



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**Université Amar Thelidji- Laghouat**

**FACULTE : TECHNOLOGIE**

**DEPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS**

## **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : Rabhi Anfal**

**DOMAINE : Sciences et Technologies**

**FILIERE : Génie des Procédés**

**OPTION : Procédés Pharmaceutiques**

### **Thème**

**Optimisation multivariable de l'extraction assistée par ultrasons pour la détermination des composés phénoliques et antioxydants des feuilles de *Spergula rubra* L**

### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
ABDELMOIZE Ahmed	MCB	Président
MERIGUI Khaled	MAA	Examineur
MECHRAOUI Omar	MCA	Encadreur
GUNNANE Wissam	Doctorante	Co-Encadreur

**Promotion : 2024\_2025**

ملخص: يتناول هذا العمل تحسين استخلاص المركبات الفينولية، خاصة البوليفينولات، من الأجزاء الهوائية لنبات *Spergula rubra* باستخدام الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية. بعد دراسة نظرية للنبات ومركباتها الفينولية، أجريت تجارب وفق تصاميم Box-Behnken لتحديد الظروف المثلى. تم تقييم المستخلصات الناتجة من حيث نشاطها المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH. أظهرت النتائج أن الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية يزيد بشكل ملحوظ من مردود البوليفينولات ونشاطها المضاد للأكسدة، مما يؤكد أهمية هذه النبتة في التطبيقات الصيدلانية والتجميلية. **الكلمات المفتاحية:** سبيرغويولا روبرا، الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية، البوليفينولات، مضادات الأكسدة، تصاميم بوكس-بيهنكن.

**Memory title: Multivariable Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction for the Determination of Phenolic and Antioxidant Compounds from *Spergula rubra L.* Leaves**

Name: Rabhi

First name: Anfal

Directed by: O.Mechraoui

**Abstract:** This thesis focuses on optimizing the extraction of phenolic compounds, particularly polyphenols, from the aerial parts of *Spergula rubra L.* using ultrasound-assisted extraction (UAE). Following a literature review on the plant and its phenolic compounds, experiments were conducted using Box-Behnken designs to identify optimal conditions. The obtained extracts were evaluated for their antioxidant activity through the DPPH assay. Results show that UAE significantly enhances both polyphenol yield and antioxidant activity, confirming the potential of this plant for pharmaceutical and cosmetic applications.

**Keywords:** *Spergula rubra*, ultrasound-assisted extraction, polyphenols, antioxidants, Box-Behnken designs.

**Titre de mémoire :** Optimisation multivariable de l'extraction assistée par ultrasons pour la détermination des composés phénoliques et antioxydants des feuilles de *Spergula rubra L.*

Nom : Rabhi

Prénom : Anfal

Encadreur : O.Mechraoui

**Résumé** Ce mémoire porte sur l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques, notamment les polyphénols, à partir des parties aériennes de *Spergula rubra L.* en utilisant l'extraction assistée par ultrasons (EAU). Après une synthèse bibliographique sur la plante et les composés phénoliques, des expériences ont été menées selon des plans Box-Behnken afin de déterminer les conditions optimales. Les extraits obtenus ont été évalués pour leur activité antioxydante par le test DPPH. Les résultats montrent que la technique EAU améliore significativement le rendement en polyphénols et l'activité antioxydante, confirmant l'intérêt de valoriser cette plante dans des applications pharmaceutiques et cosmétiques.

**Mots clés :** *Spergula rubra*, extraction assistée par ultrasons, polyphénols, antioxydants, plans Box-Behnken

## ***Remerciement***

*Au terme de ce travail, je rends d'abord grâce à **Allah**, Le Tout-Puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce mémoire.*

*Je remercie de tout cœur Monsieur **Omar Mechraoui**, mon encadrant, pour sa confiance, ses conseils et son soutien tout au long de ce mémoire.*

*Je tiens aussi à remercier Mademoiselle **Wissam Guenane**, ma co-encadrante, pour son aide précieuse, sa gentillesse et son accompagnement. Elle m'a beaucoup soutenue, et je lui suis très reconnaissante.*

*Un grand merci à Madame **Sarah Boukhalkhal**, ma professeure et cheffe d'option, pour son soutien, sa bienveillance et ses encouragements.*

*Je remercie également **tous les enseignants du département de Génie des Procédés à l'Université Ammar Telidji – Laghouat** pour tout ce qu'ils m'ont appris pendant mes années d'études.*

*Je tiens aussi à remercier **les membres du jury** pour avoir accepté d'évaluer mon mémoire et pour l'intérêt qu'ils portent à mon travail Monsieur **ABDELMOUIZ Ahmed**, président du jury, je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de présider cette soutenance et de consacrer de votre temps à l'étude de mon travail. Monsieur **MERIGUI Khaled**, examinateur, je vous remercie pour l'attention que vous porterez à ce mémoire et pour vos remarques constructives.*

*Enfin, je remercie ma famille, surtout ma mère et mon père pour leur amour, leurs prières et leur soutien constant. Merci aussi à ma sœur et mes deux frères, pour leur présence et leurs encouragements.*

## *Dedicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ma chère mère **BENYAMINA Khadidja**, pour son amour inconditionnel, ses prières, ses sacrifices silencieux et son soutien sans faille.*

*A mon père **Hamza**, pour sa patience, sa force, sa confiance et ses encouragements constants.*

*A ma grand-mère **MERIGUI Massouda**, dont l'affection, la sagesse et les prières m'accompagnent depuis toujours.*

*A ma sœur **Bouchra**, mon pilier et ma complice, toujours présente dans les moments de doute et de joie.*

*A mes deux frères, **Lakhdar et Mahdi**, pour leur présence rassurante, leurs sourires et leur soutien moral.*

*A toute ma famille **Rabhi et Benyamina**, pour leur amour, leurs encouragements et leur présence bienveillante.*

*A tous ceux qui, de près ou de loin, ont cru en moi.*

*Merci du fond du cœur.*

## Liste des abréviations

---

EAU	Extraction Assistée par Ultrasons
IC <sub>50</sub>	Concentration inhibitrice à 50 %
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)
RSM	Response Surface Methodology (Plans de surfaces de réponse)
SOD	Superoxyde Dismutase
GPx	Glutathion Peroxydase
IC <sub>50</sub>	Concentration inhibitrice 50 %
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
μL / mg	Microlitre / Milligramme
MS	Matière Sèche
EAG	Équivalent Acide Gallique
UV-Vis	Ultraviolet-Visible (spectrophotométrie)
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonate de sodium

## Liste des figures

---

### Chapitre I : Synthèse bibliographie

<b>Figure I.1</b> : Photo de la plante <i>Spergula rubra</i> L.....	12
<b>Figure I.2</b> : Groupements Phénoliques de 1 ou Plusieurs OH.....	15
<b>Figure I.3</b> : Quelques exemples des acides hydroxy benzoïques.....	17
<b>Figure I.4</b> : Quelques exemples des acides hydroxy-cinnamiques.....	17
<b>Figure I.5</b> : Structure générale d'un flavonoïde (C6-C3-C6).....	18
<b>Figure I.6</b> : Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.....	18
<b>Figure I.7</b> : Structure des tanins hydrolysables.....	19
<b>Figure I.8</b> : Structure des tanins condensés.....	19
<b>Figure I.9</b> : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs.....	24

### Chapitre II : Partie expérimentale

<b>Figure II.1</b> : Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail.....	29
<b>Figure II.2</b> : les échantillons visés à préparés.....	31
<b>Figure II.3</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	32
<b>Figure II.4</b> : Courbe d'étalonnage de la rutine.....	32
<b>Figure II.5</b> : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.....	33

## Liste des tableaux

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>Tableau I.1</b> : Principales classes des composés phénoliques.....	16
<b>Tableau I.2</b> : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées ...	21
<b>Tableau I.3</b> : Différents types des plans d'expériences.....	23

### Chapitre II : Partie expérimentale

<b>Tableau II.1</b> : Produits Chimiques et Instruments.....	30
<b>Tableau II.2</b> : équipements utilisés.....	30

### Chapitre III : Résultats et discussion

<b>Tableau III.1</b> : Teneurs en phénols totaux de <i>Spergula rubra</i> L.....	36
<b>Tableau III.2</b> : Teneur en flavonoïdes de <i>Spergula rubra</i> L.....	38
<b>Tableau III.3</b> : valeurs d'IC <sub>50</sub> trouvées pour l'extrait de <i>Spergula rubra</i> L et les standards de test de DPPH.....	40

## Sommaire

Résumé	
Remerciement	
Dédicace	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	09

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur la plante étudiée.....	12
I.1. Plante <i>Spergula rubra</i> L.....	12
I.2. Composés Phénoliques (POLYPHÉNOLS).....	15
I.2.1. Différentes classes des polyphénols.....	15
I.3. Antioxydants synthétiques.....	20
I.3.1. Définition d'un Antioxydant .....	20
I.3.2. Radical libre.....	22
I.3.3. Stress oxydatif.....	22
I.3.4. Mécanisme d'action des Antioxydants.....	22
I.4 Plans d'expériences .....	23
I.4.1 Définition d'un plan d'expérience.....	23
I.4.2. Plans de surfaces et de réponse (RSM).....	24
I.4.3 Plans de Box-Behnken.....	24
Référence .....	26

### Chapitre II : Partie expérimentale

II.1. Matériels et Méthodes .....	29
II.2. Produits Chimiques et Instruments .....	30
II.3. Préparation des échantillons .....	30
II.4. Extraction des composés phénoliques .....	31
II.4.1. Dosage de polyphénols totaux .....	31
II.4.2. Dosage de flavonoïdes.....	32
II.5. Évaluation de l'activité antioxydante .....	33
II.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	33

### Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Dosage de polyphénols totaux.....	36
III.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	37
III.3. Activité antioxydante.....	39
III.3.1. Test de Piégeage du Radical DPPH.....	39

### Conclusion

Conclusion .....	43
------------------	----

# Introduction générale

---

Les composés phénoliques, ou polyphénols, sont une vaste classe de métabolites secondaires végétaux reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses (Scalbert et al., 2005). L'intérêt croissant pour ces composés dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire stimule la recherche de méthodes d'extraction plus efficaces, respectueuses de l'environnement et économiquement viables.

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est une technique verte qui s'impose comme une alternative prometteuse aux méthodes d'extraction conventionnelles telles que la macération ou la Soxhlet. Cette méthode repose sur le phénomène de cavitation acoustique généré par les ondes ultrasonores, qui améliore la perméabilité des membranes cellulaires et favorise la libération des composés bioactifs dans le solvant (Chemat et al., 2017). L'optimisation des paramètres opératoires tels que la puissance ultrasonore, le temps d'extraction, la température, la concentration en solvant et le rapport solvant/matière est essentielle pour maximiser le rendement en polyphénols.

La plante *Spergula rubra*, appartenant à la famille des Caryophyllaceae, est une espèce herbacée souvent négligée malgré son potentiel médicinal. Certaines études préliminaires suggèrent que cette plante contient divers métabolites secondaires, notamment des flavonoïdes et des composés phénoliques, susceptibles d'avoir une activité biologique intéressante (Adhikari et al., 2015). Cependant, peu de travaux ont été consacrés à l'extraction ciblée de ses polyphénols, en particulier par des méthodes innovantes telles que l'ultrasonication.

Dans ce contexte, notre étude vise à optimiser les conditions d'extraction des polyphénols à partir de *Spergula rubra* en utilisant la technique d'extraction assistée par ultrasons. Cette démarche s'inscrit dans une volonté d'exploiter durablement les ressources végétales locales tout en valorisant une plante encore peu étudiée sur le plan phytochimique.

Le plan adopté pour explorer cet objectif est subdivisé en trois grandes parties, dont la première est une **synthèse bibliographique** mettant au point les feuilles de *Spergula rubra L.*, son aspect nutritionnel et son utilisation, les polyphénols et leurs implications dans divers domaines ainsi que des notions de plans d'expériences et leurs diversités.

La deuxième **partie expérimentale** mettant au point le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction, le dosage chimique et l'étude de l'activité antioxydante par le test DPPH, et ensuite la présentation des résultats obtenus et leurs discussions avant de finaliser par une conclusion et perspectives.

# Synthèse bibliographique

---

## I. Généralités sur la plante étudiée

### I.1. Plante *Spergula rubra* L :

#### A. Description botanique de *Spergula rubra* L. :

*Spergula rubra* L., communément appelée **spergule rouge**, est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des **Caryophyllaceae**. Elle est largement répartie en Europe, en Afrique du Nord, en Asie tempérée et en Amérique du Nord, et pousse principalement dans les sols sableux, pauvres et acides, souvent en milieux ouverts tels que les prairies, les landes et les bords de chemins.

##### a) Morphologie générale :

Plante herbacée de petite taille, généralement de 5 à 30 cm de hauteur. Ces **Tiges** sont grêles, dressées ou ascendantes, souvent ramifiées dès la base. Elles sont cylindriques, vertes à rougeâtres et parfois poilues. (Figure 1). Les **Feuilles** verticillées par groupes de 5 à 10, très fines (filiformes), linéaires, ressemblant à des aiguilles. Elles mesurent environ 1 à 3 cm de long. Porte des **Stipules** membraneuses, blanches, ciliées, très visibles à la base des verticilles foliaires.



Figure I.1 : Photo de la plante *Spergula rubra* L. (Native Plant Trust)

##### b) Composition chimique

- **Les polyphénols :**

La plante *Spergula rubra* L. est riche en composés phénoliques, notamment en polyphénols totaux, qui jouent un rôle essentiel dans ses propriétés antioxydantes. Parmi les principaux polyphénols identifiés figurent l'acide gallique, l'acide caféique et l'acide férulique, connus pour leur activité radicalaire. Ces composés sont majoritairement extraits à l'aide de solvants polaires comme le méthanol ou l'éthanol.

La teneur en polyphénols varie selon la partie de la plante utilisée et les conditions d'extraction. Cette richesse confère à *Spergula rubra* un potentiel pharmacologique intéressant, notamment dans les domaines de la santé et de la cosmétique. Plusieurs études ont confirmé cette composition, soulignant son intérêt en tant que source naturelle d'antioxydants (Tůmová et al., 2019).

- **Les flavonoïdes :**

La **teneur en flavonoïdes** de *Spergula rubra* L., une plante herbacée appartenant à la famille des Caryophyllaceae, a fait l'objet de plusieurs études en raison de ses propriétés biologiques potentielles. Les flavonoïdes sont des composés phénoliques largement impliqués dans les activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes des plantes médicinales. Chez *Spergula rubra*, plusieurs flavonoïdes ont été identifiés, notamment des dérivés du kaempférol, de la quercétine et de l'apigénine. Selon une étude de Wollenweber et al. (2000), des flavonoïdes méthoxylés ont été isolés à partir des parties aériennes de la plante, ce qui est relativement rare et confère une stabilité chimique accrue aux composés. En outre, une étude chromatographique réalisée par Vogl et al. (2013) a révélé une teneur significative en flavonoïdes totaux, exprimée en équivalents de quercétine, atteignant environ **12,5 mg/g d'extrait sec** dans certaines fractions méthanoliques. Cette richesse en flavonoïdes soutient l'usage traditionnel de la plante dans les médecines populaires pour traiter des affections inflammatoires et digestives. Toutefois, la composition peut varier en fonction des conditions écologiques, du stade de développement de la plante et du sol, comme le rappellent Harborne & Williams (2000) dans leur analyse des facteurs influençant la biosynthèse des flavonoïdes chez les plantes vasculaires.

- **Les tanins :**

La plante *Spergula rubra* L., appartenant à la famille des Caryophyllaceae, est connue pour sa richesse en composés phénoliques, notamment les tanins, bien que ces derniers soient moins étudiés comparativement à d'autres métabolites secondaires de la plante. Plusieurs études phytochimiques ont révélé la présence de tanins condensés (proanthocyanidines) dans les extraits aqueux et hydroalcooliques des parties aériennes de *S. rubra*. Ces tanins jouent un rôle important dans les défenses de la plante contre les herbivores et les agents pathogènes, en plus de conférer des propriétés antioxydantes notables. Une analyse réalisée par Hegnauer (1973) mentionne la présence de tanins chez plusieurs espèces de Caryophyllaceae, dont *Spergula*, bien que la quantification exacte chez *S. rubra* reste peu documentée. Des études plus récentes sur les plantes de genres proches (comme *Spergula arvensis*) montrent des teneurs en tanins allant de 2 à 5 % du poids sec selon la méthode de

Folin-Ciocalteu (Mandalari et al., 2010), ce qui suggère un potentiel similaire chez *S. rubra*. Toutefois, des analyses chromatographiques spécifiques (HPLC-DAD ou LC-MS) seraient nécessaires pour identifier et quantifier précisément les tanins présents. Cette richesse en tanins confère à *S. rubra* un intérêt pharmacologique, notamment pour ses effets astringents, antioxydants et potentiellement antimicrobiens.

- **Les alcaloïdes :**

Certaines recherches ont mis en évidence la présence de composés alcaloïdiques dans ses parties aériennes. Les analyses phytochimiques menées par Raal et al. (2009) ont permis d'identifier des traces d'alcaloïdes totaux dans les extraits méthanoïques de la plante, en particulier dans les feuilles et les tiges. En outre, une étude comparative réalisée par Novák et al. (2005) sur différentes espèces de Caryophyllaceae a révélé que *Spergula rubra* contient des alcaloïdes de type indolique et pyrrolidinique en faible concentration, généralement inférieure à 0,05 % de matière sèche. Cette faible teneur suggère que les alcaloïdes, bien que présents, ne sont probablement pas les principaux constituants bioactifs de la plante, mais peuvent contribuer à son activité biologique synergique avec d'autres groupes de métabolites comme les flavonoïdes et les saponines. Par conséquent, *Spergula rubra* présente un intérêt modéré en tant que source d'alcaloïdes, mais mérite des investigations approfondies, notamment par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS), pour une caractérisation plus précise de ses alcaloïdes spécifiques.

### **B. Usage traditionnel :**

*Spergula rubra* L. Elle est traditionnellement utilisée en médecine populaire pour ses propriétés diurétiques, dépuratives et anti-inflammatoires. Dans certaines régions rurales d'Europe centrale et du Maghreb, des infusions de ses parties aériennes sont administrées pour soulager les troubles urinaires, l'hypertension légère ainsi que les affections rhumatismales. Des usages ethnobotaniques signalent également son emploi comme purifiant sanguin et tonique général dans les médecines traditionnelles locales. En phytothérapie, la plante est parfois citée pour ses effets bénéfiques sur la rétention d'eau et les affections cutanées bénignes. Des études récentes ont mis en évidence la présence de composés bioactifs dans *Spergula rubra*, notamment des flavonoïdes, des saponines et des alcaloïdes, qui pourraient être à l'origine de ses effets pharmacologiques rapportés empiriquement (Uysal et al., 2016 ; Demirezer et al., 2001). Toutefois, malgré ces utilisations populaires, peu d'études scientifiques approfondies ont encore validé cliniquement son efficacité, ce qui souligne l'importance d'une exploration pharmacologique plus poussée.

## I.2. Composés Phénoliques (POLYPHÉNOLS) :

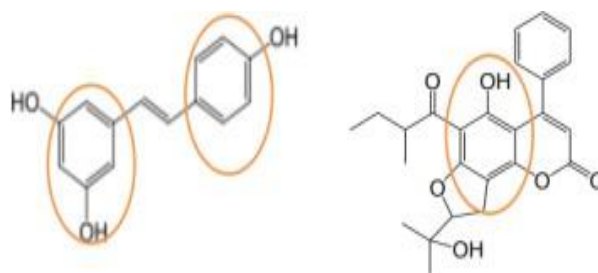
### Généralités :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. À l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées (**Ralph, 2006**).

Chaque classe est caractérisée par la présence d'un noyau benzoïque auquel un ou plusieurs groupes hydroxyles sont directement liés. (**Matkowski A., 2008**).

Les polyphénols se trouvent dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, graines, bois). Ils sont produits en réponse à des conditions stressantes (infections, blessures, rayons UV) et participent à des processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la germination et la maturation des fruits. Les principaux types sont les anthocyanes, flavonoïdes et tannins. Leur distribution dans la plante est assez homogène, et ces molécules sont stockées dans les vacuoles des cellules périphériques des épidermes. (**Labrani, 2021**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils sont caractérisés par la présence de groupements phénoliques : 1 ou plusieurs cycles aromatique (benzéniques) porteurs de 1 ou plusieurs OH.



**Figure I.2 :** Groupements Phénoliques de 1 ou Plusieurs OH. (Ishige, K., Schubert, D., & Sagara, Y. (2001).)

### I.2.1. Différentes classes des polyphénols :

Les polyphénols sont répartis en différents groupes, définis en fonction de la structure de leur squelette carboné. Les acides phénoliques (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) et surtout les flavonoïdes (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) sont les plus fréquemment retrouvés dans le règne végétal. Les lignanes (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), moins répandus. Le dernier groupe est celui des stilbènes (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) ; le

plus connu est le resvératrol, présent dans la peau du raisin. Les flavonoïdes représentent le groupe le plus vaste des polyphénols et le plus largement distribué dans le règne végétal. Plus de 4000 flavonoïdes différents ont été identifiés. Plusieurs classes de flavonoïdes sont retrouvées dans notre alimentation. Elles diffèrent par le degré d'oxydation du noyau hétérocyclique oxygéné. (Labbani, 2021).

### Classification des polyphénols :

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones. Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques. (Benhamou, N, 2012).

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes. (Achat. S, 2013).

**Tableau I.1 :** Principales classes des composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxy benzoïques	p-hydroxy benzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydrox cinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine	
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes : * Flavonols * Anthocyanes * Flavanols * Flavanones	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruit, légumes, fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes	Amentoflavone	
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	Lignines		Bois, noyaux des fruits
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés		Raisin rouge, kaki

### A) Acide phénolique :

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques.

### a) Les acides hydroxy benzoïques :

Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (Kebbab. R, 2014), dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (Nkhili Ez., 2009).

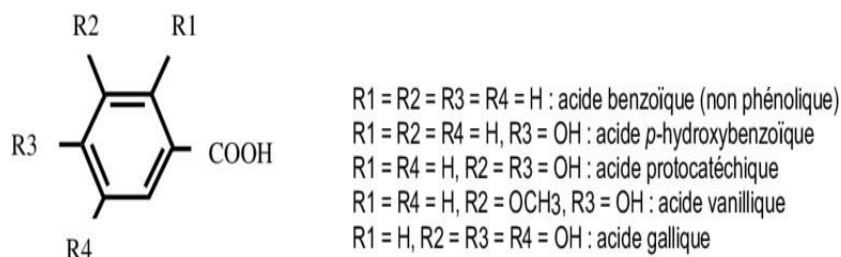


Figure I.3 : Quelques exemples des acides hydroxy benzoïques. (Techno-Science.net.)

### b) Les acides hydroxy cinnamiques :

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxy cinnamique sont l'acide caféique et l'acide férulique (Kebbab. R, 2014).

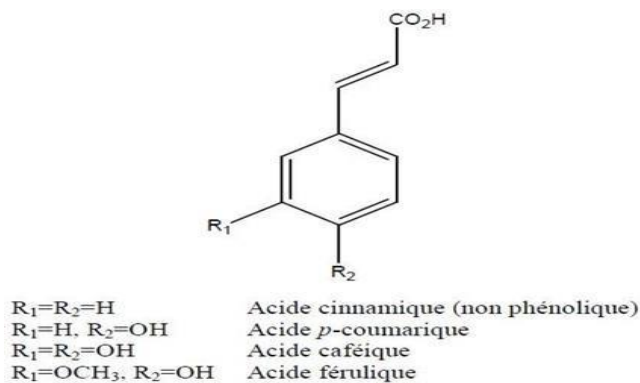


Figure I.4 : Quelques exemples des acides hydroxy-cinnamiques. (Techno-Science.net. (s. d.))

## B) Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2006), ce sont des pigments responsables à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone

Constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C<sub>6</sub> (A et B) reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (Figure 5) (Lugasi *et al*, 2003).

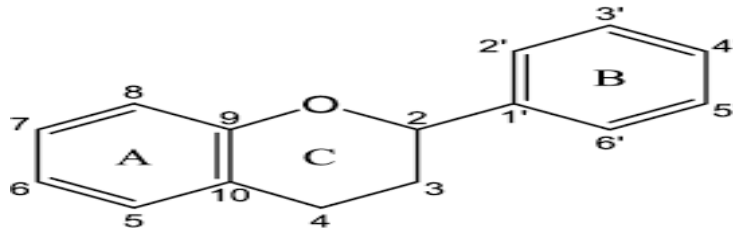


Figure I.5 : Structure générale d'un flavonoïde (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (Bruneton, J. (1999))

### C) Stilbènes :

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison formant un système conjugué. Ils sont de type C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>. Ces molécules existent sous leur forme aglycone comme le resvératrol (isomères trans et cis), qui est le principal stilbène chez la vigne, ou encore sous leur forme glycosylée (picéïdes), ou méthylée (ptérostilbènes). Le resvératrol peut également former des oligomères, tels que les viniférines (Khater, F, 2011).

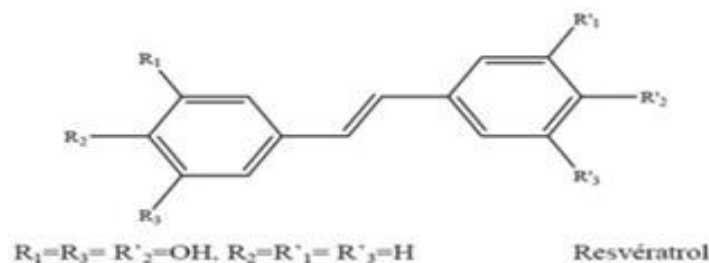


Figure I.6 : Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes (Khater, F. (2011)).

### D) Tanins :

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines (Bruneton, 1999), que l'on trouve dans des nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres et les fruits... etc. (Macheix *et al*, 2005).

On distingue deux types, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Nkhili, 2009).

#### ➤ Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables (Figure 7) sont des ester d'acide gallique ou un de ses

dérivés (acide éllagique, chébulique ou vaonique) (Haslam, 1996), par hydrolyse enzymatique où

Acide, ils donnent des sucres de l'acide gallique et ces différents dérivés parmi lesquels : l'acide ellagique est le plus importants (Djahra, 2015).

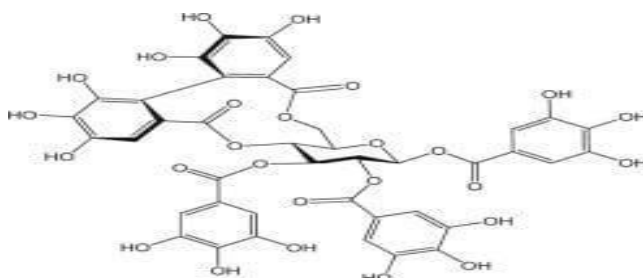


Figure I.7 : Structure des tanins hydrolysables. (Berdowska, I., Matusiewicz, M., & Fecka, I. (2021)).

### ➤ Tanins condensés :

Les tanins condensés (Figure 8) sont désignés aussi sous le nom de "tanins catéchiques" et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Haslam, 1996).

Les tanins condensés ou prothocyanidols sont des polymères flavoniques, constitués d'unités de flavon-3-ols (catéchines) liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, résultante du couplage entre le C-4 électrophile d'un flavonyle issu d'un flavon-4-ol ou d'un flavon-3,4-diol (leuco anthocyanidines) (Ribereau-Gayon., 1968). Ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune (Roux et Catier, 2007), de poids moléculaire élevé (de 1000 à 30 000) et une forte affinité pour les protéines (Jarrige *et al*, 1995). On les trouve dans la pellicule, les pépins et les rafles du raisin, ainsi que dans les parties périphériques des divers fruits ou légumes (Dacosta, 2003).

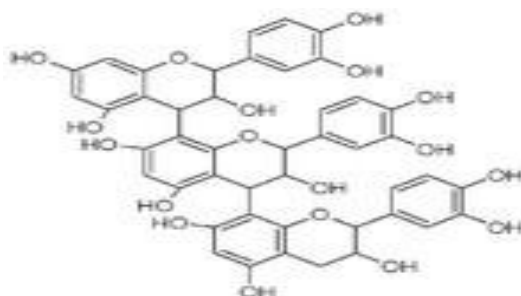


Figure I.8: Structure des tanins condensés (Wikipedia. (n.d.))

### I.3. Antioxydants synthétiques :

#### I.3.1. Définition d'un Antioxydant :

Consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaires (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les polyphénols pris lors d'un repas permettraient de lutter contre l'oxydation du mauvais cholestérol (LDL). Cela empêcherait ainsi les phénomènes à l'origine de l'obstruction des artères.

#### ➤ Les antioxydants :

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des faibles Concentrations comparées à celles d'un substrat oxydable retarde ou empêche de Manière significative l'oxydation de ce substrat. Le terme substrat oxydable englobe les Protéines, les lipides, les glucides, et l'ADN (**Cadehas et Packer, 2002**). La nature des systèmes antioxydants varie. Les défenses antioxydants de notre organisme peuvent se diviser en deux systèmes : enzymatiques et non enzymatiques.

#### ➤ Antioxydants enzymatiques :

Représentés principalement par trois enzymes :

- Le super oxyde dismutase (SOD).
- La catalase.
- La glutathion peroxydase (GPx).

#### ➤ Antioxydants non enzymatiques :

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

Ces agents piègeurs possèdent plusieurs avantages par rapport aux antioxydants enzymatiques, en particulier par leur petite taille qui leur permet de traverser la membrane cellulaire et d'atteindre facilement leurs cibles. Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

- **Vitamine E :**

Le terme générique de vitamine E désigne en fait la famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' $\alpha$ -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma chez l'homme. L' $\alpha$ -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singlet ( $O_2$ ) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ( $ROO^\bullet$ ) pour former un radical tocophéryl.

- **Vitamine C :**

L'acide L'ascorbique ou vitamine C est présent le plus couramment sous forme d'ascorbate. Il est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des anions su peroxydes, du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et de l'oxygène singlet (**Evans, 2000**). Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueuses, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et lipoprotéines.

Pour la partie d'antioxydants non enzymatiques, le tableau suivant rassemble les principaux antioxydants non enzymatiques et leurs sources alimentaires associées (Tableau 2) :

**Tableau I.2 :** Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées

<b>Principaux nutriments antioxydants</b>	<b>Sources alimentaires</b>
<b>Vitamine C</b>	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, choux, poivron
<b>Vitamine E</b>	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
<b><math>\beta</math>-carotène</b>	Légumes et fruits orangés et vert foncés
<b>Sélénium</b>	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille
<b>Zinc</b>	Viande, pain complet, légumes verts
<b>Flavonoïdes</b>	Fruits, légumes, thé vert
<b>Acides phénoliques</b>	Céréales complètes, baies, cerises
<b>Tanins</b>	Lentilles, thé, raisins, vin

### I.3.2. *Radical libre :*

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (molécule ou un atome) qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés au niveau de son orbitale externe (**Halliwelle, 1989**). Ils sont instables, très réactives et qui possèdent un temps de demi-vie extrêmement courte ( $10^{-9}$  -  $10^{-6}$  Seconde) (**Thiebault et Sprumont, 1998**). De par leur structure particulière, ils ont tendance à attirer les électrons des autres atomes et molécules pour gagner la stabilité (**Delattre et al, 2003**).

### I.3.3. *Stress oxydatif :*

Le stress oxydant, ou stress oxydatif, résulte d'une oxydation excessive dans le corps. L'oxydation est une réaction chimique entre l'oxygène et d'autres substances, libérant des radicaux libres, qui sont des molécules instables. Ces radicaux sont nécessaires au bon fonctionnement du corps, mais deviennent nuisibles en excès, endommageant les cellules et causant des problèmes de santé. Heureusement, les antioxydants présents dans le corps aident à éliminer ces radicaux libres, en ralentissant ou en empêchant l'oxydation. (**Breton, laboratoire lescuyer, 2021**).

### I.3.4. *Mécanisme d'action des Antioxydants :*

Les antioxydants agissent contre l'oxydation de deux manières principales : soit en protégeant les lipides contre les initiateurs de l'oxydation, soit en interrompant la propagation de la chaîne d'oxydation. (**Léger, C.I. 2006**).

Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs empêchent ou piègent la formation des dérivés réactifs de l'oxygène responsables de l'initiation de l'oxydation. Dans le second cas les antioxydants dits briseurs de chaînes arrêtent les radicaux propagateurs de l'oxydation. (**Laguerre et al., 2007**).

Les antioxydants phénoliques d'origine végétale consommés par l'homme permettent de compléter l'action des antioxydants endogènes. Leurs capacités à céder un électron permet de lutter contre les espèces actives de l'oxygène, les espèces réactives de l'azote et de rétablir le potentiel antioxydant des vitamines A, E et C. (**Bahri. M, 2010**).

## I.4 Plans d'expériences :

### I.4.1 Définition d'un plan d'expérience :

Le plan d'expérience est une technique qui permet de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse dans des domaines expérimentaux bien déterminés dans le but de les optimiser (**Fadil et al., 2015**). L'élaboration d'un plan d'expérience commence par l'extraction d'un nombre suffisant de combinaisons à partir du domaine d'étude, pour estimer avec une incertitude, à la fois minimale mais aussi homogène, les coefficients du modèle polynomiale en respectant les contraintes qui peuvent être liées à l'étude quel soit technique ou bien économique (**Rabier, 2007**).

Il existe différents types des plans d'expériences, qui peuvent être regroupés en deux grandes familles (**Goupy, 1999**) :

**Tableau I.3** : Différents types des plans d'expériences.

Plans de criblage	Plans de modélisation
Plans à un facteur à la fois	Plans factoriels complets
Plans factoriels fractionnaires	Plans non conventionnels
Plans sursaturés	Plans composites centré
Plans factoriels complets	Plans de Doehlert
/	Plans de Box-Behnken
/	Plans de Roquemore
/	Plans D-optimaux
/	Plans de mélange
	Plan de plaquette et Burmane

### ➤ Terminologie

**La réponse** : Une réponse consiste à une quantification des performances du système étudié (**Benoits et al., 1994**).

**Les facteurs** : les paramètres que l'on fait varier au cours des essais sont censés influencer sur la variation de la réponse (les variables que l'on désire étudier) (**Goupy, 2006**).

**Domaine d'un facteur** : Un facteur varie généralement entre deux bornes à savoir : la borne inférieure et la borne supérieure. Dans les plans d'expériences, un facteur varie entre le niveau bas (borne inférieure notée le plus souvent par -1) et le niveau haut (borne supérieure notée le plus souvent par +1), L'ensemble des valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau

bas et le niveau haut, est appelé domaine d'un facteur ou bien domaine de variation (**Annexe B**) (**Goupy, 2006**).

**Domaine d'étude** : Un seul facteur est représenté par un axe orienté, et s'il y a deux facteurs, le second est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. Ce dernier est disposé orthogonalement au premier, la réunion des domaines de variations de chaque facteur définit le domaine d'étude (**Annexe B**) (**Goupy, 2006**).

**Interaction** : L'effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs. L'interaction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur (**Karam, 2004**).

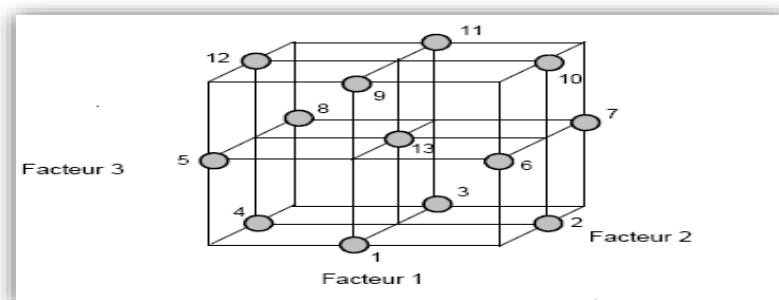
**Matrice d'expérience** : Une matrice d'expérience (**Annexe B**) définit les essais à réaliser. Le terme essai est l'équivalent de point d'expérience lorsque l'on emploie la représentation en tableau des plans d'expérience. Plusieurs autres appellations existent pour désigner un essai : traitement, combinaison, expérience...etc (**Goupy, 1999**).

#### *1.4.2. Plans de surfaces et de réponse (RSM) :*

Les plans de surface de réponse, ou plans de seconde degré (**Goupy, 2006**), est une méthode d'optimisation qui a pour principal but l'évaluation des relations pouvant exister entre les différentes réponses, ainsi que les facteurs appelés ( $X_1$   $X_2$   $X_3$  ... etc). Plusieurs plans factoriels sont employés par cette technique pour l'analyse des résultats à savoir le plan Box-Behnken et le plan composite centré (**Pengpeng, 2014**).

#### *1.4.3 Plans de Box-Behnken:*

Les points expérimentaux du plan Box-Behnken sont représentés au milieu des arêtes de chacun des côtés d'un cube. C'est un plan qui peut comporter jusqu'à douze essais, auxquels on peut ajouter des points au centre. Un plan avec trois facteurs est illustré dans la figure suivante (**Goupy, 2006**) :



**Figure I.9** : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs. (Goupy, J. (2006))

➤ Modèle mathématique postulé :

Une loi d'évolution générale est donnée lors de l'absence de toute information concernant la fonction qui met en relation la réponse aux facteurs, elle est du type :

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, \dots, X_n)$$

Etant trop générale, il en est d'usage de prendre un développement limité de Taylor-Marc Laurin. Le développement précédent prend la forme d'un polynôme de degré plus au moins élevé si les dérivés sont considérés comme des constantes, elle s'écrit :

$$Y = a_0 + \sum a_{1i} x_i + \sum a_{2ij} x_i x_j + \sum a_{3ii} x_i^2 + \dots + e$$

On a :

$Y$  : c'est la réponse ou grandeur d'intérêt ;

$x_i$  : représente un niveau du facteur  $i$  ;

$x_j$  : représente un niveau de facteur  $j$  (Harris et Hopkinson, 1976).

$a_0, a_{1j}, a_{2ij}, a_{3ii}$  : sont les coefficients du polynôme (Goupy et Creighton, 2001).

$e$  : L'erreur.

## **Références Bibliographiques**

- Adhikari, B. M., Bajracharya, A., & Shrestha, A. K. (2015). Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of wild and cultivated fruits of *Spergula rubra*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(5), 152–160.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *A review. Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- Ishige, K., Schubert, D., & Sagara, Y. (2001). *Free Radical Biology and Medicine*, 30(4), 433–446
- Zheng, L., et al. (2021). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(3), 985-995.
- Tůmová, L., et al. (2019). "Secondary metabolites of *Spergula rubra* and their biological significance". *Natural Product Communications*, 14(2): 1–7.
- Native Plant Trust. (n.d.). *Spergularia rubra* [Photographie]. Go Botany <https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/spergularia/rubra/>
- Raal, A., Orav, A., Arak, E. (2009). *Phytochemical screening of several Caryophyllaceae species*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(2), 216–217. <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9311-0>
- Novák, J., Doležal, K., Strnad, M. (2005). *Quantitative analysis of plant hormones and alkaloids in selected species of Caryophyllaceae*. *Biologia Plantarum*, 49(4), 531–537. <https://doi.org/10.1007/s10535-005-0052-z>.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Paris : Lavoisier.
- Hegnauer, R. (1973). *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Band 6. Birkhäuser Verlag, Basel.

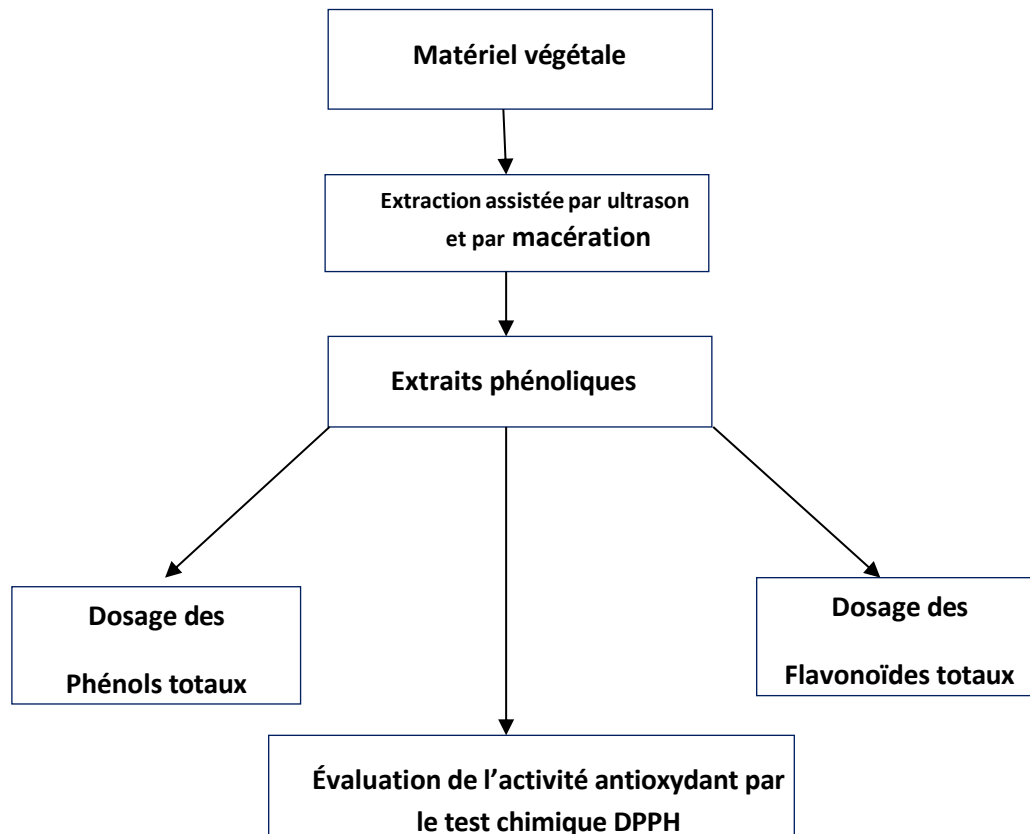
- Mandalari, G., Tomaino, A., Arcoraci, T., Martorana, M., Turco, V. L., Cacciola, F., ... & Bisignano, G. (2010). Polyphenol composition and antioxidant activity of extracts from *Spergula arvensis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6273–6279.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer.
- Berdowska, I., Matusiewicz, M., & Fecka, I. (2021). *The structure of punicalagin and its derivatives* [Figure with molecular structure and pomegranate image]. In *Punicalagin in Cancer Prevention—Via Signaling Pathways Targeting. Nutrients*, XX(X), page. CC BY
- Techno-Science.net. (s. d.). *Acide-phénol – Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque*. <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Acide-phenol.html> (consulté le 12 juillet 2025)
- Goupy, J. (2006). *Plans d'expériences pour surfaces de réponse* (2e éd.). Paris : Dunod.
- **Wikipedia. (n.d.)**. *Chemical structure of procyanidin C1* [Image]. Wikimedia Commons. Retrieved [date], from [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Procyanidin\\_C1.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Procyanidin_C1.svg)
- Wollenweber, E., Dörr, M., & Wehde, H. (2000). Flavonoid methyl ethers from *Spergula rubra*. *Phytochemistry*, 53(7), 841–843. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00570-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00570-4)
- Vogl, S., Picker, P., Mihaly-Bison, J., Fakhrudin, N., Atanasov, A. G., Heiss, E. H., ... & Saukel, J. (2013). Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine—an unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(3), 750–771. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.06.007>
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)
- **CHIMACTIV. (n.d.)**. Détermination de l'activité antioxydante par le test DPPH° [Illustration du mécanisme radicalaire : DPPH• (violet) → DPPH–H (jaune)]. Chimactiv – AgroParisTech. Consulté le 12 juillet 2025, sur <https://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe>

# Partie expérimentale

---

### ***II.1. Matériels et Méthodes :***

Notre travail de recherche est réalisé au niveau du laboratoire de génie des procédés de l'université Amar Thelidji de Laghouat, l'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme illustré l'organigramme suivant :



**Figure II.1 :** Organigramme expliquant les différentes étapes dans ce travail

## II.2. Produits Chimiques et Instruments :

L'ensemble des Produits Chimiques et Instruments utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau suivant :

**Tableau II.1 : Produits Chimiques et Instruments**

Produit	Marque
Methanol (CH <sub>3</sub> -OH)	SIGMA-ALDRICH
Ethanol (C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O)	SIGMA-ALDRICH
Folin-Ciocalteu	SIGMA-ALDRICH
Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	SIGMA-ALDRICH
Mono molybdate d'ammonium (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	BIOCHEM
Acide ascorbique (vitamin C)	ANALAR NORMAPUR
Rutine	SIGMA-ALDRICH
Chlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )	MERCK
DPPH (C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> )	ALADRICH

**Tableau II.2 : équipements utilisés**

Instrument	Marque
Chauffe-ballon	VELP
Spectrophotomètre UV-vis	SHIMADZU
Etuve	Memmert
Balance électrique	KERN ABS
Moulin à café	Moulinex
Micropipette	EASY
Bain-marie	Memmert
Micropipette	Socorex

## II.3. Préparation des échantillons :

Les échantillons de la partie arienne de *Spergula rubra* L ont été récoltés de la région Aflou (Wilaya de Laghouat) durant les premières semaines de mois Janvier 2025. La partie aérienne a été séchés à l'ombre et à l'abri de l'humidité à température ambiante pendant quelque jour. Une fois séchées la plante a été réduite en poudre puis soumise à l'extraction.

### II.4. Extraction des composés phénoliques :

Le protocole d'extraction des polyphénols à partir de poudre de *Spergula rubra* L est basé sur la méthode conventionnelle de macération et la méthode d'extraction assistée par Ultrason (solide /liquide). L'extraction assistée par Ultrason a été réalisée à 45 °C dans un bain à ultrasons (mod. AU-65 ; ArgoLab, Carpi, Italie), constitué d'un récipient en acier inoxydable (capacité maximale : 6 500 ml). L'influence de certains paramètres sur l'efficacité d'extraction des composés bioactifs de la poudre de *Spergula rubra* L et l'optimisation des conditions d'extraction des phénols ont été étudiées par plan d'expérience, à l'aide du logiciel minitab17 Statistical. Les facteurs suivants ont été pris en compte:

- La quantité de la matière sèche, avec des valeurs comprises entre 2g et 6 g
- Le temps de l'extraction par ultrason : facteur varie entre 5min.
- La puissance fixée sur le bain marie ultrasonique : ce facteur est compris entre 40 et 100 w

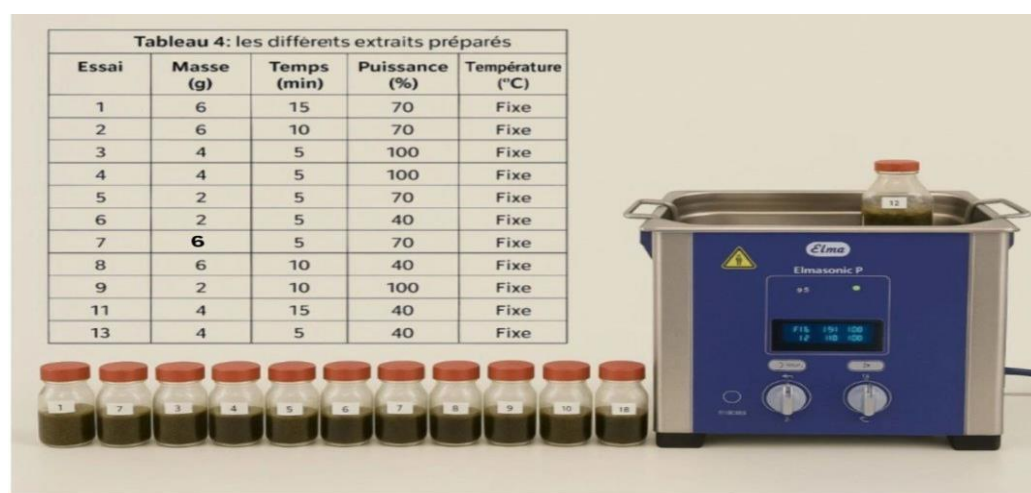
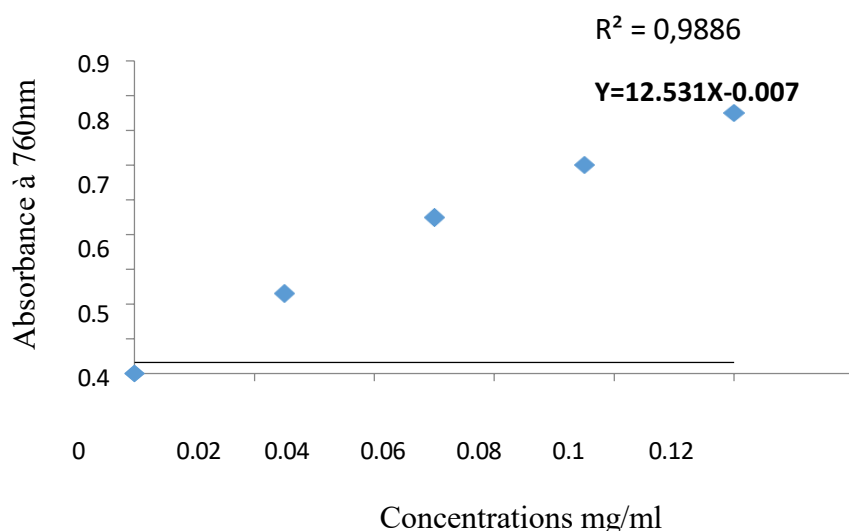


Figure II.2 : les échantillons visés à préparés

#### II.4.1. Dosage de polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Spergula rubra* L a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Li *et al*, 2007). On met 100 ml d'extrait de *Spergula rubra* L et l'acide gallique sont mélangés avec 200 ml du réactif Folin-Ciocalteu à 10 % et 2 ml d'eau distille, après 2 min on ajoute 1ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5% (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV-visible.

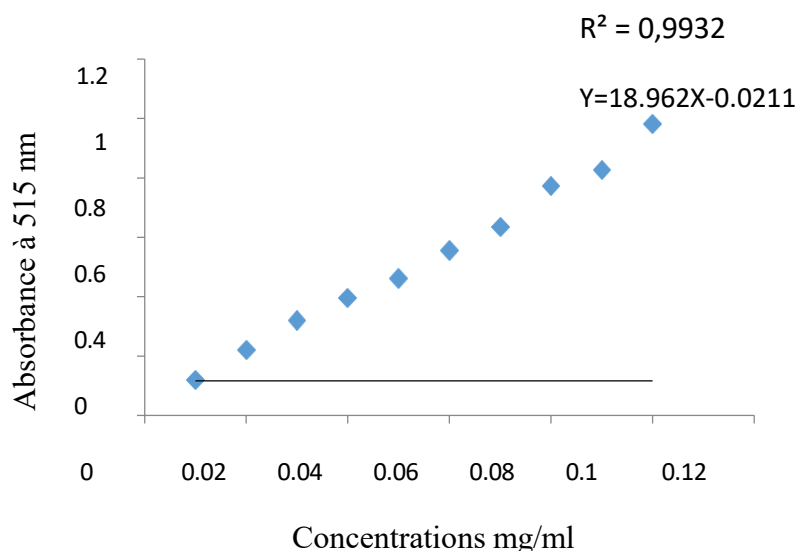
Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (**mg EAG/g MS**). En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence



**Figure II.3** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

#### II.4.2. Dosage de flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al, 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de *Spergula rubra* L. 1 ml d'échantillon ou standard la rutine (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1,5 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (2% dans le méthanol). Après 15 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la rutine (0-0,05 mg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de rutine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg MS).



**Figure II.4** : Courbe d'étalonnage de la rutine.

## II.5. Évaluation de l'activité antioxydante :

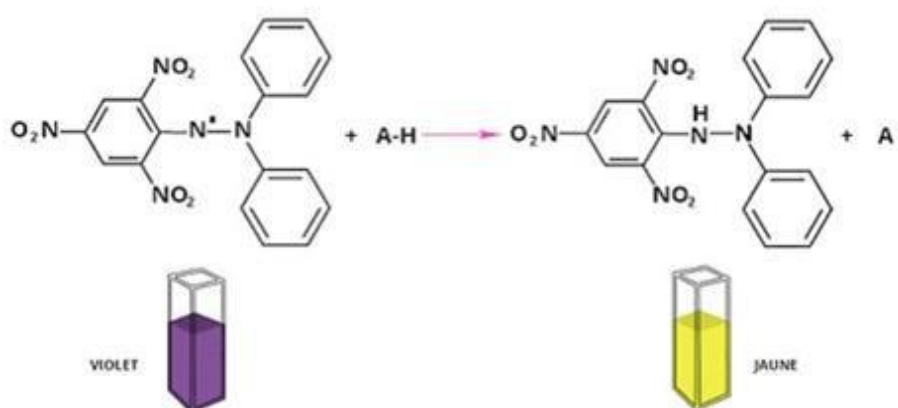
Les méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit pur ou d'un mélange (l'extrait phénolique) sont nombreuses. Parmi lesquelles on a adopté les méthodes : la méthode de DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle), et la méthode de phosphomolybdate, la méthode de FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power) et la méthode de l'ABTS.

### II.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

#### a. Principe

La DPPH est un radical organique azoté avec un électron délocalisé, et cette caractéristique lui donne une coloration violette, avec une absorbance maximale à 517 nm. Le test est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à réduire la DPPH. Cette réduction peut être mesurée par la décoloration de la couleur violette dans son absorbance (**San Miguel-Chavez, 2017**).

Le DPPH est caractérisé par une couleur violette. En présence d'un donneur d'hydrogène. Le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine) (Figure 12).



**Figure II.5 :** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH' (**CHIMACTIV. (N.d.)**).

#### b. Mode opératoire

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée dans le protocole suivant. Dans des tubes on introduit 200 µl de chaque extrait et 1.8 ml de la solution méthanolique au DPPH, après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm.

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \text{ PI (\%):}$$

Pourcentage d'inhibition

$A_{\text{control}}$  : l'absorbance du milieu réactionnel sans l'antioxydant

$A_{\text{test}}$  : l'absorbance du milieu réactionnel avec l'antioxydant

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur d'IC<sub>50</sub>, sachant que l'IC<sub>50</sub> est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

Le calcul des IC<sub>50</sub> a été réalisé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. La valeur de l'IC<sub>50</sub> est exprimée en mg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

# Résultat Et Discussion

---

### III.1. Dosage de polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénol totaux dans l'extrait de notre plante sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III.1** : Teneurs en phénols totaux de *Spergula rubra* L

L'extrait de <i>Spergula rubra</i> L			Teneur en phénols totaux (mg EAG/g MS)
Extrait de la méthode conventionnelle			1,0514 ± 0.0312
Extraction assistée par Ultrason			
Masse(g)	Temps (min)	Puissance (W)	
6	15	70	0,5743 ± 0.0064
6	10	70	0,5992 ± 0.0175
4	5	100	0,4285 ± 0.0011
2	5	100	0,6063 ± 0.0058
2	5	70	1,0827 ± 0.0091
2	5	40	0,3759 ± 0.0078
6	5	70	1,3453 ± 0.01125
6	10	40	0,4932 ± 0.0032
2	10	100	0,5441 ± 0.0069
4	15	40	0,5399 ± 0.0512
4	5	40	0,5097 ± 0.0233
2	15	40	0,2536 ± 0.0356
2	15	100	0.4402 ± 0.0213

Les résultats ont montré que l'extrait de *Spergula rubra* L représente une teneur considérable en phénols totaux de (1,0514 ± 0.0312 mg EAG/g MS).

Ce résultat est similaire à celui trouvé par **(Belaid et Bellil 2017)** qu'ils ont étudié les feuilles de *Spergula rubra* L de Mostaganem  $1,1544 \pm 0.0012$ mg EAG/g).

Ainsi, **Djeridane et al. (2006)** ont rapporté que les feuilles de *Spergula rubra* L contenaient **3.13 mg EAG/g MS** de polyphénols totaux.

La comparaison des teneurs en phénols totaux avec celles rapportées par *Ruta sp.* A montré la richesse de ces espèces par rapport *Spergula rubra* L. Selon l'étude de **(Charif et Allou 2015)**, la teneur en phénols totaux des feuilles de *Spergula rubra* L est de  $(160,21 \pm 7,29$  mg EAG/g MS) d'extrait.

Tant que les teneurs en polyphénols d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk. Sont  $(26,62 \pm 1,93$  et  $20,36 \pm 0,48$  mg EAG/g MS) respectivement **(Chaibeddra, 2014)**.

### **III.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait de la plante étudiée ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la rutine et exprimées en équivalents de mg de la rutine par gramme de matière végétale sèche.

Les flavonoïdes contenus dans notre extrait phénolique sont déterminés par la complexation des phénols par le trichlorure d'aluminium.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le **Tableau 7**.

**Tableau III.2 : Teneur en flavonoïdes de *Spergula rubra* L**

L'extrait de <i>Spergula rubra</i> L			Teneur en flavonoïdes (mg ER /g MS)
Extrait de la méthode conventionnelle			0,2514 ± 0.0312
Extraction assistée par Ultrason			
Masse(g)	Temps (min)	Puissance (W)	
6	15	70	0,1043 ± 0.0002
6	10	70	0,1192 ± 0.0035
4	5	100	0,0885 ± 0.0001
2	5	100	0,1235 ± 0.0021
2	5	70	0,4827 ± 0.0001
2	5	40	0,0759 ± 0.0005
6	5	70	0,6453 ± 0.0025
6	10	40	0,0932 ± 0.0004
2	10	100	0,0923 ± 0.0011
4	15	40	0,1213 ± 0.0062
4	5	40	0,1084 ± 0.0023
2	15	40	0,0696 ± 0.0026
2	15	100	0.0972 ± 0.0003

La teneur en flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique de *Spergula rubra* L, elle est de l'ordre de (0,2514 ± 0.0312mg ER/g MS).

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, ce résultat est similaire à celui des feuilles de *Spergula rubra* L de Mostaganem étudié par (Belaid et Bellil 2017) qu'ils ont trouvé un teneur en flavonoïdes de (0,297 ± 0,033 mg ER/g MS).

Tandis que, nos teneurs sont moins à celle trouvée par (Diwan et al. 2012) qui ont trouvé (0.4 mg ER/g MS).

Selon l'étude de **(Charif et Allou 2015)**, la teneur en flavonoïdes des feuilles de *Spergula rubra* L est de  $(17,97 \pm 0,05 \text{ mg ER/g MS})$  d'extrait. Tant que les teneurs d'extrait méthanolique de *Ruta montana* L. et de *Ruta tuberculata* Forsk. Sont  $(44,54 \pm 1,40$  et  $19,67 \pm 0,34 \text{ mg ER/g MS})$  respectivement **(Chaibeddra, 2014)**.

Il est important de souligner que l'utilisation d'espèce de plante, d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les différentes études.

D'autres facteurs peuvent influencés la teneur en phénols à savoir : l'espèce, l'exposition à la lumière et les techniques de récolte et de stockage **(Turkmen Erol et al, 2009 ; Rawel et al, 2005)** in. Les contraintes environnementales de développement des plantes : la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolets, la pollution de l'air et les attaques d'agents pathogènes **(Chehma.A, 2006)**.

### **III.3. Activité antioxydante**

Dans notre étude, nous avons évalué l'activité antioxydante in vitro en utilisant le test DPPH.

Ce test repose sur un principe spécifique de réduction du radical libre DPPH•, permettant ainsi d'estimer le pouvoir antioxydant des extraits.

#### **III.3.1. Test de Piégeage du Radical DPPH**

Le radical DPPH• est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse **(Bozin et al, 2008)**. L'activité antioxydant est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH• à 515 nm, qui est du à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes **(Maisuthisakul et al, 2007, Da Silva Pinto et al, 2008)**.

Les résultats sont exprimés en IC<sub>50</sub> qui est définit comme étant la concentration de l'extrait exprimée nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH et calculée à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I % en fonction de la concentration de chaque extrait. De même, L'efficacité est estimée à partir de l'activité de l'acide ascorbique, BHA, BHT comme références standards. Il faut rappeler que plus la valeur

d'IC<sub>50</sub> est petite plus l'activité antioxydant de l'extrait est grande.

Les résultats obtenus de ce test sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau III.3** : valeurs d'IC<sub>50</sub> trouvées pour l'extrait de *Spergula rubra* L et les standards de test de DPPH.

L'extrait de <i>Spergula rubra</i> L			IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Extrait de la méthode conventionnelle			0,0251 ± 0.0010
Extraction assistée par Ultrason			
Masse(g)	Temps (min)	Puissance (W)	
6	15	70	0,0249 ± 0.0002
6	10	70	0,0912 ± 0.0035
4	5	100	0,0512 ± 0.0001
2	5	100	0,0326 ± 0.0021
2	5	70	0,0369 ± 0.0001
2	5	40	0,0465 ± 0.0005
6	5	70	0,0213 ± 0.0025
6	10	40	0,0456 ± 0.0004
2	10	100	0,0325 ± 0.0011
4	15	40	0,0425 ± 0.0062
4	5	40	0,0214 ± 0.0023
2	15	40	0,0561 ± 0.0026
2	15	100	0.0582 ± 0.0003
Acide ascorbique			0.001±0.005
BHT			0.0013±0.002
BHA			0.0079±0.0004

Selon les résultats obtenus, l'extrait de *Spergula rubra* L est doté d'un pouvoir antioxydant intéressant, son IC<sub>50</sub> est de (0,0251 ± 0.0010 mg/ml), mais cette valeur d'activité

reste inférieure à celle du contrôle positif BHA, BHT et l'acide ascorbique d'IC<sub>50</sub> (0.0079±0.0004 ; 0.0013±0.002 ; 0.001±0.005 mg/ml respectivement).

L'extrait de *Spergula rubra* L possède plus grand potentiel de piégeage des radicaux DPPH (100,8 ± 0,56 mg EAG/g MS) (Al Qaisi *et al*, 2024).

L'activité antioxydante de notre extrait éthanolique de *Spergula rubra* L est nettement supérieur à celle obtenu par (Charif et Allou, 2015), avec une IC<sub>50</sub> égale à 0,155 ± 0,00115 mg/ml.

# Conclusion

---

Les plantes médicinales représentent une source précieuse de composés bioactifs aux vertus thérapeutiques avérées. Dans cette optique, notre travail a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant de *Spergula rubra* L., une plante spontanée peu exploitée en Algérie. L'objectif principal de ce travail était d'optimiser l'extraction des composés phénoliques de cette plante, et de caractériser son activité antioxydante à travers le test DPPH

L'étude a permis d'optimiser l'extraction des composés phénoliques par ultrasons, méthode verte et efficace, en comparaison avec la macération classique. Les résultats obtenus sont encourageants : la teneur en polyphénols totaux de l'extrait est de **1,0514 ± 0.0312 mg EAG/g MS**, et celle en flavonoïdes est de **0,2514 ± 0.0312 mg ER/g MS**, mettant en évidence la richesse antioxydante de cette plante.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a révélé une capacité remarquable de piégeage des radicaux libres, avec une **valeur d'IC50 de 0,0251 ± 0.0010 mg/ml**, traduisant un très bon pouvoir antioxydant. Ces données placent *Spergula rubra* L. parmi les espèces végétales d'intérêt pour la prévention du stress oxydatif, associé à de nombreuses pathologies chroniques telles que le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires et certains cancers.

Ces résultats confirment que l'extraction assistée par ultrasons se distingue non seulement par sa rapidité et son efficacité, mais également par sa rentabilité. Elle permet une concentration optimale des composés bioactifs, en particulier des polyphénols, avec un rendement nettement supérieur à celui de la macération traditionnelle, faisant d'elle la méthode la plus rentable pour l'extraction de ces composés

Ainsi, ce travail apporte une contribution à la valorisation de *Spergula rubra* L. en tant que plante médicinale potentielle, notamment grâce à ses propriétés antioxydantes.

L'étude sur *Spergula rubra* L, nous a permis de remarquer la diversité au sein de cette espèce, de point de vue composition qu'activité.

Afin de mieux évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait brut :

Il est essentiel d'extraire et de tester les activités biologiques des huiles essentielles de cette plante, encore peu explorées.

L'isolement et la caractérisation structurale des composés actifs permettraient de mieux identifier les molécules responsables des effets observés.

La réalisation d'études comparatives in vivo sur d'autres marqueurs biologiques serait nécessaire pour confirmer les effets antioxydants dans des conditions physiologiques réelles.

À travers ce travail, nous espérons avoir apporté une contribution utile à la valorisation de *Spergula rubra* L., en tant que plante médicinale traditionnelle à fort potentiel, particulièrement au service des populations du nord de l'Afrique