

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
Département Des Sciences de la matière



Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique appliquée

Par :
BENHAMZA Faiza

THEME

Etude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits phénoliques d'une plante médicinale locale

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

<i>Mr.Saidat Boubakeur</i>	<i>M.C.A</i>	<i>President</i>
<i>M^{me}.Bouzaiene Amel</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mr.koribaa Bakhti</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examineur</i>
<i>M^{me}.Noureddine Asmaa</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Rapportrice</i>
<i>Mr.Bakchiche Boulanouar</i>	<i>M.C.B</i>	<i>Co-Rapporteur</i>

Année Universitaire 2015/2016

Remerciement

On rend d'abord grâce à Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la santé, le courage, la force et la patience de réaliser ce modeste travail.

Nos chaleureux remerciements et notre profonde gratitude s'adresseront à **M^{me}. Noureddine Asmaa**. Pour avoir accentué de diriger ce travail d'avoir judicieusement proposé le thème de cette étude. Malgré ses nombreuses responsabilités elle n'a cessé de nous apporter aide et soutien en faisant l'effort d'être toujours disponible afin de nous permettre à bien ce travail. Un grand merci à vous.

Ma profonde reconnaissance va à Monsieur **Bakchich Boulanour**, je tenais à vous pour votre soutien, et pour votre aide précieux.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury: Monsieur **Saidat Boubakeur** et Madame **Bouzaienne Amel**, tous de l'université de Laghouat. Recevez mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également Messieurs **Arar Rabia** et **Hamedi Ahmed**, Chef et l'adjoint de département de la science de matière. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de laboratoires de Chimie. Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance

Je remercie tous les membres des laboratoires de technologies et de génie de procédés pour leurs aides précieuses.

Nous tenons à souligner notre extrême gratitude à **Mme Aouir Fatima** ingénieure de laboratoire de biologie pour son excellente aide, ses précieux conseils, son indéfectible soutien tout au long des différentes phases d'élaboration de ce travail.

Nous exprimons aussi notre profonde reconnaissance à tous les enseignants qui ont participé à notre formation durant nos années d'étude et particulièrement ceux du département de science de la matière.

Nos remerciements vont également
A monsieur Chaïbi **Rachid** chef de département de la biologie.
A monsieur **Taouti Mohamed**, chef de département de génie de procédé.

Enfin, nous exprimons nos vifs remerciements à tous ceux qui ont porté un intérêt particulier à l'état d'avancement de notre travail en apportant leur contribution qu'elle soit matérielle ou morale.



Dédicace

Aux plus gentils parents du monde, à mes deux trésors qui m'ont soutenue et m'ont encouragée à réaliser ce à quoi j'aspire dans ma vie .Mon très cher père qui m'a toujours guidée, éclairée et encouragée à l'achèvement de ce travail et ma très chère maman qui veillait de longues nuits et se levait tôt chaque matin pour mon bien être .Je vous dédie ce travail qui est le fruit de votre souffrance et de votre amour ,je vous dis merci.

A mon cher grand frère Abde Elhakim pour sa compréhension, sa gentillesse merci beaucoup Abdou et sa petite famille: son épouse Fatima et mon adorée Alae Arrahmane et mon neveu Barae-Eddine.

A mon cher frère Ibrahim qui se fatigue beaucoup pour mon confort et pour son humour merci beaucoup Bahi et son épouse Aicha et sa petite fille Rama chahed Arrahmane

A ma chère sœur Hasna que je ne saurais jamais remercier assez pour sa patience et son aide précieuse, merci beaucoup Hassouna et sa famille : Samir, Yousef, Adelane et hadja zineb

A mon adorable petite fille Hadia à qui je souhaite beaucoup de réussite dans ses études.

A toute ma famille maternelle et paternelle sans exception.

A tous mes oncles et toutes mes tantes.

A mes cousins et cousines.

A toute la famille Aouir "Ibrahim et Abdallah "en particulier Yasmina, Rahma et Manel et Bachira pour leur accueil chaleureux et leur gentillesse.

A mes belles amies Mohamed amine, Affafe, Nesrine, Meriem, Safa et Hajjar

A tous mes amis et camarades de la promotion 2015/2016 Master de chimie organique.

Je dédie ce modeste travail.

FAIZA



Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I-Introduction générale.....	1
II-Matériels et méthodes.....	2
II-1-Matériels.....	2
II-1-1-Matériel végétal.....	2
II-1-2-Réactifs et produits chimiques.....	4
II-2-Méthodes.....	5
II-2-1-Préparation des extraits phénoliques.....	6
1-Extraction par solvant de polarité croissante.....	6
2- Extraction par macération.....	7
3-Extraction par sonication.....	8
II-2-2-Rendement d'extraction.....	9
II-2-3-Analyse qualitative.....	10
1-Test phytochimiques.....	10
II-2-4-Analyse quantitative.....	11
II-2-4-1-Dosage des phénols totaux.....	11
1-Principe.....	11
2-Mode opératoire.....	11
II-2-4-2-Dosage des flavonoïdes.....	12
1- Principe.....	12
2-Mode opératoire.....	12
II-2-5-Evaluation de l'activité antioxydante.....	13
II-2-5-1-Test de piégeage du radical libre DPPH.....	13
1-Principe.....	13

2-Mode opératoire.....	13
II-2-5-2-Test d'ABTS.....	14
1-Principe.....	14
2-Mode opératoire.....	15
II-2-5-3-Test de FRAP.....	16
1-Principe.....	16
2-Mode opératoire.....	16
II-2-5-4-Test de Phosphomolybdate.....	17
1-Principe.....	17
2-Mode opératoire.....	17
III-Résultats et discussions.....	18
III-1-Extraction des composés phénoliques.....	18
III-2-Analyse qualitative.....	19
III-3-Analyse quantitative.....	20
III-3-1-Résultats de dosage de composé phénoliques et flavonoïdes.....	20
1-Teneur en polyphénols totaux.....	20
2-Teneur en flavonoïdes totaux.....	22
III-4-Evaluation de l'activité antioxydante.....	24
III-4-1-Test de DPPH.....	24
III-4-2-Test d'ABTS.....	25
III-4-3-Test de RRAP.....	28
III-4-4-Test de Phosphomolybdate.....	30
IV-Conclusion.....	33
Référence bibliographique	
Résumé	



INTRODUCTION GÉNÉRALE





RÉSULTATS/DISCUSSION





MATÉRIELS ET MÉTHODES





CONCLUSION GÉNÉRALE





Liste des abréviations

Abs	:	Absorbance.
BHA	:	Hydroxyanisole butylé.
CCM	:	Chromatographie sur couches minces.
DPPH	:	α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyle
F-A	:	Fraction Acétate
F-C	:	Fraction Chloroforme
F-M	:	Fraction Méthanoïque
Fe²⁺	:	Ions ferreux
Fe³⁺	:	Ions ferriques
H	:	Atome d'hydrogène
H	:	Heure
I	:	Inhibition
IC50	:	Concentration inhibitrice a 50%
g/l	:	Gramme par Litre
L	:	Litre
L-SC	:	l'extrait des polyphénols obtenu par sonication.
mg/l	:	Milligramme par litre
Min	:	Minute
mg/ml	:	Milligramme par millilitre
mgEAG/g	:	Milligramme équivalent Acide Gallique par gramme de matière sèche
mg ER/g	:	Mg équivalent de Rutine par g de matière sèche
ml	:	.millilitre
mmol/l	:	.milimole par litre
NEG	:	Négative.
OH	:	Groupe hydroxyle
PPM	:	Phosphomolibedate
TEAC	:	Trolox Equivalent Antioxydant Capacity
TPTZ	:	Ferric2, 4,6-tripyridyl-s-triazine.
ul	:	Micro litre
ul mol/l	:	Micro mole par liter
UV-Vis	:	Ultra-violet-Visible
%	:	Pourcentage
Φ	:	Phase



Liste des figures

Figure	Titre	pages
1 :	La partie aérienne de Lavandula Stoechas-L.....	2
2 :	La poudre obtenue après le broyage de matériel végétal de Lavandula Stoechas –L	2
3 :	Carte géographique de la région de récolte.....	2
4 :	partie aérienne	3
5 :	Les fleurs	3
6 :	Les feuilles.....	3
7 :	Utilisations	4
8 :	Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail.....	5
9 :	Schéma de protocole d'extraction des composées polyphénolique de Lavandula Stoechas-L par solvant de polarité croissante.....	6
10 :	Protocole expérimentale d'extraction des composées phénolique par macération ...	7
11 :	Photo Bain ultrason.....	8
12 :	Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques par sonication	8
13 :	les complexes des flavonoïdes avec les métaux.....	12
14 :	Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant.....	13
15 :	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	15
16 :	Schéma sur la réaction de FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	16
17 :	Photos illustrant les extraits de plantes Lavandula Stoechas-L.....	18
18 :	Courbe d'étalonnage d'Acide Gallique	20
19 :	Courbe d'étalonnage de la Rutine.....	22
20 :	Teneur en polyphénols et flavonoïdes des extraits de Lavandula Stoechas-L.....	23
21 :	Classement décroissant du pouvoir anti radicalaire exprimé en IC50.....	25
22 :	Pourcentage d'inhibition obtenu en présence de la concentration.....	26
23 :	Histogramme présents les valeurs de TEAC des différents extraits comparés aux standard(ABTS).....	27

24:	Courbe d'étalonnage de Trolox.....	28
	Histogramme présente les valeurs TEAC des différents extraits comparés aux	30
25:	standards (FRAP).....	
26:	Courbe d'étalonnage de Trolox.....	30
	Histogramme présente la valeur TEAC des différents extraits compare aux standards	32
27:	(PPM).....	

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Pages
1 :	La plante investigué et leur utilisation en médecine traditionnelle.....	3
2 :	Liste des marques des produits utilisés dans ce travail.....	4
3 :	Aspect, couleur et rendement d'extraction des composés phénoliques	18
4 :	Résultats des tests phytochimique.....	19
5 :	Teneurs en phénols totaux dans les différentes fractions.....	21
6 :	Teneurs des flavonoïdes totaux dans les différentes fractions.....	22
7 :	Les valeurs d'IC50% des extraits phénoliques et des standards.....	24
8 :	Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards (ABTS).	26
9 :	Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards (FRAP).	29
10 :	Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards (PPM)	31

I- Introduction générale

Au cours des dernières années, des études sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont augmenté de façon remarquable due à un intérêt accru pour leur potentiel d'être utilisé en tant que source d'antioxydants riche et naturel [1]

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Avec leur diversité structurale remarquable [2].

Dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agro- alimentaires, les solvants d'extraction jouent un rôle capital en assurant le transfert de phase du produit à extraire. Au départ, la matière première (solide végétal ou liquide de fermentation), qui est un mélange hétérogène, est soumise au contact d'un solvant (liquide le plus souvent) afin d'obtenir un extrait primaire complexe. Celui-ci peut être utilisable directement .C'est le cas des extraits fluides et des teintures pharmaceutiques. Il peut être également soumis à des échanges liquide– liquide ou solide-liquide pour aboutir à un produit pur ou à un ensemble de composés de même famille chimique

L'extraction solide –liquide met en jeu des mécanismes plus complexes et moins bien connus. En effet, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et le soluté doit ressortir du solide. L'étape de dissolution interne dépend de nombreux facteurs. En effet, les composés phénoliques à extraire sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganique...) c'est pourquoi un solvant ne sera pas nécessairement choisi en fonction de la plus grande solubilité du composé à extraire. Le choix du solvant sera en général imposé par la technique (l'efficacité et/ou la sélectivité de l'extraction) [3].

Le genre *Lavandula* de la famille des lamiacées inclut des espèces végétales médicinales bien connues possédants diverses propriétés biologiques. Les propriétés thérapeutiques de l'espèce *Lavandula Stoechas* – L elles sont dues à des composés actifs tels que les huiles essentielles et les polyphénols [4].

Dans l'objectif de contribuer à la valorisation des plantes poussant dans notre payée, et d'étudier l'influence des différentes méthodes d'extraction sur les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de *Lavandula Stoechas -L*. Notre choix s'est porté sur cette espèce à cause de ses nombreux usages en médecine traditionnelle.

Le travail sera réparti en trois parties:

La première partie de ce travail sera consacrée à la préparation des extraits en utilisant certaines techniques d'extraction du polyphénol dans le but de chercher la meilleure technique qui donne un bon rendement d'une part et qui valorise la plante étudiée au point de vue d'activité de l'autre part.

La deuxième partie se portera sur l'analyse qualitative et quantitative des extraits obtenus. On s'intéresse à l'étude phytochimique pour explorer les différentes classes des métabolites secondaires constituants dans les extraits de plante *Lavandula Stoechas-L* puis le dosage des différents métabolites extraits (composés phénoliques et flavonoïdes)

La troisième partie étudie l'activité antioxydante des extraits par des différentes méthodes.

II-Matériels et méthodes

II-1- Matériels

II-1-1- Matière végétal :

Lavandula Stoechas-L a été récoltée durant la période du mois de Mars 2015 de la région de Tiaret. La partie aérienne de cette plante est séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant trois mois. Après le séchage, cette plante est broyée en poudre fine puis stockées dans des sacs en papier jusqu'à leur utilisation.



Figure 1: La partie aérienne de Lavandula Stoechas-L



Figure 2: La poudre obtenue après le broyage de matériel végétal de Lavandula Stoechas-L

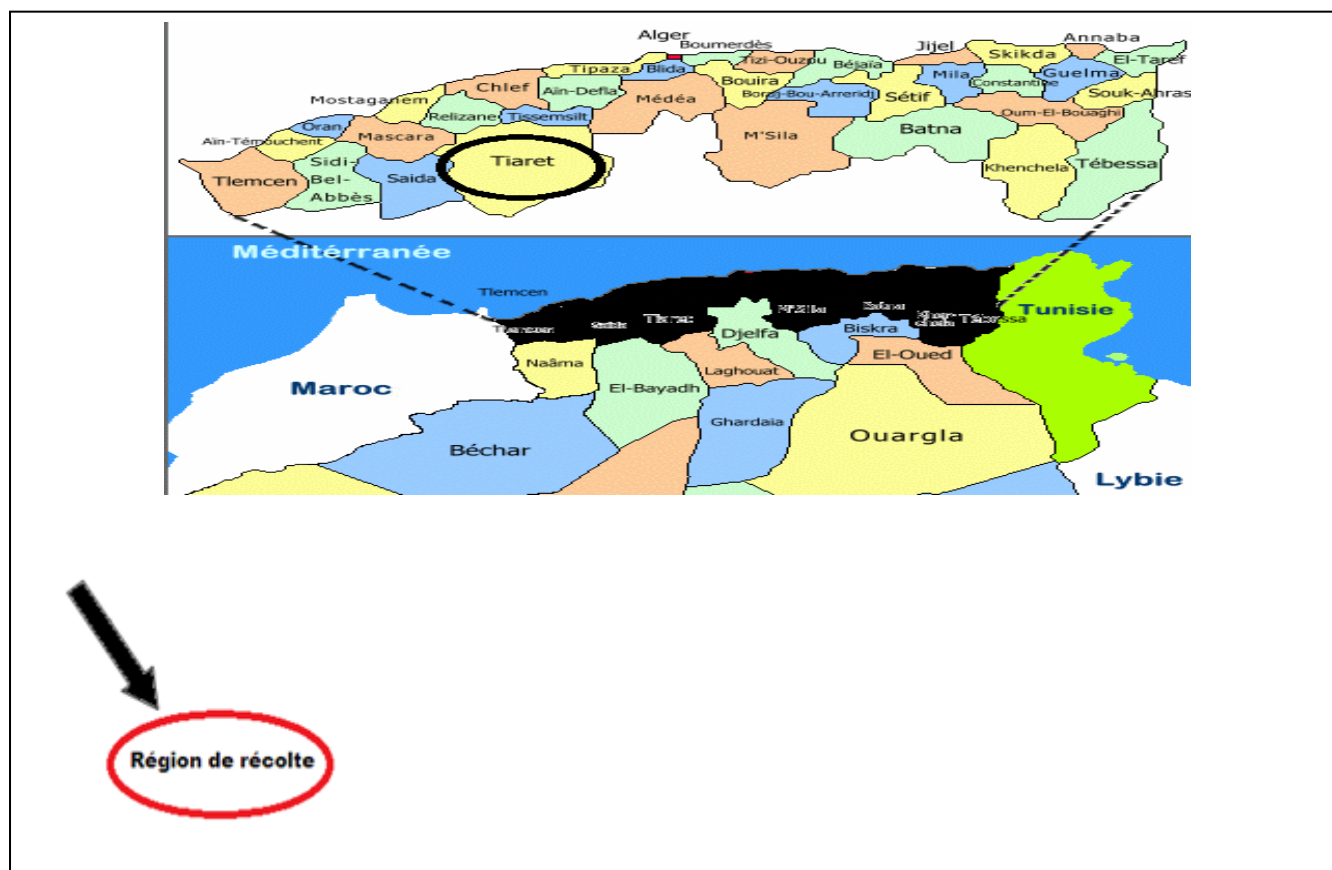


Figure 3 : Carte géographique de la région de récolte

Tableau 1: La plante investigué et leur utilisation en médecine traditionnelle.

Plante	Photo
<p><u>1. Dénomination :</u></p> <p><u>Nom arabe:</u> Halhal الحلال [5].</p> <p><u>Nom botanique:</u> Lavandula Stoechas-L [6].</p> <p><u>Nom en Anglais :</u> Lavande espagnole(en Amérique), lavande française (en Europe), lavande italienne [5].</p> <p><u>Nom en français :</u> Lavande stoechade, Lavande papillon, Lavande stéchas, Lavande à toupet [5].</p> <p><u>2. Classification botanique :</u></p> <p><u>Règne :</u> Plantae.</p> <p><u>Division:</u> Magnoliophyta.</p> <p><u>Classe:</u> Magnoliopsida.</p> <p><u>Famille:</u> Lamiacées, Labiacées, Labiées.</p> <p><u>Sous-famille :</u> Nepetoideae</p> <p><u>Genre :</u> Lavandula</p> <p><u>Ordre:</u> Lamiales.</p> <p><u>Espèce :</u> environ 25 espèces</p> <p>Dans ce genre, dont Lavandula angustifolia et Lavandula viridis.</p> <p><u>Sous espèce :</u> Lavandula stoechas ssp pedunculata, ssp stoechas, ssp luisieri. Plusieurs cultivars de différents coloris [7], [8].</p> <p><u>3. Description :</u></p> <p>Lavandula est une plante originaire du bassin méditerranéen puis la culture s’est répandue en Europe de l’Est (Bulgarie, Russie, Ukraine…) et même en Tasmanie ou encore au Canada où des plants mutés peuvent maintenant résister au gel. [9] Prend un port assez étalé et dépasse rarement les 60 cm de haut au moment de la floraison.est un arbrisseau compact aux tiges quadrangulaires, de couleur grise.</p> <p>Au printemps chaque extrémité de tige produit un épi dense, courtement pédonculé, épais et de forme carrée, portant des petites feuilles étroites, tomenteuses et de couleur pourpres. L’épi est couronné de plusieurs grandes bractées pétaoloïdes violettes qui attirent les insectes pollinisateurs, notamment les Abeilles. C’est une plante mellifère.</p> <p><u>4. Période de floraison:</u> Avril à juin selon la région [7]</p>	<div data-bbox="1066 427 1390 663" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="1066 696 1410 734">Figure 4: partie aérienne</p> <hr data-bbox="1046 846 1423 855"/> <div data-bbox="1070 956 1394 1202" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="1082 1236 1350 1274">Figure5: Les fleurs</p> <hr data-bbox="1037 1357 1436 1366"/> <div data-bbox="1059 1505 1426 1762" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="1086 1805 1378 1843">Figure 6: Les feuilles</p>

5. Utilisation traditionnelle :

Utilisé la lavande pour parfumer le linge fraîchement lavé. Des sachets de fleurs séchées sont traditionnellement placés dans les armoires, pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe.

Les fleurs de lavande, séchées, sont très résistantes et conservent leurs arômes très longtemps.

Un autre usage très ancien est celui de mettre de la lavande dans l'eau du bain pour son perfume et ses propriétés antiseptiques et calmantes. C'est bien sûr la parfumerie qui fait le plus gros usage de la lavande. On peut tout parfumer avec elle, depuis les savonnettes jusqu'aux détergents et au papier hygiénique.

Dans les parfumes proprement dits, la lavande est surtout réservée aux hommes, soit en soliflore dans les eaux de toilette, soit en note de cœur dans les eaux de Cologne [9].

6. Propriétés médicinale :

L'huile essentielle de Lavande est antiseptique et bactéricide. Appliquée pure sur la peau elle soulagerait les brûlures et les piqûres d'insectes. Appliquée sur les tempes, elle soulagerait les douleurs migraineuses. On attribue à la variété *latifolia* un effet apaisant lors de crises de dermatite atopique (eczéma).

En phytothérapie, on la recommande pour combattre l'anxiété, la nervosité et les insomnies, ainsi que pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires. Elle peut être prise en infusion, en poudre (gélules), sous forme d'huile essentielle ou d'alcoolat, pour les frictions [9].



Figure 7: Utilisations

II-1-2- Réactifs et produits chimiques

Les réactifs et les produits chimiques utilisés dans ce travail ont une haute qualité (Annexe1), la liste des marques des produits est comme suit :

Tableau 2 : Liste des marques des produits utilisés dans ce travail.

Sigma – Aldrich	-Alpha Chemika - Prolab	-Purified -Fluka	GPR Rectapur
Biochem	Analar normapur	Cheminova	Riedel-de Haen

II-2- Méthodes:

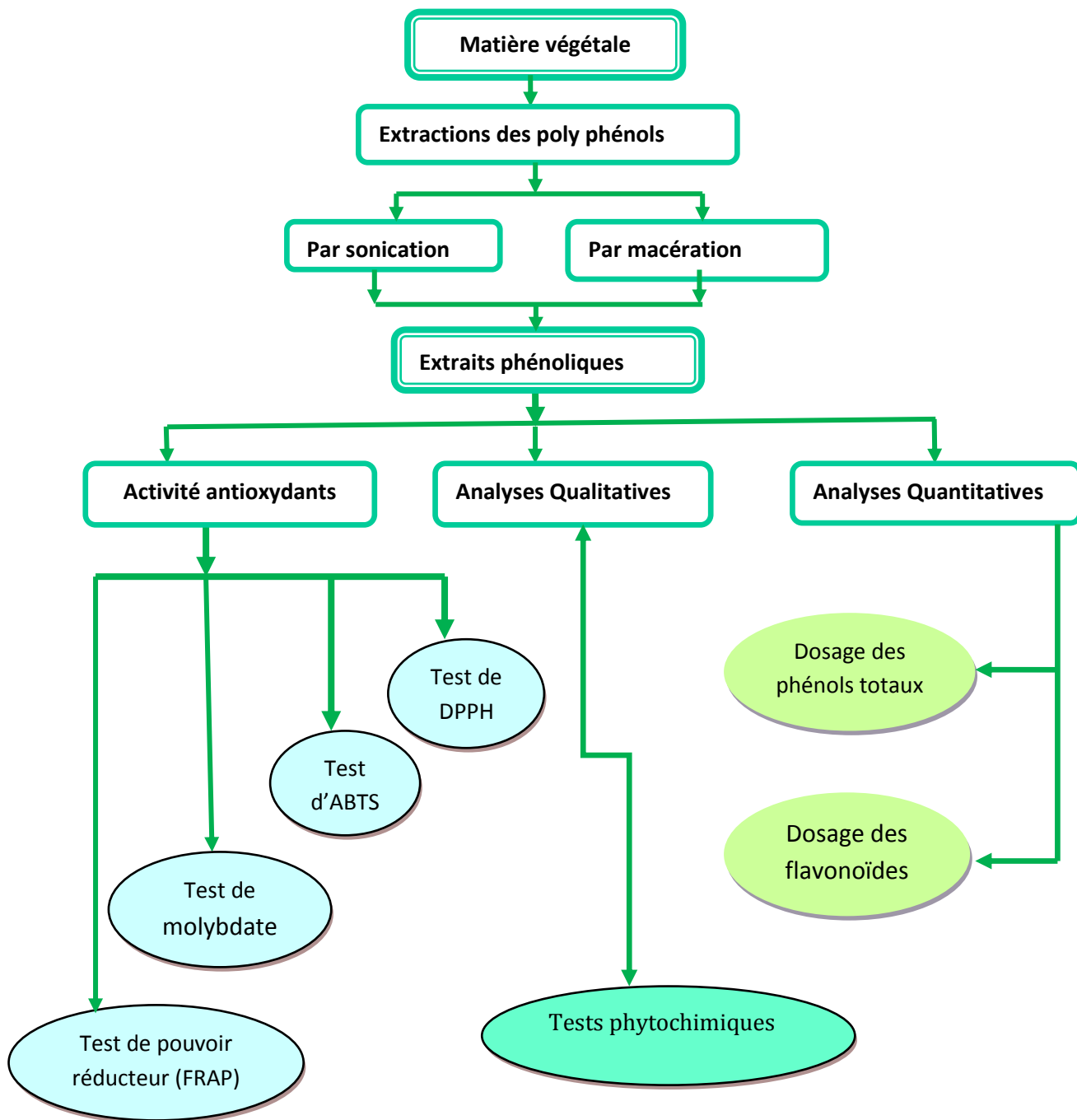


Figure 8 : Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail.

II-2-1-Préparation des extraits phénoliques

1- Extraction par des solvants de polarité croissante

La première méthode d'extraction que nous avons employée est la macération successive par des solvants de polarité croissante, nous avons opté pour le protocole décrit par Diallo. A et al, 2009. La poudre des feuilles de la plante est subie une macération avec des solvants de polarité croissante: le Chloroforme (4.1D), acétate d'éthyle (4.4 D) et le méthanol (5.1D). Les extraits obtenus sont évaporés sous vide, puis pesés et solubilisé dans le méthanol [10]. On obtient alors trois extraits qui sont présentés aux figure7 ci-après:

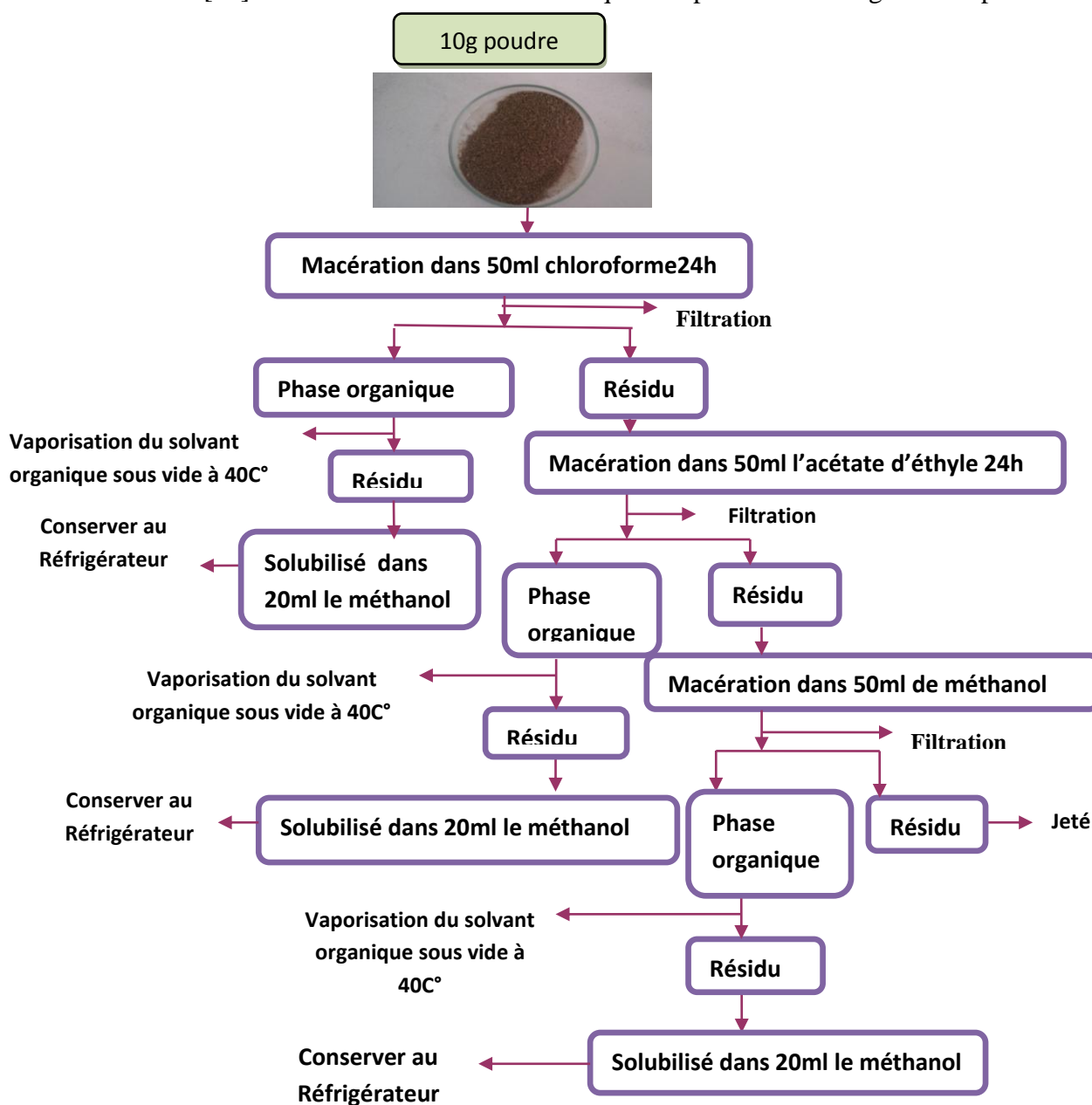


Figure 9: Schéma de protocole d'extraction des polyphénole de Lavandula. Stoechas –L par des solvants de Polarité croissante

2- Extraction par macération

Une quantité de 1g de poudre fine de la matière végétal secs ont été macérer dans un mélange hydro-alcoolique (Méthanol/eau 80/20: v/v), (Ethanol /eau 80 /20 : v/v) pendant 24h, dans l'obscurité à température ambiante sous agitation, le macérât a été filtré à travers un papier filter pour obtenir un extrait clair, et on a évaporé le solvant sous vide à une température de 40°C. Après traitement à l'hexane afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.), la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle, La phase organique obtenue est évaporé sous vide à 40°C. Le résidu est repris dans 10 ml d'éthanol ou du méthanol et conserver au réfrigérateur jusqu'à le temps d'analyse. La phase aqueuse sera aussi conservée pour l'analyse. La série d'extraction permet d'obtenir quatres extraits: l'extrait méthanoïque, l'extrait Ethanoïque plus les deux fractions aqueuses de chaque solvant. L'organigramme suivant explique les différentes étapes d'extraction de composé phénolique.

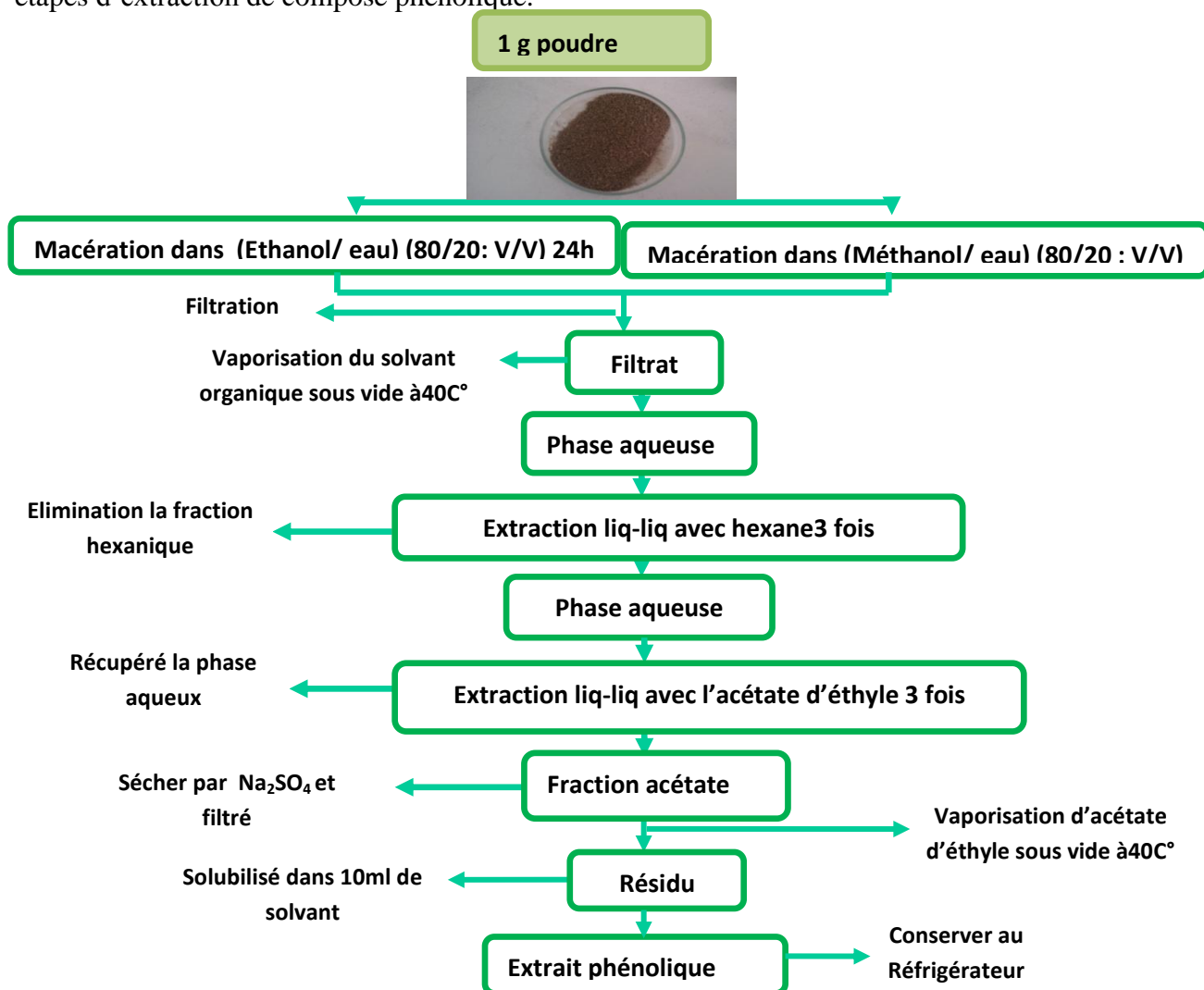


Figure 10 : Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques par macération.

3- Extraction par Sonication

La matière végétale sèche broyée a été soumise à une extraction par ultrasons en utilisant le méthanol. A 0.5 g de la plante séchée et broyée, 10 ml d'extractant (méthanol/eau) (80 :20, v/v) +1% HCl ont été rajoutés dans un tube, l'ensemble a été soumis à la sonication (Figure 9, 10) [11].



Figure 11 : Photo Bain ultrason.

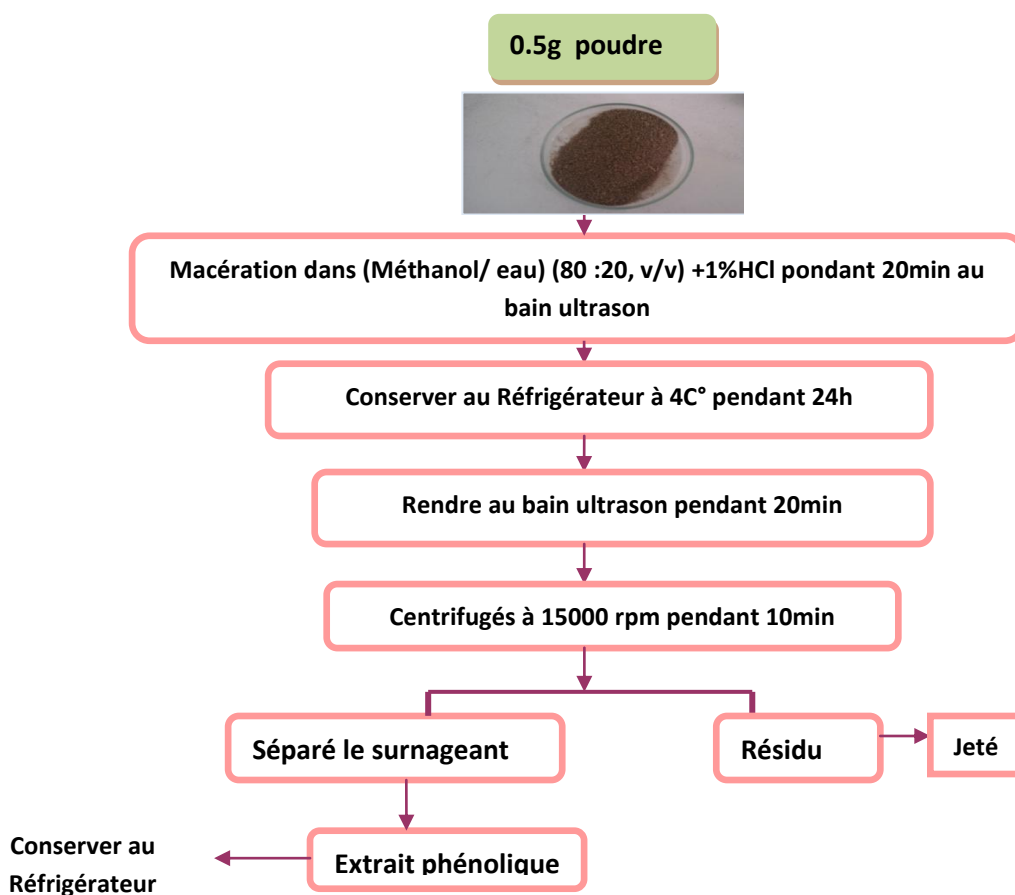


Figure 12 : Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques par sonication

II-2-2 -Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule
Donnée par [12].

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

Où :

R : Le rendement en %

M_{ext} : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en milligramme.

$M_{\text{éch}}$: La masse sèche de l'échantillon végétal en milligramme.

II-2-3-Analyse qualitative

1-Tests phytochimiques

Dans le but de rechercher les différentes classe des métabolites secondaires constituants dans les extraits de plante de Lavandula Stoechas-L qui nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques nous avons réalisé les tests phytochimiques sur les extraits obtenus par l'extraction avec des solvants de polarités différents. Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité et de turbidité ou la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

❖ Les flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 1 ml de l'extrait diluée (1g/L) avec 1 ml d' AlCl_3 (2%). Après 15 min d'incubation à la température ambiante les flavonoïdes sont mis en évidence si une couleur jaune s'apparait [13, 14].

❖ Tanins

2ml d'extrait plus 2 à 3goutte de FeCl_3 (1%) sont ajouté puis incubés pendant 15min à 50°C , leur présence est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir [15].

❖ **Quinones libres**

5ml d'extrait plus quelques gouttes de NaOH (1%) développent une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet, révèle la présence des quinones libres [16].

❖ **Coumarines**

5ml de l'extrait est évaporé à sec. le résidu est dissout dans l'eau chaude (2ml), ensuite le mélange est partagé dans deux parties égales. La première représente un témoin ; la deuxième est traitée avec 0.5ml NH₄OH à 10%. Une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre et l'observation sous UV (366nm) d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines [17].

❖ **Anthraquinones**

Ajoutez 0.5 ml de NH₄OH (10%) à 0.1ml d'extrait après agitation, leur présence est indiquée par une coloration violette [18].

❖ **Alcaloïdes**

0.5ml d'acide chlorhydrique à 1% plus 0.1ml de chaque extrait, le mélange est chauffé au bain marie puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer, l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes [19]

- ✓ **Réactif de Mayer** : 5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée [20].
- ✓ **Réactif de Wagner** : 2 g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée [20].

❖ **Stérols et triterpènes**

Test de Libermann-Burchard : A 5ml d'extrait on ajoute 2 gouttes d'anhydride acétique et 1 goutte d'acide sulfurique. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique un test positif [21].

❖ **Terpénoïdes**

Test de Slakowski : A 5ml d'extrait est ajouté à 2ml de Chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes [22].

❖ **Saponosides : test de mousse**

Dans un tube à essai, 0.1ml de chaque extrait est agité énergétiquement pendant 15 secondes avec 0.9ml de l'eau chaude puis laissé au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante supérieur à 1cm indique la présence des saponosides. [15].

❖ **Composés réducteurs**

On ajoute 1ml de l'extrait à 2ml de solution Fehling, puis les tubes sont incubés sont incubés au bain marie pendant 20minut. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique [23].

II-2-4-Analyse quantitative

Les mesures spectrophotométrique sont effectuées par le spectrophotomètre (UV-Visible JENWAY Modèle 6300).

I- Dosage des phénols totaux

1-Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross en 1965 avec le réactif de Folin Ciocalteu [24]. Le réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et le molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale à 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits [25].

2-Mode opératoire

200 µl de chaque extrait ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans un tubes à essai l'extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0.8 ml de carbonates de sodium Na_2CO_3 (7.5%). L'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. L'acide gallique est utilisé comme standard à différences concentrations (0.1-0.01mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Pour tracer la courbe d'étalonnage, La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été exprimée en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme de matière végétal sèche [26].

II-Dosage des flavonoïdes

1-Principe

La concentration des flavonoïdes totaux a été mesurée par la méthode colorimétrique de chlorite d'aluminium adaptée par Zhishen et al(1999) [27], Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium) (Figure12). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons [28].

2-Mode opératoire

À 1 ml d'échantillon dilué est ajouté 1 ml de la solution de AlCl_3 (2%). Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l' AlCl_3 . La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la Rutine (0.1-0.01 mg/ml dans éthanol) qui réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Rutine par gramme de matière végétal sèche. Toutes les mesures sont répétées 3 fois [29].

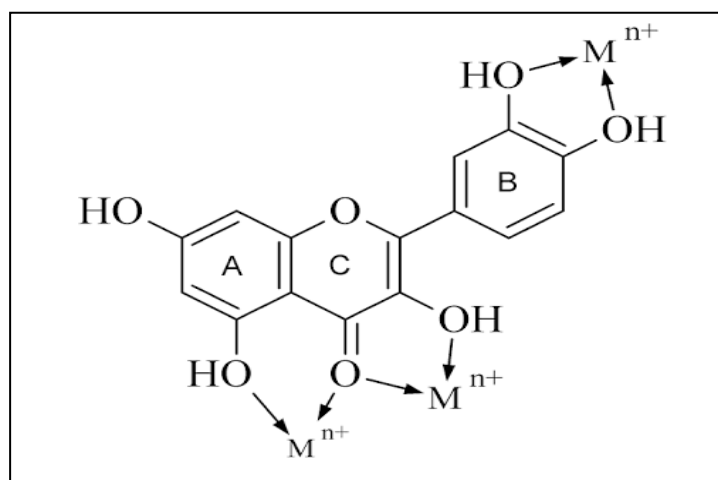


Figure 13: Les complexes des flavonoïdes avec les métaux [30].

II-2-5-Evaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou d'un mélange (l'extrait phénolique) sont nombreuses. Parmi les quelles on a adoptée les méthodes : la méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), l'ABTS (2,2'-azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acide), phosphomolybdate et la méthode de pouvoir réducteur FRAP (Ferric reducing antioxidant power) pour évaluer l'efficacité du plante étudié.

II-2-5-1-Test de piégeage du radical libre DPPH

1-Principe

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques (Φ -OH) , En présence d'un radical libre, 2,2- diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH \cdot) qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote ; l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPHH Figure13, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène [31].

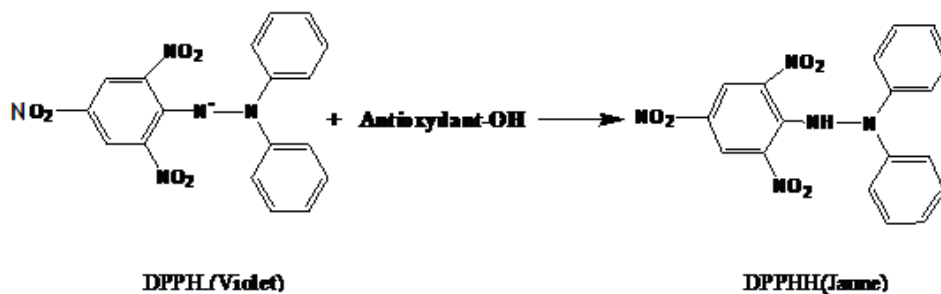


Figure 14 : Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant.

2- Mode opératoire

Pour réaliser ce test, une solution méthanoïques de DPPH (60 μ mol /l) a été préparé et conserver pendant 2 heures avant l'utilisation.

50 μ l de différentes concentrations de chaque extrait dilué ont été mélangé avec 1950 μ l de DPPH, puis incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière et à la température ambiante. La réduction du radical DPPH a été mesurée en surveillant en continu la diminution de l'absorption à 517 nm contre un blanc contenant la solution de DPPH et du solvant. L'acide ascorbique et le BHA sont utilisés comme antioxydants standards avec les mêmes conditions expérimentales. Pour chaque extrait, le test est répété 3fois

La capacité à piéger le radical libre DPPH a été calculé comme pourcentage d'inhibition (I %) on utilisant l'équation suivante :

$$I\% = \left[\frac{A_{DPPH} - A_S}{A_{DPPH}} \right] * 100$$

Où :

A_{DPPH} : est l'absorbance de la solution DPPH

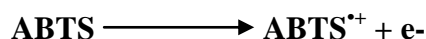
A_S : est l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée [32]

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de IC50 en mg/ml, sachant que l'IC50 est la concentration efficace d'extrait antioxydant nécessaire pour l'obtention le piégeage et la réduction de 50% de moles du radical DPPH en dissolution dans méthanol, Les valeurs de l'IC50% ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire [33].

II-2-5-2-Test d'ABTS

1 –Principe

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical – cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3-éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS[•]) :



Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption [35] Le radical cationique ABTS^{•+} fais une réaction chimique avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) [34].

2-Mode opératoire

Pour préparer la solution de ABTS on prépare une solution aqueuse de persulfate de potassium K₂S₂O₈ (2,45 Mm) à partir de cette solution on prépare la solution ABTS (7Mm) qui présente une coloration bleu-vert correspondant à la formation du radical cationique ABTS^{•+}. Après 16 h d'incubation à l'obscurité. La solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700. Lorsqu'il est réduit il vire du vert foncé au vert clair. Le pouvoir antioxydant d'un échantillon sera proportionnel à la variation de la couleur du radical [35].

Un volume de 1980 µl d'ABTS est mélangé avec 20 µl de différente concentration de chaque extrait puis laisser à l'incubation pendant 6-10 min à l'abri de la lumière et à la température ambiante. On mesurée directement la diminution de l'absorbance par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 734 nm contre un blanc contenant le éthanol et persulfate [36,37].

L'acide ascorbique (0.05-0.5mg/ml), le BHA (0.001-1mg/ml) sont utilisés comme antioxydant standard avec les mêmes conditions expérimentales. Les résultats obtenus sont exprimées en milligramme équivalent Trolox par gramme de matière sèche.

A partir de la valeur de l'absorbance du milieu mesurée en présence des antioxydants, et de la pente de la courbe d'étalonnage de la Trolox, nous avons déterminé TEAC " Trolox équivalente antioxydante capacité ". Pour chaque concentration le test est répété 3fois.

2-Mode opératoire

Une solution fraîche du réactif FRAP est préparée en mélangeant 10 ml de la solution du TPTZ (10 mM) dans une solution 4 mM de HCl avec 10 ml du FeCl₃ (20 mM) et 100ml de la solution tampon d'acétate de Sodium/ acide chloridrique à un PH égal à 3,6. Brièvement 20µl de différentes concentration de chaque extrait dilué ont été mélangé avec 1980 µl de FRAP, puis incubé pendant 6-10 min à l'abri de la lumière et à la température ambiante. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 593 nm contre un blanc également préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS). La Vitamine C (0.05-0.5mg/ml) est utilisé comme antioxydant standard avec les mêmes conditions expérimentales. Toutes les mesures sont répétées 3 fois [41]

II-2-5-4-Test du Phosphomolybdate

1-Principe

Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (antioxydant) vers le complexe oxydant phosphomolybdate (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du Ph du milieu et de la structure du composé antioxydante. En effet, le test du (PPM) est basé sur la réduction du molybdène de l'état d'oxydation(VI) à l'étage d'oxydation (V) en présence de l'antioxydante. Cette réduction, se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Mo(V)) à un Ph acide. La diminution de la coloration du complexe molybdène (VI) est mesurée par spectrométrie UV Visible à une longueur d'onde de 695 nm [42] .Ce test a pour but d'évaluer le statut antioxydant, par la mesure du pouvoir réducteur des extraits dans une réaction colorimétriques d'oxydoréduction.

2-Mode opératoire

On introduire dans un tube 300µl de chaque extrait dilué puis on ajoute 3ml du réactif phosphomolybdique compose de (28 Mm de phosphate de sodium, 4 Mm de molybdate d'ammonium et 0,6 M d'acide sulfurique). Les tubes ont été ensuite bien fermés puis incubés dans un bain marie à une température de 90 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc semblablement préparé (300µl solvant+ 3ml du réactif), qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre) [43]. le BHA (0.001- 1mg/ml) et la Vitamine C(0.05-0.5mg/ml) sont utilisés comme antioxydant standard avec les mêmes conditions expérimentale. Les résultats obtenus sont exprimées en milligramme équivalent Trolox par gramme de matière sèche.

III- Résultats et discussions

III-1-Extraction des composés phénoliques

Les teneurs des extraits phénoliques obtenus par les différentes méthodes d'extraction, leurs couleurs et leurs aspects sont consignés dans le (Tableau 3)

Tableau 3: Aspect, couleur et rendement d'extraction des composés phénoliques

	Extraction par macération		Extraction par solvant des polarités différentes		
	EtOH/Eau 80/20 : v/v	MeOH/Eau 80/20 : v/v	L'extrait1	L'extrait2	L'extrait3
Aspect	Visqueux	Visqueux	Visqueux	Visqueux	Visqueux
Rendement	16.5%	5%	5.70%	7.10%	8.40%
Couleur	Marron claire	Marron claire	Vert d'olive	Vert d'olive	Vert d'olive

Selon les résultats obtenus, On constate que tous les extraits montrent des aspects visqueux et des couleurs différentes. On constate aussi que le rendement le plus important est observé chez l'extrait hydroéthanoïque (16.5%), suivi par l'extrait3 et L'extrait2 qui présentent des rendements moyennes varié entre 7.10% et 8.40%. Cependant les teneurs les plus faibles ont été obtenues avec les autres fractions d'hydrométhanoïque (MeOH-Eau) et de L'extrait 1 ne dépassant pas 5%.

Généralement cette différence dans les rendements et dans les couleurs entre les extraits de la même plante est due probablement aux techniques d'extraction utilisées, à la nature du solvant, leur fractionnement, et sa polarité. Cela veut dire qu'il y a une différence de diffusion du solvant dans la poudre de la plantes dans l'étape de macération.

- ✓ La Figure suivante présente les 8 extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction.



	Les extraits de différentes méthodes d'extractions	Codage
1	Fraction de sonication	Ex-1
2	Fraction chloroforme	Ex-2
3	Fraction acétate	Ex-3
4	Fraction méthanol	Ex-4
5	Phase organique EtOH-Eau	Ex-5
6	Phase organique MeOH-Eau	Ex-6
7	Phase aqueuse EtOH-Eau	Ex-7
8	Phase aqueuse MeOH-Eau	Ex-8

Figure 17 : Photos illustrant les extraits de plantes *Lavandula Stoechas-L.*

III-2- Analyse qualitative :

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans la partie aérienne de *Lavandula Stoechas-L.* Les résultats de la composition de différents fraction (méthanoïque, acétate et chloroforme) sont repris dans le tableau 4. Une réaction franchement positive est représentée par (+++). Une réaction moyennement positive est représentée par (++), une réaction faiblement positive est représentée par (+) et l'absence de la substance est représenté par (-).

Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques

Familles chimiques		Extraits		
		EX- 1	EX-2	EX-3
Alcaloïdes		Mayer		
		++	+	+
		Wagner		
		+	-	+
Substances polyphénoliques	Flavonoïdes	-	+	+
	Tanins	++	+	+++
	Quinones libres	-	-	-
	Anthraquinones	-	-	+
	Coumarines	-	-	+++
Stérols et Triterpènes		Test de Libermann-Burchard		
		-	-	-
Terpénoïdes		Test de Slakowski		
		+	+	+
Saponosides		Test de Mouse		
		+	++	+++
Composés réducteurs		++	++	+

D'après les résultats obtenus, nous remarquons la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponosides et des composés réducteurs en quantités importantes dans les trois extraits. D'ailleurs, pour les alcaloïdes la réaction de Mayer est positive dans toutes les fractions mais la réaction de Wagner est négative pour L'extrait.

La présence des terpénoïdes, confirmé par le test de Slakowski, est apparié dans toutes les extraits de la plantes étudiées par contre le test de Libermann-burchard affirmé l'absence des Stérols et triterpènes dans tous les extraits.

L'apparition des flavonoïdes sont aussi constaté, mais dans EX- 2 et de EX-3 seulement. L'extrait1 donne un test négatif en ces composés.

Les tests sur les quinones libres, les coumarines et les anthraquinones révèlent l'absence dans EX- 2 et du l'extrait1 étudiées en ces composés, par contre EX-3 présente une quantité faiblement positive en anthraquinones et importante en coumarines.

Cette étude phytochimique qualitative montre que tous les groupes chimiques identifiés au niveau de l'extrait de plante étudiée, leur confèrent des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications

thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en tradithérapie. Cependant, l'absence de certains principes actifs dans les extraits des partie arienne de plante investiguée comme les quinones libres, les stérols et les terpènes ne justifie pas que ces plantes sont pauvres en ces composés mais, la méthode d'extraction et les solvants utilisées dans notre travail ne sont pas satisfaisantes pour l'extraction des métabolites désirés.

III- 3-Analyse quantitative

III-3-1-Résultats de dosages de compose phénolique et flavonoïde

1-Teneur en polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux est déterminée par la méthode de *Folin-Ciocalteu* est rapportée en milligramme équivalent acide gallique par un gramme de la matière sèche à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique (figure 18).

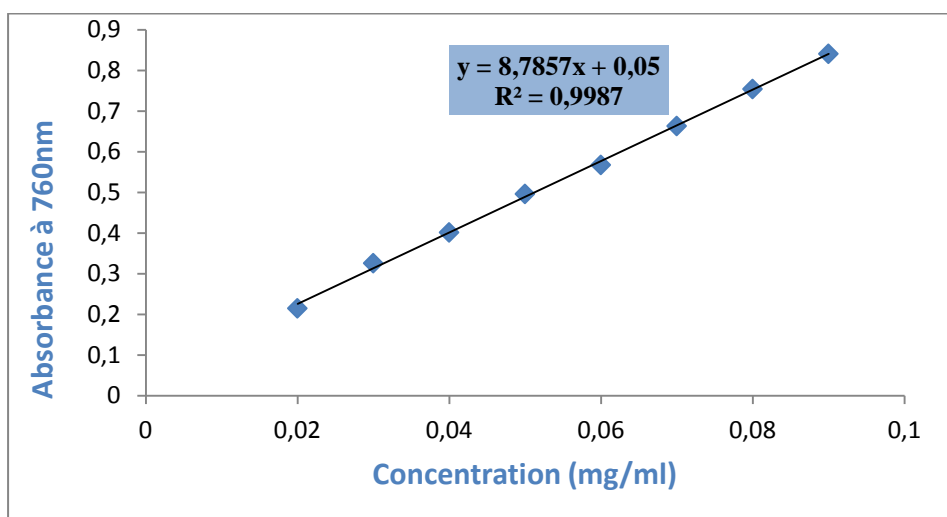


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits étudiés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Teneurs en phénols totaux dans les différentes fractions.

Méthode	Les extraits		Teneur en Phénols totaux (mgEAG/g)
I	Fraction	EX-1	/
		EX-2	1,267±0,102
		EX-3	30,202±0,5164
II	L-SC	EX-4	26,939±0,799
III	Phase organique	EX-5	5,759±0,0710
		EX-6	12,912±0,693
	Phase aqueux	EX-7	10,206±0,296
		EX-8	3,456±0,3825

D'après la synthèse de l'ensemble des résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux, on peut constater que les teneurs de ces composés, de manière globale, varient entre 30,202 et 3,456 (mg EAG/g), la teneur la plus élevée est celle enregistré aux suivi par l'extrait⁴. Ces teneurs en composé phénoliques obtenu par la extraction par solvant de polarité défèrent et la l'extraction par sonication respectivement, sont beaucoup plus importantes que celles obtenu par l'extraction hydro alcoolique .

On remarque aussi que les extraits⁶ méthanoïques dans l'extraction hydro alcoolique et ont une teneur en phénols totaux élevé que EX- 5.

Les plus basses teneurs sont remarquées chez les EX- 7 et EX-8 et EX- 2 qui varient de 1.26 à 3.45 mg EAG/g.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les trois méthodes d'extraction, révèlent une différence remarquable entre la troisième et les deux premier méthodes ; toutefois, la deuxième et troisième méthode (sonication et la macération) dans des solvants de polarité différent semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux.

L'ensemble de ces résultats importants prouve que le méthanol a monté son affinité vers cette plante pour extraire les composés phénoliques.

2- Teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée par la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium est rapportée en milligramme équivalent Rutine par gramme de la matière sèche à l'aide d'une courbe d'étalonnage de Rutine (figure19).

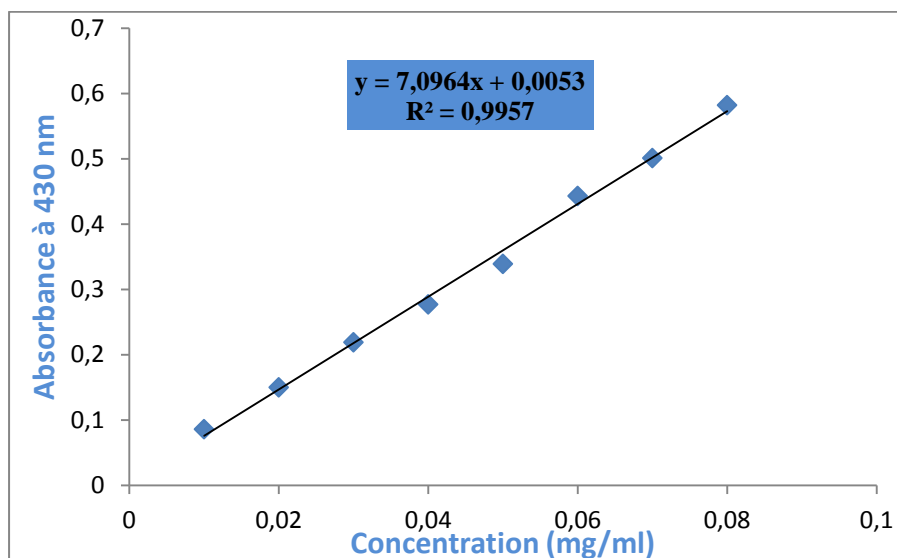


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la Rutine.

Les résultats de dosage des flavonoïdes totaux par l'extraction sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Teneurs des flavonoïdes dans les différentes fractions.

Méthode	Les extraits	Teneur en Flavonoïdes totaux (mgER/g)	
I	Fraction	EX-1	/
		EX-2	9,451±0,129
		EX-3	22,267±0,822
II	L-SC	EX-4	19,615±0,211
III	Phase organique	EX-5	4,185±0,035
		EX-6	5,359±0,221
	Phase aqueux	EX-7	5,853±0,084
		EX-8	1,621±0,0339

Suivant le tableau ci-dessus, on a enregistré en équivalent rutine des valeurs élevées : 22.26 mg et 19.61mg/g de matériel végétal sec, respectivement avec EX-3 et EX-4. Les

deux méthodes d'extraction représentent toujours des teneurs élevés en ces composés comparativement aux EX-2 d'une part et aux autres méthodes de l'autre part.

Les EX-5, EX-6 et EX-7 révèlent des taux en flavonoïdes comparables sauf EX-8 on observe un teneur très faible.

Dans l'histogramme suivant nous avons représenté les différentes valeurs du contenu en phénols totaux et flavonoïdes pour mieux cerner les différences existant entre les méthodes d'extraction et la teneur des extraits en composé dosé.

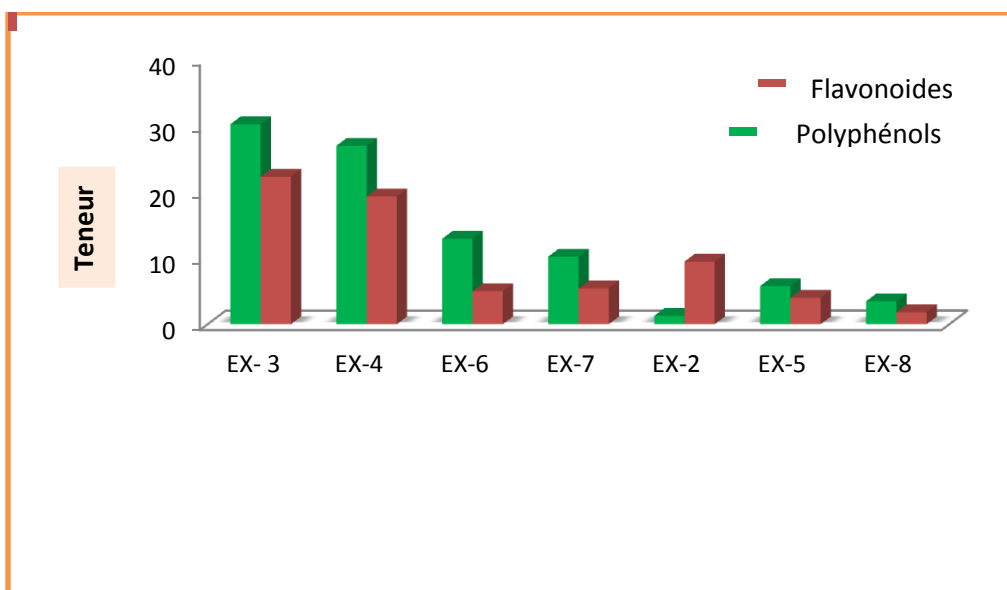


Figure 20: Teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits de *Lavandula -Stoechas-L.*

À l'exception de EX-2, la variation des quantités des flavonoïdes dans chaque extrait est relative à celle des phénols totaux c'est-à-dire elles varient dans le même sens, cela peut être expliqué par la composition de chaque extrait de même type de polyphénols mais avec des quantités différentes.

Dans EX-2, on constate que le taux en flavonoïde est supérieur mais très proches de ceux des phénols ce qui indique que presque tous les phénols extraits sont des flavonoïdes.

On peut conclure que la quantité de différents composés phénoliques est distinguée par la méthode d'extraction et la capacité de chaque solvant d'extraire le maximum de ces composés selon leur polarité.

III- 4- Évaluation de l'activité antioxydante

III-4-1-Test de DPPH

L'activité anti radicalaire réalisée par la méthode de DPPH est exprimée en IC50, cette valeur est calculé à partir des graphes représentant les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant (Figures37, Annexe2). Les résultats obtenus à partir de ce test sont regroupés dans le tableau7.

Tableau 7 : Les valeurs d'IC50% des extraits phénoliques et des standards.

Méthode	Les extraits		Valeurs d'IC50%
I	Fraction	EX-1	NEG
		EX-2	NEG
		EX-3	0.32 ± 0,0032
II	L-SC	EX-4	0.133 ± 0,004
III	Phase organique	EX-5	0.034 ± 0,0006
		EX-6	0.0258 ± 0,003
	Phase aqueux	EX-7	0.0118 ± 0,0001
		EX-8	0.1094 ± 0,04
Standards	Vitamine C	0.0022 ± 2.89E-05	
	BHA	0.0075 ± 0,0003	

Les résultats du test DPPH montrent que les valeurs de l'IC50 des différents extraits varient globalement entre 0.0118 mg/ml et 0.32 mg/ml.

L'activité antioxydante la plus élevée a été enregistrée chez les EX-6et EX-5et EX-7etEX-8 de la troisième méthode d'extraction ou EX-7 est l'extrait la plus active suivi par l'extrait 6.

En ce qui concerne les extraits des autres méthodes d'extractions, nous constatons une activité faible.

Afin de mieux comparer entre les activités antioxydantes de nos extraits et des antioxydants standards, l'histogramme suivant (figure) illustre le classement décroissant du pouvoir anti radicalaire exprimé en IC50 des extraits phénoliques.

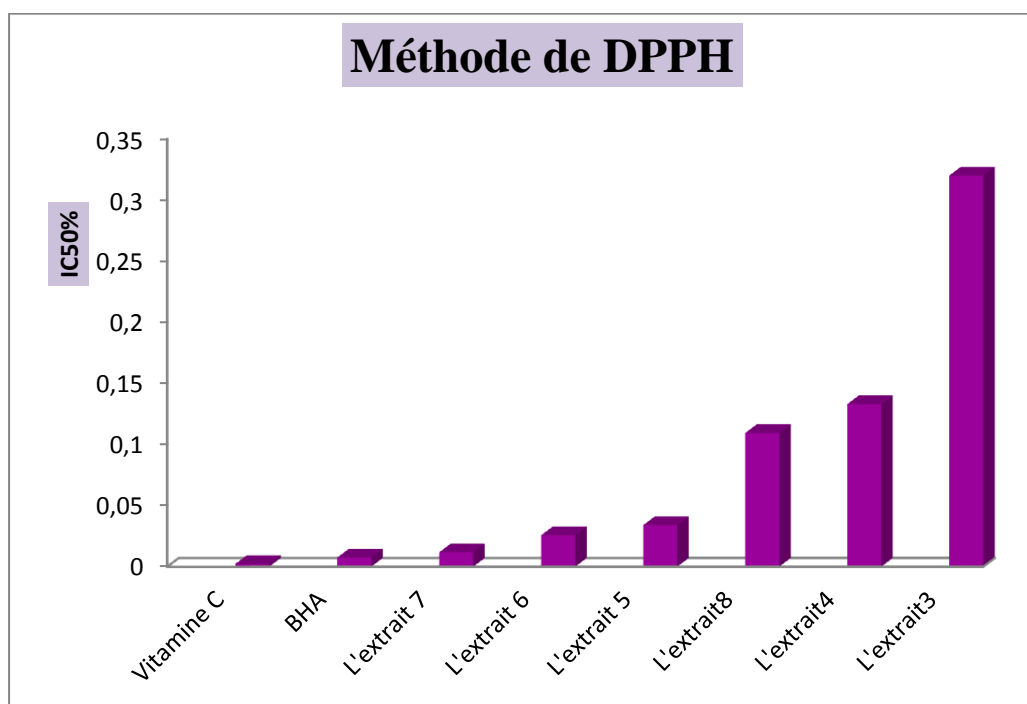


Figure 21 : Classement décroissant du pouvoir anti radicalaire exprimé en *IC*50.

Si on comparant les valeurs obtenus par les extraits phénoliques avec les standard, BHA et la vitamine C, on trouve que les extraits de la troisième méthode extraction a montré une activité anti radicalaire importante mais ils sont moins actif que la vitamine C et le BHA qui reste les plus puissante.

III-4-2-Test d'ABTS

Le test **ABTS** est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique $ABTS^{•+}$ les résultats de ce test sont exprimées par la valeur de (TEAC) reflète la capacité relative d'un antioxydants donneur d'hydrogène pour piéger le radical cation $ABTS^{•+}$ comparée à celle du Trolox [27]. Toutes les valeurs supérieures à un indiquent une grande capacité de ces composés [14] .

Pour ce faire nous avons déterminé pour chaque produit le pourcentage d'inhibition de l'ABTS^{•+} calculé selon la formule ci-dessous :

$$I\% = 100 (A_0 - A_C) / A_0$$

Où A_0 est l'absorbance initiale en absence de composé à tester et A_C est l'absorbance mesurée après 6 minutes en présence d'un antioxydant.

La droite $\% I = f(C)$ est tracée pour chaque extrait afin de déterminer le TEAC (Figure38-Annexe3). La pente de cette droite est extraite et rapportée à la pente de la droite de référence du Trolox (Figure22).

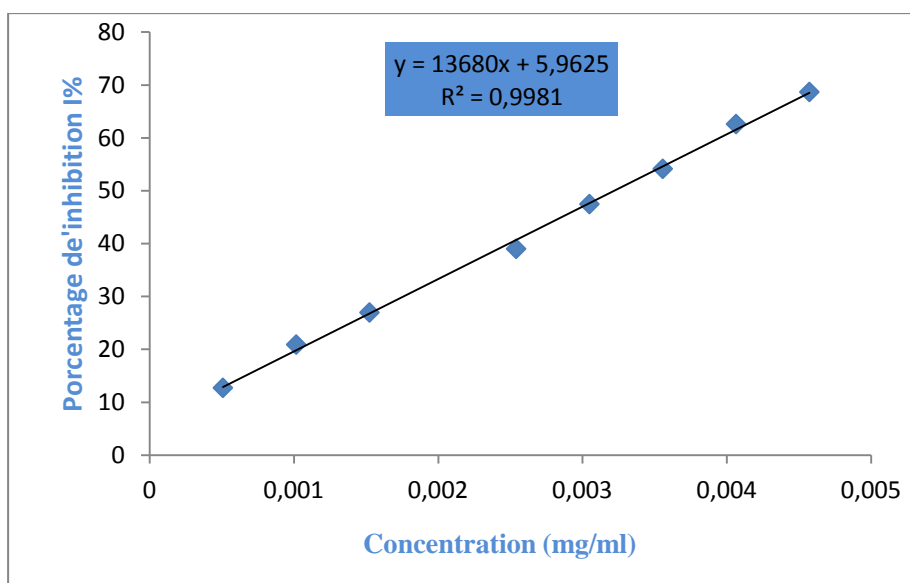


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition obtenu en présence de Trolox en fonction de la concentration

.Le pouvoir anti radicalaire (TEAC) des différents extraits de la plante étudiée comparés aux standards sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 8: Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards.

Méthode	Les extraits	Valeurs de TEAC	
I	Fraction	EX-1	NEG
		EX-2	NEG
		EX-3	0.0111 ± 0,0001
II	L-SC	EX-4	0.051 ± 0,0006
III	Phase organique	EX-5	0.117 ± 0,0027
		EX-6	0.270 ± 0,005
	Phase aqueux	EX-7	0.2865 ± 0,001
		EX-8	0.1035 ± 0,005
Standards	Vitamine C	1.743 ± 0.010	
	BHA	2.707 ± 0,211	

L'étude comparative par la méthode TEAC indique que les valeurs de EX-7 et EX-6 possèdent une activité anti radicalaire supérieure que les autres extraits.

On comparant ces résultats avec celle obtenue par les standards, BHA et la vitamine C, on trouve que nos extraits sont moins actifs que la vitamine C et le BHA qui possèdent une action anti radicalaire puissante (Figure 23).

Cette différence pourra être expliquée par le fait que l'antioxydant de référence est un agent pur qui peut agir directement et avec leur concentration totale sur la réaction radicalaire. Par contre, les extraits testés sont des mélanges qui renferment plusieurs molécules dont certaines sont inactives et leurs actions anti radicalaires ont été mesurées par rapport à la concentration totale du mélange qui prend en considération toutes les substances actives et non actives.

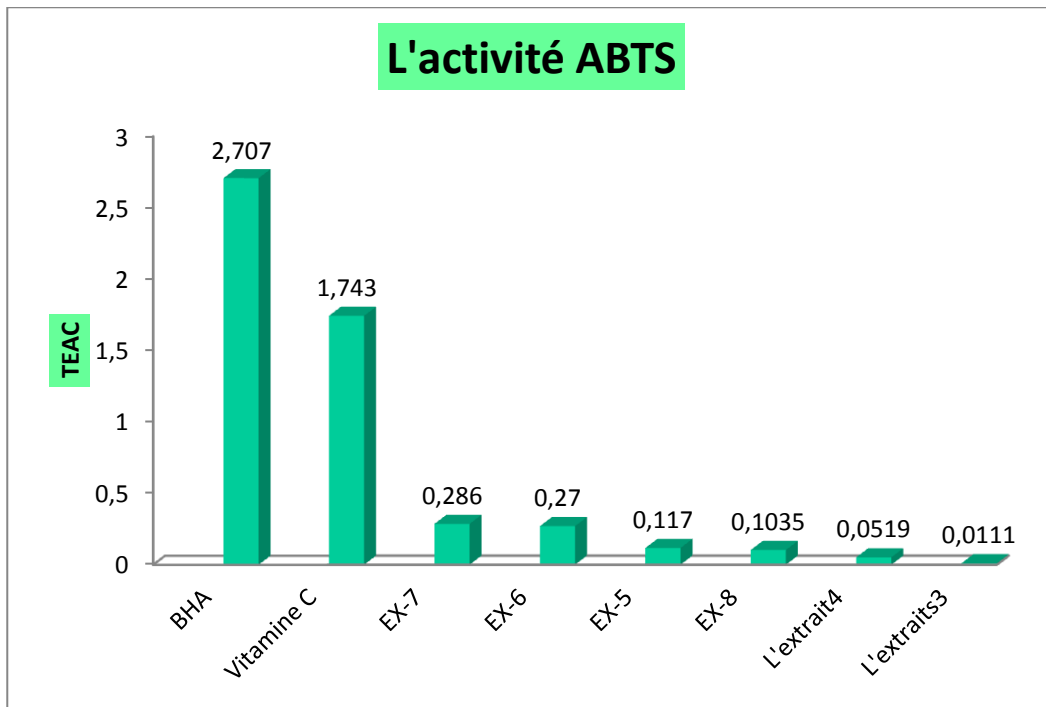


Figure 23: Histogramme présente les valeurs de TEAC des différents extraits comparés aux standards.

III 4-3-Test de FRAP

L'activité antioxydant de nos extraits a été évalué, par une méthode récente basé sur la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $FeCl_3$ en ferreux (Fe^{2+}). Le Trolox, ont été utilisé comme standard (Figure 24).

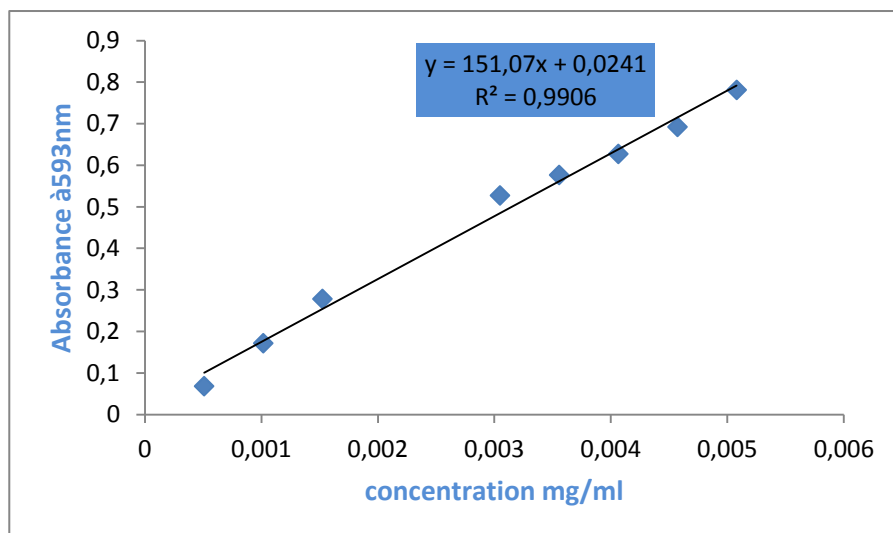


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de Trolox

Selon Hayes *et al.* (2011) [44], l'activité antioxydante dépend généralement sur le nombre et la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes dans de nombreuses maladies. Certains de ces composés sont capable de chélate le fer, et donc de réduire son excès. Pour cela, nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits par la technique de réduction du fer FRAP, qui représente un indicateur significatif du pouvoir antioxydant des plantes. La droite $Abs = f(C)$ est tracée pour chaque extrait afin de déterminer le TEAC. La pente de cette droite est extraite et rapportée à la pente de la droite de référence du Trolox, on remarque une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur qui associé à son pouvoir antioxydant des extraits testés (figure39à Annexe 4).

Les valeurs du TEAC obtenu par le test de FRAP sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9: Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards.

Méthode	Les extraits		Valeurs de TEAC
I	Fraction	EX-1	NEG
		EX-2	NEG
		EX-3	0.040 ± 0,001
II	L-SC	EX-4	0.032 ± 0,0008
III	Phase organique	EX-5	0.181± 0.004
		EX-6	0.382 ± 0,001
	Phase aqueux	EX-7	0.210 ± 0,006
		EX-8	0.066 ± 0,001
Standards		Vitamine C	1.58 ± 0,088

Par l'analyse des résultats de TEAC, on remarque que les différents extraits phénoliques ont des activités réductrices très différentes comprises entre 0.382et0.066. Plus la concentration de l'extrait augmente, plus le pouvoir réducteur augmente. EX-6 possèdent une bonne action réductrice vis-à-vis Fe^{3+} présent dans la solution testée, mais elles restent inférieur que à l'action de vitamine C et de BHA comme antioxydants standards.

Une bonne activité et aussi remarqué chez EX5 et EX7. Par contre les autres extraits écrits une action réductrice du Fe³⁺ très faible.

L'Histogramme suivant présente les valeurs TEAC des différents extraits comparés aux standards

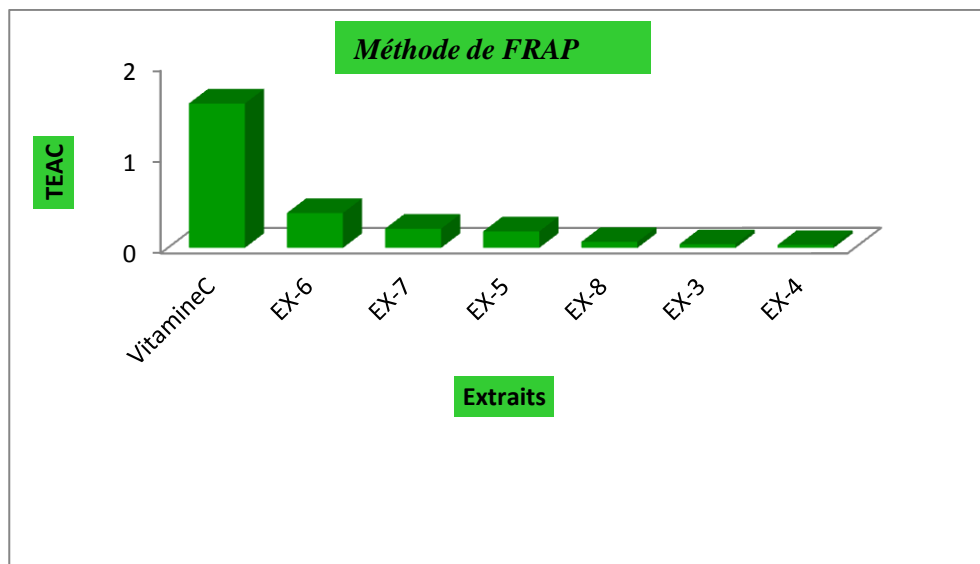


Figure25 : Histogramme présente les valeurs TEAC des différents extraits comparés aux standards.

III-4-4-Test de Phosphomolybdate

Le teste de Phosphomolybdate est entrepris pour révéler le pouvoir réducteur des extraits phénoliques de Lavandula Stoechas- L. Les valeurs de capacité réductrice obtenues sont exprimées en milligramme équivalent Trolox par gramme de matière sèche. À l'aide d'une courbe d'étalonnage de Trolox (Figure26)

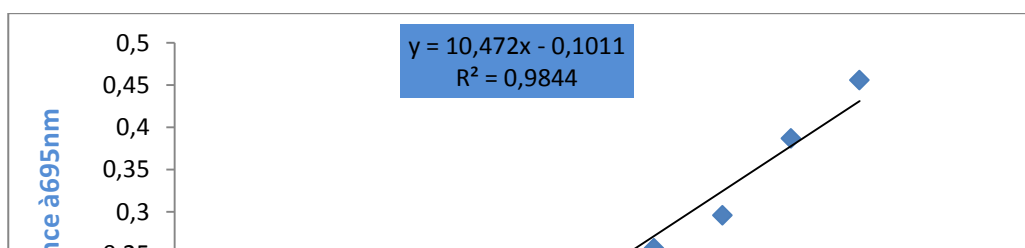


Figure 26 : Courbe d'étalonnage de Trolox.

La droite $Abs = f(C)$ est tracée pour chaque extrait afin de déterminer le TEAC (figure40 Annexe 5). La pente de cette droite est extraite et rapportée à la pente de la droite de référence du Trolox, Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur qui associé à son pouvoir antioxydant des extraits testés.

Les valeurs du TEAC obtenu par le test Phosphomolybdate (PPM) sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10: Les valeurs de TEAC des extraits phénoliques et des standards.

Méthode	Solvants		Valeurs de TEAC
I	Fraction	EX-1	$0.038 \pm 0,001$
		EX-2	0.0227 ± 0.0004
		EX-3	$0.0705 \pm 0,0008$
II	L-SC	EX-4	$0.063 \pm 0,002$
III	Phase organique	EX-5	$0.7094 \pm 0,0234$
		EX-6	$0.959 \pm 0,003$
	Phase aqueux	EX-7	$0.771 \pm 0,078$
		EX-8	$0.3004 \pm 0,023$
Standards	Vitamine C		$3.291 \pm 0,031$
	BHA		3.74 ± 0.093

Par l'analyse des résultats de TEAC, on remarque que les différents extraits phénoliques ont des activités réductrices très différentes comprises entre 0,959 et 0.0227. Plus la concentration de l'extrait augmente, plus le pouvoir réducteur augmente.

EX-6 possèdent une bonne action réductrice vis-à-vis Mo(VI) présent dans la solution testée, mais elles restent inférieure que à l'action de vitamine C et de BHA comme antioxydants standards.

Une bonne activité et aussi remarqué chez chez EX-8et EX-5, mais inférieur à celle enregistré avec EX-7. Par contre les autres extraits écrits une action réductrice du Mo (VI) très faible.

L'Histogramme suivant présente les valeurs TEAC des différents extraits comparés aux standards.

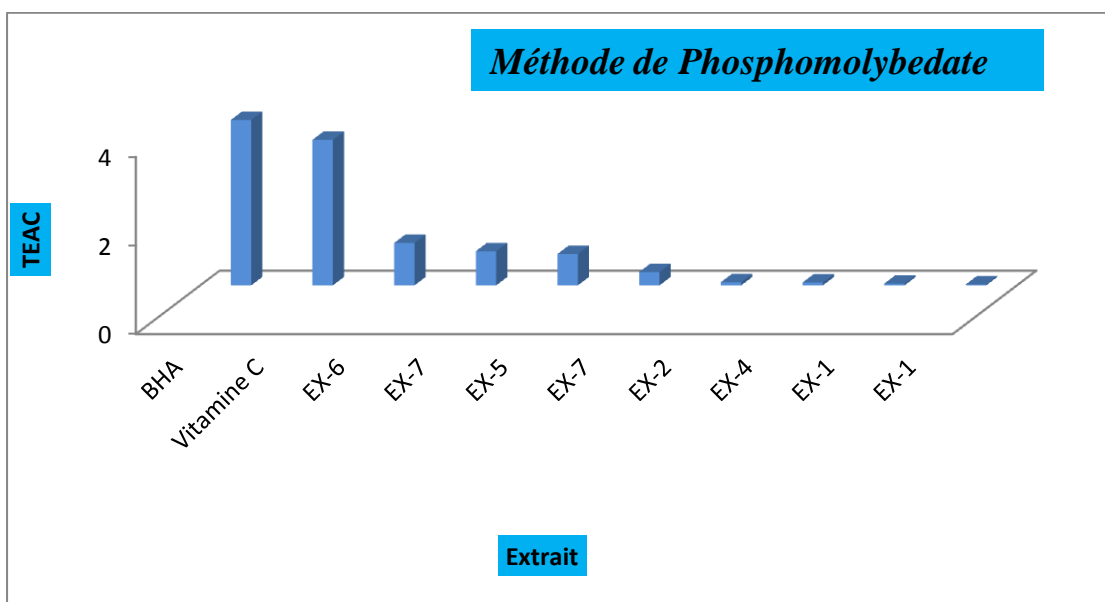


Figure 27 Histogramme présente les valeurs TEAC des différents extraits comparait ou standard.

IV-Conclusion

L'extraction solide-liquide est la méthode utilisée pour extraire les composés phénoliques du matériel végétal. Cette méthode est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire ou de séparer par dissolution dans un liquide un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangé à un solide [45].

Dans notre travail nous avons étudiés l'influence des différentes méthodes d'extraction sur les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de *Lavandula Stoechas-L*

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée par trois méthodes : L'extraction par des solvants de polarités croissantes, La macération dans des mélanges hydro-alcooliques et l'extraction par sonication. L'utilisation de ces techniques a manifesté des rendements différents entre les extraits, généralement cette différence est due probablement à la nature du solvant, leur fractionnement, et sa polarité, cela veut dire qu'il y a une différence de diffusion du solvant dans la poudre de la plante. Le rendement des polyphénols le plus important est observé chez l'extrait hydroéthanoïque de la deuxième méthode d'extraction avec un rendement de 16.5%, et chez les fractions méthanoïques et acétiques de la première méthode d'extraction qui présentent des rendements moyens variés entre 7.10% et 8.40%.

Dans l'analyse qualitative, nous avons effectué des tests phytochimiques sur les fractions de la première méthode d'extraction pour voir la présence ou l'absence de quelques métabolites secondaires. D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponosides et des composés réducteurs en quantités importantes dans les trois extraits (EX-1, EX-2 et EX-3). Certains principes actifs sont observés seulement dans EX-3 tel que les anthraquinones et les coumarines.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu ou la teneur en flavonoïdes par la méthode de $AlCl_3$, révèle que la teneur la plus élevée est celle enregistrée aux fractions méthanoïques suivies par l'extrait de L-SC. Ces teneurs en composés phénoliques sont obtenues par la première et la deuxième méthode d'extraction respectivement, sont beaucoup plus importantes que celles obtenues par la troisième méthode d'extraction. Il ressort que la macération dans un mélange hydro alcoolique (MeOH/eau : 80/20) ou la sonication sont les meilleures techniques d'extraction des polyphénols totaux.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et des quelques antioxydants standard pris comme références (la vitamine C, le Trolox, et le BHA) a été

réalisé par des tests anti radicalaire (DPPH, ABTS) et antioxydante (FRAP, Phosphomolybedate). Le même classement d'activité des extraits a été remarqué dans les quatre méthodes étudiées sauf EX-7 qui se décale entre les tests anti radicalaires et les tests antioxydantes.

L'activité antioxydante la plus élevée a été enregistrée chez les EX-5 et EX-6 et EX-7 et EX-8 de la troisième méthode d'extraction (macération).

Suivant les méthodes d'DPPH et de l'ABTS, EX7 est l'extrait la plus active suivi par la EX-6 par contre, c'est EX-6 est l'extrait la plus active suivant les méthodes FRAP et Phosphomolybedate.

Généralement tous nos extraits sont considérés moyennement actifs que les antioxydants standards testés (vitamine C et le BHA) qui reste le plus puissante.

A la lumière des résultats obtenus dans cette étude, il est indiqué clairement que les extraits de *Lavandula Stoechas-L* ont des activités antioxydantes moyennes, en particulier l'extrait de EX-7 et EX-6

L'extraction par macération dans un solvant hydroalcoolique (Méthanol/eau, Ethanol/eau) est la meilleure méthode utilisée pour extraire les composés phénoliques actifs du matériel végétal bien que sa faible rendement marqué pour extraire ou de séparer les composés phénoliques.

L'extraction par sonication ou par l'utilisation des solvants de polarité différentes donne des teneurs en composés phénoliques plus élevés, par contre les faibles activités antioxydantes obtenues sont peut-être retenues à la nature du solvant utilisé ou la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu.

Cette variation peut être expliquée par la présence des autres constituants et/ou la présence des différents types des phénols [46].

Il reste en perspective à confirmer par des autres méthodes d'analyse la composition et la structure chimique des composés extraits tels que l'analyse chromatographique et le RMN.

Référence bibliographique

- [1] : **Atmani D, Chafer N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N.** *Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants.* Food Chemistry 112, (2009); 303–309.
- [2] : **Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J.** *Thymus essential oils:chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities.* Biochimie, Substances Naturelles et environnement, *Congrès International de biochimies, Agadir.* (2006) 324-327.
- [3] : **Vercauteren Cheze .J , Triaud. J.** *Polyphénols 96.* INRA Iditions. France 1998.
- [4] : **Ammar R. B., Sghaier M. B., Boubaker J., Bhourri W., Naffeti A., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K. and Chekir-Ghedira L.** *Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from Rhamnus alaternus L.* Chem.-Biol. Inter. 2008; 174: 1-10.
- [5] : **Chadi.A.F.** *A Guide to medicinal Plantes in North Africa.* Produced by IUCN centre for Mediterranean cooperation, (ISBN2-8317-0893-1) ,2005.
- [6] : **Baba .Aissa.F.***Encyclopediedes plantes utiles,Flore d’algérie et du Maghreb,*éd librairie modern-rouiba, imprimé en algérie,1999.
- [7] : [www.au.jading.plantes méditerranéennes,inf](http://www.au.jading.plantes.mediterraneennes.inf)« Mentions légales» Engagements
- [8] : **Mahieu.D.***Tela botanica,* Université du Québec a Montréal, direction de serge proulx
- [9] : **Couplan. F.***Guide des plantes sauveges comestibles et toxique,* éd Dalachaux et Niestlé, coll. « Les guides du nauraliste», (ISBN2-603-00952-4) ,1994.
- [10] : **Diallo.A, Sanglon.R, Yasmbou.H , Traore.A , Coulibaly .K ,et Maïza .A,** *Etude des contribution des feuilles de ziphyhus mauritiana laux (rhamnacées) utilisées traditionnellement dans le traitement de diabète au Mali.* compte rendus chimie, 7, (2004) ,1073-1080 P.
- [11] **Nallely. N, Paulina. N, Sandra.M, Francisca.H, Ángel A., Aneta W.** *Identification and quantification of major derivatives of ellagic acid and antioxidant properties of thinning and ripe Spanish pomegranates.* Journal of functional foods, 12, (2015), 354 – 364
- [12] : **H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi,M. Boulaaba and C. Abdelly. Phenolic.** *Composition of Cynaracardunculus L. organs, and their biological activities.* Compt. Rend.Biol. Vol .331, (2008), pp 372-379.
- [13] : **Debray .M, Jacquemin .H, Razafindrambao .R.S,** *Travaux et documents de*

l'Orstom, Paris, 8, (1971), p 150.

- [14] : **Paris .M, Bouket .A, Paris .R**, *Les flavonoïdes du Fagara laurentii de wild isolement d'un flavonoïde identifié à l'héspéridoside*. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 6, (1969), p 123 – 131.
- [15] : **Karumi .Y, Onyeyili .PA, Ogugb uaja .VO**. *Identification of active principales of M. balsamina (Balsam apple) leaf extract*. *J Med Scien.*; 4, (2004), 179 – 182.
- [16] : **Oloyede OI**. *Chemical profile of Unripe Pulp of Carica papaya*. *Pak J Nutr*, 4, (2005), 379 – 381.
- [17] : **Oliveira .J, Coelho. V, Baltasar .R, Pereira J. A, and Baptista .P**. *Scavenging capacity of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaves on free radicals*. *Food Chem. Toxicol.*, vol. 47, no. 7 ,(2009), pp. 1507–1511.
- [18] : **Oloyede, O.I**. *Chemical Profile of Unripe Pulp of Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*. 4, (2005), 379-381.
- [19] : **Majob. F, Kamalinejab. M, Ghaderi. N, Vahidipour .H**. *Phytochemical screening of some species of Iranian plants*. (2003) ,77 – 82.
- [20] : **Jean.A.B**, *Purification et caractérisation chimique et biologique partielles des principes actifs des feuilles de pechia madagascariensis*. *Faculté des sciencse, Tana (Madagascar)*, 2010.
- [21] : **Saha. M. R, Md. A. Alam., R. Akter and Rumana Jahangir**; *In-vitro free radical scavenging activity of Ixora coccinea L*. *Bangladesh J Pharmacol*, (2008), 90-96 pp.
- [22] : **Khan .AM, Qureshi .RA, Ullah. F, Gilani. SA, Nosheen. A, Sahreen .S, et al**. *Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings*. *J Med Plants Res*. 5 (25), (2011) ,6017 – 6023.
- [23] : **Oloyede OI**. *Chemical profile of Unripe Pulp of Carica papaya*. *Pak J Nutr*. (2005) ; 4 : 379 – 381.
- [24] : **V. L.Singleton and J. A. Rossi**. *Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdc-Phosphotungstic Acid Reagents*. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, (Jan. 1965), no. 3, pp. 144–158.
- [25] : **Bessas, A**. *Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltent dans le sud algérien*. *Ingénieur d'état en biologie option contrôle de qualité et analyse*, université Djilali Liabes-Sidi Bel Abbes, 2008.

- [26] : **Bougandoura N, Bendimerad N.** *Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux et méthanoïque de satureja calminlha ssp. Neptal (L.)briq.* Nature et Technologie. 9, (juin 2013), 14-19.
- [27] : **Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W.** *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.* Food Chem. 64, (1999), 555 – 559.
- [28] : **Ribéreau-Gayon. J, Peynaud .M, Ribéreau-Gayon .P and Sudraud. P.** *Sciences et techniques du vin.* Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, (1972), p. 671.
- [29] : **Manallah. A.** *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L.* Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas. Sétif, 2012.
- [30] : **Kasprzak .M, Erxleben.A, Ochochi J.** *Properties and application of flavonoid metal complexes ,* 21(4),(2015) 45853-45877.
- [31] : **Popovici.C, Saykova .I, Bartek. T.** *Evaluation de l'activité l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.* Revue de De génie industriel, 4, (2009), 25-39.
- [32] : **Oliveira .I, Coelho .V, Baltasar. R, Pereira J. A, and P. Baptista,** *Scavenging capacity of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaves on free radicals, Food Chem. Toxicol.,* vol. 47, no. 7, (2009), pp. 1507–1511.
- [33] : **Oliveira .I, Coelho. V, Baltasar .R, Pereira J. A, and Baptista .P.** *Scavenging capacity of strawberry tree (Arbutus unedo L.) leaves on free radicals.* Food Chem. Toxicol., vol. 47, no. 7 ,(2009), pp. 1507–1511.
- [34] : **Zulueta. A, Esteve .M. J, and Frígola .A.** *ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products.* Food Chem, vol. 114, no. 1,(2009), pp. 310–316.
- [35] : **Kim D.O, Jeong S.W, and Lee C.Y.** *Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums.* Food Chem., vol. 81, (2003), pp. 321–326.
- [36] : **D.O.Kim,S.W.Jeong, and C.Y.Lee.** *Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums.* Food Chem, vol. 81, (2003), pp 321–326.
- [37] : **ABBES.A.** *Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielle d'ammoides verticillata «NOUKHA »de la région de Tlemcen.* Mémoire de master,

université ::about bahr blekaid, juin.2014.

- [38] : **Lien EJ, Ren S, Bui HH, Wang R.** *Quantitative structure-activity Relationship analysis of phenolic antioxydants.* *Free Radic Biol Med* 1999 ; 26 : 285-94.
- [39] : **Fekih N.** *Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces des genres PINUS poussant en Algerie.* Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Université de Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, 2014.
- [40] : **Venket.A.Rao ,Lectia.G.Rao.** *Phytochemicals-Isolation,characterisation and role in Human Heath.* ISBN(978-953-51-2710-1),2015.
- [41] : **Benzie, I. F. F., & Strain, J.** *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay.* *Analytical Biochemistry*, (1996). 239, 70–76.
- [42] : **Saha. M. R, Md. A. Alam., R. Akter and Rumana Jahangir .** *In-vitro free radical scavenging activity of Ixora coccinea L.* *Bangladesh J Pharmacol*,(2008); 90-96 pp.
- [43] : **El Hajaji . H,Lachkar. N ,Alaoui. K ,Cherrah. Y, Frah A;Ennabili ,Ennabili .A and ,Lachar. M,** *Records of Natural. Products*, (2010) ,193-204.
- [44] : **Hayes J.E, Allen P, Brunton N, O’Grady M.N. Kerry J.P.** *Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products.* Olive leaf extract (*Olea europaea L.*), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* 126, (2011), 948–955.
- [45] : **Herbone .J.B,Williams C.A.** *Advances in flavonoides research Since 1992.* *phytochemistry*,55(6),(2000),
- [46] **Lien. EJ, Ren .S, Bui .HH, Wang .R.** *Quantitative structure-activity Relationship analysis of phenolic antioxydants.* *Free Radic Biol Med*, 26, (1999), 285-94.

Annexe1 : Structure des réactifs utilisés dans ce travail

✓ les Produits et Réactifs

Tableau : Réactifs et produits chimiques

Produits	Formules	Marques
Chlorure de mercure.	HgCl ₂	Alpha Chemika
Hexane, éthyle acétate.	C ₆ H ₁₄ , C ₄ O ₂ H ₈	Analar normapur
Acide gallique, Vitamine C (Acide ascorbique), Carbonate de sodium, Sulfate de sodium anhydride, Heptamolydate d'ammonium, Papier filter qualitative Ø15cm.	C ₇ H ₆ O ₅ , C ₆ H ₈ O ₆ , Na ₂ CO ₃ , Na ₂ SO ₄ (NH ₄)MO ₇ O ₂₄	Biochem
Ammoniaque.	NH ₄ OH	Cheminova
CCM analytique, Trolox.	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	Fluka
Trichlorure d'aluminium hydraté, Chloroforme.	AlCl ₃ , CHCl ₃ .	GPR Rectapur
Hydroxyde de sodium	NaOH	Parnreac
Réactif de Fehling, Anhydride acétique, Réactif de follin Ciocalteu.	C ₄ H ₆ O ₃ ,	Prolabo
Chlorure de fer (III).	FeCl ₃	Purified
Persulfate de potassium.	CH ₂ NaO ₂	Riedel de haen
Ethanol, Méthanol, Iodure de potassium, Iode, Acide chlorhydrique (37%), Acide sulfurique. Rutine. ABTS. BHA. DPPH.	C ₂ H ₆ O, CH ₃ OH, KI, I ₂ ,HCl ,H ₂ SO ₄ C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₆ S ₄ C ₁₁ H ₁₆ O ₂ C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	Sigma Aldrich

Annexe1 : Structure des réactifs utilisés dans ce travail

✓ Les Structure

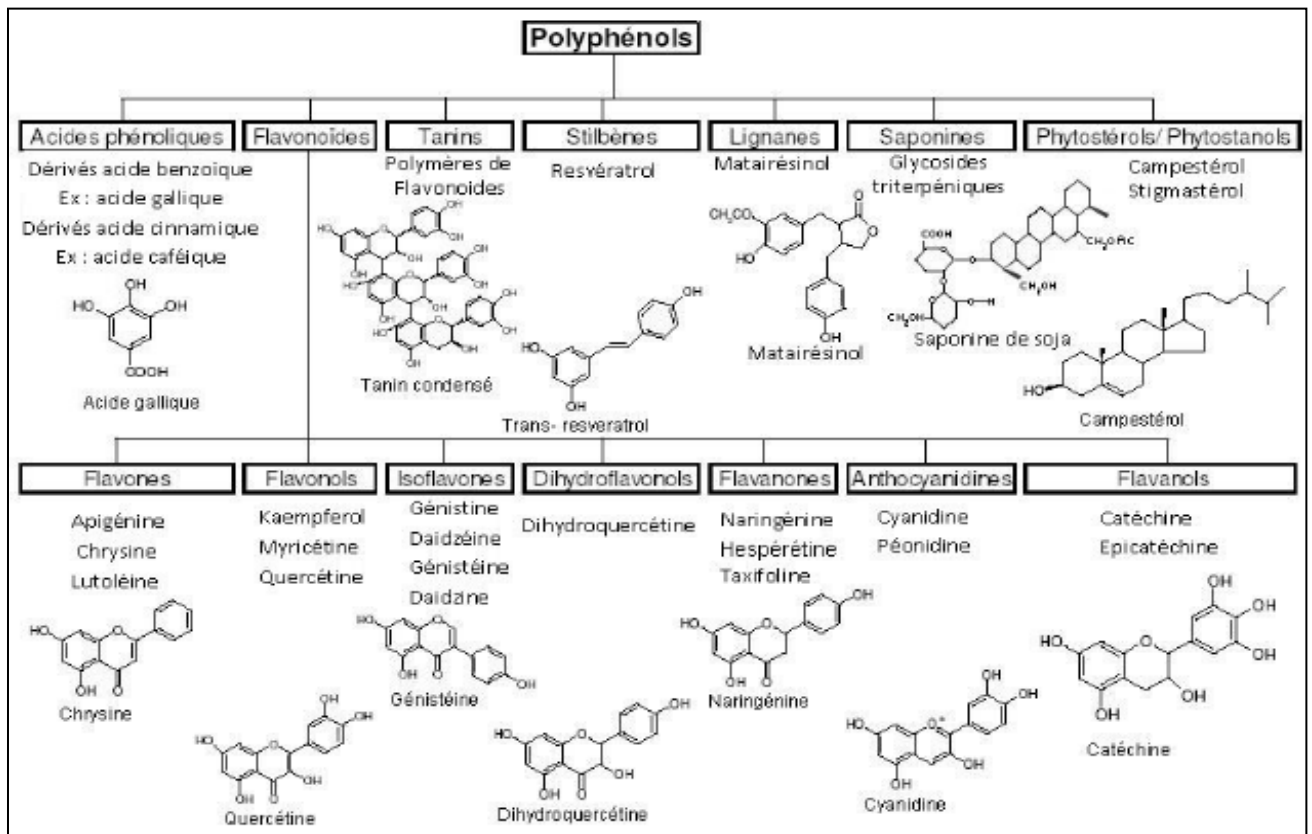
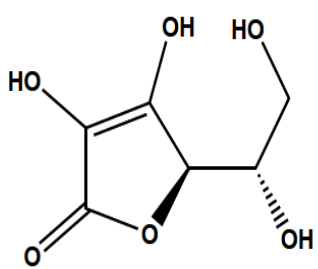
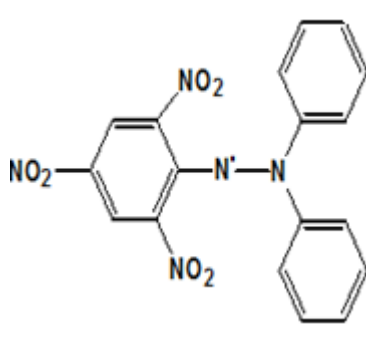
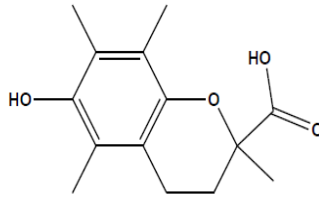
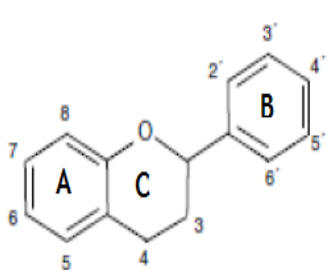
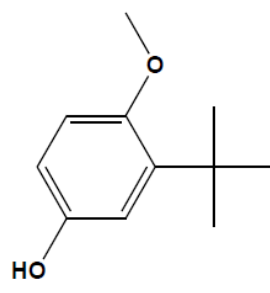
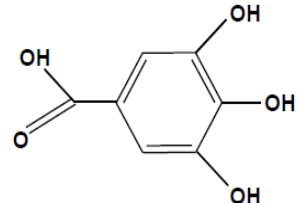
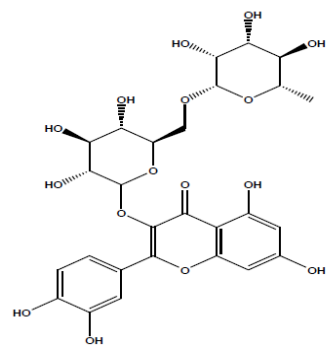
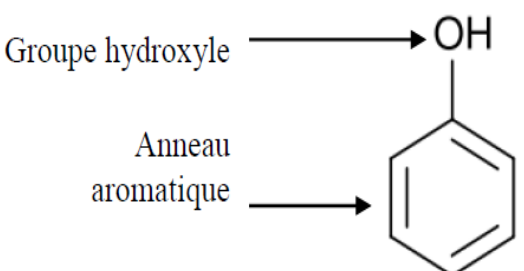


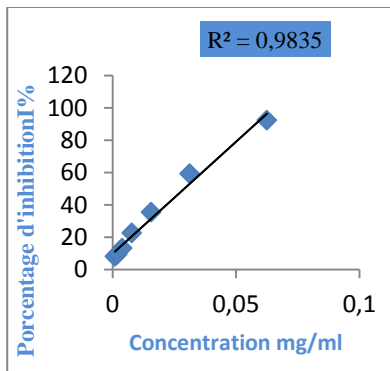
Figure36: Les différentes classes des composés phénoliques

Annexe1 : Structure des réactifs utilisés dans ce travail

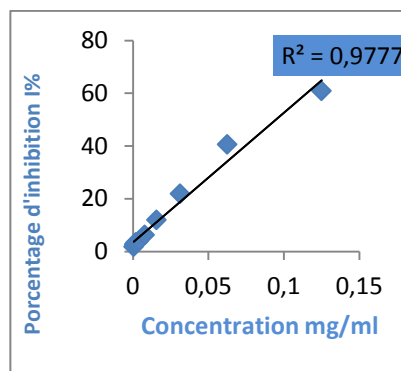
✓ Les Structure

		
<p>Figure28: Structure de l'acide ascorbique</p>	<p>Figure29: Structure chimique du radical Libre DPPH.</p>	<p>Figure 30: Trolox</p>
		
<p>Figure31 : Structure chimique de base des flavonoïdes.</p>	<p>Figure32 : BHA</p>	<p>Figure33: Acide gallique</p>
		
<p>Figure34: Rutine</p>	<p>Figure35: La structure chimique des polyphénols</p>	

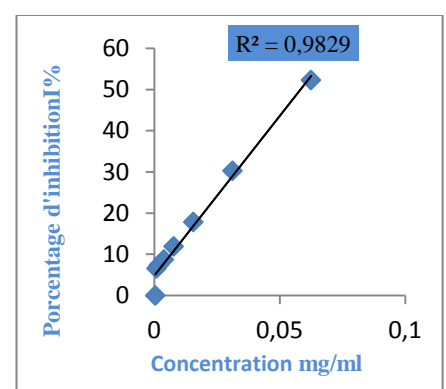
Annexe 2: Les graphes représentant les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant $I_{DPPH} \% = f(C)$



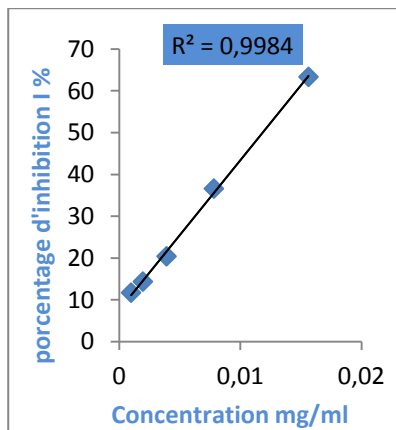
Phase organique MeOH-Eau



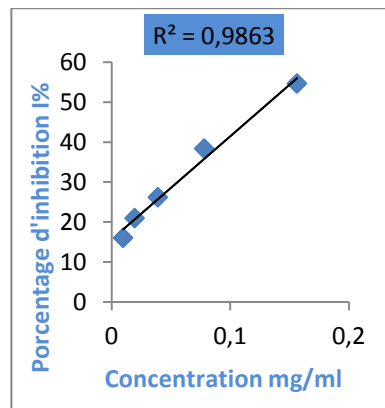
Phase aqueuse MeOH-Eau



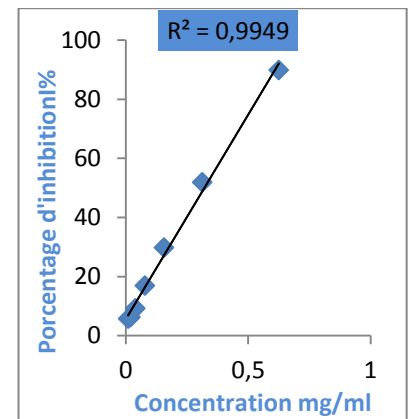
Phase organique EtOH-Eau



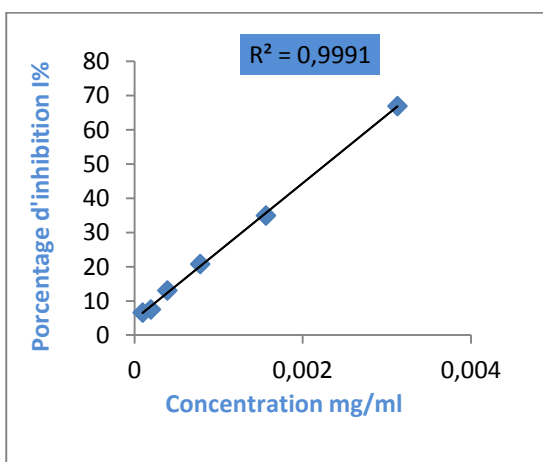
Phase aqueuse EtOH-Eau



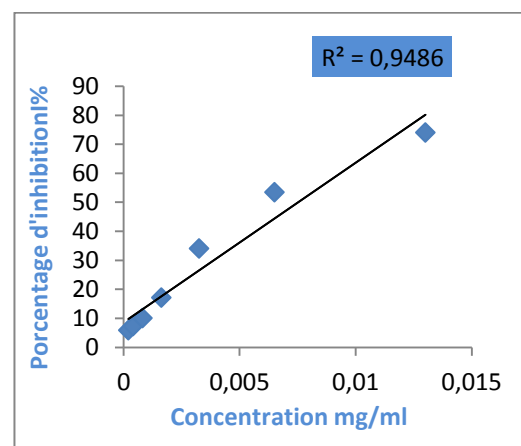
L-SC



Fraction méthanoïque



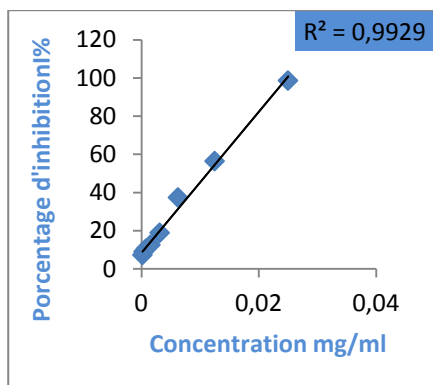
Vitamine C



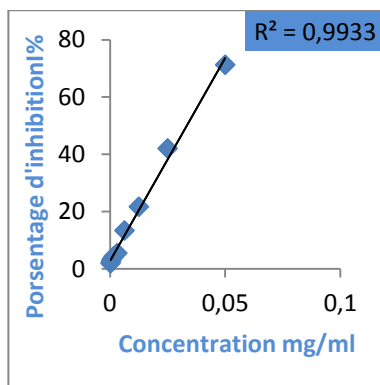
BHA

Figure 37: Les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant

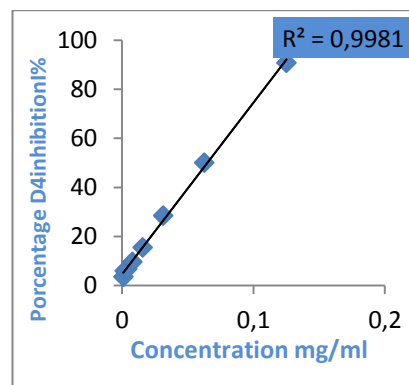
Annexe3 : Les graphes représentant les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant $I_{ARTS} \% = f(C)$



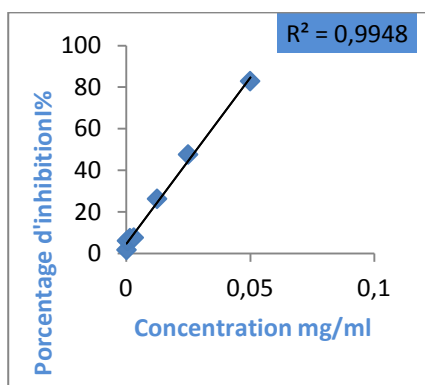
Phase organique MeOH-Eau



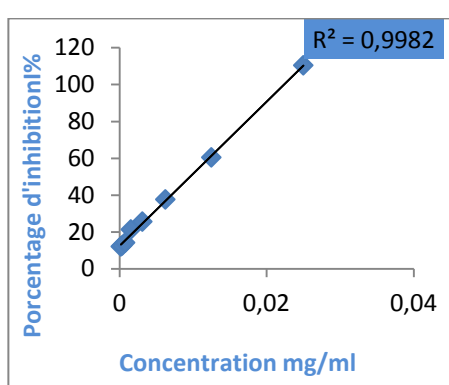
Phase aqueuse MeOH-Eau



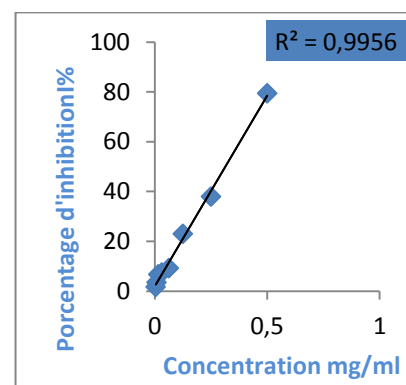
L-SC



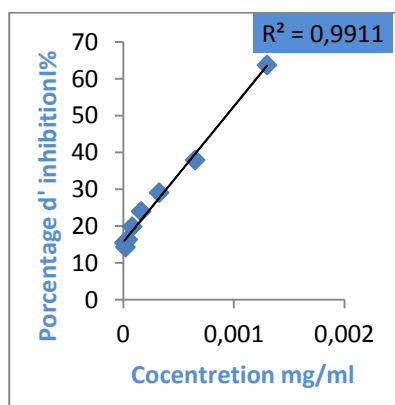
Phase organique EtOH-Eau



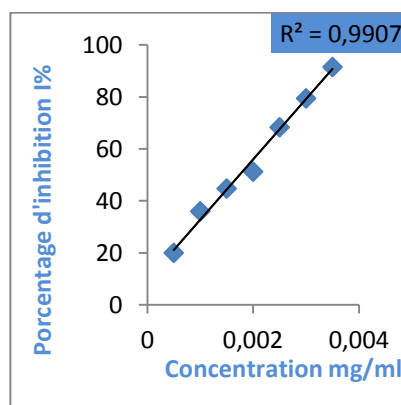
Phase aqueuse EtOH-Eau



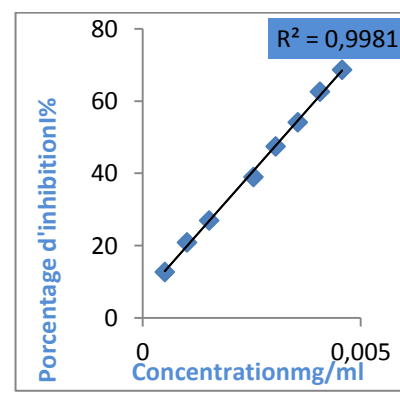
Fraction méthanoïque



BHA



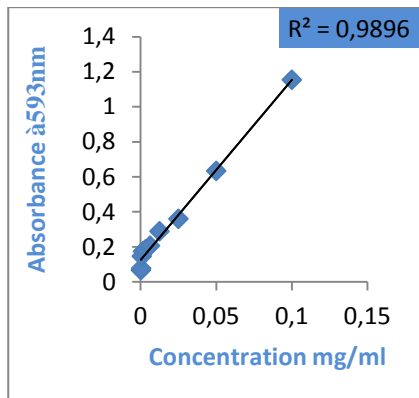
Vitamine C



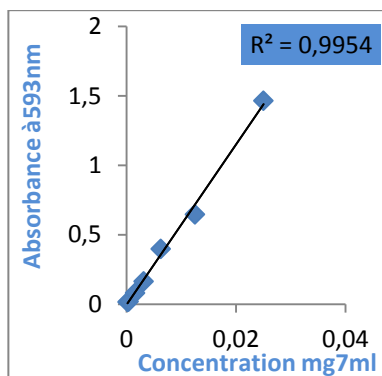
Trolox

Figure 38 : Les pourcentages d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant

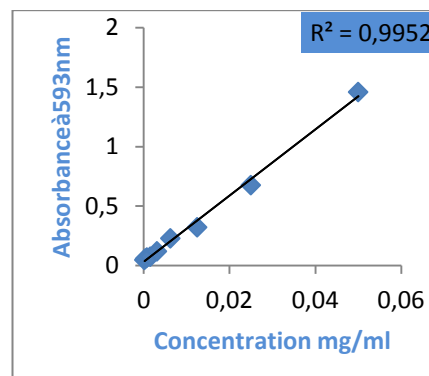
Annexe 4: Les graphes représentant les Absorbance en fonction de la concentration
Abs_{FRAP} = f(c)



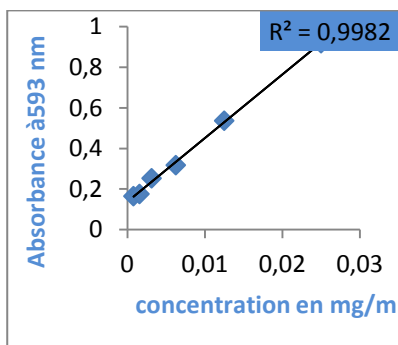
Phase aqueuse MeOH-Eau



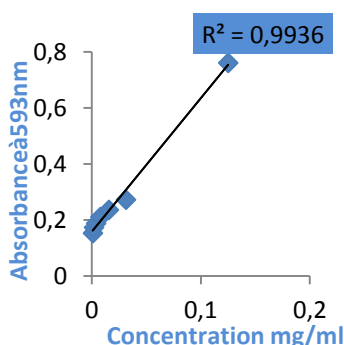
Phase organique MeOH-Eau



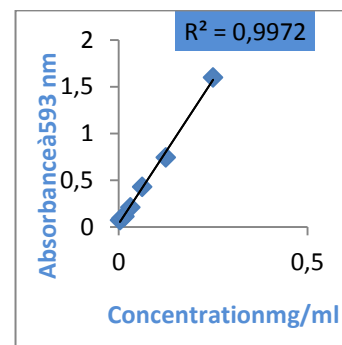
Phase organique EtOH-Eau



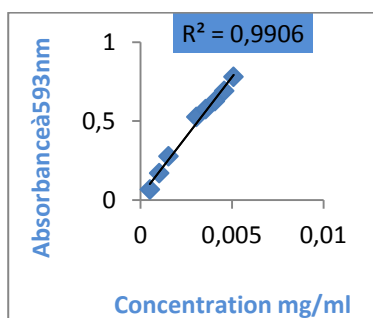
Phase aqueuse EtOH-Eau



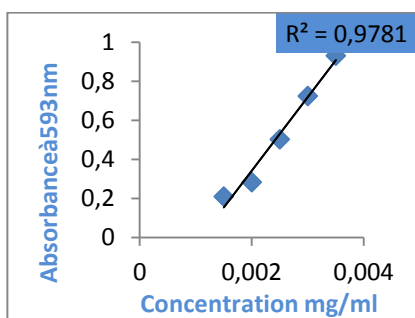
L-SC



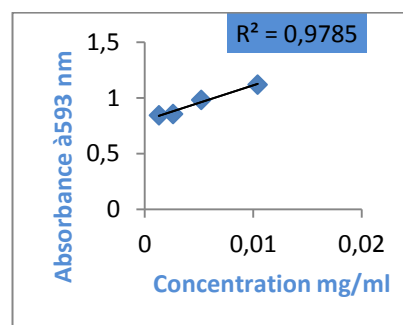
Fraction méthanoïque



Trolox



Vitamine C



BHA

Figure39: Les Absorbances en fonction de la concentration $Abs_{FRAP} = f(c)$.

Annexe 5: Les graphes représentant les Absorbance en fonction de la concentration

$$\text{Abs}_{\text{PPM}} = f(c)$$

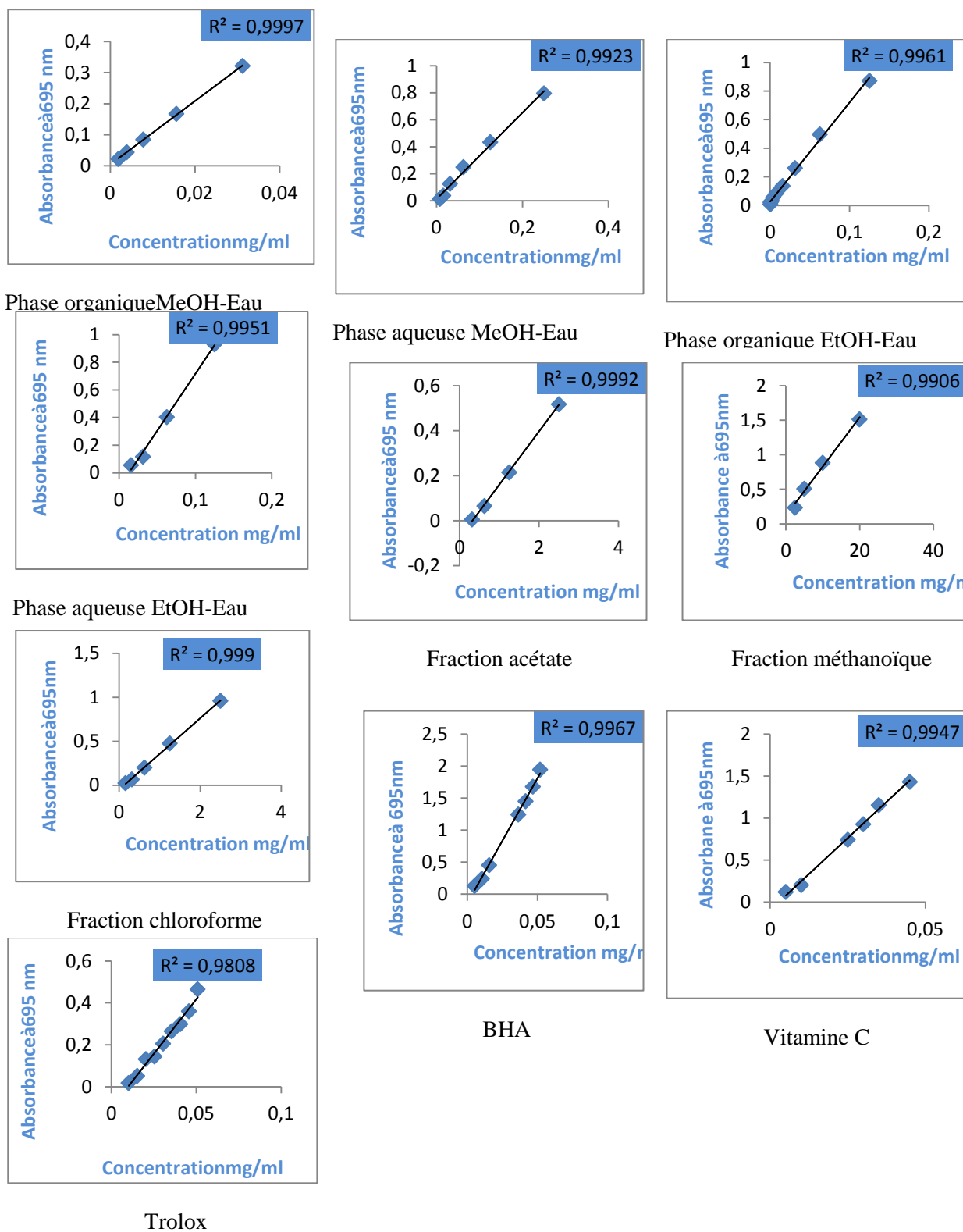


Figure 40 : Les Absorbance en fonction de la concentration $\text{Abs}_{\text{PPM}} = f(c)$.

المخلص:

الهدف من عملنا هو دراسة تأثير طرق الاستخلاص المختلفة على محتوى المركبات البوليفينولية والنشاط المضاد للأكسدة على مستخلصات نبات الحلحال. من أجل ذلك أجرينا ثلاث طرق استخلاص في هذه الدراسة: الاستخلاص بمذيبات متزايدة القطبية، النقع في خليط يحتوي على كحول +ماء والاستخلاص بطريقة السونيكاسيون. لوحظ من خلال النتائج المحصل عليها ان أهم مردود للمركبات البوليفينولية وجد عند المستخلصات الهيدروأثانولية المحصل عليها من طريقة الاستخلاص الثانية مع مردود 16.5٪، ومستخلصات الميثانول والاسيتات المحصل عليها من طريقة الاستخلاص الأولى والتي اعطت متوسط مردود ما بين 7.10 ٪ و 8.40٪. سجلت الاختبارات النوعية للمواد الكيميائية النباتية وجود حمض الطنطاليك والالكلويد، الصابونيين والمركبات المرجعة بكميات كبيرة في الأجزاء الثلاثة (الكلوروفورم ، الاساتات والميثانول). كما اظهر تقييم المحتوى الإجمالي للبوليفينولات والفلافونويدات كميات عالية على مستوى مستخلصات الميثانول تليها مستخلصات السونيكاسيون. اما تقييم النشاط المضاد للأكسدة بالمقارنة ببعض المواد القياسية اعطى نفس تصنيف جميع المستخلصات بالطرق المستخدمة لقياس النشاط المضاد للأكسدة (DPPH، ABTS، FRAP، phosphomolybdate). حيث اظهرت نلثة الحلحال قيمة متوسطة النشاط المضاد للأكسدة و الذي ظهر في مستخلصات الميثانول و الايتانول كما تعتبر طريقة الاستخلاص بخليلط كحول +ماء أفضل طريقة لاستخلاص المركبات النشطة في نبتة الحلحال.

كلمات البحث: تقنيات الاستخراج، مركبات الفينول، الحلحال، DPPH، ABTS، FRAP، phosphomolybdate.

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence des différentes méthodes d'extraction sur les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits de *Lavandula Stoechas* -L. Trois méthodes d'extraction ont été réalisées dans cette étude : L'extraction par des solvants de polarités croissantes, La macération dans des mélanges hydro-alcooliques et l'extraction par sonication. Le rendement des polyphénols le plus important est observé chez l'extrait hydroéthanoïque de la deuxième méthode d'extraction avec un rendement de 16.5%, et chez les fractions méthanoïques et acétiques de la première méthode d'extraction qui présentent des rendements moyennes variés entre 7.10% et 8.40%. L'analyse qualitative par les tests phytochimiques a marqué la présence des tanins, des alcaloïdes, des saponosides et des composés réducteurs en quantités importantes dans les trois fractions (Chloroforme, Acétate et méthanol). L'évaluation du contenu des polyphénols totaux et des flavonoïdes a révélé que la teneur la plus élevée est celle enregistrée aux fractions méthanoïques suivies par l'extrait de L-SC obtenu respectivement par la première et la deuxième méthode d'extraction. L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et des quelques antioxydants standard pris comme références (vitamine C, Trolox, et BHA) donne le même classement d'activité par les quatre méthodes utilisées (DPPH, ABTS, FRAP, Phosphomolybdate). *Lavandula Stoechas*-L ont des activités antioxydantes moyennes, en particulier l'extrait de la phase aqueuse (d'extrait éthanoïque) et l'extrait de la phase organique (d'extrait méthanoïque). L'extraction par macération dans un solvant hydroalcoolique (Méthanol/eau, Ethanol/eau) est la meilleure méthode utilisée pour extraire les composés phénoliques *actifs* du matériel végétal bien que son faible rendement marqué.

Mots clés : Technique d'extraction, Composés phénoliques, *Lavandula Stoechas* -L, DPPH, ABTS, FRAP, Phosphomolybdate.

Abstract:

The objective of our work is to study the influence of different extraction methods on polyphenol contents and antioxidant activity of the extracts of *Lavandula Stoechas* -L. Three methods of extraction were carried out in this study: The extraction with solvents of increasing polarity, maceration in hydroalcoholic mixtures and extraction by sonication. The yield of the most important polyphenols was observed in the extract hydroéthanoïque the second extraction method with an 16.5% yield, and in-methane and acetic fractions of the first extraction method which have average yields varied between 7.10 % and 8.40%. Qualitative analysis by phytochemicals tests scored the presence of tannins, alkaloids, saponins and reducing compounds in significant quantities in the three fractions (Chloroform, acetate and methanol). The evaluation of the content of total polyphenols and flavonoids found that the higher content is that the recorded-methane followed by fractions of the extract L-SC respectively obtained by the first and second extraction method. Evaluation of antioxidant phenolic extracts and some standard antioxidants taken as references (vitamin C, Trolox, and BHA) gives the same activity classification by the four methods used (DPPH, ABTS, FRAP, phosphomolybdate). *Lavandula Stoechas*-L have average antioxidant activity, in particular extracted from the aqueous phase (extract Ethanoic) and extract the organic phase (extract methanoic). The extraction by maceration in an alcoholic solvent (methanol / water, ethanol / water) is the best method to remove phenolic active compounds of plant material that marked its low performance.

Keywords: Extraction Technique, Phenolic compounds, *Lavandula Stoechas* -L, DPPH, ABTS, FRAP, phosphomolybdate.