50°C puis à 77°C pour éliminer le solvant.

Dans cette dernière étape, on prendra soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction . [51]

Les résidus obtenus des trois méthodes d'extraction sont dosés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible afin de quantifier les teneurs en polyphénols totaux contenus dans les différents échantillons.

**Tableau III.1. Description générales d'extraits :**

Type d'extraction	Extrait	Aspect	Couleurs
<i>macération</i>	DegletNour	Poudre	marronclair
	Hamraya .	Poudre	Vert à marron
	Ghars .	Pâteux	Marron
<i>ultrason</i>	DegletNour	Pateux	marronclair
	Hamraya .	Pateux	Marronfoncé
	Ghars .	Aspect	Marronfoncé
<i>soxhlet</i>	DegletNour	Poudre	Marron
	Hamraya .	Poudre	Marronfoncé
	Ghars .	Pâteux	Marronfoncé



**Figure III.7. Les trois variétés à étudiées extraie par trois méthodes**

### III-3-4-dosage des composées phénoliques par les méthodes colorimétriques « Analyse qualitative » :

#### III-3-4-1-Dosage des polyphénols totaux (PPT) :

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Siocalte.

Pour quantifier la teneur en polyphénols, il faut utiliser une courbe d'étalon. [44]

#### ❖ La courbe standard d'acide Gallique :

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique  $H_3PMo_{12}O_4$  et d'acide phosphotungstique  $H_3PW_{12}O_4$  qui sont réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène  $W_8O_{23}$  et de molybdène  $Mo_8O_3$ .

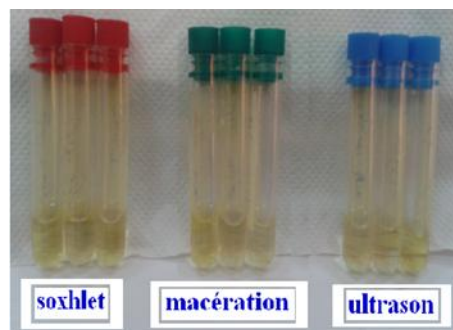
Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 1 ml des solutions d'acide gallique de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 mg/mL, ensuite 1 ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée est ajouté puis immédiatement après il est ajouté 0.8ml d'une solution de  $Na_2CO_3$  (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 760nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. [52].



*Figure III.8. La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage*

#### III-3-4-2-Dosage des flavonoïdes totaux (FVT):

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 415 nm. Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, il faut utiliser une courbe standard. [53]



*Figure III.9. La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le Dosage des flavonoïdes.*

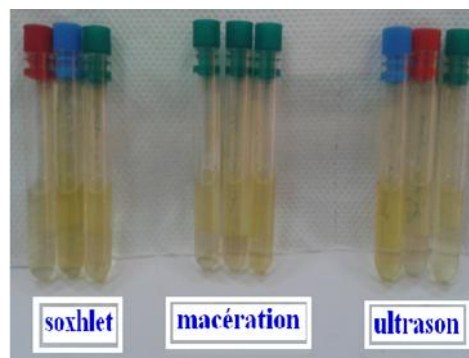
#### ❖ La courbe standard de Quercitine :

La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions de Quercitine de concentration varie entre [0.02 jusqu'à 0.12 mg/ml]. 1 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1 ml de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$  2%). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant 10 minutes. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 415 nm contre un blanc et en fin on trace la courbe d'étalonnage de quercitine en fonction de concentration :  $A = f(C)$  [54]

### III-3-4-3-Dosage des flavanols totaux :

La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions de Rutin de concentration varie entre [ 0.04 jusqu'à 0.08 mg/ml ] . 2 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai , suivis de l'addition de 2 ml de trichlorure d'aluminium (  $AlCl_3$  20% préparé dans de l'éthanol) , et 3 ml d'acétate de sodium.

Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées et incubé au bain marie a température 20°C, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant 2 ,5 heure. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 440 nm contre un blanc et en fin on trace la courbe d'étalonnage de retine en fonction de concentration :  $A= f(C)$  [55]



*Figure III.10. La solution d'extract après l'addition du réactif pour le dosage*

A decorative border in a light teal color, featuring four ornate floral motifs at the corners. Each motif consists of green leaves, yellow and red flowers, and a small white star-like element.

# CHAPITRE IV:

## Résultats et discussion

## IV- Résultats et discussion :

Notre étude nous a permis d'identifier les différents groupes chimiques présents dans les poudres des feuilles à travers des réactions de caractérisation, en nous basant sur les données déjà existantes sur les utilisations traditionnelles de la plante.

### IV-1- Screening phytochimique :

#### IV-1- 1- Phytochimie de *Phoenix dactylifera L*:

##### ❖ Teneurs en eau :

Tableau IV-1 : la teneur en eau (exprimée en %) :

Les variétés	DN	H	G
la teneur en eau(en %)	60.5	54.2	66.7

Nous constatons que :

- Comme la plupart des végétaux, notre plante est riche en eau.
- Les feuilles d'extraits G disposent d'un plus grand rendement comparativement parlant aux d'extraits DN et H.

##### Caractérisation chimiques :

Les tests phytochimiques ont été réalisés à partir des feuilles, de *Phoenix dactylifera L*. en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé des feuilles *Phoenix dactylifera L*. mentionnés dans le Tableau IV-2, montrent la présence des flavonoïdes, des tanins.

La mise en évidence des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de ce parties de la plante est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge intense en contact avec la tournure de magnésium Les tanins sont présents avec une intensité importante dans les extraits méthanoliques. Sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre dans les feuilles, il s'agit donc des tanins catéchiques.

On remarque aussi la présence des saponosides dans les feuilles avec une quantité forte, d'amidon, des composés réducteurs dans les parties de la plante.

**Tableau IV-2 : Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques:**

Recherche de	DN	H	G
Les polyphénols	+++	+++	+++
Saponosides	++	+++	++
Amidon	++	++	-
Composés réducteurs	+	+	+
Flavonoïdes	++	+++	++
Tanins	+++	+++	++

Réaction fortement positive : +++      Réaction faiblement positive : +

Réaction moyennement positive : ++      Réaction négative : -

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de Phoenix dactylifera L. ont démontré la présence des flavonoïdes, des tanins et des polyphénols ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des Composés réducteurs et Amidon qui sont révélées faible dans nos extraits des différentes espèces de la plante.

#### **IV-1- 2- Rendement d'extraction des composés phénoliques :**

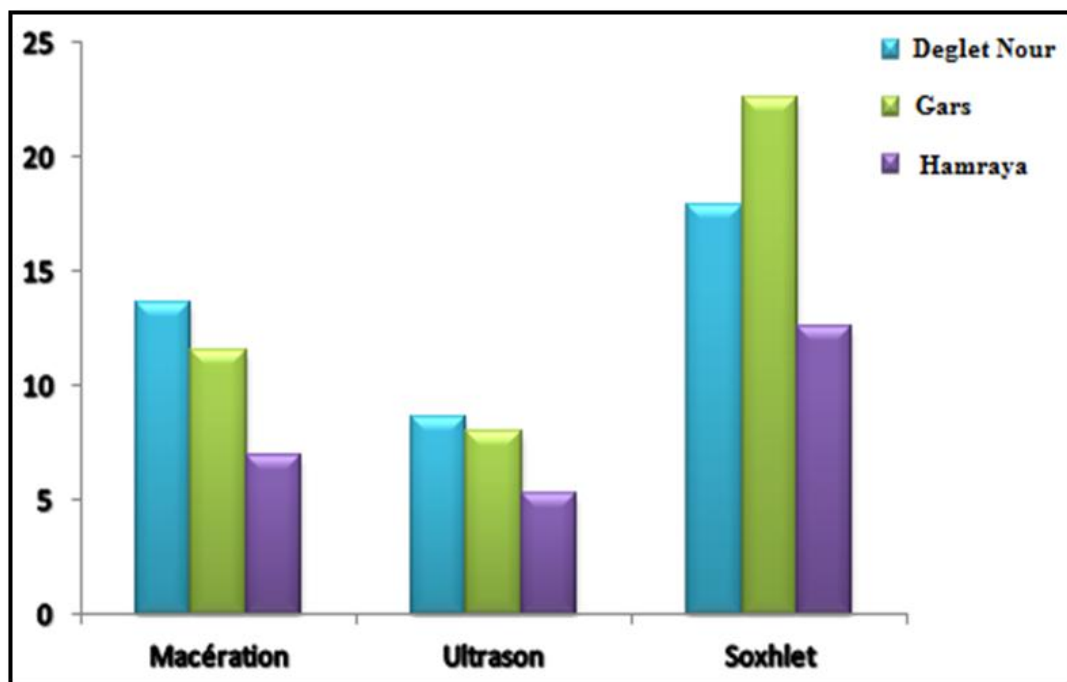
Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits bruts hydro-alcoolique : méthanol /eau (70:30 % v/v) [56] selon la règle générale :

$$R(\%) = \frac{\text{masse de résidu extrait}}{\text{masse initiale de végétale}} \times 100 \quad \dots\dots (IV.1)$$

Le rendement qui a été déterminé par rapport à 20 g de matériel végétal sec est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau IV.3.

**Tableau IV .3: Les rendements en extraits obtenus à partir des trois variétés de la plante:**

Méthodes d'extractions	Rendement % d'Extrait des feuilles		
	Macération	Ultrason	Soxhlet
DegletNour	13.60	8.58	17.84
Gars	11.57	8.00	22.55
Hamraya	6.89	5.24	12.59



*Figure. IV.1 : Comparaison en composés phénoliques des différents extraits*

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait brut de type extraction Soxhlet des feuilles de Phoenix dactylifera L. (22,55%) suivi de type extraction Macération et Ultrason.

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait sec par méthode Soxhlet Gars (22.55%) ; suivi des sec DegletNour (17.84033%) et de sec Hamraya (12.59%) d'autre part le rendement de l'extrait sec par méthode Macération DegletNour (13.60%); suivi des Gars (11.58%) et de Hamraya (6.89%) et l'extrait sec par méthode Ultrason DegletNour (8.58%); suivi des Gars (8.00%) et de Hamraya (5.23%) alors nous pouvons dire que l'extrait brut des feuilles sec par méthode Soxhlet est essentiellement constitué grand rendement par rapport aux autres cas.

#### **IV.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique :**

Les différents extraits ont des couleurs caractéristiques, cela est due à la présence des pigments végétaux ou bien les polyphénols. Dans notre étude, nous intéressons à quantifier ces substances.

#### IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes:

L'étude quantitative des extraits bruts des échantillons de deux états des différents poivrons doux au moyen de dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en polyphénols.

La quantité des polyphénols correspondante a été rapportée en milligramme par un gramme de la matière végétale équivalent en solution standard. L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de solution standard est :

$$y = ax \pm b \quad \dots\dots(IV .2)$$

Où :

y: représente la valeur d'absorbance.

x: représente la valeur de la concentration du standard en mg. ml-1.

En remplaçant à chaque fois la valeur d'absorbance dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente de solution standard C<sub>éq</sub> en mg/g.

#### IV.2.2. Quantification des polyphénols totaux (PPT) :

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique. (Figure IV. 2)

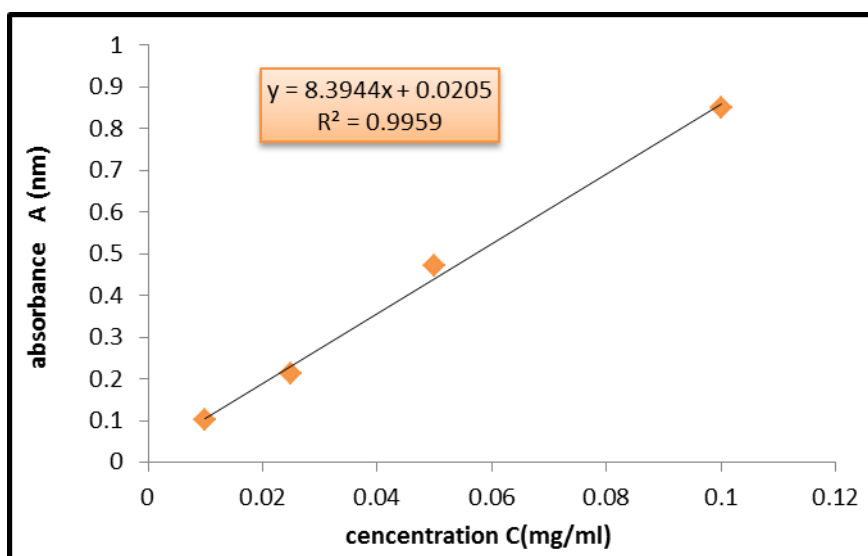


Figure. IV.2. Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphénole ).

Pour la quantification des polyphénole dans notre extrais de des feuilles on utilise la même mode opératoire illustrer dans (III-3-4-1-) mais on remplace l'acide gallique par notre extrait a différents concentration.

Les résultats obtenus ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols contenues dans les feuilles de Phoenix dactylifera L et le tableau IV.4 rassemble les taux en polyphénols totaux dans les différents extraits étudiés

**Tableau IV.4. Taux en polyphénols totaux des différents extraits :**

Equation : Y= 8.3944x+0.0205  R <sup>2</sup> = 0.9959	Extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg/g)		
		Macération	Ultrason	Soxhlet
	DegletNour	78,90	32,10	123,86
	Gars	158,08	131,456	143,39
	Hamraya	174,58	121,45	170,65

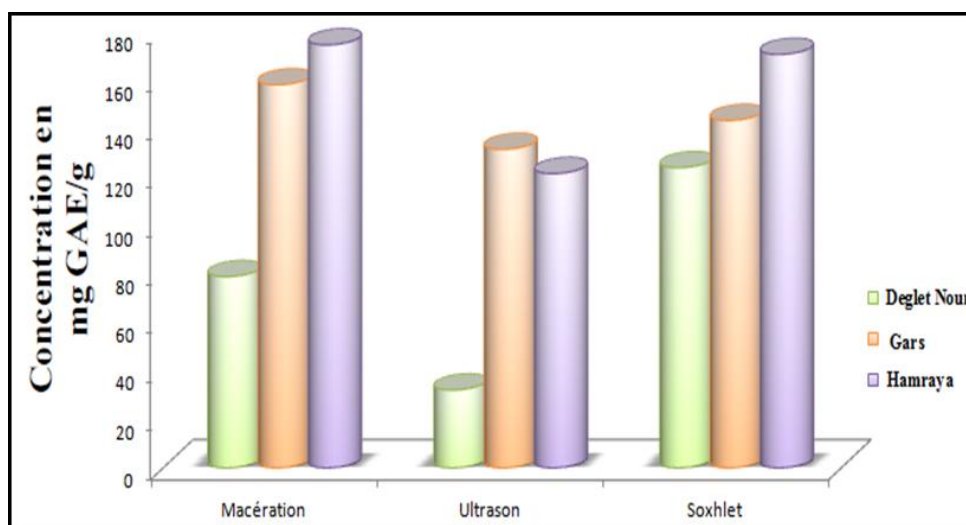
À travers les résultats de tableau IV.4., on peut déduire les points suivants:

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que la Teneur en polyphénols totaux le plus élevé est celui de l'extrait brut de type extraction Soxhlet des feuilles de Phoenix dactylifera L. suivi de type extraction Macération et Ultrason.

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que Teneur en polyphénols totaux le plus élevé est celui de l'extrait sec par méthode Macération Hamraya (174.58mg/g) ; suivi des sec Gars (158.08 mg/g) et de sec DegletNour (148.9 mg/g) d'autre part Teneur en polyphénols totaux de l'extrait sec par méthode Soxhlet Gars (173.39mg/g); suivi des Hamraya (170.65mg/g) et de DegletNour (163.86mg/g) et l'extrait sec par méthode Ultrason Gars (131.456mg/g); suivi des Hamraya (121.45mg/g) et de DegletNour (32.104mg/g)

D'après les résultats, il est clair que la teneur en polyphénols dans les échantillons secs de Hamraya est plus grande par rapport aux autres échantillons.

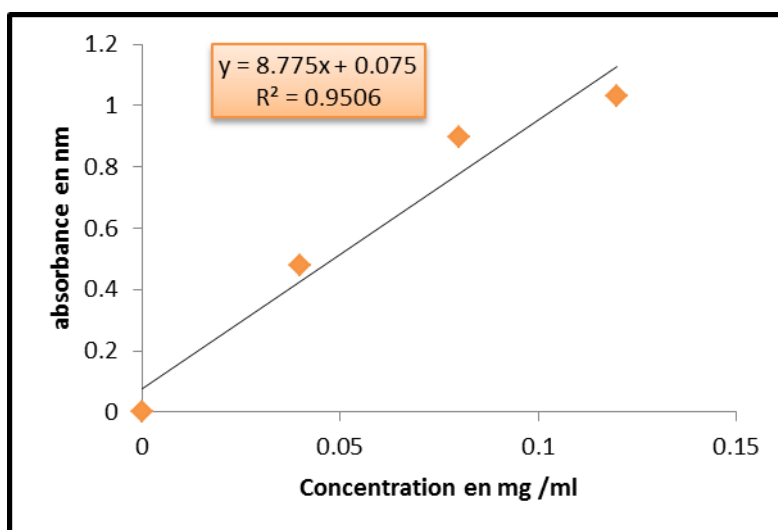
Ces résultats importantes reflètent les données trouvés dans la (figure IV.3) où nous avons enregistré des rendements élevés des extraits bruts ce qui prouve la richesse de chaque partie de la plante en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes... [57]



**Figure. IV.3. : Teneurs en phénols totaux pour les trois parties de la plante étudiée**

### IV.2.3. Quantification de flavonoïde total (FVT) :

Comme nous avons l'indiqué dans le paragraphe(III-3-4-2) pour la détermination de la teneur en flavonoïde total ,une droite d'étalonnage (figure IV.4) à été tracée pour cette objectif qui est réalisé avec des solutions d'étalons à des concentrations différentes.



*Figure.IV.4. Courbe d'étalonnage de Quercitine (flavonoïde*

La quantité des flavonoïdes a été rapport en milligramme par un gramme de la matière végétale sèche équivalent en Quercitine.

Le tableau(IV.5) rassemble les taux en flavonoïdes totaux dans les différents extraits étudiés.

On répète même étapes des traitements solution standard de quercitine avec différentes extraits des feuilles de Phoenix dactylifera L.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la quercitine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

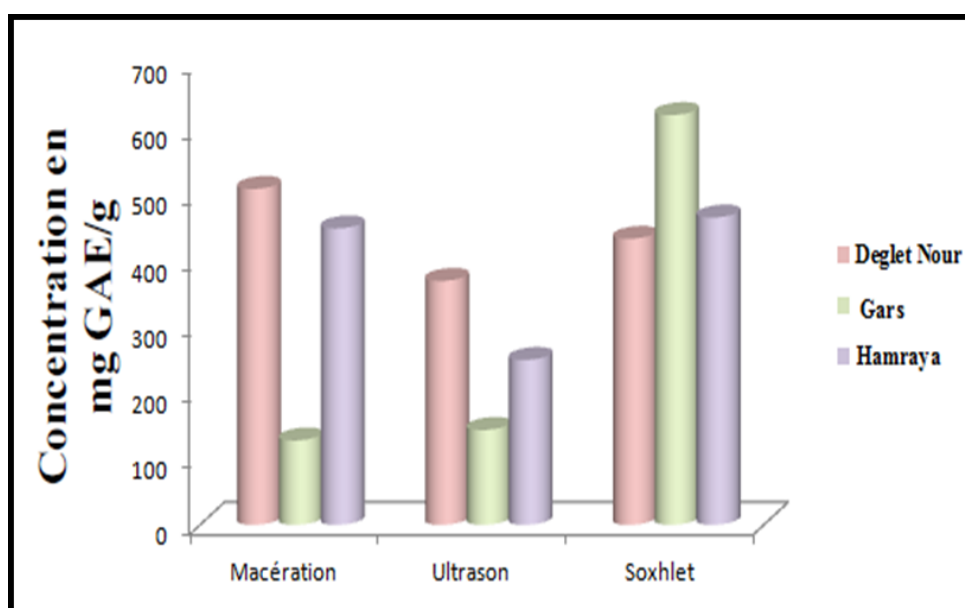
**Tableau IV.5. Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits :**

Equation : Y= 8.775x+0.075	Extrait	Teneur en flavonoïde totaux (mg/g)		
		Macération	Ultrason	Soxhlet
R <sup>2</sup> = 0.9506	DegletNour	510.06	270.43	434.3
	Gars	128.23	144.1	622 .09
	Hamraya	450.12	350.4	466.67

À travers les résultats de tableau IV.5., on peut déduire les points suivants :

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que la Teneur en flavonoïde le plus élevé est celui de l'extrait brut de type extraction Soxhlet des feuilles de Phoenix dactylifera L. suivi de type extraction Macération et Ultrason.

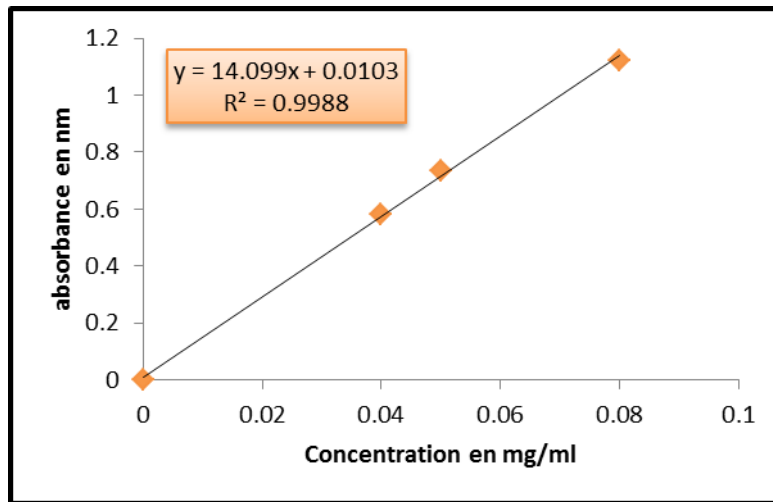
Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que Teneur en flavonoïde le plus élevé est celui de l'extrait sec par méthode Soxhlet Gars (622.09mg/g) ; suivi des sec Hamraya (466.67mg/g) et de sec DegletNour (434.3mg/g) d'autre part Teneur en Teneur en flavonoïde de l'extrait sec par méthode Macération DegletNour (510.06 mg/g); suivi des Hamraya (450.12mg/g) et de Gars (128.23mg/g) et l'extrait sec par méthode Ultrason DegletNour (270.43mg/g); suivi des Hamraya (350.12mg/g) et de Gars (144.1mg/g) . D'après les résultats, il est clair que la meilleure méthode d'extraction des composé flavonoïdies cette extraction par méthodes Soxhlet et on a remarque que les échantillons secs de Hamraya est plus grande quantités des compose flavonoïdies par rapport aux autres échantillons parce que il ya quelque espèces des compose flavonoïdies responsable a la couleurs [58]



*Figure. IV.5. : Teneurs en phénols totaux pour les trois parties de la plante étudiée*

#### **IV .2.4.Quantification des flavanols totaux :**

Le dosage des flavanole totaux dans les différents extrais des feuilles, de Phoenix dactylifera L se fait d'après une droite d'étalonnage (Figure. IV.6) qui est réalisée avec des solutions d'étalons de rutine a des différents concentrations paragraphe (III-3-4-3).



**Figure.IV.6. Courbe d'étalonnage de Rutine (flavanols).**

On prépare des différents extraits par même méthode de préparation de solution standard de Rutine pour déduire la quantité des flavanols totaux d'après la courbe d'étalonnage.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la Rutine par gramme de la matière végétale sèche (mg /g).

Pour les trois extraits de la plante étudiée des feuilles, de Phoenix dactylifera L on a remarqué une différence des teneurs en flavanols totaux. La teneur la plus élevée est constatée.

**Tableau IV.6. Teneur en flavonoles totaux des différents extraits :**

Equation : Y= 14.099x+0.010  R <sup>2</sup> = 0.9988	Extrait	Teneur en Flavanoles (mg/g)		
		Macération	Ultrason	Soxhlet
	DegletNour	87.65	98.16	100.4
	Gars	45.93	47.45	54.3
	Hamraya	102.66	103.33	109.05

À travers les résultats de tableau IV.6., on peut déduire les points suivants:

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que la Teneur en Flavanoles le plus élevé est celui de l'extrait brut de type extraction Soxhlet des feuilles de Phoenix dactylifera L. suivi de type extraction Ultrason et Macération.

Les résultats obtenus pour les extraits bruts, montrent que Teneur en Flavanoles le plus élevé est celui de l'extrait sec par méthode SoxhletHamraya (109.05mg/g) ; suivi des sec DegletNour (100.4mg/g) et de sec Gars (54.3mg/g) d'autre part Teneur en Teneur en flavanoïde de l'extrait sec par méthode Ultrason Hamraya (103.33mg/g); suivi des DegletNour (98.16mg/g) et de Gars (47.45mg/g) et l'extrait sec par méthode Macération Hamraya (102.66mg/g); suivi des DegletNour (87.65mg/g) et de Gars (45.93mg/g) .

Les études expérimentales des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal de des feuilles, de *Phoenix dactylifera* L. montrent la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des flavanols, est variable entre les différents extraits.

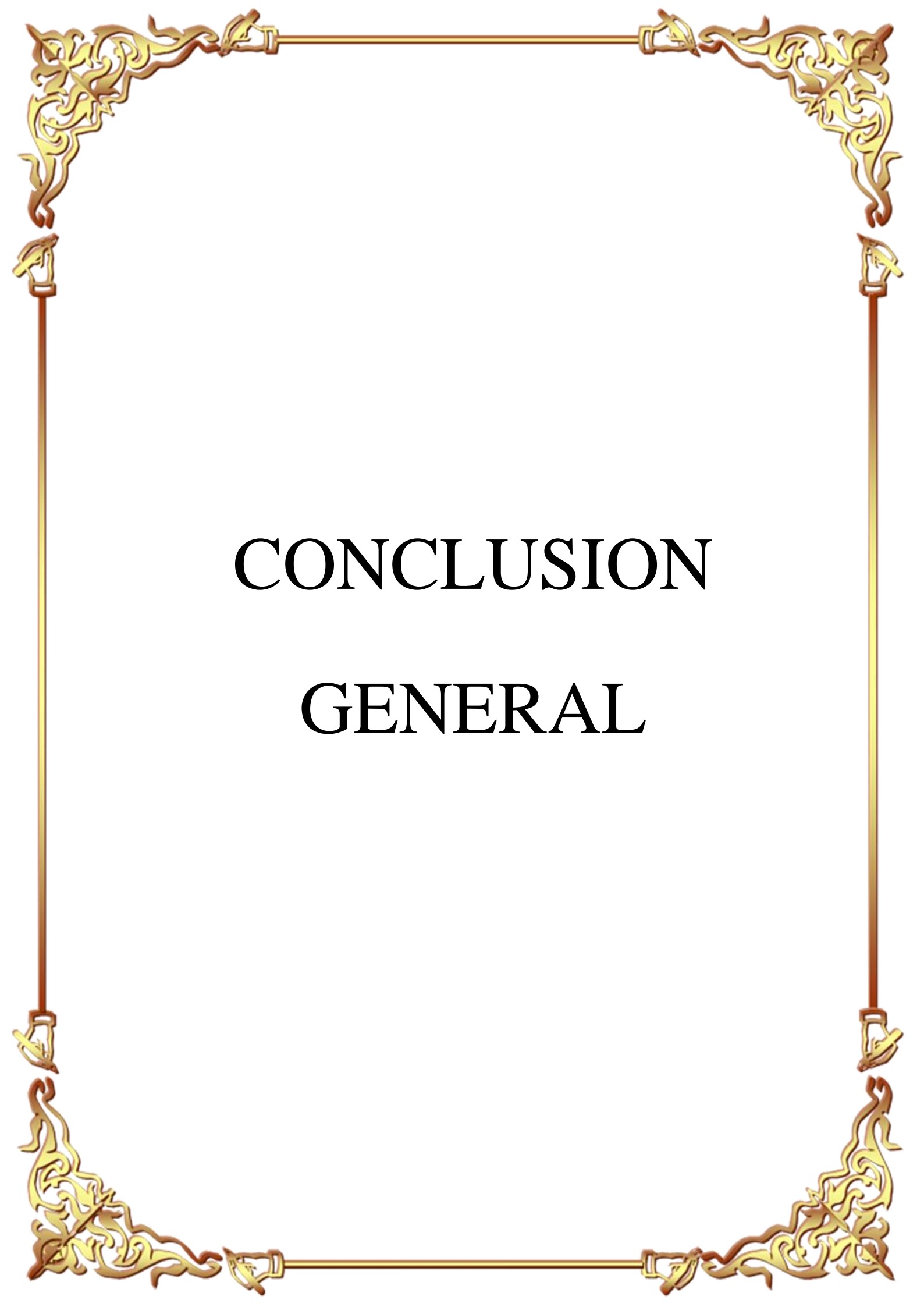
Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des polyphénols totaux et l'apparition de la formation d'un complexe bleu qui a confirmé leur présence.

La mise en évidence des flavonoïdes dans différents extraits des feuilles, est confirmée par l'apparition d'une couleur rose intense.

Le test positif des flavanols on a montré leur présence dans différents extraits avec une apparition d'un couleur rose chaire.

Les tanins sont présents avec une intensité importante dans les différents extraits. Sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre.

En générale, nous pouvons dire que la quantité polyphénols présente dans les extraits secs, cette différence est due à plusieurs facteurs, dont les conditions d'élevage et le degré de maturité et de la température ainsi que le type de solvant utilisé et méthode d'extractionetc ... [59]



**CONCLUSION**

**GENERAL**

# Conclusion

Les plantes alimentaires ou médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale et pharmaceutique.

Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle tiré des importantes récentes .

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique de différents extraits des feuilles de plante *Phoenix dactylifera L* de la région d'El-Oued.

Les tests phytochimiques réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des tanins, des composé réducteurs et l'amidon dans les trois variétés des feuilles .

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondant dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits bruts de feuilles de Gars par les méthodes Soxhlet, suivi par DegletNour et Hamraya.

La teneur des phénols totaux et des flavonoïdes vaieéentre les différentes variétésdes feuilles de plante *Phoenix dactylifera L*.

La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans les feuilles de Hamraya par méthodes Macération 174,58 mg GAE/g suivi par les l'extrait des feuilles de Hamraya par méthodes Soxhlet avec une teneur de 170,65 mg GAE/g.

Concernant les flavonoïdes, nous avons observé des teneurs les différentes variétés des feuilles de plante *Phoenix dactylifera L*, les teneurs obtenues sont classées comme suit : les extraits bruts des feuilles par méthodes Soxhlet > les extraits bruts de feuilles par méthodes Macération > les extraits bruts de feuilles par méthodes Ultrason, nous avons remarqué que la teneur enregistrée dans les feuilles d'extrait Hamraya est la plus importante.

Ces résultats importants reflètent les rendements élevés et la richesse de chaque variétés des feuilles de *Phoenix dactylifera L* en polyphénols et les flavonoïdes.

## *les references bibliographiques*

[1]	Boldi A.M., 2004. Libraries from natural product-like scaffolds. <i>Current Opinion in ChemicalBiology</i> 8: 281 - 286.
[2]	Boizot, N ; Charpentier, J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82. (2006).
[3]	Hirasa, K; Takemasa, M; Spice science and technology. New York: Marcel Dekker. (1998).
[4]	Velioglu ,Y.S; Mazza, G; Gao ,L; Oomah, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in; selected fruits, vegetables, and grain products. <i>J Agric Food Chem</i> , 46: 4113–17. (1998).
[5]	Ziouti, A., El Modafar, C., Boustani, E. « Rôle des composés phénoliques du palmier dattier ( <i>Phoenix dactylifera</i> 1.) dans sa défense contre le bayoud ( <i>Fusariumoxysporumf.sp. albedinis</i> ) » 2nd International ElectronicConference on SyntheticOrganicChemistry (ECSOC-2), <a href="http://www.mdpi.org/ecsoc/1998">http://www.mdpi.org/ecsoc/1998</a>
[ 6 ]	Qaddoury, A., Amssa, M. « butyric acid on root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date Palm offshoots », <i>Botanical Bulletin of Academia Sinica</i> , Vol: 45, no 2, 2004, p. 127-131.
[ 7 ]	Atef, M. I., Mohammed, N.H., 2eme Ed. « livre de palmier des dattes: Culture, protection et production dans le monde arabe ». Construction des connaissances : JalelHazi et leur associés –Alexandrie- Egypte, 1998. P.: 55-79 (Ed. en arabe)
[8]	Guglielmo, A.,Pavone, P., Salmeri, C. « Les palmiers » webmaster , Département de Botanique.
[9]	Munier,P., sur l'origine de la connaissance de la pratique de la pollinisation artificielle du palmier dattier, <i>Fruits</i> , vol. 13, N° 11,1958 . In « Le palmier dattier » p.24-32
[10]	Rhouma, Abdelmajid, 1994 — Le palmier dattier en Tunisie, I. Le patrimoine génétique, Tunis, Arabesques, INRA Tunisie, GRIDAO France, PNUD/FAO, vol. 1, 254 p.
[11]	SALLON S., SOLOWEY E., COHEN Y., KORCHINSKY R., EGLI M., WOODHATCH I., SIMCHONI O. KISLEV M. 2008. Germination, Genetics, and Growth of an Ancient Date Seed. <i>Science</i> 320: 1464.
[12]	CHABAUD B: Le Phoenix canariensis. <i>Provence Agric. Hortic. Illustr.</i> 1882 P 293-297.
[13]	TOUTAIN G. Le Palmier dattier. Culture et production. Al Awamia Rabat 1967.25: 83-151.
[14]	FAYADH J.M., AL-SHOWIMAN S.S. Chemical composition of date palm ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.). <i>Jour. Chem. Soc. Pak.</i> 199012: 84-103.
[15]	ZANGO. Étude comparative de l'architecture et de la géométrie de l'inflorescence mâle et femelle du palmier dattier. <i>Biodiversité Végétale Tropicale (BVT)</i> . 2011 Pp. 1-47.
[16]	MOHAMED M.A., AHMED A.AL Libyan Date Syrup (Rub Al-Tamr). <i>Journal of Food</i> , . 2006. <i>Science</i> 46: 1162-1174.
[17]	Séminaire du réseau AUF-BIOVEG « Biotechnologies du palmier dattier », Montpellier (France), 18-20 novembre IRD Éditions, collection Colloques et séminaires, Paris, 2008.Pp. 95-103.

[18]	PERRIER DE LA BATHIE H. Biogéographie des palmiers de la région malgache. 1938. Bull. Soc. Bot. Fr. 85 : 384-393.
[19]	JARADATI A.A., ZAID A. Quality traits of date palm fruits in a center of origin and center of diversity. Science and Technology Food, 2004. Agriculture & Environment 2: 208-217.
[20]	SALEM A.O.M., RHOUMA S., ZEHDY S., MARRAKCHI M., TRIFI M. Morphological variability of Mauritanian date-palm ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.) cultivars as revealed by vegetative traits. Acta Bot. 2008, Croat. 67: 81-90.
[21]	DJERBI M. Pollinisation et soins apportés aux régimes. Précis de phoeniculture. Edition FAO. 1992. Pp 97-93.
[22]	Munier, P., le palmier dattier, 24eme Ed., dans la collection de « Technique et Production tropicale » 1973, Maisonneuve et Larose Paris.
[23]	Brac de la Perrière, R. A., Ben Khalifa, A., Hannachi, S., Khitri, D. « Inventaire variétal de la palmeraie algérienne », 1998, Sélection et Impression, Anep Rouiba (Algérie) .44-45
[24]	CNAC." Centre national des arts culinaires. Produits du terroir et recettes traditionnelles. (1999 ) " 207 – 222 .
[25]	Schultes.R.et R. Raffauf."The healing forest. Medicinal and toxic plants of Norhtwestern Amazonia. (1990) "DioscordePress (Portland .Oregon ) : 484 .
[26]	Carli. M. F. Coelho Costa. Silva. O. J .-L. Bélot et A. Bertaud"Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales " Cirad. (2008).
[27]	De Granville . j. j. " A new species of Bactris ( Palmae ) from french Guiana " Brittonia (2007) .59(4): 354 - 356.
[28]	Hartmann T., From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. 2007.Phytochemistry 68: 2831 - 2846.
[29]	Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M., Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. 2007.Phytochemistry 68:939 - 953.
[30]	Brzozowska J., Hanower P., Recherches sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. Annales de l'université d'Abijan, série C (Science), 1976.tome XII: 65 - 80.
[31]	Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes 2005.pp 121-216.
[32]	Cuendet. M, Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: "Fagraeablumei" (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: "Bartsiaalpina" (Scrophulariaceae), "Loiseleuriaprocumbens" (Ericaceae) et "Camp, Thèse de doctorat, 24 mars 1999.
[33]	RiberauGayon, P., "Les Composés Phénoliques des Végétaux" , Dunod, Paris, (1968), 254
[34]	Addy M. E. and Burka J.F., Effect of <i>Desmodium adscendens</i> fraction F1 [DAFL] on tone and agonist-induced contractions of guinea pig airway smooth muscle. 1989a.Phytotherapy Research 3: 85 - 90.

[35]	Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H., Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. 2008. <i>Jordan Journal of Agricultural Sciences</i> 4: 265 - 274
[36]	Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W., Two triterpene esters from Terminaliamacroptera bark. 1998. <i>Phytochemistry</i> 48: 647 - 650.
[37]	Dykes L., Rooney LW., Sorghum and millet phenols and antioxidants 2006. <i>Journal of cereal Sciences</i> 44: 236 - 241.
[38]	Zenk MH., Jueng M., Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. 2007. <i>Phytochemistry</i> 68: 2757- 2772.
[39]	Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. 2002. <i>Journal of chromatography A</i> 967: 85-113.
[40]	Manach C., Scalbert A., Morand C., Jiménez L., Polyphenols: food sources and bioavailability. 2004. <i>American Journal of Clinical Nutrition</i> 79:727 - 747.
[41]	Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes 2005. pp 121-216.
[42]	Nurmi T.; Voutilainen S.; Nyyssönen K.; Adlercreutz H.; Salonen J. T., Liquid chromatography method for plant and mammalian lignans in human urine. 2003. <i>Journal of chromatography</i> 798:101 - 110.
[43]	Stalikas C. D., Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. 2007. <i>Journal of Separation Science</i> 30:3268-3295.
[44]	RAFFAUF R. F; <i>Plant Alkaloids: A Guide to their Discovery and Distribution</i> ; Ed: FOOD PRODUCTS PRESS; 1996 .p: 189- 190.
[45]	<b>Bruneton, J.</b> <i>Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales</i> , 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, <i>Tec et Doc Lavoisier</i> , (1999). p 1120.
[46]	<b>Trease, E; et Evans, W.C</b> . <i>Pharmacognosie</i> , Billiaire Tindall. London 13 th Edition. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO P 61-62., 2004.
[47]	<b>Paris, R ; et Moyse, H.</b> <i>Précis de matière médicinale</i> . Paris : Masson. (1969).
[48]	Petko Ivanov PENCHEV, 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, thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 2010
[49]	Giusti, M. M. et R. E. Wrolstad (2001). "Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy." <i>Current protocols in food analytical chemistry</i> <b>New York: John Wiley &amp; Sons</b> : Unit. F1.2.1-13.

[50]	Matkowski, A; Piotrowska, M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae, <i>Fitoterapia</i> , 77: 346-353.
[51]	MIDOUN Tahar ; extraction des composés phénoliques et étude de leurs activités antioxydantes par la voltamétrie cyclique ; thèse master université Kasdimerbahouargla, 2010-2011 .
[52]	Ivana Karabegović, Milena Nikolova, and Miodrag Lazić, comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the artemisia sp. recovered by different extraction techniques, biotechnology and bioengineering Chinese Journal of Chemical Engineering, 19(3) 504-511 (2011) .
[53]	Zhishen, J; Mengcheng, T; Jianming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, <i>Food Chemistry</i> , (1999), 64 (4): 555- 559.
[54]	Abdurrahman Aktumsek et al, Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic <i>Centaurea L.</i> species, <i>Food and Chemical Toxicology</i> 55 (2013) 290-296
[55]	Mbaebie BO et Edeoga HO1, Afolayan AJ2 ; Phytochemical analysis and antioxidant activities of aqueous stem bark extract of <i>Schotia latifolia</i> Jacq ; <i>Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine</i> (2012) 118-124
[56]	Yildirim, A; Mavi, A; Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of <i>Rumex crispus L.</i> extracts, <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i> , 49: 4083-4089.
[57]	M. Horbowicz, R. Kosson, A. Grzesiuk, H. Debski (2008), Anthocyanins of Fruits and Vegetables- their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition, 68: 5-22.
[58]	Giusti, M. M. et R. E. Wrolstad (2001). "Anthocyanins: characterization and measurement with UV visible spectroscopy." <i>Current protocols in food analytical chemistry</i> New York: John Wiley & Sons: Unit. F1.2.1-13.-
[59]	Schlesier, K; Harwat, M; B. hm, V; Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, <i>Free Radic Res</i> ; 36(2): 177–87.

# Annexe 1 : Réactifs de caractérisation

## ❖ *Amidon*

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

- ✓ Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de potassium;
- ✓ Chauffer pendant 5 minutes ;
- ✓ Diluer jusqu'à 500 ml.

La détection d'amidon s'effectue comme suit :

- ✓ Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ;
- ✓ Ajouter le réactif d'amidon.

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