

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
Université Amar TELIDJI de Laghouat
كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم علوم المادة
Département des Sciences de la Matière



Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master-LMD

Filière : Chimie

Option : Chimie organique appliquée

Présentée par : BAKCHICHE Barkahoum et LABIODH Khaira

***Etude de composition phénolique et des propriétés
antioxydant d'extrait de l'Artemisia campestris L***

Soutenu publiquement le 27/06/2021, devant le jury composé de :

Mr. Keribaa Bakhti	MAA	Université de Laghouat	Président
Mme. Bouziane Amel	MCB	Université de Laghouat	Examinatrice
Mme. Noureddine Asmaa	MCB	Université de Laghouat	Promotrice

Année universitaire 2020/2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions *ALLAH* le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force le courage la patience la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique du département des sciences de la matière de l'université Amar Thelidji-Laghouat.

Nous exprimons une profonde gratitude à notre chère promotrice, madame **NOUREDDINE ASMAA**, maître de conférence à l'université de Laghouat, pour les efforts qu'elle a déployés ainsi que le temps qu'elle a consacré pour nous orienter conseiller et enrichir notre étude tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier très sincèrement monsieur **HAMDI Ahmed** chef du département science de la matière ainsi que **MR KORIBAA BAKHTI** président du jury et **M^{ME} BOUZIANE AMEL** comme examinatrice pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier aussi tous les membres de laboratoire pédagogique du département des sciences de la matière pour leur aide précieuse pour réaliser ce travail.

Dédicace

Au Nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux

Louange et Gloire à Dieu, Le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien

Ce modeste travail.

A mon très cher père **KOUIDER**

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement

Et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au

Monde ne vaut les efforts fournis, jour et nuit pour

Mon éducation et mon bien être

A ma très chère **FATIMA**

Bakchiche barkahoum

* DEDICACES *

A mes très chers parents,

Aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer mon respect,

ma considération et amour éternel pour les sacrifices

que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

Votre générosité et votre bonneté ont toujours été un exemple pour nous tous

Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement,

de votre patience et l'expression de ma gratitude et mon profond amour.

Je t'aime papa ; je t'aime maman et sachez que je vous suis très reconnaissant.

A mes très chères frères et sœurs,

Vous m'avez toujours soutenu durant toutes mes études,

je vous souhaite une vie pleine de joie de bonheur et de réussite.

A toute ma chère famille,

A mes Professeurs, A mes chers amis

A mon cher mari et sa famille

A mon binôme et toute ta famille

A tous ceux qui m'aiment, A tous ceux qui j'aime,

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin surtout

mes amis

Je dédie ce travail avec hommage

Khaira labiodh

Liste des abréviations

Abs	absorbance.
AG	acide gallique.
AlCl₃	trichlorure d'aluminium.
BHA	Butylated hydroxyanisole.
CHCl₃	Chloroforme.
DPPH	2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl.
EAG	Équivalent d'acide gallique.
EOH	éthanol.
Fe⁺³	Ion ferrique.
Fe⁺²	Ion ferreux.
FeCl₃	Trichlorure de fer.
FRAP	Ferric reducing ability of plasma
g	gramme.
H₂SO₄	Acide sulfurique.
IC₅₀	Concentration efficace à 50% (concentration d'inhibition de 50%).
K₂HPO₄	Potassium Phosphate dibasique.
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanide de Potassium.
Mg/ml	Milligramme par millilitre.
Min	Minutes.
Na Cl	Chlorure de Sodium.
Na₂CO₃	Bicarbonate de sodium.
nm	Nanomètre.
TCA	Acide trichloracétiques.
UV	Ultra-violet.
μ l	Microlitre.
°C	Degré Celsius.
%	Pourcentage.

Lise des figures

Figure I.1	Artemisia campestris L	1
Figure III.1	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	10
Figure III.2	Courbe d'étalonnage de la Quercetine	11

Liste des tableaux

Tableau III.1	Test phytochimique réalisé sur l' <i>Artemisia campestris</i>	9
Tableau III.2	Teneur en phénols totaux de l' <i>Artemisia campestris</i>	10
Tableau III.3	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)	11
Tableau III.4	Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénolique de l' <i>Artemisia campestris</i> mesurés par le test DPPH.	13
Tableau III.5	Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénolique de l' <i>Artemisia compestris</i> mesurés par le test FRAP	13

Sommaire

Remerciements	I
Liste des abréviations	II
Liste des figures et Liste des tableaux	III
I. Introduction générale	1
II. Matériel et méthode	3
II.1. Matériel végétal	3
II.2. Extraction des composés phénolique	3
II.2.1. Extraction par macération	3
II.2.2. Extraction par sonication	3
II.3. Analyse qualitative	4
II.4. Analyse quantitative	6
II.4.1. Dosage polyphénol totaux	6
II.4.2. Dosage de flavonoïde	7
II.5. Détermination de l'activité antioxydant	7
II.5.1 Test de DPPH	7
II.5.2. Teste de FRAP	8
III. Résultats et discussions	9
III.1 Teste photochimique	9
III.2. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes	10
III.2.1. Teneur en polyphénols	10
III.2.2. Teneur en flavonoïdes	11
III.3 Evaluation de l'activité antioxydant	12
III.3.1 Test de DPPH	12
III.3.2 Test de FRAP	13
IV. Conclusion	15
Référence	
Annexe. I	
Annexe. II	

Introduction générale

I. Introduction générale

Le genre de l'*Artemisia* est considéré l'un des genres les plus grands et les plus largement distribués de la famille des Astéracées (Compositae). C'est un genre hétérogène, composé de plus de 500 espèces diverses réparties principalement dans les zones tempérées d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Nord. Ces espèces sont pérennes, herbes bisannuelles et annuelles ou petits arbustes (**Watson et al. 2002; Mehrdad et al. 2007**). Dans la flore de l'Algérie, ce genre est représenté par 11 espèces spontanées parmi lesquelles se trouve *Artemisia campestris* communément appelées "dgouft" (**Quezel et Santa 1963**). C'est une plante spontanée forme des touffes ou des buissons ramifiés de 20 à 80 cm de haut, ses rameaux sont rougeâtres et ses feuilles vert foncé, ses petites fleurs jaune vert se réunissent en grappes au sommet de la plante et aux aisselles des feuilles supérieures

Artemisia campestris est une plante des Hauts plateaux. Elle est d'origine méditerranéenne. Elle est fréquente au Hoggar, plus rare au tassili (**Houmani. 2007**). Elle a des propriétés allélochimiques inhibant la croissance et la germination de certaines plantes qui l'entourent (**Neffati. 1984**). Gras a sa teneur en huile essentielle, glucosides polyphénols (flavone, stérols et les tanins..) les feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme anti-venin, anti-inflammatoire, calme les troubles digestifs...etc (**Le Floch. 1983**).



Figure I.1 : L'*Artemisia campestris* L

Les polyphénols sont une catégorie de molécules organiques largement répandues dans le règne végétal et dans nos aliments, ce sont des composés caractérisés la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction telle que l'éther, l'ester ou un hétéroside (**Bruneton, 2009**).

Les composés phénoliques possèdent une structure qui varie depuis les molécules simples comme les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes vers les molécules les plus hautement polymérisées tels que les tanins condensés et les lignine (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Gras à la diversité structurale des composés phénoliques, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante, Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé... (**Mahmoudi S, 2013**).

Dans ce contexte, Le but de ce travail vise à étude in vitro l'activité antioxydant d'*Artimisia campestris* en recherchant la meilleure technique d'extraction pour une meilleure valorisation.

- **La première partie de ce travail est consacrée à :**
 - La caractérisation phytochimique des extraits issus de la plante, à travers des analyses qualitatifs pour caractériser les différents groupes chimiques.
 - Etude quantitatives par l'estimation spectrophotométrique des teneurs en polyphénol totaux et en flavonoïde.
 - Etude du pouvoir antioxydant de la plante par la mesure du pourcentage d'inhibition du radical (DPPH), et le pouvoir réducteur par le test de (FRAP).
- **Dans la deuxième partie,** Nous discutons les résultats obtenus et nous terminons notre travail par une conclusion et perspective.

Matériel et méthode

II. Matériels et méthodes

II.1 Matériel végétale

Artemisia campestris L a été récolté de la région Tiaret durant la période du mois de juin 2020, après le séchage de la partie aérienne, la plante est finement broyé et conservé dans des sacs en papier jusqu'à l'utilisation.

II.2. Extraction des composés phénoliques

II.2.1. Extraction par macération

L'extraction des polyphénols a été réalisée selon le protocole décrit par (**Amiot .M.J et al. 1986**). selon trois étapes: macération, dépigmentation et purification.

Dans un erlenmeyer en verre recouvert de papier d'aluminium, une quantité de 2 g de la matière végétale broyer a été macérée sous agitation continue dans 200 ml d'un mélange hydro-alcoolique (éthanol/eau) (80/20 : V/V) pendant 72 heures (3 jours) à la température ambiante, Avec filtration et le renouvellement de solvant chaque jour

Les filtrats obtenus sont recombines et évaporé sous vide, à une température de 40°C à l'aide d'un rota-vapeur.

Après évaporation complète du solvant, quatre extractions successives à l'hexane ont permis d'éliminer les pigments et la plupart des lipides. Les composés phénoliques présents dans la phase aqueuse ont extraire été extraits à l'acétate d'éthyle en présence de sulfate d'ammonium (20%) et d'acide orthophosphorique (2%). Après trois extractions successives, la phase organique obtenue est évaporée sous vide à 40° C. Le résidu ainsi obtenu a été dissous dans 10 ml de méthanol et conservé au réfrigérateur jusqu'à l'analyse spectrophotométrique (**Noureddine. A et al. 2019**).

II.2.2 Extraction par sonication

2g de matière végétal ont été macéré dans 20 ml d'éthanol aqueux à 80% contenant 1% de HCl, Ce mélange a été traité par ultrasons deux fois pendant 20 minutes et laissé pendant 24 heures à 4°C. Ensuite, l'extrait a été centrifugé et le surnageant a été recueilli (**Nuncio-jáuregui et al. 2015**).

II.3 Analyses qualitatives

II.3.1 Les tanins

Une quantité de 0.5g de plante broyée est macérée dans 25 ml d'éthanol/eau (v/v, 50/50) pendant une nuit, après le mélange est filtré, nous avons pris quelques millilitres du filtrat et nous ajouté quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3).

L'apparition d'une couleur verte foncée ou bleu-noirâtre indique la présence des tanins (**BOUKRI Nour El Houda, 2014**)

II.3.2 Les flavonoïdes

Une quantité de 1 g de chaque plante broyée est macérée dans 10 ml d'éthanol/eau (v/v, 8/2) pendant une nuit, après la filtration quelques millilitres du filtrat est pris puis quelques gouttes de chlorure d'aluminium (AlCl_3)est l'ajouté. L'apparition d'une couleur jaune foncée indique la présence des flavonoïdes (**ZERRIOUH Meriem, 2015**).

II.3.3 Les saponines

Une quantité de 2 g de plante broyée est chauffée avec 40ml d'eau distillée Jusqu'à l'ébullition, Après le refroidissement et la filtration, nous avons agité les filtrats puis ils sont laissés pendant 15min.

L'apparition des mousses stables après 15min indique la présence des saponines.

II.3.4 Les alcaloïdes

Une quantité de 0,01g de plante broyée a été agité avec Acide chlorhydrique (HCl) 6 ml de 1% sur un bain d'eau pendant 5 min et filtré.

Réactif de Wagner : L'iodure de potassium **KI** 2g et l'iode **I₂** 1,27g ont été dissous dans de l'eau distillée 100 ml. Quelques gouttes de cette solution ont été ajoutées au filtrat. Un précipité brun-coloré indique la présence d'alcaloïdes (**ERUM Iqbal. et al 2015**).

II.3.5 Stéroïdes et de terpénoïdes

a. *Test de Salkowski*

L'extrait brut environ 100 mg a été mélangé avec du chloroforme 2ml suivi par l'addition de l'acide sulfurique H₂SO₄ concentré 2ml le long du bord du tube à essai, une coloration brun rougeâtre de l'interface indique la présence de terpénoïdes.

b. *Test Liebermann-Burchard*

Chaque extrait 100 mg a été mélangé avec du chloroforme dans un tube à essai ; quelques gouttes d'anhydride acétique ont été ajoutées au tube à essai et bouillies dans un bain d'eau et rapidement refroidies dans de l'eau glacée. On ajoute H₂SO₄ concentré 2ml à côté du tube à essai. La formation d'un anneau brun à la jonction de deux :

Les couches et la rotation de la couche supérieure en vert montrent la présence des stéroïdes tandis que la formation de couleur rouge foncé indique la présence de triterpénoïde.

II.3.6 Glycosides

a. *Glycoside d'antraquinone (test de Borntrager)*

On ajoute 1ml de H₂SO₄ 5% à l'extrait 1ml, le mélange a été bouilli dans un bain d'eau puis filtré. Le filtrat a ensuite été mélangé avec un volume égal de chloroforme et maintenu pendant 5 min, ensuite, la couche inférieure de chloroforme a été mélangé avec la moitié de son volume avec Ammoniaque dilué. la formation du rose à la couleur rouge de la couche ammoniacale donne une indication des glycosides anthraquinone.

b. *Glycosid cardiaque (test de Keller-Killiani)*

0,5g a été mélangé avec de l'eau distillée 5 ml .A cela, on a ajouté de l'acide acétique glacial 2ml contenant quelques gouttes de chlorure ferrique, suivi de Acide sulfurique H₂SO₄ 1ml le long du tube à essai. la formation d'un anneau brun à l'interface donne une indication positive pour le glycoside cardiaque et un anneau violet peut apparaître sous l'anneau brun (**ERUM Iqbal. et al 2015**).

II.3.7 Les quinones

Un gramme de la plante est humidifié par quelques gouttes de HCl puis on ajoute 10 ml d'éther de pétrole. On met à macération pendant une heure ou 24 heures dans Erlen Meyer fermé. Après la filtration, 2 ml de filtrat sont agités avec 2 ml de NaOH 10%. La coloration rouge au violet apparaît en présence des quinones (N. DOHOU. et al 2003).

II.3.8 Les coumarines

Une quantité de 5 ml d'extrait est évaporé à sec, le résidu est dissout dans 2 ml de l'eau chaude, ensuite le mélange est partagé dans deux parties égales. La première représente le témoin et la deuxième est traitée avec 0,5 ml de NH₄OH 10%. Une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre et l'observation sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense révèle la présence de coumarines (HAOULIA Amina, 2015).

II.3.9 Les anthraquinones

On ajoute à 0,1 ml de l'extrait 0,5 ml de NH₄OH 10%, on agite le mélange. Leur présence est indiquée par une coloration violette (BOUKRI Nour El Houda, 2014).

II.4 Analyses quantitatives

II.4.1 Dosage polyphénol totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de folin-ciocalteu (singleton et al. 1999) ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de folin –ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (biozot et al 2006).

Pour effectuer ce dosage, un volume de 200 µl de chaque extrait diluée ont été introduits dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1ml du réactif de folin-ciocalteu et 0.8ml de carbonates de sodium (Na₂CO₃) à (7.5%) puis la solution secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30min à la température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été mesuré à 760 nm contre un blanc réalisé dans même condition. Un courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard, les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière séché (mg EAG/g Ms). Les tests ont été effectués trois fois.

II.4.2 Dosage de flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon les méthode de **(RaO et al 2010)** cette méthode utilise le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) qui interagit spécifiquement avec les flavonoïdes en donnant une couleur jaune. L'intensité de la coloration est évaluée par spectrophotomètre.

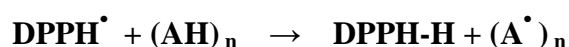
Pour réaliser le dosage des flavonoïdes ,1ml d'extrait dilué et 1ml de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) après 15min d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430 nm. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/mg d'extrait).

De même que le dosage des phénols totaux le dosage de flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard (la quercétine par exemple), des solutions éthanoïques de quercétine ont été préparé à différents concentration permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

II.5 Détermination de l'activité antioxydante

II.5.1 Test de DPPH

L'activité anti radicalaire des différents extraites évaluée par le test au 2,2-diphény 1-2-picryl-hydrazyle (DPPH), elle est réalisée par la méthode décrite par (Blios.1958) le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) est caractérisé par la couleur violette foncée DPPH est réduit par les antioxydants en DPPHH de couleur jaune dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants.



Un volume de 1950µl de la solution DPPH et mélangé avec 50µl des solutions d'extraits ou de l'antioxydant standard à différentes concentration le mélange est. Après 30min d'incubation à la température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

L'activité anit radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire \%} = (\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1 / \text{Abs}_0) \times 100$$

Abs₀ : est l'absorbance du contrôle (blanc)

Abs₁ : est l'absorbance de l'échantillon

II.5.2 Test de FRAP

Le test de FRAP est utilisé pour mesurer le pouvoir réducteur des composés elle est basée sur la réduction de Fe³⁺ complexe ferricyanide à la forme ferreux (Fe²⁺) (**Ou et al. 2001**). Le Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Chung et al.2002**). En effet, le système FeCl₃ / K₃Fe(CN)₆ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (**Amarowicz et al. 2004**).

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par Oyaizu, 1986. Dans un tube à essai en verre contenant 25 µl de solution d'échantillon à différentes concentrations, ont été ajoutés 500 µl de tampon phosphate (PH= 6,6) et 500 µl de potassium hexacyanoferrate [K₃Fe (CN)₆] 1% dans l'eau distillée. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes.

Après l'avoir sorti de bain marie un volume de 500 µl d'acide trichloracétique (10%) et 1.5ml d'eau distillé et 500µl de FeCl₃(0.1%) ont été ajoute.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Résultats et discussions

III. Résultats et discussions

III.1 Test phytochimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques (**Kholkhal et al. 2013**).

Les résultats de criblage phytochimique sont reportés dans le tableau ci-dessous. La présence de la substance est présentée par positive (+) et l'absence de la substance est représentée par (-).

Tableau III.1 : Test phytochimique réalisé sur l'*Artemisia campestris*

Métabolite		couleur	Résultats
Les tanins		Bleu noirâtre	+
Les flavonoïdes		Jaune	+
Les saponines		Mousse persistante	+
Les alcaloïdes		Marron claire et absence le précipité	-
Terpénoïde	Test salkowski	Brun rougeâtre	+
Stéroïde et de terpénoïde	Test liebrmann-buchard	Rouge foncée	+
Glycoside			-
Les quinones			-
Les comarines			-
Les anthraquinones			-

Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des flavonoïdes et les tanins ainsi que les saponines, les terpénoïdes et stéroïde.

Les tests sur les alcaloïdes, les glucides, les quinones, les coumarines et les anthraquinones révèlent l'absence dans l'extrait étudié en ces composés

Cette étude 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 parties aériennes de la plante investiguée comme les quinones libres, les stérols, les alcaloïdes et les glucides ne justifie pas que ces plantes sont

pauvres en ces composés mais, la méthode d'extraction et les solvants utilisés dans notre travail peuvent influencer l'extraction des métabolites recherchés.

III.2. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes

III.2.1. Teneur en polyphénols

Les teneurs en phénols totaux des trois extraits préparés de *Artemisia campestris* sont déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu sont rapportées en milligramme équivalent acide gallique par un gramme de la matière sèche (mg EAG/g) à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique qui est présentée dans la figure III.1.

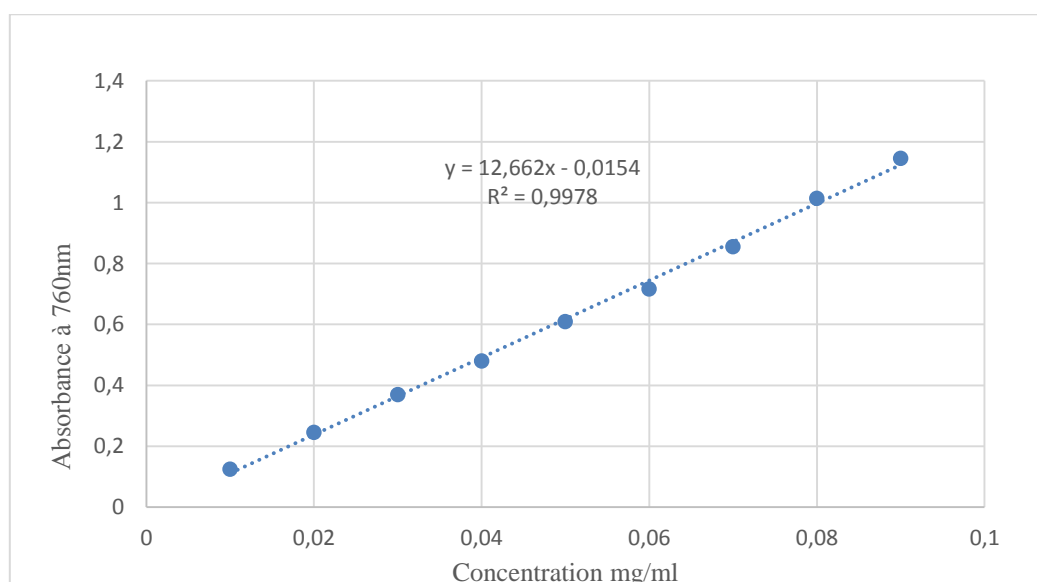


Figure III.1 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Le tableau représente les résultats obtenus

Tableau III.2 : Teneur en phénols totaux de l'*Artemisia campestris*.

Extrait	Rendement	Teneur en phénols (mg EAG/g MS)
Phase aqueuse	-	8.019 ± 3.059
Phase organique	17%	45.687±10.352
Sonication 30min	-	130.258 ± 3.669

Les résultats relatifs aux variations des teneurs en phénols totaux ainsi que le rendement sont indiqués dans le (Tableau III.2).D'après les résultats obtenus on remarque un rendement d'extraction par macération de 17%, cette résultats est très importante si l'on compare avec ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé des valeurs inférieure a 10%.

Selon les résultats mentionnés dans le (Tableau III.2), les teneurs en phénols totaux varient largement dans les extrait entre (130.258 ± 3.669 et 8.019 ± 3.059 mg EAG/g MS), l'extrait de sonication 30min montre une fort teneur en phénols totaux (130.258 ± 3.669 mg EAG/g MS) suivi par l'extrait de macération (phase organique) (45.687 ± 10.352 mg EAG/g MS), par contre, on remarque une faible teneur en polyphénol dans l'extrait aqueux qu'est de (8.019 ± 3.059 mg EAG/g MS).

III.2.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'Aluminium.

Les teneurs en flavonoïdes d'*Artemisia campestris* est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercetine présenté dans la figure III.2.

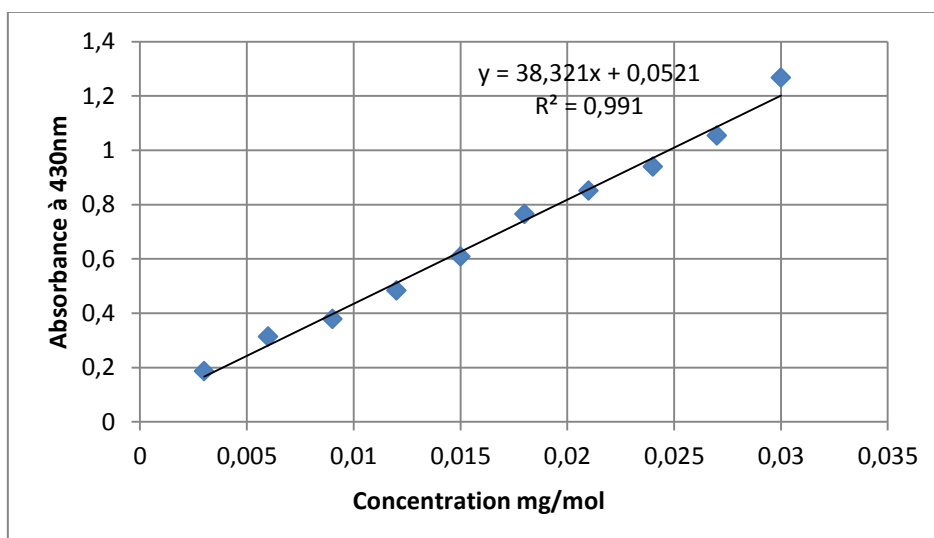


Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de la Quercetine

Les résultats obtenus sont regroupé dans le tableau suivant

Tableau III.3 : Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)

Extrait	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)
Phase aqueuse	0.833±0.201
Phase organique	6.421±0.061
Sonication 30min	14.098±0.324

On remarque d'après les résultats du (Tableau III.3) ci-dessus que la quantité des flavonoïdes varie entre (0.833 ± 0.201 à 14.098 ± 0.324 mg EQ/g MS) le taux des flavonoïdes le plus élevée a été détecté dans l'extrait de sonication (30min) (14.098 ± 0.324 mg EQ/g MS) suivi par l'extrait de macération (phase organique) (6.421 ± 0.061 mg EQ/g MS) par la suite viennent phase aqueuse (0.833 ± 0.201 mg EQ/g MS).

On peut dire que les résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes confirment la richesse de l'Artimesia campestris en polyphénols mais en quantité variable selon la technique d'extraction et le solvant choisie.

Un travail aussi réalisé par (**Laraba M et al, 2016**) porte sur l'étude phytochimique des phases n-butanolique, acétate d'éthyle et chloroformique issues de l'artimesia campestris de la région de Boussaâda. Son résultat montre que le taux des polyphénols est remarquablement très élevé dans la phase acétate d'éthyle ($148,26 \pm 0.02$ mg EAG/g) par rapport à la phase n-butanolique ($100,04 \pm 0.002$ mg EAG/g) et chloroformique ($75,0.006$ mg EAG/g).

Un autre travail également réalisé par (LOUBAKI.S, BAGHDADI.S, 2020) a fait une comparaison entre la teneur totale en phénol de deux extraits différents (Méthanol et dichlorométhane) d'Artemisia Campestris de la région d'El-Assafia ont indiqué une quantité variée entre 282,44 et 35,63 mg EAG/g MS changés en fonction du solvant utilisé.

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante

III.3.1 Test de DPPH

Le pouvoir antioxydante est déterminé par la concentration d'un extrait qui est nécessaire pour neutralise 50% du radical. Les résultats sont exprimés en IC50, et

calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait, les graphes obtenus sont présentés dans l'Annexe II. Rappelons que plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est importante.

Les résultats de l'activité antioxydante de l'*Artemisia campestris* mesurés par le test de DPPH sont résumés dans le Tableau III.4.

Tableau III.4 : Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits phénoliques de l'*Artemisia campestris* mesurés par le test DPPH.

Extraits		IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait de macération	Phase aqueuse	0.063±0.012
	Phase organique	0.009 ± 0.0002
Extrait de sonication (30min)		0.032±0.007
Acide gallique		0.001±0.0001

Les résultats indiquent qu'il y a une grande variabilité entre les extraits obtenus par la sonication et les autres obtenus par la macération (phase aqueuse et phase organique). Les valeurs de IC₅₀ varient entre (0.009 à 0.063 mg/ml), où l'extrait de la phase organique obtenu par macération est plus actif que l'extrait obtenu par sonication suivi par la phase aqueuse de macération qui révèle l'activité la plus faible.

Si on compare notre résultat à celui de standard (acide gallique) on constate que l'extrait de macération phase organique est un peu loin de l'activité de l'acide gallique, de plus les autres extraits sont très faibles dans leurs activités.

III.3.2 Test de FRAP

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ et calculés à partir des courbes de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de chaque extrait. Les résultats de l'activité antioxydante de l'*Artemisia campestris* mesurés par le test de FRAP sont résumés dans le Tableau III.5.

Tableau III.5 : Les valeurs d'IC50 des différents extraits phénolique de l'Artemisia campestris mesurés par le test de FRAP

Extrait	IC ₅₀ (mg/ml)
phase aqueuse	0.032±0.003
Phase organique	0.008±0.0005
Sonication (30min)	0.042±0.018
BHA	0.003±0.0004
Acide gallique	0.0007±0.0001

Les résultats indiquent que les valeurs de IC50% varient entre (0.008 à 0.032 mg/ml), les extraits de macération montrent des activités importantes ou la phase organique présente une activité plus élevée que la phase aqueuse. L'activité de l'extrait de sonication a montré une activité comparable à celle de l'extrait de la phase aqueuse obtenue par la macération.

Par comparaison aux standards notre résultat de l'activité antioxydante reste toujours inférieure que l'acide gallique mais comparable au antioxydant standard (BHA).

En accord avec nos résultats, **(Benaissa, W. et Fardjaoui, A en 2020)** ont révélé que cette plante de l'Artemisia campestris est plus efficace à piéger le radical DPPH avec une IC50 égale à 0.036 mg/ml, comparativement à l'IC50 d'antioxydant standard (BHT) qui est à l'ordre de 0.0031 mg/ml.

(Bentoumi, T. et Ammari. R en 2019) confirme aussi dans son travail sur l'Artemisia campestris que l'extrait éthanoïque possède une activité anti-oxydante remarquable par rapport au BHA, l'antioxydant synthétique.

Conclusion générale

IV. Conclusion générale

Dans notre travail nous avons comparé deux méthodes d'extraction (macération et sonication) pour mesurer l'activité antioxydant de l'*Artemisia campestris* qu'est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracée, elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies, en particulier le système digestif. La macération réalisée dans l'Ethanol/eau (80/20) à la température ambiante pendant 72 heures montrent un rendement en polyphénols important qui atteint 17%.

L'analyse qualitative exécutée par des tests phytochimique sur la plante a montré la présence des flavonoïdes, les tanins, les stéroïde. Les résultats de l'analyse quantitative des phénols totaux révèlent la richesse de l'*Artemisia campestris* en polyphénols. Le contenu phénolique dans les extraits de macération et les extraits de sonication est effectuée par le test de Folin ciocalteu. Les résultats montrent la présence des quantités intéressantes en polyphénols.

La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait de la sonication 130.258 ± 3.669 (mg EAG /mg MS). Les teneurs dans les extrait de la macération (phase organique et phase aqueuse) sont inférieurs que celle obtenue dans l'extrait de la sonication, leurs teneurs varié entre $(45.687 \pm 10.352$ et 8.019 ± 3.059 mg EAG/g MS). La quantification des flavonoïdes réalisés par le test de $AlCl_3$ montre aussi que l'extrait de la sonication possède la meilleur quantité en flavonoïde (14.098 ± 0.324 mg EQ/mg) suivi par les extrait de macération (phase organique et phase aqueuse) qui montrent les valeurs (6.421 ± 0.061 et 0.833 ± 0.201 mg EQ/mg) où la phase aqueuse présenté la plus faible valeur. La mesure de l'activité antioxydante des extraits phénoliques obtenus par la macération et la sonication montrent que la meilleure activité est enregistrée au niveau de l'extrait de la macération (phase organique). Mais cette activité reste moins actif comparée aux antioxydants standards de l'acide gallique et le BHA.

Par contre les composés phénoliques obtenus par la sonication relèvent un faible activité malgré sa teneur élevé en polyphénol. En effet, certains composés non phénoliques qui peuvent être extraits par la sonication peuvent réagir avec le réactif de Folin ciocalteu, mais ne sont pas aussi efficaces qu'un agent antioxydant.

Comme perspective on propose d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Référence

Références

Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, 551 – 562.

Amiot, M.J., Fleuriet, A., Macheix, J.J (1986). Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(5), 823-826.

Benaissa, walide. Fardjaoui Assala.(2020) Evaluation de l'activité antivenimeuse in vivo d'Artemisia campestris L. DSpace UMBM-Dépôt institutionnel de l'Université Mohamed BOUDIAF de M'sila.

Bentoumi, Turquia. Ammari, Rima (2019) Contribution à l'étude phytochimique et biologique de la plante Artemisia Campestris de la région de Ouiltem de Boussaâda.

Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.

Boukri Nour El Houda (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout, mémoire de master université académique, pp 43-44.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème édition. Edition Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales, Paris, p 261, 308, 571.

Chung,Y. C., Chang C. T. Chao W. W., Lin C. F. & Chou S. T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458.

Erum Iqbal, Kamariah Abu Salim, Linda B.L (2015). Lim, Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam, *Journal of King Saud University Science*, pp226.

Haoulia Amina (2015), Tests phytochimiques, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphénols totaux extraits de la partie aérienne d'*Ammoïdes verticillata*, mémoire de master, pp 23.

Houmani Z. Skoula M. (2007). Comparaison des profils chimiques des huiles essentielles d'espèces d'*Artemisia* spontanées en Algérie Revue des régions arides, pp. 608-611.

Laraba M et al, 2016), Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale.

Le Flo'h, Edouard(1983). Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique méridionale. Tome. II Ed. CNRS. Paris.

Loubaki Soumia, Baghdadi Soumia, (2020), Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques d'une plante médicinale (*Artemisia campestris*), mémoire de maître université Amar Telidji- Laghouat.

Mahmoudi Souhilaa, Khali Mustaphaa Et Mahmoudi, Nacéraba(2013), "Etude de l'Extraction Des Composés Phénoliques de Différentes Parties de La Fleur d'Artichaut (*Cynara Scolymus* L) Nature & Technologie 9 35–40.

N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L.M. Idrissi Hassani, A. Badoc, N.Gmira(2003), screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine thymelaea lythroïdes, article université Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, pp 61-78.

Noureddine.A, Abdelaziz G, Boulanouar B, Ángel Antonio C.B, Marina C, Luis N(2019): Chemical composition, mineral content and antioxidant capacity of phenolic extracts and essential oils of *Lavandula Stoechas* L, *Scientific Study & Research Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20 (3), pp. 423 – 437.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626.

Oyaizu. M (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *J. Nutr.* 44: 307-315.

Quezel P. et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

Singleton V.L., Ortfer R., Lameea R. M.(1999). Anaus of tota} phencris arfd other oxidation substrats and antioxidants bu means of Folin Ciocalteu reagent.In;

Packer L.(ed) *Methicillin resistance in Gram-negative bacteria* Springer 2001, pp 152-178.

Urquiaga, I. N. E. S. et Leighton, Federico (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, vol. 33, no 2, p. 55 -64.

Watson, Linda E., Bates, Paul L., Evans, Timothy M. (2002), et al. Molecular phylogeny of subtribe Artemisiinae (Asteraceae), including *Artemisia* and its allied and segregate genera. *BMC evolutionary Biology*, vol. 2, no 1, p. 17.

Zerriouh Meriem (2015), Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *Hammada scoparia* (Pomel), « Remth », thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, pp 21-29.

Annexe

Annexe I

I.1 Réactifs chimiques

Tableau 1 : Les produits chimiques et les réactifs utilisés

Nom de produit	Structure	Mark
Ethanol	CH ₃ -OH	SIALCHIM
hexane	C ₆ H ₁₂	VWR CHMICALS
acétate d'éthyle	C ₄ H ₈ O ₂	VWR CHMICALS
carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃	VWR CHMICALS
Réactif folin _ciocalteu		SIGMA
acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅	SIGMA
quercétine		ALDRICH
acide chlorhydrique	HCl	Hooneywell
chlorure d'aluminium	AlCl ₃	VWR CHMICALS
potassium phosphate monobasique	KH ₂ PO ₄	FIUKa Chemika
potassium phosphate dibasique	K ₂ HPO ₄	AppiCnenPaanreac
potassium ferricyanide	K ₃ Fe(CN) ₆	BDH Chemicals
Ammonia solution	NH ₄ OH	Biochem chenopharma
Iodine	I ₂	SIGMa-ALDRICH
Iodure de potassium	KI	SIGMa-ALDRICH
Chloroforme	CH ₂ Cl ₂	VWR CHMICALS
DPPH	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	SIGMA-ALDRICH

I.2 Appareils et instruments

Les différents appareils utilisés pour nos analyses sont regroupés dans le tableau suivant :

Appareillage	Marck
Balance	OHAUS
ultrasons	SELEGTA
Spectrophomètre UV-Visible,	OPTIMA SP-3000nano
Micropipette et pipette	Précision (10-100 et 100-1000)
Fiole, Bicher, Spatule, agitateur	
Cuvette UV/Visible à usage unique en plastique	
Contrefuges	Sinal TD4A

I.3 Systématique de la plante

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Magnoliopsida
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous famille	Asteaoideae
Tribu	Anthemideae
Sous tribu	Artemisinae
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia campestris L

Annexe II

Les courbes de l'activité antioxydante

II.1. Test de DPPH

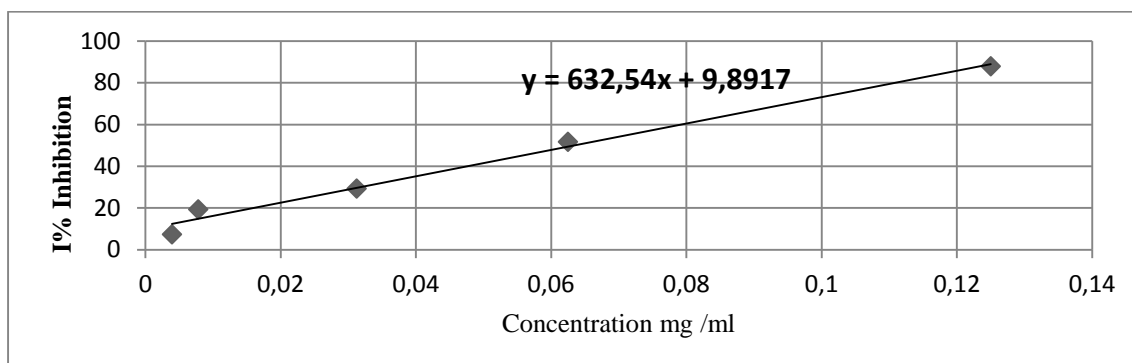


Figure .1 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de macération (phase aqueuse)

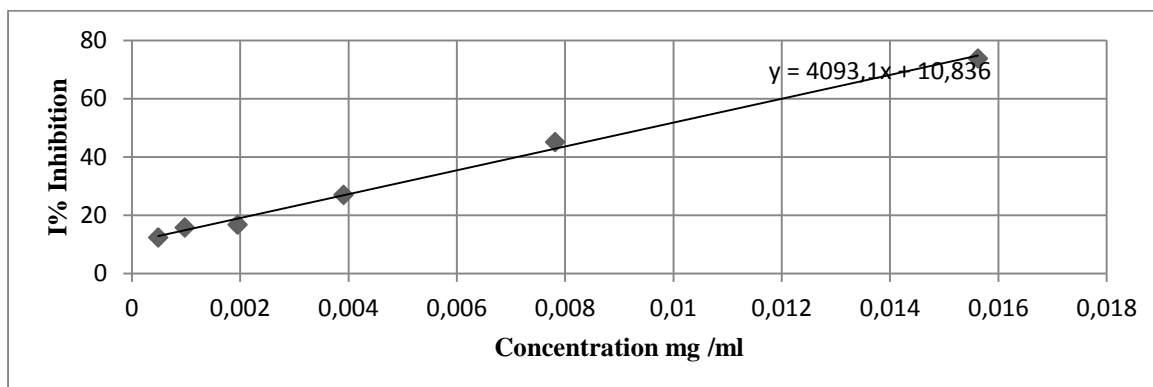


Figure .2 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de macération (phase organique).

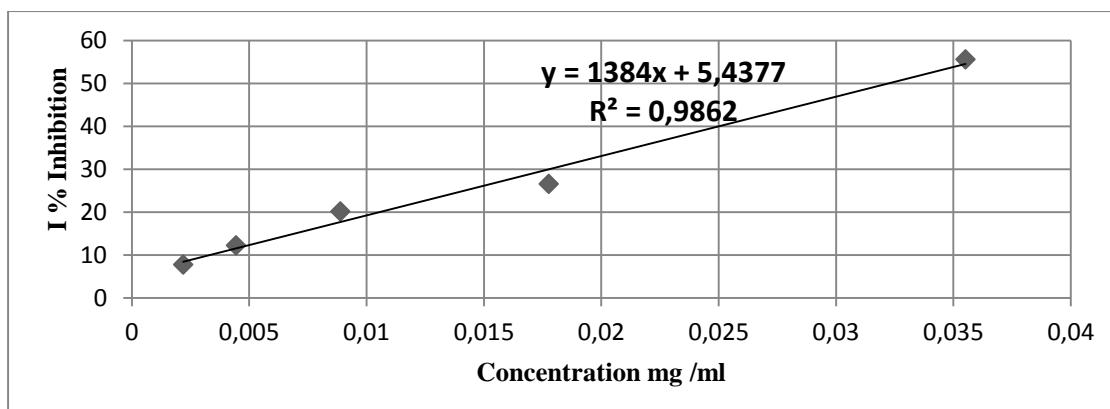


Figure .3 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de sonication.

La courbe standard d'acide gallique

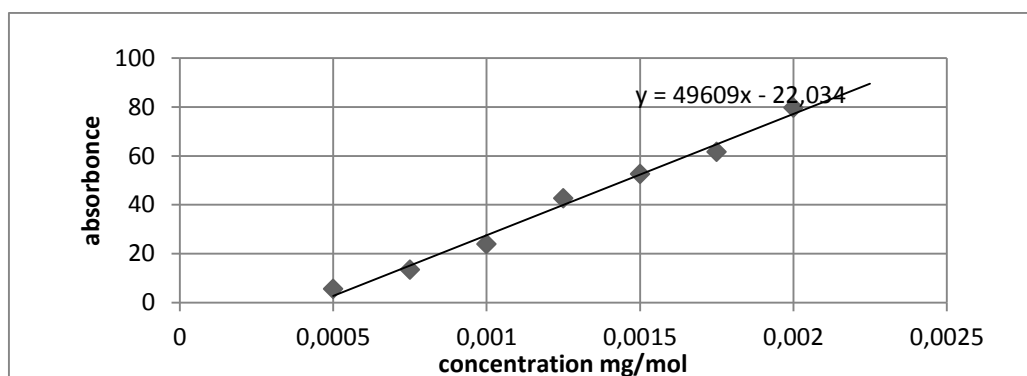


Figure .4 Courbe représente la variation de l'absorbance en fonction des différentes concentrations d'acide gallique

II.2. Test de FRAP

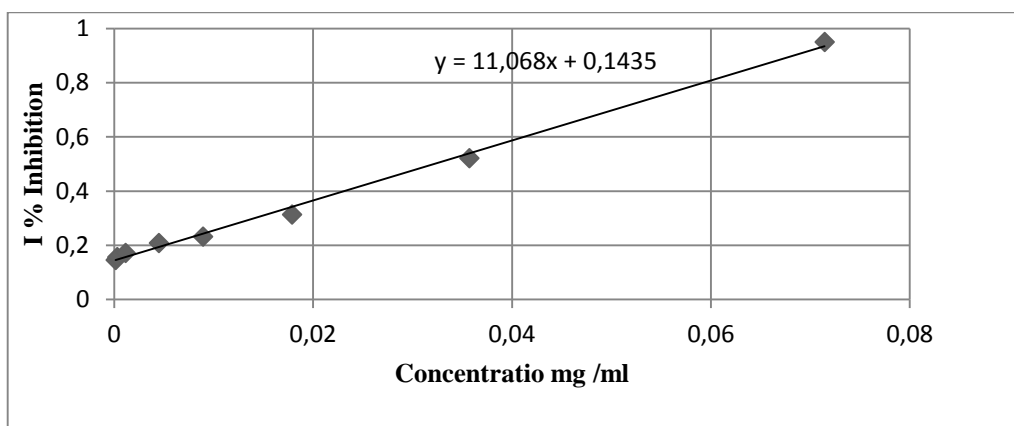


Figure .5 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de macération (phase aqueuse).

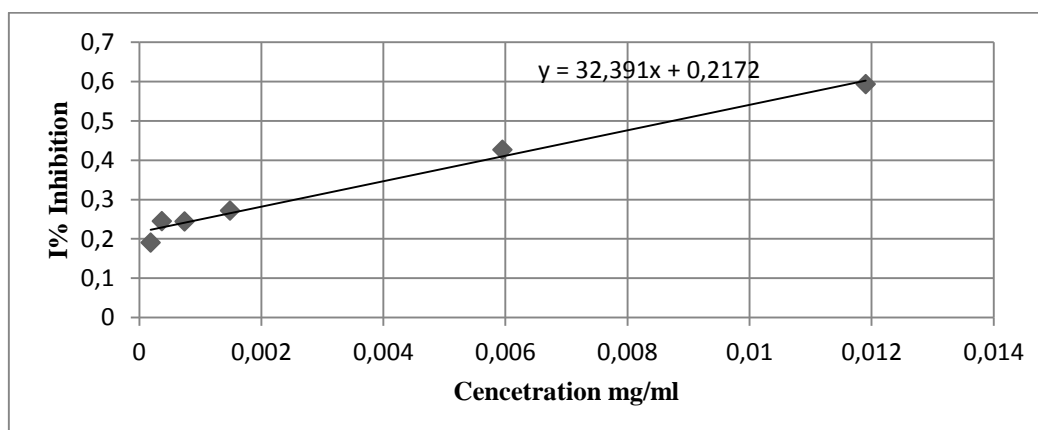


Figure .6 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de macération (phase organique)

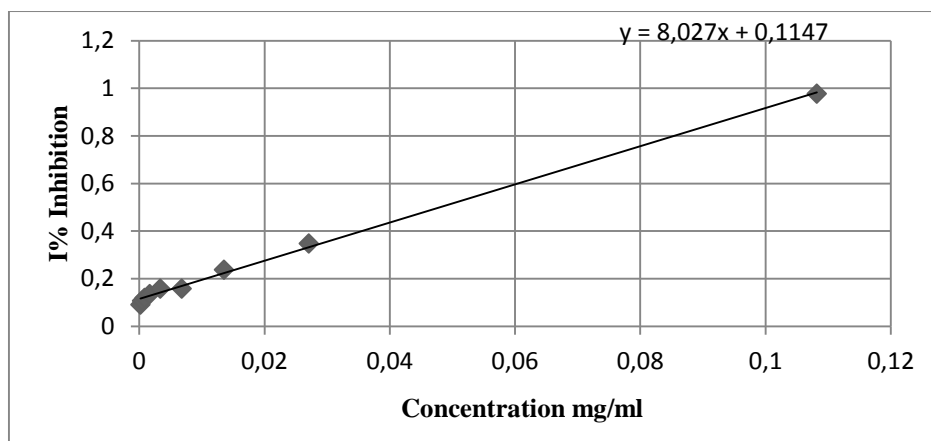


Figure .7 Courbe représente la variation de l'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de sonication.

La courbe standard d'acide gallique et BHA

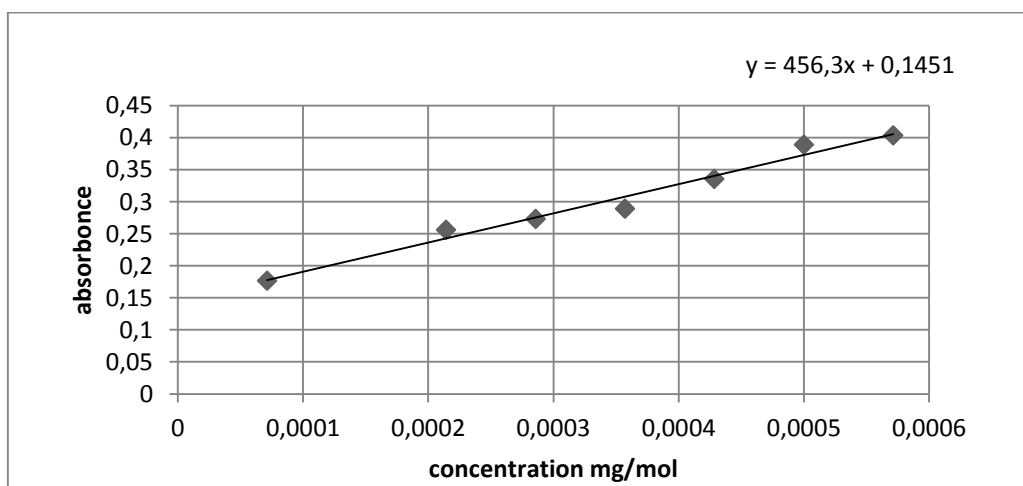


Figure .8 Courbe représente la variation de l'absorbance en fonction des différentes concentrations d'acide gallique

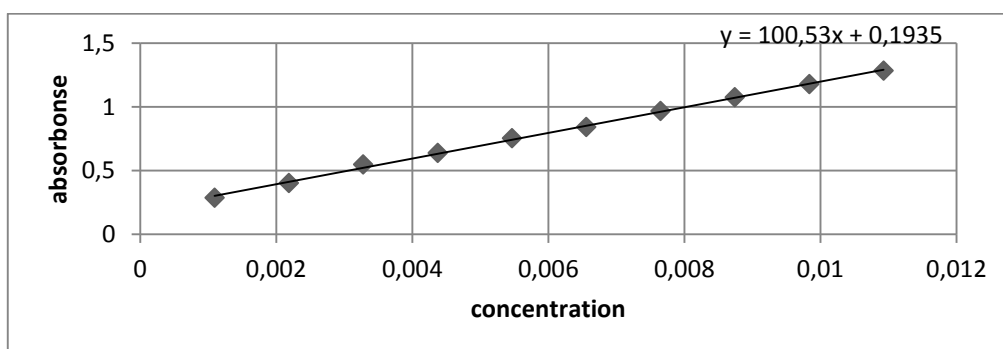


Figure .9 Courbe représente la variation de l'absorbance en fonction des différentes concentrations de BHA

الملخص

صممت هذه الدراسة لقياس النشاط المضاد للأكسدة في نبتة الدقوفت من خلال فحص طريقتين لاستخراج البوليفينولات: النقع والصوتنة. لوحظ في طريقة النقع إنتاج مرتفع من مادة البوليفينول يصل إلى 17%. وأظهر التحليل النوعي عن طريق الاختبارات الكيميائية النباتية وجود مركبات الفلافونويد والصابونين والترينويدات وكذلك المنشطات. كما أظهر محتوى البوليفينول الكلي والفلافونويد أن أعلى محتوى سجل في مستخلص الصوتنة (130.258 ± 3.669 مجم EAG / غرام DM) للبوليفينول و (14.098 ± 0.324 مجم EQ / غرام) للفلافونيدات. محتوى مستخلصات النقع (المستخلص العضوي والمستخلص المائي) من المركبات الفينولية أقل من تلك التي تم الحصول عليها في مستخلص الصوتنة ، حيث تتراوح محتوياتها بين (10.352 ± 45.687 و 8.019 ± 3.059 مجم EAG / غرام DM) للبوليفينول ، وتفاوتت ما بين (6.421 ± 0.061 و 0.201 ± 0.833 مجم EQ / غرام) بالنسبة للفلافونويدات. من جهة أخرى اعطي قياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية والبعض من مضادات الأكسدة القياسية المأخوذة كمراجع (حمض الغاليك وBHA) نفس تصنيف نشاط الاكسدة بالطريقتين المستخدمتين (DPPH وFRAP) . حيث يحتوي الدقوفت على نشاط مضاد للأكسدة متوسط ، مقارنة بـ (حمض الغاليك وBHA) و بالتالي فإن عملية الاستخلاص بواسطة النقع ، في هذه الحالة تستخلص المركبات الفينولية النشطة من المادة النباتية على الرغم من انخفاض إنتاجيتها بشكل ملحوظ.

الكلمات المفتاحية: الدقوفت ، النقع ، المركبات الفينولية ، الصوتنة ، FRAP ، DPPH.

Cette étude a été conçue pour examiner l'activité antioxydante d'*Artemisia campestris* en examinant deux techniques d'extraction : la macération et la sonication. Un rendement en polyphénols important est observé chez l'extrait hydroéthanoïque atteint 17 %. L'analyse qualitative par les tests phytochimiques a marqué la présence des flavonoïdes, les tanins, les saponines, les terpénoïdes ainsi que les stéroïde. Le contenu des polyphénols totaux et des flavonoïdes a révélé que la teneur la plus élevée est enregistré dans l'extrait de la sonication avec des teneurs de (130.258 ± 3.669 mg EAG / mg MS) pour les polyphénols et (14.098 ± 0.324 mg EQ / mg) pour les flavonoïdes. Les teneurs dans les extraits de la macération (phase organique et phase aqueuse) sont inférieurs que celle obtenue dans l'extrait de la sonication, leurs teneurs varié entre (45.687 ± 10.352 et 8.019 ± 3.059 mg EAG/g MS) pour les polyphénols, et varié entre (6.421 ± 0.061 et 0.833 ± 0.201 mg EQ / g) pour les flavonoïdes. La mesure de l'activité antioxydant des extraits phénoliques et des quelques antioxydants standard pris comme références (l'acide gallique et le BHA) donne le même classement d'activité par les deux méthodes utilisés (DPPH et FRAP). L'*Artemisia campestris* a une activité antioxydant moyennes, par rapport aux (l'acide gallique et le BHA). La méthode de macération extraire, dans ce cas, les composés phénoliques actifs du matériel végétal bien que son faible rendement marqué.

Mots clés : *Artemisia campestris*, Macération, sonication composé phénolique, DPPH, FRAP.

Abstract:

This study was designed to examine the antioxidant activity of *Artemisia campestris* by examining two extraction techniques: maceration and sonication. A high yield of polyphenols is observed in the hydroethanoic extract reaching 17 %. Qualitative analysis by phytochemical tests marked the presence of flavonoids, tannins, saponins, terpenoids as well as steroids. The content of total polyphenols and flavonoids revealed that the highest content is recorded in the sonication extract with contents of (130.258 ± 3.669 mg EAG / mg DM) for polyphenols and (14.098 ± 0.324 mg EQ / mg) for flavonoids. The contents in the maceration extracts (organic phase and aqueous phase) are lower than that obtained in the sonication extract, their contents varied between (45.687 ± 10.352 and 8.019 ± 3.059 mg EAG / g DM) for the polyphenols, and varied between (6.421 ± 0.061 and 0.833 ± 0.201 mg EQ / g) for flavonoids. The measurement of the antioxidant activity of the phenolic extracts and some standards antioxidants taken as references (gallic acid and BHA) gives the same classification of activity by the two methods used (DPPH and FRAP). *Artemisia campestris* has average antioxidant activity, compared to (gallic acid and BHA). The maceration method extract, in this case, the active phenolic compounds from the plant material although its marked low yield.

Keywords: *Artemisia campestris*, Maceration, sonication phenolic compound, DPPH, FRAP.