

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Amar Telidji -Laghouat
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée

THEME

Etude phytochimique et activité anti-oxydantes de la plante : ***Juniperus phoenicea***

Par :

Aouissi Hanane & Bendjaballah Arbia Melak

Devant le jury composé de :

President	Professeur	Dr.GOUZI Hicham
Examination	MRB	Dr. DJEMEL Abdelhak
Encadrant	MRB	Dr.BOUCHARAB Abderrezak
Co-Encadrant	MCA	Dr.BENACEUR Farouk

Année Universitaire 2022- 2023

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A tous ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour.

A ma famille qui ma doté d'une éducation digne et dont l'amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A l'être le plus cher de ma vie, ma Mère.

A celui qui a fait de moi une femme puissante, mon père.

A mes chers Frères et Sœur.

A titre personnel, **Dr. BOUCHAREB Abderrezak** et **Dr BENACEUR Farouk**, trouvez ici le témoignage de mes plus sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

À chaque professeur qui a fait un effort précieux pour nous enseigner durant mon parcours à l'Université Amar Theliji.

A tous mes amis et personnes chers qui occupent une place importante dans mon cœur, surtout ceux qui m'ont soutenu dans les moments difficiles.

Tous les mots restent insuffisants pour exprimer ma gratitude et ma reconnaissance, que le tout puissant vous garde et vous protège, vous qui avez participé à ma réussite.

Hanane

Dédicaces

Je dédie ce Travail aux êtres les plus chères à mon père à ma mère à mes sœurs zoubida et soumia à mes frères mouhammad et souhaib à mes nièces habiba maria et douha.

Arbia Melak

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Louanges à Allah le miséricordieux, qui m'a donné le courage, la force, m'a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce j'ai réussi à achever ce modeste travail.

Nous aimerions profiter cette l'occasion pour remercier nos enseignants de leur généreux soutien pour que nous puissions enfin réaliser cette précieuse recherche. Nous offrons également le plus beau sentiment de gratitude à notre famille et nos amis qui ne nous ont pas quittées pendant nos années scolaires et dans la période d'écriture de cette recherche.

Nous remercions **Dr BENACEUR Farouk** d'avoir accepté de diriger cette mémoire de fin d'étude M2, en s'acceptant dans son équipe de recherche et pour son accueil à l'Unité de Recherche en Plantes Médicinales – Laghouat.

Nous présenter nos plus vifs remerciements **Dr. BOUCHAREB Abderrezak** tout d'abord de nous avoir donné de son précieux temps et de tous ses grands efforts avec nous et d'être resté avec nous jusqu'au dernier moment de travail et pour toutes les informations et les conseils qu'il nous a données, en particulier pour sa patience avec nous.

Nous remercions **Dr. GOUZI Hicham** pour l'honneur qu'il nous a fait pour assurer la présidence du jury.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à **Dr. DJEMEL Abdelhak** d'avoir accepté d'examiner notre travail

Enfin je n'oublie pas à remercie tous les enseignant de L'UNIVERSITÉ AMAR TELIIDI LAGHOUAT, et tous mes amis de promo 2018-2023.

Hanane et Arbia

Résumé

L'Algérie par son emplacement géographique particulier et ces qualités climatiques très variées, présente une végétation riche et diverse. On compte plus de 3000 espèces de plantes, dont 15% endémiques, appartenant à plusieurs familles botaniques. Cette recherche est basée sur l'un de ces espèces qui est *le Juniperus phoenicea*, récoltée Djebel Amour de la région d'Aflou (wilaya de Laghouat), au cours de ce modeste travail on a essayé de d'effectuer plusieurs méthodes d'extraction à fin de dosé le contenu de ces extraits en terme des polyphénols et des flavonoïdes ainsi que de testé l'activité biologique anti oxydante des extraits issue de cette plante.

Nos résultats ont montré des niveaux variables en polyphénols et flavonoïdes totaux cela et due au type d'extraction visée, notamment pour le cas d'extrait cyclohexane. Concernant l'activité anti-oxydante, les résultats ont montré des activités importantes pour les extraits d'acétate d'éthyle des deux parties de cette plante particulièrement pour la partie feuille mais qu'il reste toujours incomparable aux références BHA et BHT dans les méthodes de piégeage des radicaux DPPH, ABTS ou bien Phenanthroline. A la fin nous avons proposé aux autres chercheurs des perspectives qu'on le constate utiles pour des recherches ultérieures dans le même contexte.

Mots clés : *Juniperus phoenicea*, Activité biologique, extraction par ultrason, extraction classique.

Abstract

Algeria by its special geographical position and its very varied climatic qualities presents a rich and diversified vegetation. There are more than 3000 species of plants, 15% of which are endemic, belonging to several botanical families. This research is based on one such species, *Juniperus phoenicea*, collected in Djebel Amoure in the region of Aflou (wilaya de Laghouat), during this modest work we tried to carry out several extraction methods for the purpose of measuring the content of these extracts in terms of polyphenols and flavonoids as well as testing the antioxidant biological activity of the extracts from this plant.

Our results showed varying levels of polyphenols and total flavonoids because of the type of extraction involved, particularly in the case of cyclohexane extract. Regarding the anti-oxidant activity, the results showed significant activities for the ethyl acetate extracts of both parts of this plant, particularly for the leaf part, but it remains incomparable to BHA and BHT references in radical scavenging methods DPPH, ABTS or phenanthroline. In the end, we gave other researchers insights that we found useful for future research in the same context.

Keys words: *Juniperus phoenicea*, Classical extraction, Ultrasound assisted extraction, Biological activities.

ملخص

تتميز الجزائر بموقعها الجغرافي المتميز وخصائصها المناخية المتنوعة للغاية بوجود نباتات غنية ومتنوعة. هناك أكثر من 3000 نوع من النباتات، 15% منها متوطنة، تنتمي إلى عدة عائلات نباتية. يعتمد هذا البحث على أحد هذه الأنواع، العرعر الفينيقي، الذي تم جمعه في جبل عمور في منطقة أفلو (ولاية الأغواط)، خلال هذا العمل المتواضع حاولنا تنفيذ عدة طرق الاستخلاص لغرض قياس محتوى هذه المستخلصات من حيث البوليفينول والفلافونويد وكذلك اختبار النشاط البيولوجي المضاد للأكسدة لمستخلصات هذا النبات.

أظهرت نتائجنا مستويات متفاوتة من مادة البوليفينول والفلافونويد الكلي بسبب نوع الاستخراج المعني، خاصة في حالة مستخلص سيكلوهكسان. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، أظهرت النتائج أنشطة مهمة لمستخلصات أسيتات الإيثيل لكلا الجزأين من هذا النبات، خاصة بالنسبة لجزء الأوراق، لكنها لا تزال غير قابلة للمقارنة مع مراجع BHA و BHT في الراديكالية. طرق الكسح DPPH أو ABTS أو الفينانثرولين. في النهاية، قدمنا لباحثين آخرين رؤى وجدناها مفيدة للبحث المستقبلي في نفس السياق.

الكلمات المفتاحية: نبات العرعر، الاستخلاص الكلاسيكي، الاستخلاص بالموجات فوق صوتية، النشاط البيولوجي.

Liste des figures

Chapitre I

Figure 01. Le Genévrier de Phénicie.	13
Figure 02. La partie aérienne de <i>Juniperus phoenicea</i>	14
Figure 03. Répartition géographique de <i>Juniperus phoenicea</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 04. Localisation de la région d'étude (commune d'Aflou).	16

Chapitre II

Figure 01. Représentation des étapes de l'extraction liquide/solide	27
Figure 02. extraction solide/ liquide.	28
Figure 03. Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.	24
Figure 04. Différents familles des polyphénols.	32

chapitre III

Figure 01. 1 étapes du séchage des plantes.	58
Figure 02. Broyeur IKA 10 basic avec les tamis à différents porosités.	59
Figure 03. l'étape de broyage de chaque partie de plante.	59
Figure 04. Image lors d'une extraction par macération.	61
Figure 05. Le bain d'ultrason.	62
Figure 06. l'appareil rotavapor.	63
Figure 07. Transformation du radical DPPH• en DPPHH.	68
Figure 08. Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur de H•.	70
Figure 09. Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline.	80

Chapitre IV

Figure 01. Rendement des extractions par macération pour les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle).	76
--	----

Figure 02.Rendement des extractions par ultrason pour les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle).

Figure 03.l'évolution de température en cour d'extraction par ultrason.....77

Figure 04.Evaluation des polyphénols totaux des extraits de la plante Juniperus Pheonecea (partie feuille et fruit).....79

Figure 05.Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de la plante Juniperus Pheonecea (partie feuille et fruit.).....79

Figure 06.Valeur IC50 du test DPPH des extraits d'acétate d'éthyle partie feuille pour les deux extractions macération et ultrasonore.....84

Figure 07.valeur de IC50 de différente extraits de Jp (partie feullie et fruit).....88

Figure 08.Valeur IC50 du test Phenoltroline des extraits d'acétate d'éthyle (feuille) des deux cas d'extraction macération et ultrason.....91

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau 01 : la Taxonomie systématique de *Juniperus phoenicea*.....15

Chapitre II

Tableau 1 : Les principales espèces réactives d'oxygène45

Tableau 2 : les maladies fréquentes subites à cause de stress oxydants.....47

Chapitre III

Tableau 1 : conditions apportées à l'étuve lors de séchage.....58

Chapitre IV

Tableau 01 : les valeurs d'humidité mesuré dans les deux parties de la plante.....74

Tableau 02 : Valeur de rendement d'extraction par macération.....75

Tableau 03 : Valeur de rendement d'extraction par ultrason.....75

Tableau 04 : Evolution de température en fonction de temps d'extraction.....77

Tableau.05 : valeurs des concentrations des polyphénols dans les différents extraits.....78

Tableau 06 : valeurs des concentrations des flavonoïdes dans les différents extraits.....78

Tableau 07: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH.....61

Tableau 08: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH.....63

Tableau 09: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS.....65

Tableau 10 : Pourcentages d'inhibition du radical ABT.....66

Tableau 11 : Pourcentages d'inhibition du radical Phenoltroline.....68

Tableau 12 : Pourcentages d'inhibition du radical Phenoltroline.....69

Liste des Abréviation

A contrôle: L'absorbance du contrôle négatif.

A extrait: L'absorbance de l'extrait/standard.

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

ABTS•+ : Acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

ADN : acide Désoxyribonucléique

ADN : acide Désoxyribonucléique

AGPI : acides gras poly- insaturés

AGPI : acides gras poly- insaturés

BHA: Butyl-Hydroxy-Anisole.

BHT: Butyl-Hydroxy-Toluene.

CAT : catalases

CAT : catalases.

DPPH : 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FCR : réactife Folin-Ciocalteu.

GMPc : le Guanosine monophosphate cyclique

GMPc : le Guanosine monophosphate cyclique.

Gpx : glutathion peroxydase

Gpx : glutathion peroxydase.

GST : La glutathion S transférase

GST : La glutathion S transférase.

IC50 : Concentration Inhibitrice à 50%.

K2S2O8 : Persulfate de potassium.

LDL : (lipoprotéines de faible densité).

LDL :(lipoprotéines de faible densité)

OMS : Organisation mondiale de la santé

OMS : Organisation mondiale de la santé.

SOD : super-oxyde dismutase

SOD : super-oxyde dismutase .

TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity.

Trolox : Acide 6-hydroxy-2, 5,7, 8-tétraméthylchroman-2-carboxylique.

TrxR : thiorédoxine

TrxR : thiorédoxine.

Vit E : vitamine E

Vit E : vitamine E.

Table des matières

<i>Introduction</i> :.....	1
----------------------------	---

Rappels bibliographiques

<i>Chapitre I : La plante et la phytothérapie</i>	4
---	---

I.1.1. Les plantes médicinales	5
I.1.2. Le pouvoir des plantes :	5
I.2. Définition de phytothérapie	6
I.2.1. Développement de la phytothérapie :	7
I.2.2. Différent types de phytothérapie :	7
I.2.3. Les avantages et l'efficacité de la phytothérapie :	8
I.3. La Flore d'Algérie :	8
I.4. Aspect botanique :	9
I.5. Famille des cupressacées :	9
I.5.1. Généralités sur le genre <i>Juniperus</i> :	10
I.5.3. Intérêt biologique de la famille cupressacées :	11
I.5.4. Le genre <i>phoenicea</i> :	12
I.5.5. Taxonomie systématique :	15
I.6. Caractérisation de la région étudiée :	16
I.6.1. Aflou :	16

<i>Chapitre II : procédé d'extraction et stress oxydant</i>	18
---	----

II.1.1. Méthodes conventionnelles d'extraction	19
II.1.1.1. Extraction par les solvants.....	19
II.1.1.1.1. Macération	22
II.1.2. Méthodes innovantes d'extraction	23
II.1.2.1. Extraction assisté par ultra-son	23
II.2. Le stress Oxydant	24
II.2.1. Définition	24
II.2.2. L'origine du stress oxydatif	25
II.2.3. Les dérivés actifs d'oxygène	25
II.2.6.1. Vitamine E	28
II.2.6.2. Vitamine C	29

II.2.6.3. Oligoéléments.....	29
II.2.6.4. Les polyphénols.....	30

Partie Expérimentale

Chapitre III Matériels et Méthodes	35
III.1. Matériel végétale	36
III.2. Méthodes.....	39
III.2.1. Extraction solide-liquide	39
III.2.1.1. Extraction classique (Macération).....	39
III.2.1.2. Extraction assisté a ultrason	40
III.2.3. Condensation Rotavapeur.....	41
III.3. Analyse quantitative :	43
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux :	43
III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	44
III.3.3. Activité biologique :	46
III.3.3.2. Test d'ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide]):	48
Chapitre IV Résultats et discussion	52
IV.1 Taux d'humidité.....	53
IV.2. Rendement d'extraction	53
IV.2.1. Extraction par macération	53
IV.2.2. Extraction par ultrason :	54
IV.3. L'effet des ondes ultrasonore sur la température :	55
IV.4. Dosage des polyphénols :	56
IV.5. Dosage des flavonoïdes:	57
IV.6. Criblage d'activité biologique :	59
IV.6.1. DPPH :	59
IV.6.2. ABTS :	62
IV.6.3. Phénoltroline :	67
Conclusion générale.....	71
Références.....	73

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Introduction :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs composés bioactifs ses produits sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans plusieurs industries y a compris l'industrie pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires **(Bouzouita et al. 2008)**.

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances bioactives tel que : alcaloïdes, huiles essentielles, flavones, tanins,... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux **(Bakira et al. 2016)**. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire **(WHO. 2002)**. Malgré l'utilisation croissante des plantes médicinales à travers le monde, il reste encore beaucoup de chose à comprendre sur les mécanismes de biosynthèse et de leurs vertus thérapeutiques **(Gao et al .2011)**.

L'Algérie par son emplacement géographique particulier et ces qualités climatiques très variées, présente une végétation riche et diverse. On compte plus de 3000 espèces de plantes, dont 15% endémiques, appartenant à plusieurs familles botaniques **(Gaussen et al. 1982)**.

Dans ce contexte, ce présente travail de recherche dont le but principal est la valorisation de la richesse de l'Algérie en plantes médicinales et plus précisément la région d'Aflou Wilaya de Laghouat qui présente l'un des régions les plus intéressante en terme des conditions climatiques ainsi que sa diversité florales ce qui nécessite des études approfondit en terme ethnobotanique ainsi que phytochimique, pour cela notre étude englobe deux aspects dont le premier est d'ordre phytochimique, le second aspect est consacré à une évaluation des activités antioxydants des extraits de deux partie la plante *Juniperus phoenicea* (partie feuille et partie fruit) de la famille *Cupressacées*.

INTRODUCTION

Notre étude est divisée en deux parties, la première partie est composée en deux chapitres ; le premier est consacré aux rappels sur la phytothérapie et la plante, une étude bibliographique qui rassemble des données de la littérature concernant la description botanique du matériel végétal étudié ; le deuxième chapitre présentera un rappel sur les différents procédés d'extraction et les mécanismes liés aux stress oxydatifs. Une seconde partie comporte l'étude expérimentale, et subdivisée en deux chapitres ; le premier a groupé les matériels et les méthodes utilisés dans l'extraction, et un rappel sur les protocoles utilisés dans le dosage et les activités biologiques ; dans le deuxième chapitre on a présenté nos résultats et leurs discussions. En terminant notre travail par une conclusion et les perspectives éventuelles afin d'optimiser une étude phytochimique approfondie qui sera opérée sur l'espèce précitée.

Rappels bibliographiques

Chapitre I : La plante et la phytothérapie

I.1.1. Les plantes médicinales

À travers l'histoire l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques depuis des milliers d'années a traversé des nombreuses civilisations : égyptienne, chinoise, indienne et aztèque. Le papyrus d'Ebers, est l'un des plus anciens documents traités médicaux connus, mentionnant plusieurs recettes à base des plantes, des minéraux ou d'une partie de l'animal, datées du XVI^e siècle avant Jésus (**Shaito et al., 2020**). Parmi les livres de la médecine ancienne traitant les plantes médicinales et aromatiques nous trouvons celle de Shen Nong et celui de Brahma qui dont des informations sont encore tirées jusqu'à nos jours sur les plantes, ses effets et sont intérêts (**Grosjean, 2015**).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances actives qui pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles (**Huet, 2013**), dans le monde environ 35000 espèces des plantes sont employées à des fins médicinales, leur action provient de leurs composition chimiques (métabolites primaires/secondaires ou autre) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Herbet 1989, Elqaj et al 2007, Sango 2006**).

I.1.2. Le pouvoir des plantes :

La découverte du pouvoir curatif des plantes est une idée ancienne, adoptée comme principale source de composés bioactifs utilisés en médecine traditionnelle et moderne (**Khadir et al, 2013**). La nature présente une source essentielle pour le développement de nouveaux produits chimiques destinés à traiter les maladies de manière générale, ce qui mettre un facteur clé qui mit en évidence l'intérêt des plantes médicinales comme un alternative économique, fiable et environnementale (**Frishman, Beravol, & Carosella, 2009**).

Organisation mondiale de la santé OMS a estimé que 65 % de la population mondiale comptaient sur les plantes pour la prévention, le traitement et elle a reconnu que un bon nombre des composés les plus couramment utilisés en médecine sont d'origine végétale, à titre d'exemple le "Résérpine" qui est toujours efficace dans le traitement de l'hypertension artérielle contrairement à la "Papavérine" qui travaille à dilater les vaisseaux pour augmenter la pression artérielle ces deux composées sont d'origine végétale l'un a été extraire à partir des rhizomes et les racines de *Rauwolfia Serpentina* et l'autre à partir du *Latex du Pavot*. (**Fabricant & Farnsworth, 2001**).

L'utilisation des plantes médicinales est devenue courante avec l'avancement de la recherche scientifique axée sur l'amélioration de la puissance, de la sélectivité et de la pharmacocinétique des produits bioactifs naturels par modifications structurales qui ont conduit à la production de nouveaux médicaments ; ces changements structurels sont souvent nécessaires pour limiter la toxicité des produits naturels d'une part et d'augmenter le potentiel clinique d'autre part. **(Gerry & Schreiber, 2018).**

I.2. Définition de phytothérapie

La phytothérapie est une médecine naturelle basée sur l'utilisation des plantes et de leurs extraits. Le mot phytothérapie vient du grec « phyton » qui veut dire plantes et « therapeia » qui veut dire soigner **(Sadia, 2015)**. On distingue deux types de phytothérapies (la phytothérapie traditionnelle et la phytothérapie clinique) qui sont en réalité le prolongement l'une sur l'autre **(Herbinet, 2004)**.

❖ La phytothérapie traditionnelle :

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques. **(Chabrier, 2010)**.

❖ La phytothérapie clinique :

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapie de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies **(Chabrier, 2010)**. De nos jours, il existe plusieurs spécialités, éventuellement combinées entre elles qui utilisent les plantes à des fins médicales **(Isren p, 2006)**.

I.2.1. Développement de la phytothérapie :

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Les premiers écrits remonteraient jusqu'à 5000 avant Jésus Christ, avec notamment la tablette sumérienne de Nippur, qui mentionnait une douzaine de recettes et plus de 250 plantes différentes, dont le pavot à opium. Le premier traité médical majeur proviendrait de Chine en 2500 av. J.C. Il s'agit du "Shen Nong Bencao Jing". Si les origines de ce texte sont sujettes à débat, les premières traces écrites retrouvées sur les usages des plantes ont donc déjà plusieurs millénaires (Chevallier, 2020).

I.2.2. Différent types de phytothérapie :

Plusieurs types de phytothérapie sont distingués, dans cette section nous avons illustré les plus couramment utilisées :

- ❖ **L'aromathérapie** : C'est une thérapie qui utilise les substances aromatiques (essences) secrétées par de nombreuses de plantes (familles : astéracées, laminacées... etc) ; ces huiles sont des produits complexes et sont souvent utilisées a la voie percutanée
- ❖ **La gemmothérapie** : Elle se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique et glycéринés de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et radicules.
- ❖ **L'herboristerie** : La thérapie la plus classique et ancienne ; l'herboristerie se sert de plante fraîche ou séchée. Elle utilise la plante entière ou une partie de celle-ci, écorce, fruits, fleurs. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération ; ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche.
- ❖ **L'Homéopathie** : Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts de principe actif sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- ❖ **La phytothérapie chinoise** : Cette dernière fait partie d'un ensemble appelé « médecine traditionnelle chinoise » qui inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Cette

phytothérapie vise à modifier les quantités de différentes énergies ou le circuit de ces énergies dans l'organisme.

- ❖ **La Phytothérapie pharmaceutique** : Elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, gouttes, gélules et lyophilisats. **(Ouled Cheikh Yahya, 2021)**.

I.2.3. Les avantages et l'efficacité de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières Années, les hommes n'ont pas eue que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies Bénéignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan **(Gayet, 2018)**, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, **(Jorite, 2015)** et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite **(Haselm, 1994)**.

I.3. La Flore d'Algérie :

L'Algérie est réputée pour sa diversité et ses espèces. Depuis la publication de la flore d'Algérie par Quezel et Santa en 1962, aucun autre inventaire floristique n'a été entrepris au niveau national. Il est important de mentionner que depuis la mise en place des grandes lignes de la stratégie nationale de l'utilisation durable des ressources biologiques, les 13 U.C.D (unité de conservation et de développement) qui avaient pour mission de faire l'inventaire et le suivi de celles-ci, se retrouvent confrontées à de multiples problèmes notamment les aspects sécuritaires. **(Gayet, 2018)**. La situation géographique de l'Algérie, chevauchant entre deux empires floraux : Holarctis et Paleotropis, lui confère une flore très diversifiée décrivant 3139 espèces végétales dans la Flore d'Algérie **(Quezel, 1962)**. Parmi ces espèces, 551 sont protégées par la loi Décret exécutif.

La flore algérienne contient un grand nombre d'espèces bien dispersées géographiquement et classées selon leur degré de rareté : 289 espèces sont peu rares, 647 rares, 640 espèces sont très rares dont 35 très rares et 168 endémiques. Selon le rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) pour l'année 2012 (**Boukhalfa, 2017**).

I.4. Aspect botanique :

✚ Matériel végétal :

Le choix du matériel végétal n'est en aucun cas fait d'une manière aléatoire même si l'objectif est préalablement fixé. En plus du facteur disponibilité, des recherches bibliographiques approfondies liées à ce dit matériel doivent être faites avant d'entamer quoique ce soit afin de garantir au moins une certaine originalité du travail et ce quel que soit les résultats qui seront obtenus. Un autre point très important qu'il faut toujours vérifier tout au début et qui consiste à s'assurer que le végétal choisi contient bien les produits qu'on se propose d'étudier. Ce dernier point consiste à faire des screening permettant d'évaluer et d'apprécier à sa juste valeur où à la limite d'une manière plus ou moins approximative le contenu de la plante aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif. La période et le lieu des récoltes doivent aussi être bien choisis car rien que pour la période, il faut effectuer les récoltes au moment de la floraison et elle se situe pour ce qui nous concerne généralement entre les mois d'Avril à Juillet selon le lieu de la station de récolte.

✚ Rappel botanique :

La systématique botanique d'une plante est pour le phytochimiste et pour tout chercheur dans le domaine des substances naturelles la carte d'identité de la plante à étudier donc primordial ; sans cette dernière, il est inconcevable voire même impossible d'entamer un quelconque travail de recherche où la matière de départ est un végétal. Ainsi, pour l'espèce que nous nous proposons d'étudier, le classement suivant est proposé en prenant compte des remarques établies jusqu'à ce jour par les spécialistes en la matière ; dans la figure 01 en présente le schéma conventionnelle de systématique botanique d'une plante.

I.5. Famille des cupressacées :

Les Cupressacées sont une famille appartiennent aux conifères de l'ordre des pinales à l'embranchement des Spermatophytes, sous-embranchement des Gymnospermes (arbres à graine

nue), sont la famille la plus représentée dans le monde. Selon un classement phylogénétique, ils sont composés de 160 espèces divisées en 7 sous-familles et 29 genres répartis dans les hémisphères nord et sud. (Poncet, Charpin, & Sénéchal, 2021).

Les plus importants sont *Cupressus L.*, *Juniperus L* avec environ 70 espèces et *Callitris Vent.* Elle est en outre divisée entre les Cupressacées sensu stricto (feuilles opposées à quatre rangs) et les Taxodiacées (feuilles alternées) .(Benattia & Hellali, 2019).

Les Cupressacées sont des arbres ou arbustes anémophile généralement résineux et aromatiques majoritairement monoïques et rarement dioïques tel que le genre *Juniperus*. (Spencer, 1995), atteignant une hauteur de 5 à 10 mètres, il pousse à l'état sauvage sur les terres arides caillouteuses et est très tolérant à la sécheresse (Huguette, 2008). Leurs feuilles sont généralement écailleuses et disposées en spirales ou en paires ou verticilles de 3 à 4 feuilles. Leurs cônes sont ligneux, coriaces, parfois charnus, ressemblant à des baies (dans le cas du genévrier), avec un à plusieurs ovules, 1 à 2 ans après maturité. (Spencer, 1995).

Ils portent de petites fleurs unisexuées incomplètes produites par des cônes mâles et femelles ; les cônes mâles sont constitués de 3 à 10 sacs polliniques ou microsporanges, qui se divisent longitudinalement à maturité et libèrent de grandes quantités de pollen dans l'air, en moyenne 400 000 nombre de grains par cône. Les grains de pollen sont de petite taille et très homogènes morphologiquement ce qui rend impossible de distinguer le genre ou l'espèce (Poncet et al., 2021)

- ❖ **Les fleurs mâles** combinées en petits chatons avec des écailles peltées en forme de verticille 2 à 12 sacs polliniques sur le dessous.
- ❖ **Les fleurs femelles** sont assemblées en cônes d'écailles peltées c'est-à-dire une bractée-mère soudée avec une feuille carpellaire et portent chacune de 3 à 10 ovules orthotropes.
- ❖ **Indéhiscents** : c'est le genre *Juniperus* qui représente une fausse baie formée par la concrescence des écailles devenues charnues.

Déhiscents secs : c'est le genre de *Cupressus*, *Tuya* qui leur écailles sont devenues ligneuses et de graines nombreuses et ailées. (Belkacem, 2014).

I.5.1. Généralités sur le genre *Juniperus* :

Le genre *Juniperus* est une composante importante des écosystèmes arides et semi-arides de l'hémisphère Nord, présent dans le sud de la Méditerranée dans l'Atlas marocain et les Aures

d'Algérie et dans le nord de la Méditerranée en Espagne, en France et en Italie. L'un des principaux genres de la famille des *Cupressaceae*, composé d'environ 70 variables d'espèces de taille et de forme, des grands arbres aux arbustes colonnaires ou à faible épandage, est considéré comme une plante médicinale importante largement utilisée en médecine traditionnelle. **(Manel et al., 2018)**

Comme ses petites baies sont amères, *Juniperus* serait une variante latinisée de la terminologie celtique signifiant "buisson pointu". Le genre *Juniperus*, aussi appelé genévrier, compte 60 espèces d'arbres et d'arbustes odorants. Il est très commun dans les parties subtropicales et tempérées de l'hémisphère nord à l'exception de certaines de ses espèces qui s'étendent dans l'hémisphère en particulier en Afrique du Nord et sub-saharienne. **(R. Adams et al., 2003).**

Selon Garnier (1961) les genévriers (*Juniperus*) en raison de leur rusticité et de leur dynamisme occupent une place importante dans le paysage nord-africain ce sont des espèces pionnières écologiquement moins exigeante et présente du bord de mer aux sommets de l'Atlas. En raison du fait qu'ils sont souvent le seul type de végétation susceptible d'être utilisé pour des raisons industrielles ou thérapeutiques, leur résilience leur permet de résister à l'extrême violence humaine à laquelle ils sont confrontés. **(Belkacem, 2014).**

Le genre *Juniperus* est le deuxième taxon de conifères de la famille des *Cupressaceae* le plus diversifié après le genre *Pinus*. Il est divisé en trois sections *Caryocedrus* (une espèce : *J. drupacea* *L. abille*) ; *Oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabina* (environs 50 espèces). Représenté en Algérie par deux sections et cinq espèces : la section *Sabina* (*J. thurifera* *L.*, *J. phonicea* *L.*, et *J. sabina* *L.*) et la section *Oxycedrus* (*J. communis* *L.*, *J. oxycedrus* *L.*). **(R. P. Adams, Barrero, & Lara, 1996).**

I.5.2. Intérêt biologique de la famille cupressacées :

Les cupressacées sont généralement utilisés pour la culture des arbres décoratifs ou des haies **(Husson & Aïchi, 2015)** et remplissent aussi divers rôles dans la nature, notamment :

- ❖ Economiques : production de bois, de résines et d'huiles essentielles.
- ❖ Ecologiques : espèces de conservation et d'ornement **(Bouyahyaoui, 2017)**. En raison de leur résistance élevée à la sécheresse, les brise-vent étaient fréquemment utilisés comme défense contre la désertification pour prévenir l'érosion des sols. **(Rahmani, 2020).**

La famille *Cupressaceae* aussi utilisée en médecine traditionnelle depuis des lustres. Elles accomplissent une variété d'activités biologiques surtout l'activité antioxydante et d'effets thérapeutiques.(Merghit & Chennouf, 2021).

Par exemple le genévrier ses baies extrêmement amères sont utilisées pour fabriquer le gin. Les crayons sont un autre élément fabriqué à partir de son bois. Enfin, on extrait par distillation l'huile de cade qui une sorte de goudron utilisé en dermatologie.(Turgeon, 2001).

Plusieurs espèces de genévrier sont utilisées pour traiter les rhumes, les infections urinaires, l'urticaire, la dysenterie, Leucorrhée et polyarthrite rhumatoïde, régulation des menstruations et soulagement des douleurs menstruelles en médecine traditionnelle dans le monde.(Akkol, Güvenç, & Yesilada, 2009).

I.5.3. Le genre *phoenicea* :

Juniperus phoenicea généralement connu sous le nom le genévrier de phénicie ou genévrier rouge « Ara'ar » il appartient à la famille *Cupressaceae* de section *Sabina*, classé comme deuxième genre *Juniperus* le plus diversifié des Conifères, ce genévrier est un arbrisseau touffu ou un arbuste monoïque et rarement dioïque de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres adapté au bioclimat méditerranéen semi-aride et aride en ambiance nettement continentale. Il est très variable, montrant des différences morphologiques, biochimiques et moléculaires.(Bouyahyaoui, 2017; Quezel & Santa, 1963).



Figure01.Le Genévrier de Phénicie.

- ✚ Feuilles : elles représentent en deux formes :
 - Les feuilles qui sont les seuls très jeunes ont des feuilles piquantes avec deux lignes blanches au-dessus et au-dessous.
 - Les feuilles en petites écailles qui sont entièrement ou pratiquement squamiformes, ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, plissées sur le dos, glandulaires et vert foncé. Ils varient en taille de 0,7 à 1 mm. Ils ne sont pas articulés, densément emballés par trois sur quatre ou six rangées, et forment un avec la branche. **(Zireg, 2011).**
- ✚ Fleurs : sont souvent recueillies sur les mêmes pieds (rarement sur des individus différents)
 - Les fleurs mâles : produisent un grand nombre de petits chatons oblongs ou sphériques avec des écailles pédicellées portés sur les pédoncules courts et feuillus distribués latéralement le long des branches.

- les fleurs femelles : ont moins d'écaillés épaisses, pointues et groupées en quatre rangées. (Zireg, 2011).
- Fruits : Leur fruits appelés galbules sont des cônes globuleux à écaillés charnues d'un diamètre de 7 à 10 mm qui ont une surface inégale et sont marqués avec de petits blafarts verts virant au brun mordorée attrayante devient rouge quand ils atteignent la maturité (après deux ans). Leur chair a une forte odeur, est ferme, sèche, fibreuse, jaune avec des nuances vertes, et contient 4 à 9 graines ovales avec des extrémités pointues et une coquille dure. De septembre à décembre est la saison de fructification. (Zireg, 2011).



Figure 02. La partie aérienne de *Juniperus phoenicea* (El Kolli, 2018).

Cette espèce se distingue par sa résistance élevée au vent, son indifférence au sol et sa capacité à maintenir les sols argileux, sableux, calcaires ou dolomitiques, les marnes et les sols. Il peut survivre dans la végétation d'Afrique du Nord à la limite du Sahara avec 250 mm d'eau par an. Dans la station espagnole "Sierra Del Cabo de Gata", qui est la plus sèche de toute l'Europe, 200mm de précipitations est suffisante en raison de l'humidité atmosphérique élevée. (Seigue, 1985 ; Adams, 2004).

En outre, il existe certains rapports sur l'analyse des huiles essentielles de fruits qui ont été utilisées il y a des siècles dans :

- les cosmétiques montrent généralement des caractéristiques biologiques intéressantes ;
- aident également à augmenter le débit des fluides digestifs ;
- améliorer la digestion et éliminer les gaz et les crampes d'estomac ;

- est aussi irritante pour les microbes, au point de tuer beaucoup d’entre eux ;
- *J. phoenicea* est utilisé depuis des siècles comme inhalant à vapeur pour la bronchite et pour contrôler l’arthrite. **(Derwich, Benziane, & Boukir, 2010)**
- La diarrhée, les rhumatismes et le diabète sont tous traités à l’aide de ses feuilles.
- Les feuilles et les baies de cette plante sont combinées pour faire un médicament hypoglycémique.
- Les ulcères et abcès cutanés peuvent être traités avec ses fruits séchés et en poudre.
- Il est réputé pour avoir des propriétés anti-diarrhéiques en Algérie. **(Achak et al., 2008 Dob, Dahmane, Chelghoum, 2008).**
- propre feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires et comme diurétique. **(Ramdani et al., 2013).**
- peuvent provoquer des hématuries en les doses élevées. **(Aouadhi, 2010).**

I.5.4. Taxonomie systématique :

Tableau 01 : la Taxonomie systématique de *Juniperus phoenicea* **(Small et al., 2001)**

Classification	
Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressacées</i>
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i>

- Nom vernaculaire :
 - En arabe :Arârlahmar
 - En Anglais: Cedar, Berry Bearing Cedar, Phoenician juniper, Phoenician
 - En Français : Genévrier de Phénicie, Genévrier rouge
- Nom latin : Jupiers phonique
- Nom Kabyle : taqa (tawrirt plus rarement). **(Dane, Y 2015.)**

I.6. Caractérisation de la région étudiée :

Notre étude est réalisée au niveau de la région d'Aflou qu'est une partie de la wilaya de Laghouat exactement la région du djebel Amour.

I.6.1. Aflou :

En 1932 La commune d'Aflou fondée qu'est une partie de la wilaya de Laghouat sur une superficie de 303 km se trouve à 406 km d'Alger et 110 km au Nord-ouest de Laghouat. Elle est délimitée :

- au Nord par djebel Amour 1464 m ;
- au Sud par Maïs 1547 m ;
- à l'Est par Sebag Massine ;
- à l'Ouest par Sebag. **(Gallimard, 1960)**

Aflou une des plus hautes villes d'Algérie qui fait partie des limites septentrionales de l'Atlas saharien algérien sur le plan biogéographique ,elle est située dans une vallée au centre du massif de Djebel Amoure qui culmine au nord à Djebel Sidi Okba à 1690 mètres. Laghouat, Tiaret, Djelfa, et El-Bayad sont les quatre villes importantes entre lesquelles la synchronisation d'Aflou est à peu près à mi-chemin. **(Derderi, 2014).**

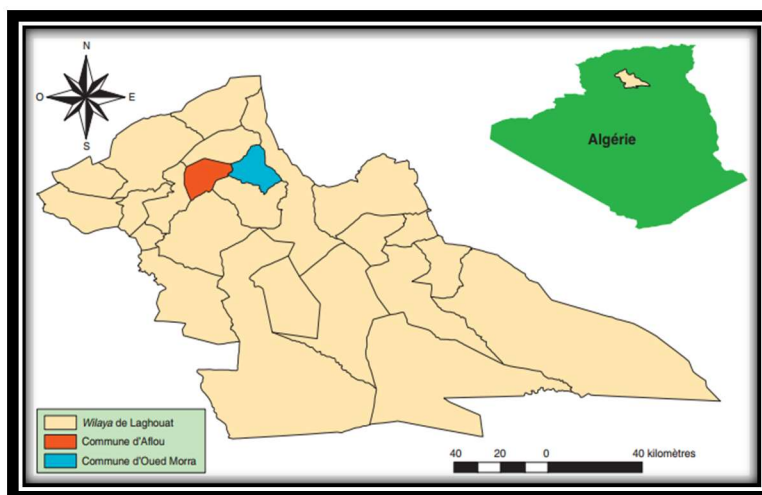


Figure 3. Localisation de la région d'étude (commune d'Aflou). **(Derderi, 2014).**

En 2021 la doctorante AMRANI Ouarda fait une étude floristique et nutritive de la région de Laghouat qu'il a comparé le climat de la région d'Aflou à celui de la région de Laghouat Où elle a trouvé que :

- Au mois de janvier les températures sont comprises entre +2,3°C -3,65 °C minimales le plus froid), elle cela est dû aux altitudes élevées, qui appartiennent à l'Atlas saharien,
- Au mois de juillet les températures varient entre 34,37°C qui présente les températures maximales (c'est-à-dire le plus chaud).
- La température moyenne annuelle varie entre 13,42°C.

Selon une analyse des statistiques agricoles de la région d'Aflou DERDERI Alaeddine montre que :

- L'objectif premier de cette région est l'élevage pastoral ;
- la principale activité économique de la population rurale de la région d'étude c'est l'activité agropastorale qui reste dominante ;
- La superficie agricole utile représente 15% de la superficie totale de la région d'étude. **(Derderi, 2014).**

La position de station sur le climagramme d'EMBERGER indique qu'Aflou représente dans la période (1913_1938) un bioclimat semi-aride moyen (données de Seltzer, 1946) et dans la période 2005-2014 un étage bioclimatique semi-aride inférieur selon les données de l'O.M.N. Les forêts de de *Juniperus phoeniceae*, l'une des qui constituent la majorité de la végétation. **(Ouarda, 2021).**

Chapitre II : procédé d'extraction et stress oxydant

II.1.1. Méthodes conventionnelles d'extraction

Les premières méthodes d'extraction des composés aromatiques des plantes remontent au moment où l'homme a pris conscience pour la première fois de la valeur du monde naturel qui l'entoure. La découverte du feu fut l'un des moments les plus significatifs de l'histoire humaine, son utilisation dans le domaine de l'extraction dut attendre la montée de la civilisation arabe. **(Lucchesi, 2005)**.

II.1.1.1. Extraction par les solvants

L'extraction est un processus dans lequel certaines substances sont séparées d'un organisme (animal ou végétal) en utilisant une variété de procédures.

Le transfert d'un produit chimique d'une phase à une autre est ce qu'on entend par extraction :

- D'un solide à un liquide
- D'une phase liquide à une autre phase liquide.

Il peut être nécessaire d'étudier ces composés pour trouver de nouveaux médicaments, et si une molécule réussit dans une application particulière, elle peut être vendue comme produit pharmaceutique. **(Moulin, 2002)**.

L'extraction solide liquide c'est l'interaction entre les deux phases : solide (la matière végétale) et liquide (le solvant) permet de solubiliser le soluté et le diffuser à l'extérieur du solide **(Bassil, 2015)**.

Le transfert d'un ou de plusieurs solutés d'une phase solide à une phase liquide est appelé extraction solide-liquide. La phase contenant le soluté est une phase solide, tandis que la phase de diffusion du soluté est une phase liquide. En théorie, le solvant, qui est le liquide

Les solutés sont des substances solides ou liquides qui se dissolvent pour former une solution ou un extrait (solvant + soluté), laissant un solide usé connu sous le nom de résidu (porteur inactif, inerte ou insoluble avec peu ou pas de soluté). **(Leybros J & Fremeaux P, 1990)**.

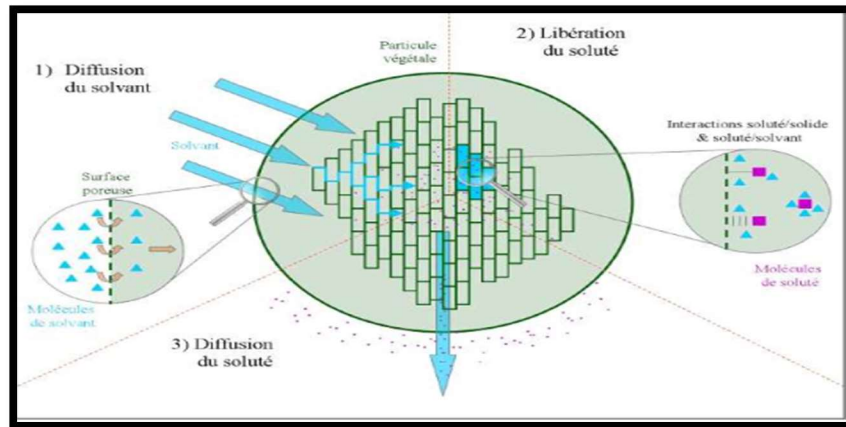


Figure 2. Représentation des étapes de l'extraction solide / liquide à partir d'une matrice végétale (Celhay, 2013).

L'extraction solide liquide est la méthode la plus utilisée qui consiste à transférer des substances actives solubles dans les solvants. Cela se fait selon un gradient de concentration, jusqu'au point où la concentration du composant actif dans la matrice solide et le solvant sont égaux. Le solvant peut être chauffé pour augmenter sa solubilité, ce qui facilite le transfert de masse. C'est le gradient de concentration qui est modifié en remplaçant le solvant d'équilibre par un nouveau solvant. Ces variables conduisent à diverses méthodes d'extraction (Detry, 2017).

L'extraction liquide/solide peut être présentée par trois étapes :

- la diffusion du solvant dans le solide ;
- les échanges à l'interface liquide/solide ;
- et la diffusion des solutés dans leur solvant à travers le solide. (Bassil, 2015)

La figure 01 est bien présenté le phénomène d'extraction solide/liquide.

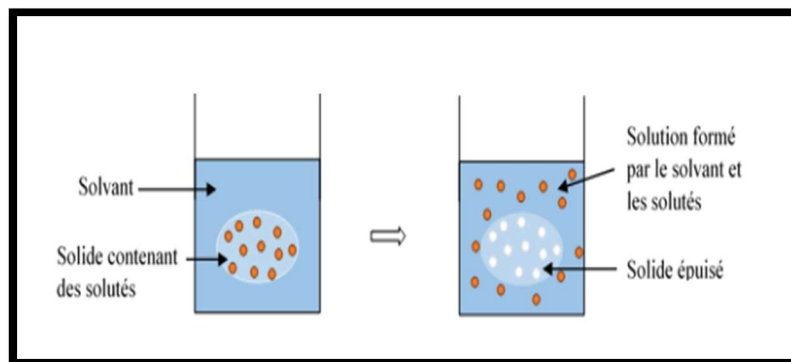


Figure 3.extraction solide-liquide (Lantonisa, 2018).

Cette technique désuète est encore utilisée aujourd'hui pour préparer des échantillons à l'aide de solvants comme l'hexane, le chloroforme, le méthanol, l'acétate éthylique...etc (**Huybrechts, Tangni, Debongnie, Geys, & Callebaut, 2013**).

L'extraction solide-liquide appliquée aux végétaux consiste à récupérer des molécules d'intérêt ou à éliminer des composés indésirables des plantes, pour les évaluations dans des industries comme :

- L'agroalimentaire (sucre, extrait de café décaféiné...etc.) ;
- Les produits pharmaceutiques (alcaloïdes, saponosides, hétérosides...etc.) ;
- Les cosmétiques (polyphénols, lipides...etc.) ;
- La parfumerie (principalement les huiles essentielles).

Après une ou plusieurs phases de préparation du matériel végétal (comme le séchage, le broyage), qui stabilisent le matériel et rendent le soluté du solvant plus accessible, par exemple en augmentant la surface d'échange (phase de broyage), l'extraction est fréquemment effectuée (**Jentzer, 2015**). L'extraction par solvant est la technique classique la plus utilisée pour extraire les produits chimiques, cette dernière, est dépendante de plusieurs facteurs dont il faut tenir compte pour optimiser cette procédure (**M'Hiri, 2015**), sachant que :

- ✓ Le type d'extraction ;
- ✓ Le ratio du solvant organique ;
- ✓ La température ;
- ✓ La durée d'extraction ;
- ✓ Le nombre de cycles d'extraction.

Il existe de nombreuses méthodes conventionnelles d'extraction tel que :

- La macération (le solide est mis en contact avec le solvant à température ambiante pendant une durée plus ou moins longue) ;
- La décoction (le solide est mis à bouillir dans le solvant) ;
- L'infusion (le solide est mis en suspension dans le solvant chaud jusqu'au refroidissement du mélange) (**Jentzer, 2015**), la figure 02 illustre le procédé d'extraction conventionnelle.

II.1.1.1.1. Macération

La macération est une technique d'extraction liquide-solide qui prend de 30 minutes jusqu'à 48 heures à température ambiante.

- ✚ macération aqueuse : dans de l'eau froide pendant plusieurs heures ou peut-être plusieurs jours.
- ✚ macération huileuse : dans l'huile végétale pour permettre aux principes actifs de se propager. **(Kraft et Hobbs, 2004)**.

Le danger de contamination bactérienne du produit fini sans ébullition est un inconvénient de cette procédure **(Nguyen Van, 2010)**.

Sous une agitation régulière, les molécules qui ont une affinité suffisante avec le solvant se dissolvent dans le milieu. Pour produire les extraits contenant les composés ciblés, le résidu de biomasse solide est filtré et le solvant est évaporé. Selon le comportement désiré des molécules à extraire, des solvants polaires et apolaires sont utilisés pour la macération.

- ❖ Les fractions hydrophiles : sont extraites avec des solvants polaires comme l'eau, l'éthanol ou l'acétone ;
- ❖ les fractions lipophiles : sont extraites avec des solvants polaires faibles comme le cyclohexane, hexane, éther de pétrole...etc.

Il est possible d'effectuer des extractions successives avec des solvants à polarité croissante. Il convient de mentionner que les solvants organiques à base biologique moins nocifs comme certains alcools ou esters remplacent de plus en plus les solvants organiques traditionnels **(Jamaledine, 2022)**.

La macération est utilisée plus beaucoup en domaine pharmacologie, mais elle est représentée plusieurs désavantages comme la longue durée de l'extraction et les réactions non souhaitables d'hydrolyse, d'oxydation, de dégradation ou de réarrangement **(Bassil, 2015)**.

II.1.2. Méthodes innovantes d'extraction

Les méthodes traditionnelles d'extraction des composé bioactives présentent des limites, notamment de faibles rendements et la formation de coproduits puisque les composants ciblés ne sont pas très stables. De nombreuses recherches se sont concentrées sur les avantages de l'extraction assistée par des méthodes innovantes, qui permet d'améliorer l'efficacité, d'économiser du temps et des coûts de processus et de ne pas dégrader les composants volatils afin d'obtenir des extraits de haute qualité (**Fabiano-Tixier, Rombaut, Jacottet-Navarro, Bily, & Chemat, 2016**).

II.1.2.1. Extraction assisté par ultra-son

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie innovante utilisée pour l'extraction des composés naturels à rendement élevée en quelques minutes, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final. Les ultrasons aussi interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques.

Les principaux paramètres d'extraction assistée par ultrasons sont :

- Le ratio solvant/matière végétale.
- La fréquence.
- La température et le temps d'extraction.
- La puissance des ultrasons...etc (**Chemat *et al.*, 2008**).

La matière première est exposée à l'activité ultrasonique tout en étant immergée dans l'eau ou un autre solvant. Diffusion d'eau causée par ultrasons dans les tissus cellulaires de la matière première (**Lagunez-Rivera, 2006**).

Les ondes sonores (> à 20 kHz) sont des vibrations mécaniques peuvent se déplacer dans les solides, les liquides et les gaz. Lorsqu'elles sont transportées sur un milieu liquide elles comportent :

- Des cycles d'expansion (basse pression) ;
- De compression (haute pression). (**Wang et Weller, 2006**).

Cette différence de pression fait bouger les molécules du milieu, ce qui provoque le développement de bulles de cavitation. (**Michel, 2011**) comme la figure 06 montre.

Dans le milieu affecté par les ultrasons, les bulles de vapeur commencent à émerger à une température normale. Ces bulles se développent jusqu'à une taille cruciale, à quel point elles se rompent spontanément et produisent une zone d'énergie intense (Fabiano-Tixier et al., 2016).

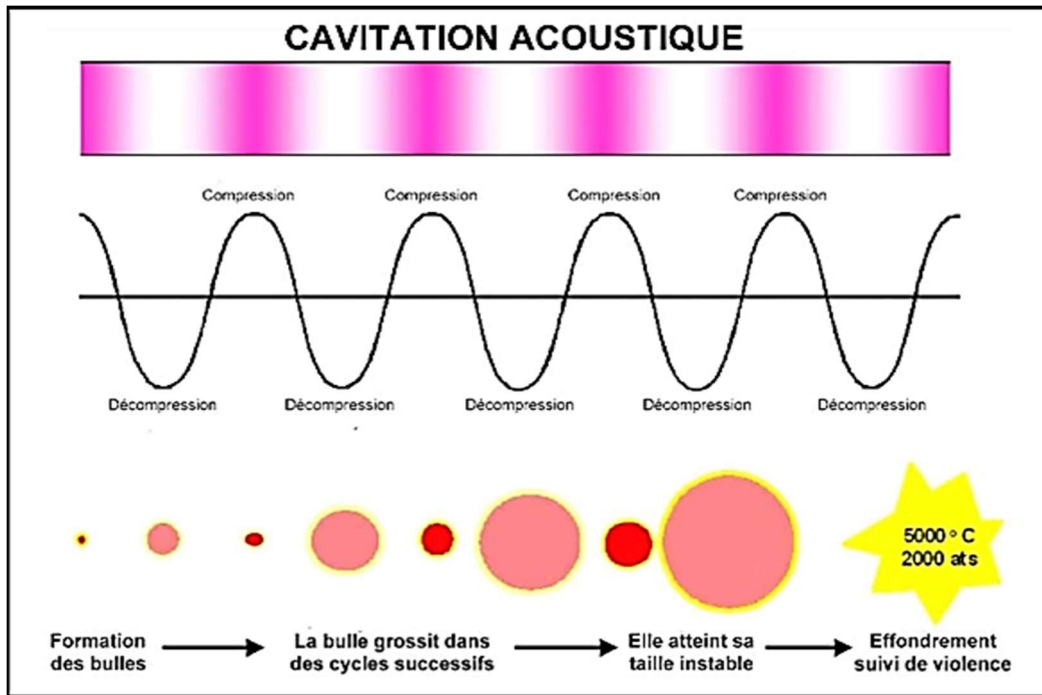


Figure 4. Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore. (Bousbia, 2011).

II.2. Le stress Oxydant

Des rapports de recherches scientifiques dans diverses spécialités suggèrent que les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (fruits et les légumes) c'est une riche source d'antioxydants naturels , pour ses propriétés thérapeutiques efficaces, ces ingrédients doivent être inclus dans nos repas quotidiens . (Migdal & Serres, 2011).

II.2.1. Définition

Le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les mécanismes antioxydants permettant leur élimination. Il se manifeste par des dommages de tous les constituants cellulaires : ADN, protéines et lipides. Les ERO sont pourtant importants pour la physiologie de l'organisme, puisqu'ils participent à la défense immunitaire innée et à la signalisation intracellulaire. (Migdal & Serres, 2011).

II.2.2. L'origine du stress oxydatif

Les différents types des d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produits d'une manière endogène lors du métabolisme mitochondrial, dans le peroxyosome ainsi que par une variété de système d'enzymes cytosoliques. En outre, un certain nombre d'agents extérieurs peuvent déclencher la production d'ERO. Le stress oxydatif est induit par divers stress cellulaires biotiques et abiotiques, parmi :

- L'excès des radicaux libres et le manque d'antioxydants.
- L'exposition au rayonnement d'UV, rayons X...etc.
- Alimentation déséquilibrée carences des vitamines et oligo-éléments.
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine).
- Médicaments, exercice intense ou mal géré...etc.

II.2.3. Les dérivés actifs d'oxygène

Un radical libre (RL) se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule qui possédant un électron qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autre molécules ; l'électron célibataire est conventionnellement représenté par un point (·) (Milane., 2004).

Les radicaux libres sont produits en permanence par l'organisme, aussi appelés « espèces réactives de l'oxygène » (ERO) issus de l'oxygène moléculaires situé dans la cellule ; au niveau mitochondrial dans la chaîne respiratoire dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adénosine Di-Phosphate) en ATP (Adénosine Triphosphate) une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction d'oxygène d'une part, et d'autre part, il y a des conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales dans les conditions physiologiques environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des ERO qui possédant deux rôles complexes (Milane., 2004) :

➤ Des faibles quantités (condition normale) :

Dans ce cas les ERO jouent un rôle de messagers secondaires capables de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. Citons aussi le processus de

fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (**Grimm & Parel, 2019**).

➤ Dans les conditions physiologiques (grande quantité) :

Dans cette dernière les ERO jouent un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Ils sont considérés comme des précurseurs d'autres espèces plus réactives. la cause majeure du stress oxydatif (**Valko et al . 2007**). Parmi toutes les ERO, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : $L'O_2^-$, $\cdot OH$, $NO\cdot$, $ROO\cdot$ et le radical alkoxy ($R-O\cdot$). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulier O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Notamment en classant le pouvoir oxydant en terme descendant comme suit : $\cdot OH > RO\cdot > HOO\cdot > ROO\cdot$ (**Crompton., 1999 ; Haton., 2005, Favier, 2003**), le tableau suivant résume les principales espèces réactive d'oxygène existe dans la nature.

Tableau 1 : Les principales espèces réactives d'oxygène :

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
L'anion superoxyde (O ₂ ^{•-})	Formés par la réduction mono électrique de l'oxygène : Addition d'un seul électron $O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet-}$	C'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres ERO.
Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	Produit à partir L'anion superoxyde, réaction catalysé par le superoxyde dismutase. $2H_2O_2 + O_2 \longrightarrow H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité générer le radical hydroxyle (OH [•]).
Le radical hydroxyle OH [•]	Formé par la réaction de fenton à partir d' H ₂ O ₂ en présence des métaux de transition : l'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{\bullet}$	le radical hydroxyle (OH [•]) et le radical plus avide d'électron.
Le monoxyde d'azote NO [•]	Le NO est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement guanidine de la L-arginine , d'une part ,et de l'oxygène moléculaire O ₂ d'autre part en présence de cofacteur : NADH,H ⁺ , réaction catalysé par les NO synthase NOS .	Le NO est un radical libre qui surtout réputé pour ses propriétés physiologique (agit sur le tonus vasculaire).
Peroxynitrite (HOONO)	En la balance d'une quantité suffisent de cofacteurs ou du substrat (arginine) les NOS produisent de L'anion superoxyde (O ₂ ^{•-}) plutôt que du NO [•] L'O ₂ ^{•-} . Produit lie le NO [•] pour Formé peroxynitrite.	Très réactif et sana doute responsable d'un stress oxydant, il engendre des oxydations irréversible et des nitrations diverses (surtouts des résidus tyrosines).

II.2.6. Les systèmes antioxydants non enzymatique

➤ Système antioxydant endogène :

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, capable de réagir in vitro, avec les radicaux HO[•], RO₂[•], RO[•], IO₂, ONOO et l'acide hypochloreux HOCl . Le glutathion est aussi capable de participer à l'activité enzymatique en détoxifiant le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes (**Pisoschi & Pop, 2015**).

➤ Système antioxydant exogène :

Les antioxydants exogènes comprennent, principalement, les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques (**Benmeziane, 2021**). Les systèmes antioxydants non enzymatique sont :

II.2.6.1. Vitamine E

La vitamine E est un* terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alfa-tocophérol est le plus abondant (**Pincemail & Meziane, 2022**).

La vitamine E agit directement sur une grande variété des radicaux peroxydes lipidiques RO₂ pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol. La vitamine E est liposoluble et a été démontrée comme le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (**Morris & Carson, 2003**). Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (**Margaritis, Palazzetti, Rousseau, Richard, & Favier, 2003; Pincemail & Meziane, 2022**). Les alimentations riches en hydrates de carbone (CHO) et pauvres en graisse, fréquentes chez les sportifs, ont tendance à être faibles en vitamine E. Pour certains auteurs, même si le potentiel antioxydant de la vitamine E est démontré in vitro, in vivo elle remplirait plutôt de nombreux rôles physiologiques non antioxydants de régulation du fonctionnement de la cellule. Sa faible concentration ne lui permettrait pas d'être

un antioxydant prépondérant et son utilisation à cette fin pourrait compromettre le fonctionnement cellulaire (Azzi , 2007).

II.2.6.2. Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Carr & Maggini, 2017).

II.2.6.3. Oligoéléments

Se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme (Higuchi, 2014). L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les espèces réactives oxygène ROS, mais ils sont nécessaires aux enzymes décrites précédemment. Un apport excessif en oligo-éléments peut entraîner de sérieux dysfonctionnements (Desmier ,2016).

❖ Le zinc :

Cet oligo-élément est l'un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise du zinc conduit à long terme à l'induction des protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. il peut aussi inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Farias et al., 2020).

❖ Le sélénium :

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti- vieillissement, attribués au sélénium (Gheorghiu & Badiu, 2020 ; Farias et al., 2020).

❖ Le cuivre :

Le cuivre est l'un des cofacteurs essentiels de la SOD étant donné sa facilité à passer de l'état réduit à l'état oxydé. On retrouve le cuivre surtout dans le foie, les huîtres et le chocolat noir. Néanmoins, il joue également un rôle important dans l'initiation des réactions produisant des ROS par ses propriétés de métal de transition, tout comme le fer. Une concentration importante en cuivre pourra être le révélateur d'un stress oxydant. Au cours du processus de vieillissement, la concentration sérique en cuivre est amenée à augmenter. En d'autres termes, cet élément peut jouer à la fois le rôle de protecteur ou d'initiateur (**Dusek et al., 2015**).

II.2.6.4. Les polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés anti-oxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**El-Mostafa et al., 2014**).

➤ Classification des polyphénols :

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, parmi lesquelles plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Bien que les polyphénols soient chimiquement caractérisés en tant que composés ayant des caractéristiques structurales phénoliques, ce groupe de produits naturels est très diversifié et contient plusieurs sous-groupes de composés phénoliques. Les polyphénols ont été classés selon leur origine, leur fonction biologique et leur structure chimique (**Tsao, 2010**). Les polyphénols (8 000 composés connus) représentent un groupe de métabolites secondaires complexes exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Selon la figure 10 on y trouve :

- Les flavonoïdes
- Les acides phénoliques de type benzoïques ou cinnamiques et les tannins hydrolysables (gallo- et ellagitannins) ;
- Les stilbènes ;
- Les lignines et subérines (**Collin et Crouzet, 2011**).

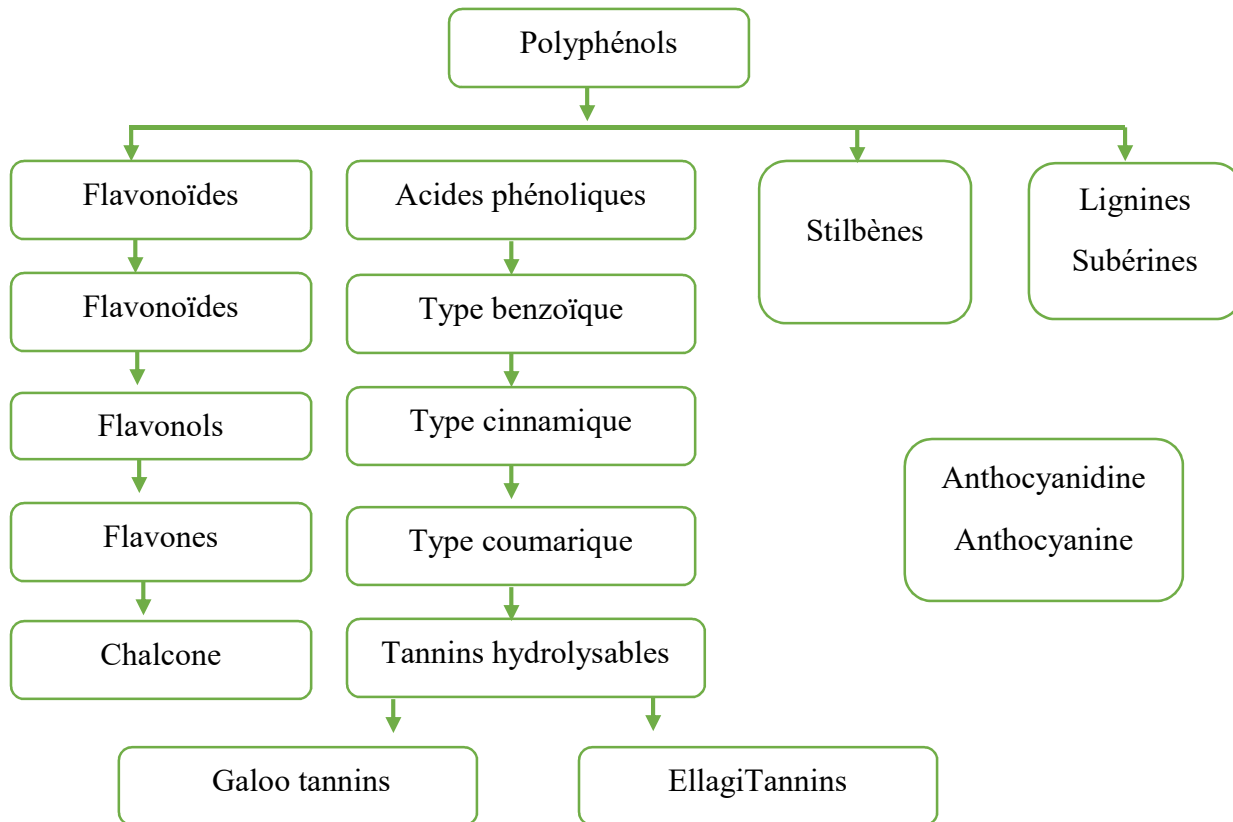


Figure 5. Différents familles des polyphénols (Collin et Crouzet, 2011).

➤ **Distribution des polyphénols :**

Les polyphénols constituent l'un des groupes de produits naturels les plus nombreux et les plus largement distribués dans le règne végétal (Tsao, 2010), Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (Boizot et Charpentier, 2006), les fruits, les légumes, les grains entiers et d'autres types d'aliments et de boissons comme le thé, le chocolat et le vin sont de riches sources de polyphénols. La diversité et la large distribution des polyphénols dans les plantes ont conduit à différentes manières de catégoriser ces composés naturels (Tsao, 2010). Une classification alternative a été utilisée par Swain et Bate-Smith (1962). Ils ont regroupé les phénols dans les catégories « communes » et « moins communes ». Ribereaugayon (1972) a regroupé les phénols trois familles comme suit :

- Phénols largement distribués - omniprésents à toutes les plantes, ou d'importance dans une plante spécifique.
- Phénols moins répandus - nombre limité de composés connus.

- Constituants phénoliques présents en tant que polymère (**Vermerris, Nicholson, Vermerris, & Nicholson, 2006**).

➤ **Les rôles des composés phénoliques :**

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir :

- ✓ Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, Interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites ...etc) ;
- ✓ Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- ✓ Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualité nutritionnelles ...etc) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules ...etc) et des produits qui en dérivent par transformation ;
- ✓ Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées ...etc) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini ;
- ✓ Dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Macheix, Fleuriet, & Jay-Allemand, 2005**).

Partie Expérimentale

Chapitre III Matériels et Méthodes

III.1. Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué des feuilles et fruits de *Juniperus Phoenicea.L* qui ont été récoltées de la commune d'Aflou, wilaya de Laghouat ; *Juniperus Phoenicea. L* est un arbre à feuilles persistantes originaire d'Afrique du Nord et appartient à la famille *des Cupressacées*. La préparation des matières premières utilisées dans ce travail étaient préparées de la manière suivante :

III.1.1.1. Récolte de matériel végétal

Les deux parties ont été récoltées manuellement dans la région djebel amoure à Aflou dans la wilaya de Laghouat. L'espèce a été identifié à base de littératures est des herbiers de la région.

La région d'Aflou se caractérise par une température basse et une humidité élevée, qui sont parmi les conditions de base pour la croissance et la disponibilité des plantes de *genévrier*.

III.1.1.2. Séchage de matériel végétal

L'étape de séchage est une étape importante car elle est responsable de la préservation des composés et des propriétés thérapeutiques de la plante. Lors de la première étape, nous avons retiré tous les matériaux étrangers, ainsi que les pièces mortes ou altérées.

Quant à la deuxième étape : étaler la plante dès que possible après l'avoir cueillie en une seule couche sur du papier non imprimé dans une température ambiante (20-25°C), dans un endroit ombragé et bien aéré. Cette étape était d'une durée de 3 semaines pour les feuilles et les fruits, et pour assurer un bon séchage, nous avons utilisé l'étuve dans les conditions indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : conditions apportées à l'étuve lors de séchage.

Feuilles	Fruits
TC° : 45°C Aération : 40° Temps : 3 jours	TC° : 45°C Aération : 40° Temps : 7 jours

Les étapes de séchage pour les deux parties de plantes (feuilles et fruits) sont montre dans la figure ci dissout :



Figure 01.1 étapes du séchage des plantes.

III.1.1.3. Broyage et tamisage de matériel végétal :

Pour faire broyé notre matière végétale en met chaque partie de notre plante dans un broyeur IKA 10 basic en règle les paramètres (la rotation généralement 3000 rpm, tamis de porosité (1mm) pour les feuilles et... mm pour les fruits, après certain temps en récupère notre plante broyé, en le met dans un tamis a différents porosité afin de distingué la taille préféré pour notre étude [0.5-

1mm]. La figure 02 montre le broyeur IKA 10 basic avec les tamis à différents porosités et la figure 03 montre l'étape de broyage de chaque partie de plante (feuilles/ fruits).



Figure 02. Broyeur IKA 10 basic avec les tamis a différents porosités.

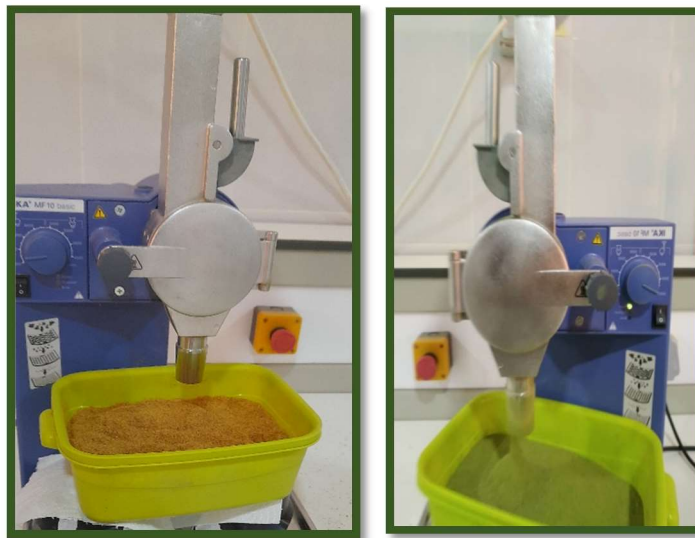


Figure 03. l'étape de broyage de chaque partie de plante.

III.1.1.4. Conservation :

Après l'étape de broyage, on a conservé les poudres des feuilles et des fruits qui bien tamisées dans des boites plastiques ambre à température ambiante et mis dans un tiroir pur qui loin à toute contamination. La figure ci-dessous montre les deux parties de plantes bien conservées.

III.2.Méthodes

III.2.1.Extraction solide-liquide

L'extraction solide liquide appelée aussi l'extraction par solvant, dans les processus d'extraction et de séparation des molécules spécifiques (molécules bioactives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction ; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide – liquide.

Cependant, le solvant, capable de « mettre en solution » un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou liquides, dénommé soluté, génère une solution ou un extrait (solvant + soluté). Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre et la diffusion est quasi nulle. Par contre si la phase liquide est continuellement renouvelée, la diffusion se poursuit jusqu'à épuisement de la phase solide (**Dibert, 1989**).

A la fin de l'opération, le solide épuisé, appelé résidu, inerte ou insoluble, contient très peu ou pas de soluté. En règle générale, c'est la solution qui constitue la phase noble, mais il se peut que ça soit le résidu solide insoluble qui présente la vraie valeur économique (**Bimbenet et al , 2017**). L'extraction est une opération ancienne utilisée pour retirer des plantes et de certains organes d'animaux, des produits alimentaires, pharmaceutiques ou odoriférants, sous formes de breuvages, drogues ou parfums. Les solvants utilisés dans ces procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques et/ou chlorés...etc.

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes différentes consistant toutes à faire interagir le solvant sur le matériau solide afin de dissoudre ses composants solubles.

III.2.1.1.Extraction classique (Macération)

C'est une techniques d'extraction solide-liquide pour séparer des espèces chimiques naturelles présentent dans des végétaux. L'extraction solide-liquide consiste à transférer un composé dans une matière première solide vers un solvant dans lequel est soluble et facilement isolable. Le solide

broyé en poudre avant l'extraction, est trempé dans le solvant à température ambiante nécessite un long temps de contact avec le liquide sous un gradient d'agitation magnétique.

✚ Mode opératoire :

En prend 20 g de chaque partie de plante (feuille, fruits) en ajoute 100ml de solvant soit le cyclohexane ou bien l'acétate d'éthyle en met le tout dans un erlenmeyer, en couvre l'erlenmeyer avec le papier aluminium, puis en laisse pendant 72 h dans un agitateur magnétique. Après chaque 24 h en fait une filtration (à l'aide du coton et papier wattman N°01).



Figure 04. Image lors d'une extraction par macération.

III.2.1.2.Extraction assisté a ultrason

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui dure de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final. Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération décomposée extractibles et d'améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes. Le choix approprié du solvant, la fréquence, l'intensité ainsi que de la température permet une meilleure extraction des composés phénoliques.

Mode opératoire:

En prend 20g de poudre de la plante (feuille, grains) puis on ajoute un volume de 100 ml du solvant soit le cyclohexane sinon l'acétate d'éthyle puis on met certain agitation pour faire homogènes la solution, après fermé l'erenmeyer avec le papier aluminium on le place dans un bain d'ultrason, en règle les paramètres telle que (la fréquence, l'intensité, la température et le temps), après on effectuer une filtration à l'aide du coton et papier wattman N°1. La figure 05 montrée le bain d'ultrason :



Figure 05. Le bain d'ultrason.

III.2.3. Condensation Rotavapeur**a) Principe :**

Le principe du rotavapeur est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le filtrat obtenu par la macération et la décoction ont été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur en fixant la température de l'évaporation, Cette dernière dépend de la température d'ébullition de chaque solvant. Cette opération a pour but d'éliminer les solvants extractifs utilisés. Dans cet appareil représente dans la figure 01. On a réalisé une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à

température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide. La figure ci-dessous (figure 06) montre l'appareil « Rotavapor » :



Figure 06. l'appareil rotavapor.

b) Mode opératoire :

Le protocole pour chaque plante est le suivant :

- Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation.
- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation.
- Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant.
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau.

Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude.

- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant.
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif.

Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.

III.3. Analyse quantitative :**III.3.1. Dosage des polyphénols totaux :****🚦 Principe de la réaction :**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (**Muller et al. 2010**). Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

🚦 Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire).

🚦 Réactifs utilisés :

- Eau distillé, Méthanol.
- FCR (Folin-Ciocalteu réactif).
- Na_2CO_3 de 7,5% (Carbonate de sodium).
- Acide Gallique.
- Extrait de plante.

🚦 Mode opératoire :**1- Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% :**

Une masse de 7,5 gramme de Na_2CO_3 et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

2- Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol).

3- Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois :

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

Procédure :

20 µl d'extrait de plante + 100µl de FCR dilué (1:10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

Gamme d'étalonnage :

➤ Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 1 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des éppendorfs comme la suite :

- 25µg/ml 25µl de S1+ 175µl de MeOH.
- 50 µg /ml 50µl de S1+ 150µl de MeOH.
- 75µg/ml 75µl de S1+ 125µl de MeOH.
- 100µg/ml 100µl de S1+ 100µ de MeOH.
- 125µg /ml 125µl de S1+ 75µl de MeOH.
- 150µg /ml 150µl de S1+ 50µl de MeOH.
- 175 µg /ml 175µl de S1+ 25µl de MeOH.
- 200µg /ml 200µl de S1 (**Muller et al. 2010**).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Principe de la réaction :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de (**Topçu et al.,2007**) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire) est utilisé pour la mesure de l'absorbance.

Réactifs utilisés :

- Méthanol.
- Eau distillé.
- 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$).

- 1 M Potassium acétate (CH_3COOK).
- Quercetin (Flavonoïde).
- Extrait de plante.

Préparation des solutions :

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80 g de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S1. Pour 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S2).

Procédure :

❖ Pour l'extrait :

50 μl (S2) (extrait de plante) + 130 μl (MeOH) + 10 μl (S1)(CH_3COOK) + 10 μl ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3, 9\text{H}_2\text{O}$) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μl extrait + 150 μl méthanol).

❖ Pour l'étalon :

Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml Sm.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

- Quercetin(25) 25 μl Sm+ 175 μl MeOH.
- Quercetin(50) 50 μl Sm+ 150 μl MeOH.
- Quercetin(75) 75 μl Sm + 125 μ MeOH.
- Quercetin(100) 100 μl Sm+ 100 μl MeOH.
- Quercetin(125) 125 μl Sm + 75 μl MeOH.
- Quercetin(150) 150 μl Sm + 50 μl MeOH.
- Quercétine(175) 175 μl Sm + 25 μl MeOH.

- Quercetin(200) 200µl Sm + 0 MeOH.

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 µl (MeOH) + 10 µl (S1) (CH₃COOK) + 10 µl (Al(NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm (Topçu et al.2007).

III.3.3.Activité biologique :

Les plantes constituent une source précieuse des composés biologiquement actifs. Les criblages biologique et chimique sont des approches complémentaires pour la détection rapide des constituants végétaux. Les composés phénoliques comportent un large groupe de métabolites secondaires qui peuvent être trouvés dans les plantes, comme les phénols simples, acides phénoliques, flavonoïdes, coumarines, tanins...etc.

Les polyphénols qui sont considérés comme l'un des plus importants phyto constituants ayant des propriétés antioxydants et plusieurs applications industrielles ont gagné un intérêt particulier dans les dernières décennies.

III.3.3.1.Test de DPPH :

Le dosage au 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle est l'un des plus largement utilisés. Au cours de cet essai, le radical chromogène violet est réduit par les composés antioxydants / réducteurs (antioxydants donneurs d'hydrogène) en hydrazine jaune pâle correspondante et la réaction est contrôlée à 517 nm (voir Figure 06). La méthode DPPH offre des avantages par rapport aux tests classiques, elle est basée sur la rapidité, la sensibilité, la facilité et la faible consommation de réactifs (Mussa et al. 2016).

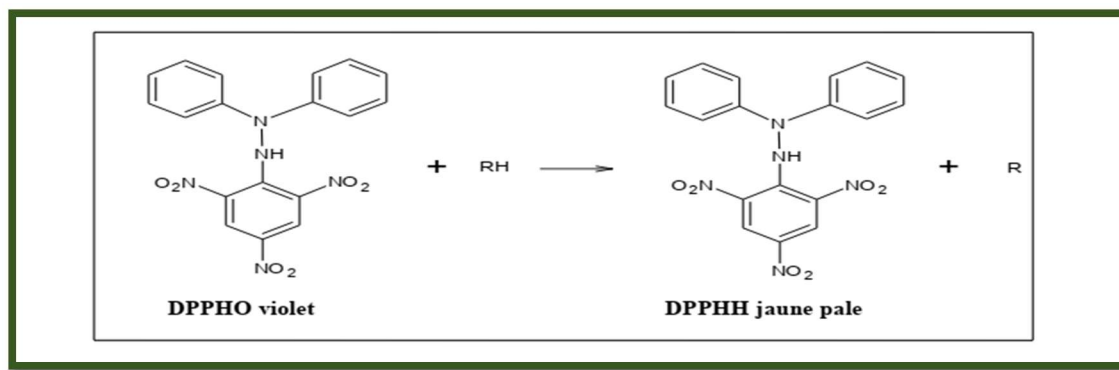
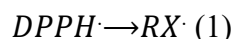


Figure 07. Transformation du radical DPPH• en DPPHH.

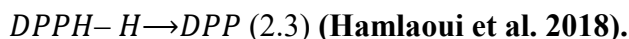
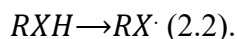
La méthode DPPH peut être utilisée pour des échantillons solides ou liquides et elle n'est pas spécifique à un composant antioxydant particulier, mais s'applique à la capacité antioxydante globale de l'échantillon (Nithya et al. 2017). Ce type de test est recommandé pour les composés contenant des groupes SH, NH et OH. Deux mécanismes connus sont utilisés dans la littérature pour décrire les réactions antioxydants :

Le mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et le transfert d'électron unique suivi du mécanisme de transfert de proton (SET-PT). Le premier mécanisme peut être exprimé comme suit :



Où X est un atome de O, S, N ou C et Y est DPPH. La vitesse de réaction de l'antioxydant (RXH) avec le ROS dépend de la barrière d'énergie d'un transfert d'atome d'hydrogène.

Le deuxième mécanisme comprend trois étapes :



Principe de la réaction :

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois.1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μ l pour chaque puits.

Réactifs utilisés :

- Ethanol.
- DPPH.
- α -tocopherol.

- BHA.
- BHT.
- Quercetine ou Catéchine.
- Extrait de plante.

Mode opératoire :

➤ Préparation de la DPPH :

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{extrait}}] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait /standard.

➤ Procédure :

160 (DPPH) + 40 μ l (extrait) + lecture 517 (**Blois. 1958**).

III.3.3.2. Test d'ABTS (2,2'-azinobis-[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acide]):

Dans la méthode TEAC (Troloxequivalentantioxydantcapacity), l'activité anti-oxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical $ABTS^{+\cdot}$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase met-myoglobine (**Miller et al.1997**) ou horseradishperoxidase) (**Arneo et al.2001**) en présence de H_2O_2 ou d'un oxydant dioxyde de manganèse (**Benavente-Garcia et al.2000**) ou persulfate de potassium (**Re et al.1999**). Le radical $ABTS^{+\cdot}$, en contact avec un donneur de H^{\cdot} conduit à l' $ABTS^+$ et à la décoloration à 734 nm de la solution (**Lien et al.1999**).

D'autres auteurs utilisent l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ou ABTS, à la place de son sel d'ammonium et analysent l'inhibition du radical ABTS, produit par un

initiateur de radicaux thermolabiles, l'ABAP (2,2'-azobis-(2-amidinopropane) HCl). (Van Den Berget al. 2000). La cinétique de réaction de l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour déterminer la fin de réaction. La capacité anti-oxydante en équivalent Trolox (TEAC) correspond à la concentration (mm/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple (Miller et al . 1997). (Figure 07).

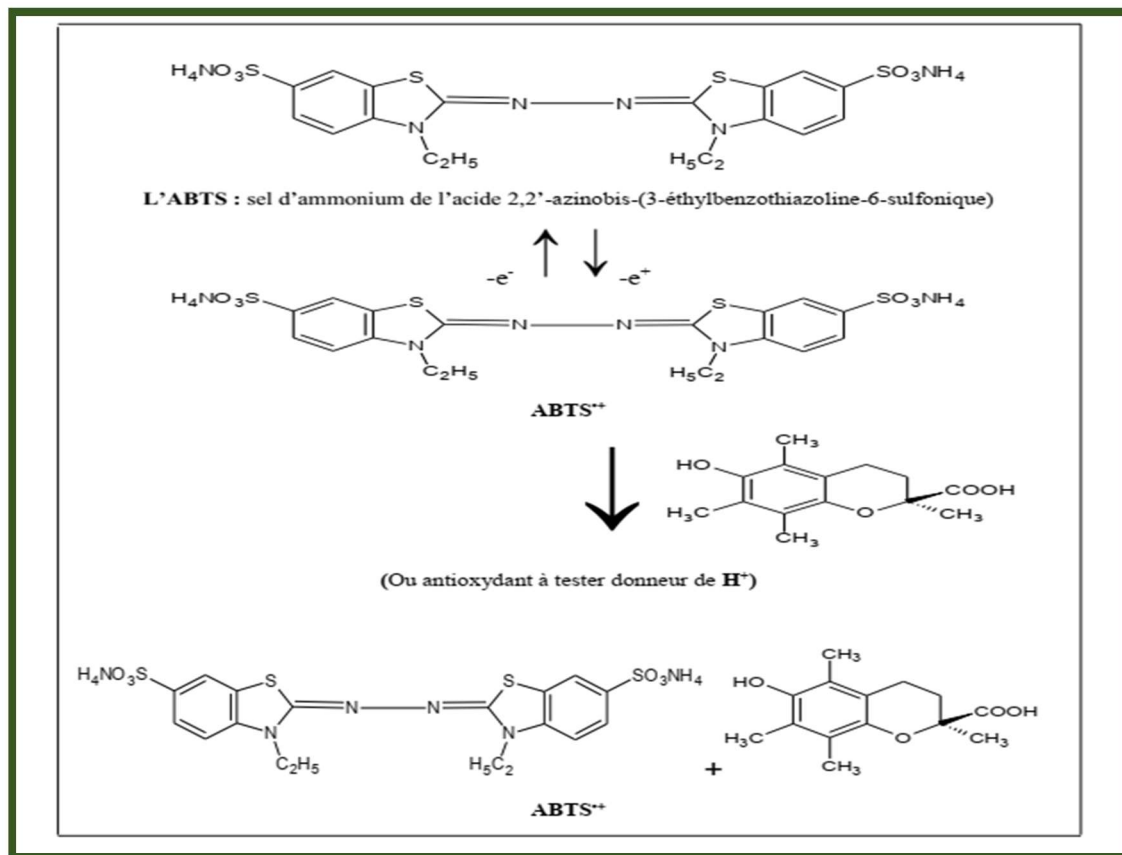


Figure 08. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•].

✚ **Principe de la réaction :**

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (Re et al. 1999).

✚ **Instrument utilisé :**

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque.

📌 Réactifs utilisés :

- $K_2S_2O_8$.
- ABTS.
- Eau distillé.
- Ethanol.
- α -Tocophérol, BHA.

📌 Procédure :

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12-16h ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

160 μ l (ABTS⁺) + 40 μ l (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm. **(Re et al. 1999).**

La préparation d'ABTS⁺ se fait comme suite :

(ABTS⁺) \rightarrow 19.2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H_2O + 3.3 mg (2.45 mM) ($K_2S_2O_8$) +5 ml

H_2O^+ attendre 16 heures à l'abri de la lumière. Le pourcentage d'inhibition est calculé à la même équation de celle de DPPH.

III.3.3. Test de phénantroline :

Le complexe Fe (II)-phénantroline est largement appliqué dans la méthode spectrophotométrique classique pour la détermination du fer **(Czerniaka et al. 2008)**. Cette technique est basée sur la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline rouge-orangé suite à une réaction d'oxydoréduction (Figure 06). Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré à une absorbance de 510 nm **(Adhikamsetty et al. 2008)**.

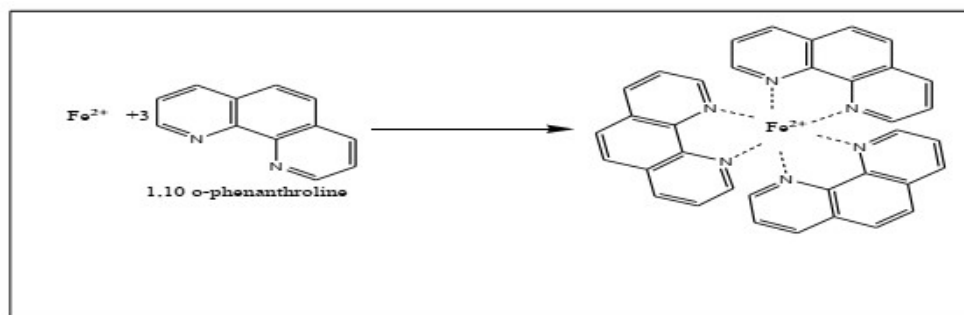


Figure 09. Formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline.

Principe :

L'activité de phénantroline est déterminée par la méthode de (Czerniaka et al. 2008).

Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits.

Réactifs utilisés :

- 1- Phenanthroline.
- 2- Chlorure ferrique FeCl_3 .
- 3- MeOH, Eau distillée.
- 4- BHT.

Procédure :

10 μl extrait + 50 μl FeCl_3 (0.2%) + 30 μl Phenanthroline (0.5%) + 110 μl MeOH + incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard (Czerniaka et al. 2008).

Chapitre IV Résultats et discussion

IV.1. Taux d'humidité

Nous mettons 5 mg de poudre de chacune des feuilles et des fruits dans du papier d'aluminium dans l'étuve pendant 24 heures à une température de : 105 C° et 0% de ventilation, après 24 heures nous les pesons et on mesure le taux d'humidité en utilisant l'équation 1, les résultats indiqués dans le tableau 1 :

Tableau 01 : les valeurs d'humidité mesuré dans les deux parties de la plante.

Partie de plante	TH%
Feuilles	5,58
Fruits	5,3

$$TH \% = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) 100 \quad (1)$$

m_1 : masse initiale ; m_2 : masse après le séchage.

IV.2. Rendement d'extraction

Notre travail consiste à émerger 20 g de poudre de chaque partie de plante dans 100ml de solvants (cyclohexane, Acétate d'éthyle), ce qui donne une fraction solide/liquide de (1g : 5ml).

IV.2.1. Extraction par macération

Les deux partie de la plante précitée sont soumis à différents solvants d'extractions (cyclohexane) et (acétate d'éthyle) pour 72 h afin d'obtenir deux extrait bruts, le rendement de chaque extractions est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 02 : Valeur de rendement d'extraction par macération

Solvants	Partie	Rendements%
Cyclohexane	Feuille	5.65
	Fruit	7.95
Acétate d'éthyle	Feuille	7.08
	Fruit	8.69

IV.2.2.Extraction par ultrason :

Nous avons réalisé des expériences à l'aide de bain d'ultrason dans des conditions bien déterminées, l'objectif est d'effectuer une cinétique pendant 90 min pour les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle), dans chaque 15min en refaire l'expérience à nouveau le tableau suivant présente les résultats obtenus :

Tableau 03 : Valeur de rendement d'extraction par ultrason.

Temps (min)		15	30	45	60	75	90
Feuilles	cyclohexane	2.41%	3.83%	3.92%	4.1%	4.2%	3.43%
	Acétate d'éthyle	4.14%	4.22%	4.43%	4.38%	4.66%	4.90%
fruits	cyclohexane	3.52%	4.2%	5.15%	5.33%	6.03%	6.64%
	Acétate d'éthyle	6.88%	7.04%	7.29%	7.53%	7.90%	5.90%

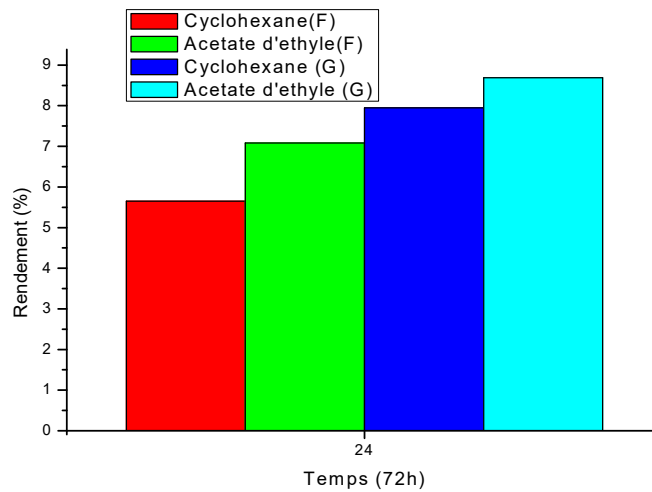


Figure 01. Rendement des extractions par macération pour les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle).

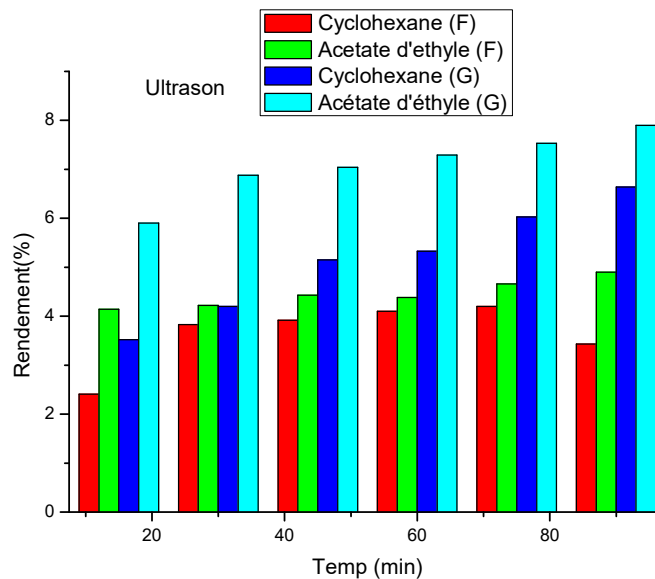


Figure 02. Rendement des extractions par ultrason pour les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle).

IV.3. L'effet des ondes ultrasonore sur la température :

Dans cette section nous avons présenté l'effet des ondes ultrason sur la température de mélange (solvant + extrait) en fonction de temps d'extraction, d'après le tableau ci-dessous nous avons constaté une augmentation continue du température en fonction de temps d'extraction,

sachant que nous avons fixé tous les paramètres de bain ultrasonore (fréquence 37KHz, l'intensité 100% et la température de bain 40C°), cette augmentation s'explique par le phénomène de cavitation acoustique qui commence par la création des bulles de vapeur qui se développent jusqu'à une taille instable, dans cette état ces bulles produisent une énergie intense avec une température et une pression qui s'attient 5000 C° et 2000atm ; le tableau 4 et la figure 3 présente cette évolution.

Tableau 04 : Evolution de température en fonction de temps d'extraction

Temps (min)	0	15	30	45	60	75	90
Température (°C)	16	44.33	49.66	52	55	53	56.25

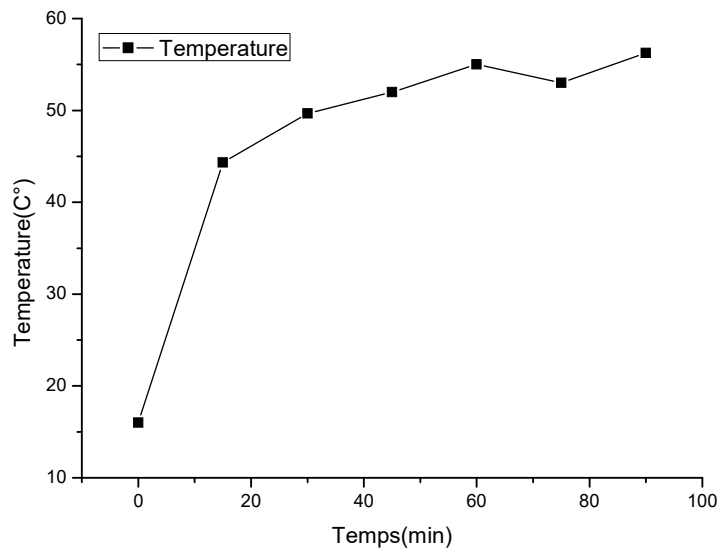


Figure 03.l'évolution de température en cour d'extraction par ultrason.

IV.4. Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits a été réalisé par la méthode spectrophotométrie de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en µg équivalent d'acide gallique par µg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la

courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ; les valeurs sont enregistrées dans le tableau suivant :

Tableau.3 : valeurs des concentrations des polyphénols dans les différents extraits.

Extraits	Cyclo Hexane macération (μg EAG/mg)	Cyclo Hexane Ultrason (90min) (μg EAG/mg)	Acétate d'éthyle (μg EAG/mg)	Acétate d'éthyle Ultrason (90min) (μg EAG/mg)
<i>Jp (fruit)</i>	19.39 \pm 0.61	26.05 \pm 1.34	20.86 \pm 2.44	23.81 \pm 1.3
<i>Jp(Feuille)</i>	13.96 \pm 1.03	27.62 \pm 1.67	17.13 \pm 1.85	46.54 \pm 2.85

IV.5. Dosage des flavonoïdes:

La détermination quantitative des flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm. La quercétine a été utilisée comme étalon, les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage. Les valeurs sont enregistrées dans le tableau suivant :

Tableau 04 : valeurs des concentrations des flavonoïdes dans les différents extraits.

Extraits	Cyclo Hexane macération (μg EAG/mg)	Cyclo Hexane Ultrason (90min) (μg EAG/mg)	Acétate d'éthyle (μg EAG/mg)	Acétate d'éthyle Ultrason (90min) (μg EAG/mg)
<i>Jp (fruit)</i>	10.96 \pm 1.38	13.63 \pm 1.97	12.93 \pm 0.83	10.81 \pm 1.3
<i>Jp(Feuille)</i>	6.31 \pm 0.84	4.01 \pm 0.87	9.17 \pm 1.5	13.54 \pm 1.27

Les résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes sont présentés dans les histogrammes illustrés dans les figure suivante 3 (a,b) :

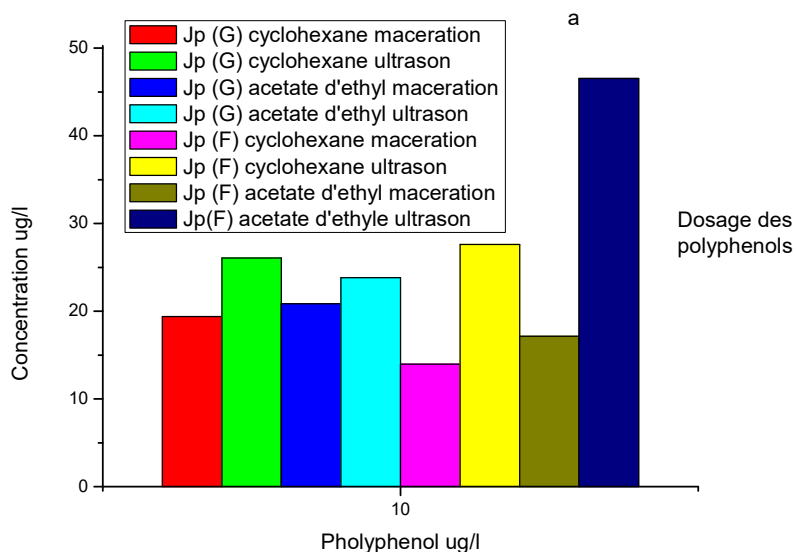


Figure 04. Evaluation des polyphénols totaux des extraits de la plante Juniperus Pheonecea (partie feuille et fruit).

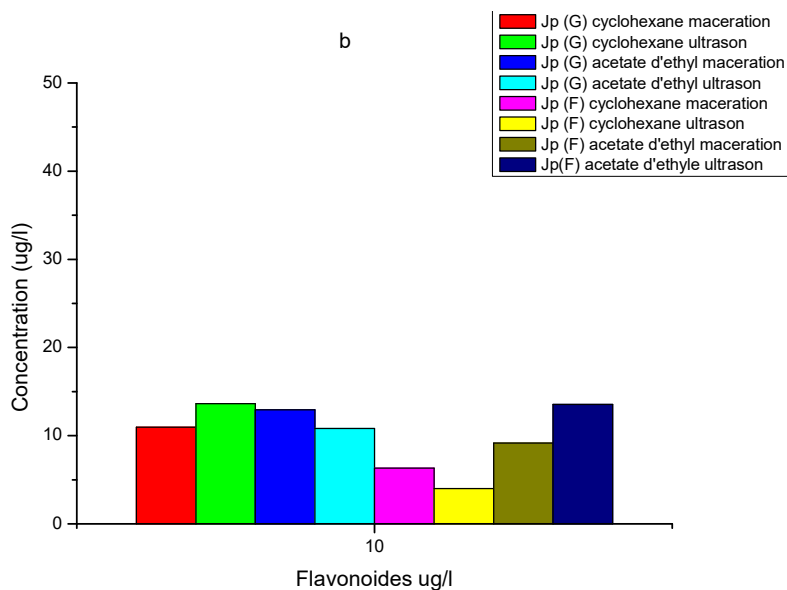


Figure 05. Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de la plante Juniperus Pheonecea (partie feuille et fruit.)

Les deux parties de plante étudiée sont données des rendements d'extraction variable dans les deux solvants (cyclohexane et acétate d'éthyle), que ce soit pour l'extraction par macération ou l'extraction par bain ultrason, ce qui reflète l'existence de ce type des molécules dans notre plante soit dans la partie feuille ou bien la partie fruit (Tab.01).

La teneur des composés phénoliques de chaque extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y=0.0037x+0.1665$, $R^2=0.9346$), et exprimée en microgrammes équivalent en acide gallique par milligramme d'extrait et par millilitre (Tab.03). Des niveaux considérables en composés phénoliques ont été détectés notamment pour les extraits issue de l'extraction par ultrason ce qui signifie que les ondes ultrasonores joue un rôle positive sur le rendement globale des extraits d'une part· d'autre part le solvant d'extraction lui-même présente l'effet majeur sur le type de cocktail moléculaires, on le constate dans le cas d'acétate d'éthyle qui a présenté le contenu le plus élevé comparant aux celle de l'extrait cyclohexane dans les deux parties (feuille et fruit) ce qui révèle a la polarité de ce dernier .

Les teneurs en flavonoïdes pour les extraits étudiés· ont été déterminées à l'aide de la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y= 0.0008x+0.0868$; $R^2=0.967$). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent en quercétine par milligramme d'extrait et par millilitre. Ils ont montré la même variabilité, les extrait d'acétate d'éthyle sont plus riche par rapport aux extrait cyclohexane, on note que l'effet des ondes ultrasonore peut jouer un rôle inverse de dégrader quelque composé de faible poids moléculaires ce qui nous a constaté dans le cas d'acétate d'éthyle partie fruit et cyclohexane partie feuille. Il faut bien notée que cette plante issue de la famille Cupressacées qui est généralement riche en produit poly phénolique ainsi que flavonoïdes, mais notre objective dans ce travail est de faire vérifier l'effet des extraits apolaire si pour cela nous avons choisis de travailler avec (le cyclohexane et l'acétate d'éthyle) ce qui influée sur le rendement des produits poly phénoliques que ce soit d'une façon générale et plus précisément les flavonoïdes.

IV.6. Criblage d'activité biologique :

IV.6.1. DPPH :

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH^{•+} a été évaluée par la mesure des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) en utilisant une spectrophotométrie (lecteur microplaque) à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Les profils d'activité anti-radicalaire obtenus révèlent que les extraits de cyclohexane et d'acétate d'éthyle des deux parties de la plante *Juniperus pheonecea* (fruit et feuille) possèdent une activité dose dépendante. La comparaison entre les extraits permet de constaté globalement que les extraits de la partie feuille notamment dans le cas d'acétate d'éthyle sont presque les seuls qui

donnes une activité anti-radicalaire DPPH^{·+} avec un IC₅₀ très faible qui t'envers 529.76 µg/ml, cette dernière on le constate pour les deux types d'extraction (macération et ultrason).

Selon **Sánchez-Vioque et al.**, par le fait que l'activité inhibitrice du radical DPPH n'est pas dépendante du contenu total en polyphénols mais aux polyphénols qui ont des structures chimiques spécifiques. Autrement dit, par la haute sélectivité du DPPH car il ne réagit qu'avec les flavonoïdes contenant des groupes hydroxyles dans le cycle B (**Yokozawa et al.**). T, ainsi que les acides aromatiques comportant plus d'un groupe hydroxyle (**Von Gadow et al.**) ce qui nous n'avons pas constaté pour notre cas.

Dans ce test les résultats ont été comparés aux étalons de référence (BHA, BHT), le tableau suivant présent les différents résultats obtenus :

Tableau 1: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH

Macération	Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Cyclo-hexane	<i>Jp (fruits)</i>	In	In	In	In	In	In	In	In
	<i>Jp (feuilles)</i>	In	In	In	In	In	In	6,18±0,10	>800
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	In	In	In	In	In	In	In	In
	<i>Jp (feuilles)</i>	2,40±0,6	3,43±0,4	8,53±1,27	15,46±0,65	24,27±1,49	50,03±0,69	64,97±1,24	529,76±0,58
Standards	BHA*	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	006,14±0
	BHT*	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	012,99±0
	α-tocophérol*	37,21±1,82	81,53 ±1,5	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	013±5,17

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai.

• (*) les standards : molécules de références.

• BHA :hydrox-yanisolebutylé.

• BHT :hydroxy-toluene butylé.

• In : Inactive.

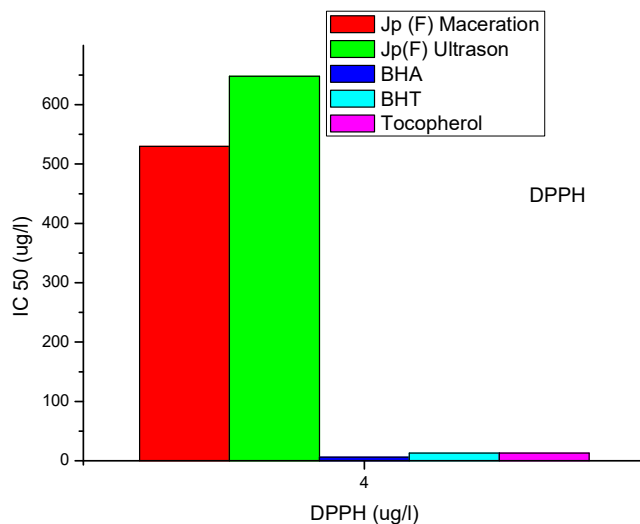


Figure 06. Valeur IC₅₀ du test DPPH des extraits d'acétate d'éthyle partie feuille pour les deux extractions macération et ultrasonore.

IV.6.2. ABTS :

Dans ce test, l'antioxydant réagit avec ABTS^{•+} de couleur bleu/vert par transfert d'électrons pour redonner à l'ABTSH^{•+} incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits on compare avec les standards BHA et BHT.

Dans ce test, on remarque que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par les extraits des deux parties de la plante *Juniperus phoenicea* est plus forte comparant avec celle de DPPH, mais sa resteras toujours dans le même contexte que la partie feuille toujours présente l'activité la plus fort notamment dans le cas des extraits issues de l'acétate d'éthyle comparant avec celle de cyclohexane, en ce qui concerne l'effet des onde ultrasonore on a pas vu une grand différence sauf dans le cas de l'extrait d'acétate d'éthyle fruits qui présente une valeur (IC₅₀= 151.67±2.09 µg/ml) deux fois plus fort que celle de l'extrait de macération ce qui permet de dire que cette amélioration est due soit par l'apparition des nouveaux molécules bioactives sinon par une dégradation des pigments par l'effet des ondes ultrasonore et il est forte probable que la deuxième proposition proche de la réalité.

Tableau 2: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH

Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Cyclo-hexane	<i>Jp (fruits)</i>	In	In	In	In	In	In	In
	<i>Jp (feuilles)</i>	In	In	In	In	In	10,88±1,37	>800
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	In	In	In	In	In	14,77±0,77	>800
	<i>Jp (feuilles)</i>	2,46±0,45	2,80±0,34	12,25±0,45	13,28±0,59	21,06±0,69	37,15±0,69	58,44±0,59
Standards	BHA*	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00
	BHT*	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23
	α-tocophérol*	37,21±1,82	81,53 ±1,5	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai

• (*) les standards : molécules de références

• BHA :hydrox-yanisolebutylé

• BHT :hydroxy-toluene butylé

• In : Inactive.

Dans cette activité, les extraits ont manifesté un pouvoir de piégeage des radicaux libres mieux que dans l'activité anti-radicalaire de DPPH ceci peut être justifié par la capacité du radical cation ABTS d'être plus polyvalent que le DPPH parce qu'il est soluble dans l'eau et les solvants organiques, ce qui permet une évaluation d'activité anti-radicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles d'une part, et d'autre part la forme plane de ABTS favorise plus d'attaque comparant avec celle de DPPH qui est plus compliqué (Glcin et al. 2004).

Tableau 3: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS

Macération	Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Cyclo-hexane	<i>Jp (fruits)</i>	4.41±0.51	5.76±0.29	8.36±1.09	27.57±0.26	29.21±0.43	32.77±0.35	34.29±0.39	>800
	<i>Jp (feuilles)</i>	9.14±0.1	12.44±1.07	19.15±0.6	33.38±0.36	44.53±0.34	59.38±0.17	60.52±0.55	393.53±2.34
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	10.90±0.52	19.66±0.51	26.95±0.34	42.43±0.52	46.89±0.52	48.53±0.52	60.45±0.26	378.28±5.18
	<i>Jp (feuilles)</i>	18.64±1.68	34.57±0.43	54.37±0.77	70.36±1.04	77.41±0.55	78.61±0.65	80.60±0.43	51.56±0.66
Standards	BHA*	92.83±1.42	94.68±0.42	94.95±0.90	95.32±0.25	95.59±0.47	95.83±0.15	95.86±0.10	1.81±0.10
	BHT*	69.21±0.40	78.23±1.34	88.12±1.28	88.76±3.07	90.85±1.74	90.95±0.51	96.68±0.39	1.29±0.30

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai.

• (*) les standards : molécules de références.

• BHA :hydrox-yanisolebutylé.

• BHT :hydroxy-toluene butylé.

• In : Inactive.

Tableau 4 : Pourcentages d'inhibition du radical ABT

Ultrason (90min)	Parties étudiées	Concentrations de standards								IC ₅₀ (µg/ml)
		12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	1600 µg	
Cyclo-hexane	<i>Jp (fruits)</i>	5.03±1.06	7.57±0.52	14.75±0.6	22.32±0.85	24.46±1.	31.3±1.57	21.64±0.76	>800	
	<i>Jp (feuilles)</i>	5.27±0.45	9.03±1.85	14.32±1.6 ⁸	24.33±1	36.73±0. ⁵⁵	44.81±0.4 ⁹	50.56±0.1	740.28±4.71	
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	10.73±0.26	21.47±0.64	34.35±0.3	46.67±0.43	55.2±0.2	56.44±0.4	61.53±1,32	151.67±2.09	
	<i>Jp (feuilles)</i>	20,69±1,11	32,35±0,52	51,47±0,3 ⁶	66,66±0,43	80,37±0, ³⁴	81,34±0,6	81,57±0,62	57.95±0.35	
Standards	BHA*	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,9 ⁶	95.32±0,25	95.59±0, ¹⁷	95.83±0,1 ⁵	95.86±0,10	1.81±0.10	
	BHT*	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,2 ⁹	88,76±3,07	90.85±1, ⁷¹	90.95±0,5 ¹	96.68±0.39	1.29±0.30	
		81.53 ±1.51								

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai

• (*) les standards : molécules de références

• BHA : hydrox-yanisolebutylé

• BHT :hydroxy-toluene butylé

• In : Inactive.

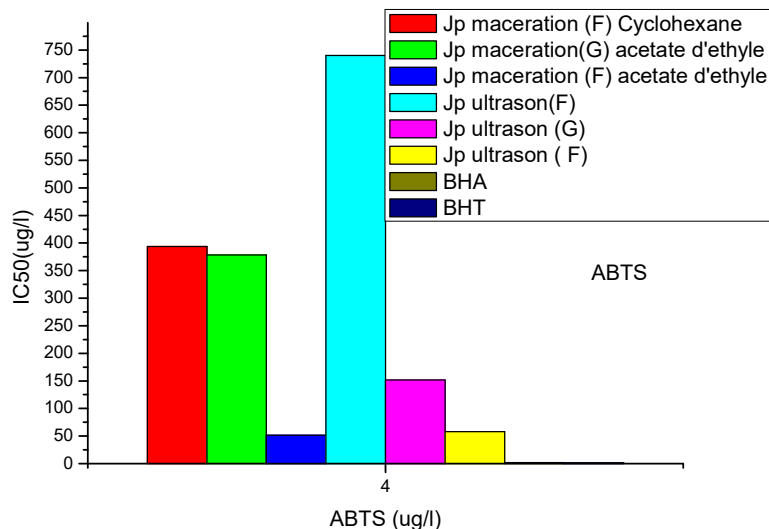


Figure 07. valeur de IC50 de différents extraits de Jp (partie feuillie et fruit).

IV.6.3. Phénoltroline :

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} - phénoltroline de couleur rouge-orangé est formé. Dans cette activité, la présence des réducteurs dans les extraits de la plante permet de réduire le Fe^{+3} en Fe^{+2} . Par conséquent, ce dernier, forme un complexe stable avec la phénoltroline de couleur rouge orangé. Ce complexe Fe^{+2} -phénoltroline est révélé par la méthode spectrophotométrie, ce qui permet de doser les ions ferreux et donc de déterminer le pouvoir réducteur de l'antioxydant testé. Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis au complexe Fe^{+2} -phénoltroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison des composés phénoliques.

Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de $A_{0,50}$ des extraits de la plante et celles des standards BHA et BHT ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants (figures, et le tableau 8 ci-dessous) ; les résultats obtenus par cette activité montrent que tous les extraits sont presque incapables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} - phénoltroline. A partir du Tableau et la Figure, on peut déduire que seulement l'extrait acétate d'éthyle de la partie feuillie dans les deux types d'extraction (macération et ultrason) montre un pouvoir réducteur modeste comparant aux autres extraits avec un $A_{0,50}$ environ 190 $\mu\text{g/ml}$ ce qui est très loin à comparer avec celle de BHA et BHT.

Tableau 09 : Pourcentages d'inhibition du radical Phenoltroline

Macération	Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	A _{0.5} (µg/ml)
Cyclohexane	<i>Jp (fruits)</i>	0.25±0.01	0.26±0.01	0.26±0.02	0.26±0.01	0.27±0.02	0.3±0.01	0.35±0.01	>800
	<i>Jp (feuilles)</i>	0.23±0.01	0.23±0.01	0.25±0.6	0.24±0.03	0.28±0.01	0.29±0.01	0.35±0.02	>800
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	0.22±0.01	0.23±0.01	0.25±0.02	0.26±0.01	0.27±0.02	0.3±0.01	0.37±0.01	>2
	<i>Jp (feuilles)</i>	0,26±0,01	0,22±0,02	0,23±0,01	0,24±0,02	0,29±0,01	0,39±0,01	0,51±0,03	191.76±19.4 5
Standards	BHA*	00,73±0,02	00,93±0,01	01,25±0,04	02,10±0,05	04,89±0,06	Nt	Nt	0,93±0,07
	BHT*	00,53±0,03	01,23±0,02	01,84±0,01	03,48±0,03	04,84±0,01	Nt	Nt	2,24±0,17

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai.

• (*) les standards : molécules de références.

• BHA :hydrox-yanisolebutylé.

• BHT :hydroxy-toluene butylé.

Tableau 10 : Pourcentages d'inhibition du radical Phenoltriline

Ultrason (90min)	Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Cyclohexane	<i>Jp (fruits)</i>	0.23±0.01	0.24±0.01	0.25±0.02	0.25±0.01	0.24±0.02	0.27±0.01	0.33±0.01	>800
	<i>Jp (feuilles)</i>	0.24±0.01	0.24±0.01	0.25±0.6	0.25±0.03	0.24±0.01	0.27±0.01	0.35±0.02	>800
Acétate d'éthyl	<i>Jp (fruits)</i>	0.25±0.01	0.26±0.01	0.26±0.02	0.26±0.01	0.27±0.02	0.3±0.01	0.35±0.01	>800
	<i>Jp (feuilles)</i>	0.29±0.01	0.28±0.01	0.25±0.01	0.27±0.01	0.34±0.01	0.39±0.01	0.51±0.02	189.76±20.8 6
Standards	BHA*	00,73±0,02	00,93±0,01	01,25±0,04	02,10±0,05	04,89±0,06	Nt	Nt	0,93±0,07
	BHT*	00,53±0,03	01,23±0,02	01,84±0,01	03,48±0,03	04,84±0,01	Nt	Nt	2,24±0,17

- Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai

- (*) les standards : molécules de références

- BHA :hydrox-yanisolebutylé

- BHT :hydroxy-toluene butylé

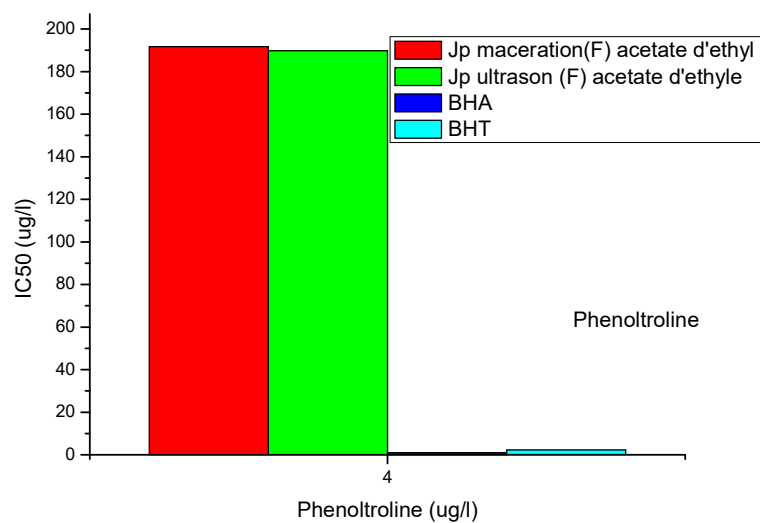


Figure 08. Valeur IC50 du test Phenoltroline des extraits d'acétate d'éthyle (feuille) des deux cas d'extraction macération et ultrason.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'Algérie dispose une diversité exceptionnelle des plantes qui dont certains sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner de divers maladies et infections, cependant des tests in vitro sont nécessaires pour confirmer l'utilisation de ces espèces dans la pratique médicinale.

Notre travail est basé sur la valorisation des plantes de la région de Aflou wilaya de Laghouat qui caractérisée par un climat, un sol et une flore spécifique, ce qui nécessite des études approfondies, dans ce contexte, notre choix repose sur une plante de la famille Cupressacées, *Juniperus phoenicea* pour faire réaliser une étude phytochimique.

Dans la présente étude, nous avons effectuée deux types d'extraction (extraction classique macération et extraction assisté à ultrason) afin de faire caractérisé d'une part, l'activité anti-oxydante des extraits cyclohexane et acétate d'éthyle pour cette plantes par des méthodes standards, le piégeage des radicaux DPPH, ABTS et Phenanthroline. D'autres parts, nous avons testé et dosé les polyphénols ainsi que les flavonoïdes de chacun de ces extraits.

Nos résultats ont montré des niveaux variables en polyphénols et flavonoïdes totaux cela est due au type d'extraction visée (au début nous avons visé les produits apolaire), notamment pour le cas d'extrait cyclohexane. Concernant l'activité anti-oxydante, les résultats ont montré des activités importantes pour les extraits d'acétate d'éthyle des deux partie de la plante particulièrement pour la partie feuille mais qu'il reste toujours incomparable aux références BHA et BHT dans les méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS au bien Phenanthroline. Malgré nous avons des activités anti-oxydante faible constatée pour nos extraits en ce qui concerne, cela ne nous empêche pas de reconsidérer notre plan de travail pour améliorer nos résultats vis-à-vis les méthodes d'extraction les solvants utilisée ainsi que de valorisée d'autre activité biologique.

Afin de faire justifie l'usage traditionnel de cette plantes étudiée en Algérie, et valorise l'effet biologique et pharmacologique de ces extraits. Ils ouvrent également dans le future proche des perspectives multiples qui nous permettra sans doute d'enrichir le poids scientifique de ce modeste travail, comme perspectives en cite les point suivant :

Conclusion générale

- Utiliser ces résultats comme une étape préliminaire de recherche afin d'améliorer la qualité de travail par la recherche des molécules responsables de chaque activité.
- Elargir la zone d'étude en intégrant d'autres espèces de même genre.
- Multiplier le nombre de fractions étudiées.
- Manipuler d'autres techniques anti-oxydantes, microbiennes ainsi que enzymatiques.
- Faire intervenir les méthodes chromatographiques (LC-MS-MS, GC-MS, HPLC) Ceci nous permet de qualifier et quantifier les différents constituants des extraits étudiés.

Références

Références

- Abdelli, W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis,thèse doctorat.
- Achab, L., Benyamina, C., & Dinanga, C. (2018).** Contribution à l'étude de la dynamique du barrage vert dans le nord-ouest de Laghouat" Cas d'Aflou" (thèse doctorat, université ibn khaldoun-tiaret).
- Achour, R., Aoun, W., & Kheirdine, F. (2022).** Méthodes d'extraction, d'identification et purification des huiles essentielles. (thèse doctorat, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Adams, R. P., Barrero, A., & Lara, A. (1996).** Comparisons of the Leaf Essential Oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. eu-mediterranea Lebr. & Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss.) Parl. *Journal of Essential Oil Research*, 8(4), 367-371.
- Adams, R., Pandey, R. N., Leverenz, J. W., Dignard, N., Hoegh, K., & Thorfinnsson, T. (2003).** Pan-Arctic variation in *Juniperus communis*: historical biogeography based on DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(2), 181-192.
- Adams, RP. (2004).** *Junipers of the World: The genus Juniperus*. Trafford Publishing, Vancouver, BC, Canada.
- Affaf, H., & Ahlam, O. (2021).** *Diversité et utilisation des plantes spontanées de la région de Dar chioukh (w. Djelfa) dans la pharmacopée traditionnelle*. Université Ziane Achour/Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,thèse doctorat.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. J. R. d. r. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. 74(7), 636-643.
- Akkol, E. K., Güvenç, A., & Yesilada, E. (2009).** A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of ethnopharmacology*, 125(2), 330-336.
- Amrani, O., & Chehma, A. E. (2020).** Plantations d'*Atriplex canescens* en vue de la restauration des parcours dégradés en steppe algérienne. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 73(2), 113-121.
- Azzi, A. J. F. R. B., & Medicine. (2007).** Molecular mechanism of α -tocopherol action. 43(1), 16-21.

Références

- Baba-Aïssa, F (2000).** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- Barbero, M., & Tatoni, T. (1990).** Approche écologique des incendies en forêts méditerranéennes. *Ecologia mediterranea*, 12(3/4), 78-99.
- Barka, I. (2017).** Inventaire des plantes médicinales de la réserve de Chasse de Moutas (Tlemcen).thèse doctorat.
- Bassil, S. (2015).** Etude de la répartition structurale des acides féruliques et p-coumarique dans la chènevotte et la poudre organique de chanvre (*Cannabis sativa*) : exploration des voies de fractionnement pour l'obtention d'extraits à valeur ajoutée (thèse doctorat, Toulouse 3).
- Baudin, B. J. R. F. d. L. (2020).** Stress oxydant et protections antioxydantes. *2020(522)*, 22-30.
- Belkacem, Z. (2014).** Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cuprèssacées) dans la région de Tlemcen.thèse doctorat.
- Benattia, Z., & Hellali, A. (2019).** Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, thèse doctorat.
- Benmeziane–Derradji, F. J. T. A. H., & Production. (2021).** Evaluation of camel milk: gross composition—a scientific overview. *53(2)*, 308.
- Bouadam, S. E., & Amalou, N. (2014).** Caractérisation biologique et biochimique du Genévrier (*Juniperus phoenicea*) au niveau du Parc National de Gouraya à Bejaïa.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse en co- tutelle présentée pour obtenir de garde de docteur en sciences. Université D'Avignon et des pays de Vaucluse & école nationale supérieure agronomique El Harrach –Alger : 26.
- Boussayoud, M., & Chaibeddra, K. (2021).** Evaluation de l'activité antioxydante de quelques dérivés ouverts de Cromakalim. Université jijel,thèse doctorat.

Références

- Bouyahyaoui, A. (2017).** Contribution à la valorisation des substances naturelles: Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. 115p.
- Caroline G et Michel P. (2013).** Guide de poche de phytothérapie acné, migraine, ballonnements... Soignez-vous avec les plantes. Edition Quotidien matin. p 13-21
- Carr, A. C., & Maggini, S. J. N. (2017).** Vitamin C and immune function. 9(11), 1211.
- Celhay, C. (2013).** Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante: procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. thèse doctorat.
- Chaabane, A. (1993).** Etude de la végétation du littoral septentrional de Tunisie: typologie, syntaxonomie et éléments d'aménagement. Aix-Marseille 3, thèse doctorat.
- Chabrier, J.-Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie university Henri Poincaré-Nancy 1, Faculté de pharmacie, thèse doctorat.
- Chelaghema, A. (2021).** Utilisation d'extraits végétaux pour la maîtrise du risque mycotoxique dans les systèmes agro-alimentaires. Université Montpellier, thèse doctorat.
- Chemat F., TOMAO V. et VIROT M., (2008):** Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In Handbook of Food Analysis Instruments by Semith ötles (pp. 85 – 103). Boca Raton, Florida, USA : CRC Press
- Chouiteh .O,** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra [thèse] Oran : Université d'Oran, 2012.
- Cote G.** Extraction liquide-liquide - Présentation générale. Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2760, 1998.
- Defraigne, J.-O., & Pincemail, J. J. R. m. d. L. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. 63.
- Dedri, A. (2014).** Développement des cultures maraîchères en steppe, le rôle déterminant des agriculteurs itinérants dans la région d'Aflou, wilaya de Laghouat (thèse doctorat).
- Derderi, A., Daoudi, A., & Colin, J.-P. (2015).** Les jeunes agriculteurs itinérants et le développement de la culture de la pomme de terre en Algérie. L'émergence d'une économie réticulaire. *Cahiers Agricultures*, 24(6), 387-395.

Références

- Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2010).** Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int J Agric Biol*, 12(2), 199-204.
- Detry, P. (2017).** Etude biochimique des fractions lipidiques de graines de la famille des apiacées obtenues par différentes méthodes d'extraction.
- Dusek, P., Roos, P. M., Litwin, T., Schneider, S. A., Flaten, T. P., Aaseth, J., & biology. (2015).** The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. *31*, 193-203.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M. H. S., Cherkaoui-Malki, M. J. M. (2014).** Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *19(9)*, 14879-14901.
- Elhaib, A. (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Thèse du doctorat, Université de Toulouse.
- El Kolli, M. (2018).** Composition chimiques et activités biologiques des huiles essentielles de quelques apiacées *carum montanum* benth. et *hook et daucus gracilus* stem. thèse doctorat.
- Endrias, A. (2006).** Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à *Hibiscus sabdariffa L.* et à *Artemisia annua*. thèse doctorat.
- Fabiano-Tixier, A.-S., Rombaut, N., Jacottet-Navarro, M., Bily, A., & Chemat, F. (2016).** Éco-extraction du végétal intensifiée par ultrasons. *La Sonochimie*, 31-35.
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. J. E. h. p. (2001).** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *109(suppl 1)*, 69-75.
- Farias, P. M., Marcelino, G., Santana, L. F., de Almeida, E. B., Guimarães, R. d. C. A., Pott, A., Freitas, K. d. C. J. M. (2020).** Minerals in pregnancy and their impact on child growth and development. *25(23)*, 5630.
- Faurie, C. (2011).** *Écologie Approche scientifique et pratique* (6e ed.): Lavoisier.
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., Esquivel-Chirino, C., . . . Morales-González, J. A. J. I. j. o. m. s. (2011).** Inflammation, oxidative stress, and obesity. *12(5)*, 3117-3132.
- Fekih, N.** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie [thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. **2015**.

Références

- Frishman, W. H., Beravol, P., & Carosella, C. J. D.-a.-M. (2009).** Alternative and complementary medicine for preventing and treating cardiovascular disease. 55(3), 121-192.
- Gattás, G. J. F., Kato, M., Soares-Vieira, J. A., Siraque, M., Kohler, P., Gomes, L., . . . Research, B. (2004).** Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. 37, 451-458.
- Gerry, C. J., & Schreiber, S. L. J. N. R. D. D. (2018).** Chemical probes and drug leads from advances in synthetic planning and methodology. 17(5), 333-352.
- Gheorghiu, M. L., & Badiu, C. J. H. (2020).** Selenium involvement in mitochondrial function in thyroid disorders. 19(1), 25-30.
- Grimm, D., & Parel, N. (2019).** Alimentation et maladies auto-immunes.
- Haluk, J.-P., & Roussel, C. (2000).** Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois. *Annals of forest science*, 57(8), 819-829.
- Hamaï, A., & Mehrpour, M. J. m. s. (2017).** Homéostasie du fer et autophagie. 33(3), 260-267.
- Helmer, C., Pasquier, F., & Dartigues, J.-F. J. m. s. (2006).** Épidémiologie de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés. 22(3), 288-296.
- Herbinet, C. (2004).** Les compléments alimentaires en phytothérapie. UHP-Université Henri Poincaré,
- Herzi, N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles.
- Huet, M. J. B. d. c. (2013).** Medicinal plants in cancer patients: current practices and evaluation data. 100(5), 485-495.
- Husson, J., & Aïchi, L. (2015).** Rapport fait au nom de la commission d'enquête sur le coût économique et financier de la pollution de l'air. Rapport au Sénat(610).
- Huybrechts, B., Tangni, E. K., Debongnie, P., Geys, J., & Callebaut, A. (2013).** Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles: une revue. *Cahiers Agricultures*, 22(3), 202-215 (201).
- Jalel, A., Yassine, M., & Hamdaoui, M. H. J. I. j. o. d. (2009).** Oxidative stress in experimental vitiligo C57BL/6 mice. 54(3), 221.

Références

- Jamaledine, A. (2022).** Bioraffinage des drêches de tomates: procédés d'obtention de molécules d'intérêts biologiques et d'agromatériaux.
- Jentzer, J.-B. (2015).** Etude d'un procédé d'extraction en continu des glycosides de stéviol à partir des feuilles de Stévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).
- Kraft K et Hobbs C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. p16.
- Achak N. et al., (2008).** Essential oil composition of *Juniperus phoenicea* from Morocco and Tunisia. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, pp11, 137-142
- Lahaye, C., Gladine, C., Makarawiez, C., Le Guenno, G., Le Quang, C., Rieu, V., . . . Ruivard, M. J. L. R. d. M. I. (2015).** Hépatosidérose dysmétabolique, surcharge en fer et macrophage: l'étude MEPHISTO. 36, A86-A87.
- Lagunez-Rivera L. (2006)** - Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Lakhdar, L. (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: étude in vitro.
- Lantonisa Hortense RAKOTONIRINA,** Modélisation de l'extraction des solutés hydrosolubles de *Salvia coccinea* (Lamiacea), mémoire, Université d'antananarivo, 2018, p 60.
- Larousse, P. (1869).** Grand dictionnaire universel du XIXe siècle (Vol. 5): Larousse.
- Léger, A. (2008).** Biodiversité des plantes médicinales québécoises et dispositifs de protection de la biodiversité et de l'environnement. Université du Québec à Montréal,
- Leybros J., Fremaux P.** Extraction solide-liquide - Aspects théoriques. *Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés)*, J 2780, 1990.
- Li, X., Pang, Y., Zhong, Y., Cai, Z., Ma, Q., Wen, K., & Nian, H. J. I. J. o. M. S. (2023).** GmGSTU23 Encoding a Tau Class Glutathione S-Transferase Protein Enhances the Salt Tolerance of Soybean (*Glycine max* L.). 24(6), 5547.
- Lucchesi, M.-E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de la Réunion,
- M'Hiri, N. (2015).** Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et

Références

- exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Tunis: INAT.thèse doctorat.
- Manel, M., Nouzha, H., Rim, M., Imane, M., Sana, A., Yasmine, O., & Ammar, A. (2018).** Antibacterial and antioxidant activity of *Juniperus thurifera* L. leaf extracts growing in East of Algeria. *Veterinary world*, 11(3), 373.
- Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A.-S., Richard, M.-J., & Favier, A. J. J. o. t. A. C. o. N. (2003).** Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. 22(2), 147-156.
- Marie E., Faride C., and Jacqueline S., 2004.** *Flavour And Fragrance Journal* FlavourFragr. J.; 19: 134-138. MEYER, WARNOD.
- Marie E., 2005.** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23,52.
- Mazur M., 2010.** Différenciation intra-spécifique de *Juniperus phoenicea* dans la région de la Méditerranée occidentale révélée par une analyse morphologique multivariée. *Dendrobiologie*, Vol. 63, pp. 21-31.
- Merghit, A., & Chennouf, S. (2021).** Extraction des huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires d'une plante médicinale algérienne. Université jijel,thèse doctorat.
- M.H.E.F., 1984.** Etude et projets pour la mise en valeur des terres, aménagement des forêts et des parcs dans le massif de l'Ouarsenis. Vol 19. Ed. Leskomplect. Bulgarie. 169p
- Michel, T.,** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*), 2011, Université d'Orléans.
- Mnayer, D. (2014).** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Université d'Avignon,
- Morris, C. D., & Carson, S. J. A. o. i. m. (2003).** Routine vitamin supplementation to prevent cardiovascular disease: a summary of the evidence for the US Preventive Services Task Force. 139(1), 56-70.
- Moulin J.-P., Pareau D., RAKIB M. et STAMBOULI M., (2002):** Transfert de matière. Extraction liquide – liquide. *Techniques de l'ingénieur J1073*, pp : 1 – 13.

Références

- NAIT TAHER Ryma, A. S. N. (2020).** Etude comparative des méthodes d'extraction des substances bioactives des matrices végétales telle que la figue de barbarie.
- Nguyen van, C (2010).** Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurale ; applications aux opérations d'extraction et de transestérification in situ. Thèse de Docteur de UFR Pôle Sciences et Technologie, Université de Rochelle, 170p.
- Ouled Cheikh Yahya, T. B.-D. (2021).** Evaluation de la conformité des tisanes conditionnées produites en Algérie (évaluation qualitative et quantitative).
- Pavida D., Lampman G., Kriz., 1976.** Introduction to organic laboratory Techniques. WB.Saudres CO. Philadelphia.USA. 567-573.
- Pierre M., Lis .M (2007)** Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463
- Pincemail, J., Cavalier, E., Charlier, C., Cheramy–Bien, J.-P., Brevers, E., Courtois, A., . . . Misset, B. J. A. (2021).** Oxidative stress status in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. A pilot study. *10(2)*, 257.
- Pincemail, J., & Meziane, S. J. A. (2022).** On the Potential Role of the Antioxidant Couple Vitamin E/Selenium Taken by the Oral Route in Skin and Hair Health. *11(11)*, 2270.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. J. E. j. o. m. c. (2015).** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *97*, 55-74.
- Poncet, P., Charpin, D., & Sénéchal, H. (2021).** Les Cupressacées des cinq continents. *Revue française d'allergologie*, *61(4)*, 198-201.
- Prasad, C. B., Kodliwadmth, M. V., & Kodliwadmth, G. B. J. L. r. (2007).** Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and hydrogen peroxide induced lipid peroxidation in leprosy. *78(4)*, 391-397.
- Puthur, J. T. J. S. I. J. o. B. S. (2016).** Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. *2(1)*, 9-13.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et Méridionales, Tome II. Edition CNRS, Paris. In: Paris.
- Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., ... & Zerrar, S. (2013).** Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *3(11)*, 22.
- Rajurkar, R. B., Khan, Z. H., & Gujar, G. T. J. C. S. (2003).** Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. 1355-1360.

Références

- Romaissa, S., Amina, B., & Mahmoud, C. (2021).** Etude phytochimique et l'activité biologique de quatre plantes algériennes.
- Sano, R., & Reed, J. C. J. B. e. B. A.-M. C. R. (2013).** ER stress-induced cell death mechanisms. *1833(12)*, 3460-3470.
- Sara, B., & Khadîdja, C.** Extraction et étude comparative des huiles essentielles et des extraits de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées.
- Seigue, A. (1985).** La foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed : G.P Maisonneuve et Larose. P 216.
- Sean H., et Timothy R. (2005).** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Réseau canadien d'info traitements sida (CATIE). Edition révisée. Canada. Paul R., Saunders, PhD. p 43
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessaraki, M. J. J. o. b. (2012).** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *2012*.
- Spencer, R. (1995).** Horticultural flora of South-Eastern Australia: ferns, conifers & their allies (Vol. 1): UNSW Press.thèse doctorat.
- Techer, D., Milla, S., Fontaine, P., Viot, S., & Thomas, M. J. E. t. (2017).** Influence of waterborne gallic and pelargonic acid exposures on biochemical and reproductive parameters in the zebrafish (*Danio rerio*). *32(1)*, 227-240.
- Tongnuanchan, P. andbenjakul, S.J.Food SCI.2014.,79 (7), R1213.**
- Turgeon, M. (2001).** Ministère des Ressources naturelles.
- Wang, L. and C.L. Weller,** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 2006. **17(6)**: p. 300-312.