

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Mme. ZOUAK Asma

Thème

**Effet du solvant et des méthodes d'extraction sur la
composition des principes actifs du *Bunium incrassatum***

Soutenu le : 02/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et prénom</i>		<i>Grade</i>		
<i>M. LAMINE</i>	<i>Salim</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M. TIGHILET</i>	<i>Karim</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. LABDIRI</i>	<i>Farid</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciement

*Nous commençons par remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.*

*Nous remercions, très chaleureusement **M. TIGHILET** Karim notre promoteur, Merci pour votre encadrement efficace, votre disponibilité et pour votre confiance qui nous a suivi et guidé tout au long de ce travail.*

*Nous hommages les plus respectueux s'adressent à **M.LAMINE Salim** qui nous a fait l'immense honneur d'accepter la présidence de notre jury. Nous adressons également tous nos remerciements à notre enseignant **M. LABDIRI Farid** d'avoir accepté d'être examinateur de notre mémoire.*

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira, pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portaient à notre travail. Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches.

Enfin, Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, la reconnaissance, aussi tous simplement que je dédie ce travail :

A ma chère famille :

*À la meilleure femme au monde, la lumière de mes yeux, ma couronne, maman **Khadera**, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité. Tout le vocabulaire Français ne me suffira jamais pour te décrire avec justesse ni pour te présenter mes remerciements, Je ne vous remercierai jamais assez. Pour toi je prie dieu de te garder en bonne santé.*

*À mon père **Ali**, tu m'as donné la foi tu m'as jamais quitté tu m'as toujours aidé. Je te remercie pour ton soutien dans mes choix et ton attention sans faille, ainsi qu'à ton encouragement et l'amour inconditionnel qui m'accompagnent depuis toujours.*

*À mon très cher époux **Boudjemline Hamza**, Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études, je te exprime tout mon amour et toute ma gratitude pour m'avoir encouragé, et pour tous les instants inoubliables.*

*À ma grande sœur, 2eme maman **Imane** tu as été toujours la source de force, de joie et de tendresse, merci pour tout le soutien moral et physique que tu m'as contribué pour la réalisation de ce travaux.*

*À mes chères sœurs **Djamila, Rahima** pour être toujours à mes côtés surtout dans les moments les plus dures.*

*À mes très chers frères **Samir, Saad, Abed EL mouiz***

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Partie 1: Synthèse bibliographique	
Chapitre I: généralité sur <i>Bunium incrassatum</i>	
I.1. Les plantes médicinales	3
I.2. Historique des plantes en Algérie	3
I.3. Avantages et inconvénients des plantes médicinales.....	5
I.3.1. Les avantage	5
I.3.2. Les inconvénients.....	5
I.5. Le genre <i>Bunium incrassatum</i>	5
I.5.1. Nomenclature et appellation	5
I.5.2. Taxonomie et classification botanique	6
I.5.3. Distribution géographique	6
I.5.5. Composition physico-chimique de <i>Bunium incrassatum</i>	7
I.5.6. Utilisation	8
I.5.6.1. Utilisation alimentaire.....	8
I.5.6.2. Utilisation médicinale	8
I.6. Définition des principes actifs.....	8
Chapitre II: Les techniques d'extractionsdes principes actifs	10
II.1. Méthodes d'extraction conventionnelles : Extractions par solvants	10
II.1.1. La décoction	11
II.1.2. Infusion	11
II.1.3. La macération.....	11
II.1.4. Extraction Soxhlet	11
II.1.5. Avantages et inconvénients des méthodes conventionnelles	13
II.2. Méthodes d'extraction non conventionnelles	14
II.2.1. L'extraction par fluide pressurisé	14
II.2.2. L'extraction par fluide supercritique.....	15
II.2.3. L'extraction assistée par ultra-sons.....	16

II.2.3.2. Paramètres influençant l'extraction UAE	17
II.2.4. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extraction)	18
II.2.4.1. Principe de la méthode.....	18
II.2.4.2. Paramètres influençant l'extraction par MAE.....	19
II.2.5. Avantages et inconvénients des méthodes d'extraction non-conventionnelles	21

Partie 2: Expérimentales

Chapitre I : Matériels et méthodes.....	23
I.1. Préparation du matériel végétal.....	23
I.1.1. Matière végétale.....	23
I.1.2. Broyage et tamisage	23
I.2.1. Extraction par macération.....	24
1.2.1.1. Préparation des différents extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	24
I.2.2. Extraction par ultrason	25
I.3. Le rendement des extraits secs	26
I.4. Dosage des composés phénolique	26
1.4.1. Dosage des concentrations polyphénols totaux	26
I.4.1.1. Principe	26
I.4.1.2. Mode opératoire.....	27
I.4.1.3. Expression des résultats	27
I.4.2. Dosage des flavonoïdes	28
I.4.2.1. Principe	28
I.4.2.2. Mode opératoire.....	28
I.4.2.3. Expression des résultats	29
I.4.3. Dosage des flavonols.....	29
I.4.3.1. Mode opératoire.....	29
I.4.3.2. Expression des résultats	29
I.4.4. Détermination de la teneur en pigments liposolubles	29
I.4.4.1. Mode opératoire.....	30
I.4.4.2. Expression des résultats	30
I.5. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits bruts	30
I.5.1. Activité de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) :.....	30
I.5.1.1. Principe	30
I.5.1.2. Mode opératoire.....	31
I.5.1.3. Expression des résultats	31
I.5.2. Activité scavenging du radical ABTS	32

I.5.2.1. Principe	32
I.5.2.2. Mode opératoire.....	33
I.5.2.3. Expression des résultats	33
I.5.3.1. Principe	34
I.5.3.2. Mode opératoire.....	34
I.5.3.3. Expression des résultats	35
Chapitre II : Résultats et discussion	36
II.1 Rendement d'extraction à partir des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i>	36
II.2. Teneurs en composés phénoliques	37
II.2.1. Teneurs en polyphénols totaux	37
II.2.2. Tenures en Flavonoïdes.....	39
II.2.3. Teneurs en flavonols	41
II.2.4. Teneurs en composés liposolubles.....	42
II.3. Pouvoirs antioxydants des extraits	43
II.3.1. Activité de piégeage du radical DPPH.....	43
II.3.2. Activité de piégeage du radical ABTS ^{•+}	45
II.3.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	48
Conclusion	50
Références bibliographiques.....	52
Annexe	63
Résumé	69

Liste des Abréviations

% : pourcentage

Abs: L'absorbance

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

AG : Acide gallique

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

ASE : Accelerated Solvent Extraction

C : Carbone

C°: Température en degrés Celsius

Cm : centimètre

DPPH : 2,2diphényl -1-picrylhydrazyl

e⁻ : électron

EAG : Equivalent acide gallique

EAU: Extraction assistée par ultrasons

EQ: équivalent Quercitain

Fe⁺² : Fer ferreux.

Fe⁺³ : Fer ferrique

FeCl₃: chlorure ferrique.

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

g : gramme

GHz : Gigahertz

h : Heure

H₃PMo₁₂O₄₀ : d'acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : d'acide phosphotungstique

HCL : Acide chlorhydrique

H⁺ : hydrogène

K₂S₂O₈ : persulfate de potassium

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité

KHz : kilohertz

Km² : Kilomètre carré

MAE : Extraction assistée par microonde

mg : Milligramme

mg/l : milligramme par litre

MHz : million d'hertz

min : minute

ml : millilitre

MO8O23: oxyde de molybdène.

MRT : médecine traditionnelle

MS: Matière sèche

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Na₂HPO₄: Sodium Phosphate

NaCl : Chlorure de sodium

NaNO₂ : nitrite de sodium

NaOH : d'hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

P/V: Poids/ volume

P: pression

pH : potentiel d'Hydrogène

PLE : l'extraction par fluide pressurisé

K₃Fe(CN)₆ : potassium hexacyanoferrate

PI % : pourcentage d'inhibition

R%: Rendements %

SFE : l'extraction par fluide supercritique

T: température

TCA : acide trichloracétique

ug : microgramme

ul : microlitre

UV : Ultra-violet

V / V : volume/ volume

W2PW23: oxyde de tungstène.

Liste des figures

Figure 1 : Carte de l'Algérie	4
Figure 2 : Timbres postaux en Algérie avec quelques plantes.....	4
Figure 3 : Distribution de <i>Bunium incrassatum</i> (Talgouda) dans le nord-africain	6
Figure 4: La plante <i>Bunium incrassatum</i>	8
Figure 5 : Description morphologique de <i>Bunium incrassatum</i>	7
Figure 6: Schéma de l'extracteur Soxhlet pour l'extraction de composés volatils ou solubles à partir d'un solide.	12
Figure 7 : Schéma simplifié d'une cellule d'extraction par fluide pressurisé pour l'extraction de composés.	15
Figure 8: Schéma de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation	16
Figure 9 : Schéma de l'évolution d'une bulle de cavitation près d'une surface solide	17
Figure 10 : Spectre électromagnétique et positionnement des micro-ondes domestiques	18
Figure 11: Comportement des molécules dipolaires en présence de champs électriques : Absence de champ, champ électrique continu et champ électrique à haute fréquence e.	19
Figure 12: A: les feuilles, B: la poudre de <i>Bunium incrassatum</i>	23
Figure 13: : Méthode de préparation des extraits des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i>	25
Figure 14: Principe de dosage des polyphénols : Méthode de Ribéreau-Gayon.....	27
Figure 15: Principe de réaction entre les flavonoïdes et l'aluminium trichlorure (AlCl ₃)	28
Figure 16: Mécanisme réactionnel du test DPPH• : Réduction du radical libre DPPH•	31
Figure 17 : Génération du radical-cation ABTS et sa réaction avec un antioxydant : Mécanisme et détection.	33
Figure 18: Mécanisme réactionnel du test FRAP : Réduction du complexe ferricyanide ferrique Fe(III) par un antioxydant.....	34
Figure 19 : Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i> ...	38
Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i> ..	40
Figure 21 : Teneur en flavonols des extraits des feuilles de <i>Bunium incrassatum</i>	41

Figure 22: Teneur en composés liposolubles des extraits de feuilles de <i>Bunium incrassatum</i>	43
Figure 23: Activité d'inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	44
Figure 24 : Valeurs d'IC50 par le test d'ABTS des différents extraits des plantes étudiées. ...	46
Figure 25: Pouvoir d'inhibition des extraits de <i>Bunium incrassatum</i> par ultrason	46
Figure 26 : Pourcentage d'inhibition des extraits de <i>Bunium incrassatum</i> par macération.	47
Figure 27 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Bunium incrassatum</i> par le test de FRAP.	48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques genres de la famille des apiacées en Algérie.....	5
Tableau 2 : Avantages et inconvénient des méthodes conventionnelles d'extraction des principes actifs	13
Tableau 3 : Avantage et inconvénients des méthodes non-conventionnelles d'extraction des principes actifs	21
Tableau 4 : Le rendement d'extraction du <i>Bunium incrassatum</i>	36
Tableau 5 : Valeur d'IC ₅₀ (ug/ml) pour le test de DPPH des extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	44



Introduction

Introduction

La phytothérapie, considérée comme l'une des formes les plus anciennes de médecine, offre une approche intéressante en termes de traitement et de guérison, avec des coûts réduits et peu d'effets secondaires. Même avec les progrès phénoménaux de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt du grand public pour la phytothérapie n'a jamais cessé de croître. Aujourd'hui, il existe une interconnexion étroite entre ces deux formes de médicaments, car la structure moléculaire de nombreux médicaments commercialisés est dérivée de composés présents dans les plantes (**Adouane, 2016**).

D'après les informations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % des populations africaines ont recours à la médecine traditionnelle et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face à leurs problèmes de santé (**Santa-Cecília et al., 2011**).

L'Algérie est renommée pour sa richesse en plantes médicinales et aromatiques, dont la majorité pousse à l'état sauvage, et pour leur utilisation répandue à travers le pays. Malgré cela, la flore algérienne, qui comprend environ 3000 espèces répertoriées appartenant à différentes familles botaniques, dont 15% sont spécifiques à la région, demeure largement inexplorée sur le plan phytochimique et pharmacologique (**Bouزيد et al., 2016**).

Parmi les plantes endémiques algériennes, *Bunium incrassatum*, connue aussi sous le nom de " Talghouda ", appartient à la famille des Apiacées qui compte 56 genres et 130 espèces dans la flore algérienne. Cette plante est l'une des plantes utilisées par les populations nord-africaines dans le traitement de certaines maladies. Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle de notre région pour traiter les maladies de la thyroïde (**Bouderdara, 2013**).

Cette étude sera réalisée en deux parties :

La première partie est une étude bibliographique sur l'espèce *Bunium incrassatum* suivie d'un chapitre sur les différentes méthodes d'extraction des composés actifs.

La deuxième partie est la partie expérimentale qui est divisée en deux chapitres : le premier illustre le matériel et les méthodes utilisés pour les différentes méthodes d'extraction, l'analyse qualitative et quantitative des polyphénols et flavonoïdes contenus dans l'extrait, et l'évaluation de l'extrait. Activité antioxydante des extraits de plantes (testée par les méthodes DPPH, ABTS et FRAP).

Dans le deuxième chapitre, nous discutons des résultats obtenus, des rendements, du contenu phénolique et de l'estimation de l'activité antioxydante.

Enfin, l'étude se clôture par une conclusion générale qui englobe l'ensemble des résultats et des analyses effectués. Cette conclusion permet de tirer des enseignements significatifs, de mettre en évidence les contributions de l'étude, d'identifier les limitations éventuelles et de suggérer des pistes pour de futures recherches dans le domaine.



Chapitre I
Généralité sur Bunium
incrassatum

I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont exploitées pour leurs propriétés bénéfiques spécifiques en matière de santé humaine. Leur utilisation varie selon différentes méthodes, notamment la décoction, la macération et l'infusion. Différentes parties des plantes, telles que les racines, les feuilles et les fleurs, peuvent être utilisées seules ou en combinaison pour leurs vertus médicinales (**Dutertre, 2011**).

Les plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) sont caractérisées par le fait qu'au moins l'une de leurs parties possède des propriétés médicinales. Leurs effets bénéfiques sont attribués aux composés chimiques qu'elles renferment, qu'il s'agisse de métabolites primaires ou secondaires, ou à la synergie entre ces différents composés. Ces plantes sont utilisées dans divers domaines, que ce soit sous forme d'ingrédients actifs, d'huiles, d'extraits, de solutions aqueuses ou organiques, ou même utilisées seules (**Sanago, 2006**).

I.2. Historique des plantes en Algérie

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales remonte à une tradition millénaire. Toutes les cultures ont une longue histoire d'utilisation des plantes médicinales pour traiter diverses affections. Même pendant la période de colonisation française, qui s'est déroulée de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à recenser un grand nombre d'espèces aux propriétés médicinales. En 1942, Forment et Roques ont publié un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie, dans lequel ils décrivent et étudient 200 espèces. La majorité de ces espèces proviennent du nord de l'Algérie, tandis que seulement 6 espèces étaient localisées dans le Sahara (**Benhouhou, 2015**). Des travaux plus récents sur les plantes médicinales algériennes ont été publiés par **Bloued (1998)** et **Baba Aissa (1999)**, qui ont contribué à la recherche dans ce domaine.

Avec une superficie de 2 381 741 km², l'Algérie est le plus grand pays d'Afrique. Il est caractérisé par deux chaînes de montagnes majeures, à savoir l'Atlas Tellien au nord et l'Atlas Saharien au sud. Ces deux chaînes de montagnes divisent le pays en trois zones distinctes, qui se distinguent par leur relief et leur morphologie. Cette configuration géographique contribue à une grande diversité biologique présente en Algérie (**Ilbert et al., 2016**).



Figure 1 : Carte de l'Algérie (Anonyme 1)

La diversité étendue des plantes médicinales en Algérie et leur utilisation réclament une synthèse globale des connaissances à l'échelle nationale, qui devrait être entreprise sans délai. Les plantes médicinales ont toujours exercé une influence significative et occupé une place de choix dans la vie quotidienne en Algérie, à tel point que leur importance est reflétée jusqu'aux timbres postaux du pays (IKRAM et BOUDEN, 2022).



Figure 2 : Timbres postaux en Algérie avec quelques plantes (IKRAM et BOUDEN, 2022).

I.3. Avantages et inconvénients des plantes médicinales

I.3.1. Les avantages

D'une manière générale, les plantes médicinales couramment utilisées ne provoquent que très peu, voire pas du tout, d'effets indésirables. C'est l'un des principaux avantages des plantes médicinales. De plus, la compréhension et l'acceptation scientifique de l'action synergique des différents constituants commencent à s'améliorer (**Decaux, 2002**).

Contrairement à certaines idées reçues, de nombreuses plantes ont des effets quasi immédiats sur le métabolisme, comme l'ont démontré des études telles que celles de **Pinto et al., (2003)** et **Salgueiro et al., (2003)**. Cependant, il est vrai que les médicaments de synthèse ont souvent une action plus directe et spectaculaire, car ils sont formulés de manière à être rapidement assimilés par l'organisme. De plus, il est généralement plus facile de connaître leur composition précise et de garantir les conditions de stockage, contrairement aux plantes médicinales qui peuvent varier en termes de composition chimique et de stabilité (**Simon et Mills, 2001**).

I.3.2. Les inconvénients

Il est important de noter que certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres, comme de nombreuses espèces telles que la digitale, la belladone, le colchique, etc., sont toxiques et ne doivent être utilisées que sous des formes strictement contrôlées et commercialisées exclusivement en pharmacie. L'utilisation irresponsable de plantes cueillies dans la nature peut entraîner des intoxications graves, voire mortelles. Il est donc essentiel de faire preuve de discernement et de prudence lors de l'utilisation de plantes médicinales, en suivant les recommandations appropriées et en cherchant des conseils professionnels, notamment auprès des pharmaciens ou des professionnels de la santé compétents (**Williamson, 2001**).

I.4. Généralités sur la famille des Apiacées

La famille des Apiacées, anciennement appelée Ombellifères, est une famille de plantes dicotylédones (**Daroui-Mokaddem, 2012**), qui comprend près de 3000 espèces, est largement répandue dans la plupart des régions du monde. Cette famille présente une grande homogénéité sur le plan botanique et se distingue par son inflorescence en forme d'ombelle, ce qui lui a valu le nom ancien mais encore couramment utilisé d'Ombellifères. (**Bruneton, 1999**). En Algérie, 55 genres regroupant 117 espèces, dont 24 endémiques, sont répertoriés (**Quezel et Santa, 1963**).

C'est une famille très homogène et facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres (**Deysson, 1979**). Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces (**Paloma, 2012**).

Tableau 1 : Quelques genres de la famille des apiacées en Algérie (**Boukezata, 2014**)

Genre	Nombre d'espèce	Genre	Nombre d'espèce
<i>Ammi</i>	2	<i>Conium</i>	1
<i>Ammiopsis</i>	1	<i>Ferula</i>	5
<i>Ammodaucus</i>	1	<i>Bunium</i>	7
<i>Anethum</i>	1	<i>Cuminum</i>	1
<i>Apium</i>	1	<i>Thapsiia</i>	3
<i>Bifora</i>	1	<i>Heracleum</i>	1
<i>Margotia</i>	1	<i>Torilis</i>	2

I.5. Le genre *Bunium incrassatum*

Bunium incrassatum est une plante médicinale de la famille des ombellifères (Apiaceae), largement répandue dans l'est de l'Algérie et communément appelée "Talghouda". Cette plante revêt une importance économique croissante. En effet, ses racines sont extrêmement nutritives. (**Boukezata, 2014**).

I.5.1. Nomenclature et appellation

- Nom arabe : Talghouda تالغودة
- Nom kabyle : Talyuda
- Nom français : Noix ou gland de terre,
- Nom scientifique : *Bunium incrassatum*
- Nom commun : châtaigne de terre
- Synonyme(s) du nom commun : terre noix, marron de terre, gland de terre (**Lonchamp, 2000**).

I.5.2. Taxonomie et classification botanique

Selon Lefahal (2014), *Bunium incrassatum* est classé dans la taxonomie suivante :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Bunium</i>
Espèce	<i>Bunium incrassatum</i>

I.5.3. Distribution géographique

Bunium incrassatum est largement distribué sur la côte méditerranéenne de l'Afrique



Figure 3 : Distribution de *Bunium incrassatum* (Talghouda) dans le nord-africain (Boukezata, 2014).

I.5.4. Description morphologique

Bunium incrassatum est une plante vivace herbacée caractérisée par une racine renflée en tubercule arrondi, qui ne dégage pas d'odeur marquée. Les tiges de la plante sont fines, mesurant entre 10 et 50 cm de hauteur, et robustes. Les feuilles de *Bunium incrassatum* sont divisées de manière linéaire, et ses fruits ne sont pas reliés à leur sommet (voir Figure 4 et 5). (Ben Ziane et Yousfi, 2001).



Figure 4: La plante *Bunium incrassatum* (Photo original).



Figure 5: Description morphologique de *Bunium incrassatum* (Ben Ziane et youcfe 2001).

I.5.5. Composition physico-chimique de *Bunium incrassatum*

Des études phytochimiques sur la plante médicinale *Bunium incrassatum* ont révélé la présence des composés suivants dans sa partie souterraine : saccharose, acide oléique, scopolétine, scopolamine, scoparone et bêta-sitostérol (Bousetla et al., 2015). Une étude menée par (Elkolli et al., (2017) a identifié 31 composés dans les huiles essentielles de la partie aérienne de *Bunium incrassatum*. Le composé le plus abondant est un terpène et ses dérivés, notamment l'acide palmitique (18,39 %), l'oxyde de caryophyllène (17,36 %), le β -eudesmol (13,95 %), le n-pentane (5,13 %), le 10-épi- α -muurolol (4,36 %), l'hédycaryol (4,14 %) et la spatulenéole (4,04 %). Sur le plan nutritionnel, la poudre de *Bunium incrassatum* contient des protéines, des lipides, une grande quantité d'amidons et de congénères, ainsi que des minéraux, avec le calcium étant le plus courant parmi eux. Les polyphénols présents dans la plante comprennent principalement des flavonoïdes, en particulier la quercétine, ainsi que des alcaloïdes et des quantités significatives de coumarines. (Aiouaz et Arezki, 2022).

Les racines de la plante *Bunium incrassatum* poussent à l'état sauvage et produisent un tubercule riche en amidon. Ce tubercule peut être consommé cru ou transformé en farine après séchage. La composition de la farine obtenue est la suivante : elle contient environ 15,66% d'eau, 5,5% de cendres, 7% de matières azotées, 1,34% de matières grasses, 63,2% d'amidon et autres glucides, ainsi que 6,4% de cellulose. (Benkhalifa, 2018).

I.5.6. Utilisation

I.5.6.1. Utilisation alimentaire

Les tubercules de Talghouda sont consommés crus, bouillis ou rôtis. Ils récoltent les tubercules, les sèchent, les broient en farine et consomment cette farine mélangée à de l'orge, sous forme de galette (**El Kolli, 2017**).

Les racines de *Bunium incrassatum* sont généralement utilisées comme les pommes de terre dans l'alimentation (**Lefahal, 2014**).

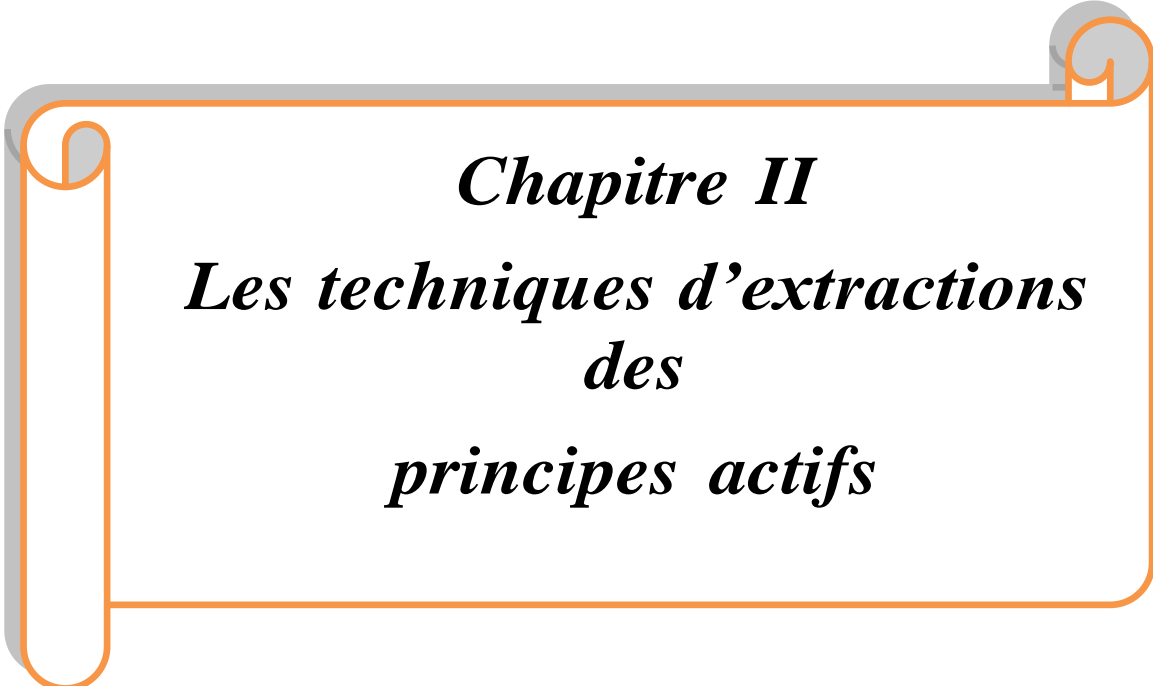
I.5.6.2. Utilisation médicinale

La poudre de la plante est utilisée en ajoutant à des préparations telles que le D'han (une boisson traditionnelle), la patte de datte, le miel, la soupe chaude, le beurre ou l'huile d'olive pour traiter l'angine. Cette méthode d'utilisation est similaire à celle du décocté, où la poudre est incorporée dans différents ingrédients pour bénéficier de ses propriétés thérapeutiques dans le traitement de l'angine (**Ben Ziane et Yousfi, 2001**).

Bunium incrassatum est une plante médicinale qui gagne en importance économique. Les racines de cette plante sont connues pour leur valeur nutritive élevée. Dans la médecine traditionnelle, quelques préparations à base de *Bunium incrassatum* sont utilisées pour leurs propriétés astringentes et diarrhéiques, ainsi que pour traiter les affections thyroïdiennes. Ces utilisations traditionnelles témoignent des vertus de cette plante dans le traitement de certaines maladies et affections (**Boukezata, 2014**).

I.6. Définition des principes actifs

Le principe actif fait référence à une molécule présente dans une plante médicinale ou une préparation à base de plantes, qui est utilisée dans la fabrication de médicaments. Cette molécule possède des propriétés thérapeutiques curatives ou préventives pour les humains ou les animaux. Les plantes fraîches ou séchées sont la source de ces principes actifs, et différentes parties de la plante peuvent être utilisées, telles que les racines, les écorces, les sommités fleuries, les feuilles, les fleurs, les fruits ou les graines. Ces parties de la plante renferment les molécules qui sont d'intérêt pour leurs effets médicinaux. (**Benghanou, 2012**).

A decorative graphic of a scroll with an orange border and grey shadows, containing the chapter title.

Chapitre II
Les techniques d'extractions
des
principes actifs

II. Méthodes d'extraction des principes des actifs

Différents chercheurs ont consacré leurs efforts à l'extraction des principes actifs à partir de plantes aromatiques et médicinales en utilisant une variété de techniques, de solvants et de conditions d'extraction.

Dans le domaine de l'analyse et de l'identification des molécules bioactives, l'étape de l'extraction joue un rôle essentiel. Son objectif est de récupérer les molécules d'intérêt présentes dans les sites actifs de la matrice végétale. Cette étape revêt une grande importance car elle détermine à la fois la nature et la quantité des molécules extraites, et par conséquent, elle conditionne le succès des étapes ultérieures. Généralement, l'extraction des produits naturels suit une méthode solide-liquide, où un solide, représenté par la matrice végétale, est mis en contact avec un liquide spécifique (**Rodsamran et Sothornvit, 2019**).

Les méthodes traditionnelles telles que la macération, le Soxhlet, la décoction, l'infusion et l'hydrodistillation étaient largement utilisées comme techniques privilégiées pour l'extraction des composés naturels. Cependant, ces méthodes conventionnelles, qui impliquent des températures élevées et des durées d'extraction prolongées, présentent plusieurs inconvénients. Elles conduisent à un faible rendement d'extraction, une qualité de produit réduite, une consommation énergétique élevée, ainsi que des risques potentiels pour la sécurité et l'environnement. (**Rodsamran et Sothornvit, 2019**).

Au cours des dernières années, des avancées significatives ont été réalisées dans le domaine de l'extraction grâce au développement de méthodes alternatives utilisant des fluides compressés comme agents extracteurs. (**Mendiola et al., 2007**) tel que l'extraction par fluide pressurisé (PLE), l'extraction par fluide supercritique (SFE), l'extraction assistée par ultra-sons (UAE) et l'extraction assistée par micro-ondes (MAE). Ces méthodes exploitent respectivement l'énergie ultra-sonique et les micro-ondes comme sources de chauffage pour la solution solvant-matrice

II.1. Méthodes d'extraction conventionnelles : Extractions par solvants

Les méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites reposent généralement sur l'affinité des molécules ciblées pour différents solvants, ainsi que sur l'application de chaleur et/ou d'agitation. (**Azmir et al., 2013**)

II.1.1. La décoction

La méthode d'extraction par décoction est une pratique traditionnelle couramment utilisée en Côte d'Ivoire pour préparer diverses boissons telles que le thé, ainsi que des préparations traditionnelles à base de plantes médicinales (**Bohui et al., 2018**). Cette technique consiste généralement à faire bouillir les ingrédients dans un récipient ouvert, parfois en utilisant un bain-marie lorsque la substance à extraire a une consistance plus pâteuse qui risquerait d'être brûlée directement par la chaleur du feu. (**Jaccoud, 1872**).

II.1.2. Infusion

L'infusion est une méthode d'extraction qui implique de verser de l'eau bouillante sur une quantité spécifiée de matériau végétal, puis de laisser reposer le mélange pendant une durée de 10 à 15 minutes (**Sofowora, 2010**). Ce processus permet aux composés actifs présents dans les plantes de se dissoudre dans l'eau, formant ainsi une infusion aromatique et parfumée.

II.1.3. La macération

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide qui implique de laisser la matière végétale en contact avec un solvant tel que le méthanol, l'éthanol ou une solution aqueuse, dans le but d'extraire le principe actif. (**Kenza et Merbouha, 2019**).

Les solvants alcooliques permettent d'augmenter la perméabilité de la paroi cellulaire en facilitant l'extraction de molécules plus polaires, faible à moyenne polarité. De plus, une agitation et une imprégnation prolongées (24 h) à température ambiante épuisent le solvant dans les composés extraits et empêchent leurs éventuels changements ou modifications dus aux températures élevées, respectivement (**Kenza et Merbouha, 2019**).

Après la filtration, il est possible de répéter le processus de macération en renvoyant le résidu végétal dans le récipient d'extraction avec un solvant frais (**Berregioua, 2016**).

II.1.4. Extraction Soxhlet

Les extracteurs Soxhlet permettent le traitement des solides (matières végétales) en utilisant soit une phase liquide, soit un solvant partiellement évaporé. Le corps en verre de l'extracteur contient une cartouche de cellulose remplie de matière végétale (100 g). Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant (**Sarker et al., 2006 ; Quan et al., 2004**).

Le schéma de l'appareil Soxhlet est représenté dans la Figure 6. Le processus d'extraction se déroule de la manière suivante : le ballon contenant le solvant d'extraction est chauffé, ce qui provoque l'évaporation du solvant. Le solvant vaporisé monte à travers la cartouche contenant la matière végétale et se condense au contact de cette dernière. À chaque cycle d'extraction, le solvant récupéré dans le flacon devient de plus en plus concentré en soluté, tandis que la matière végétale reste en contact avec du solvant frais distillé. L'extraction se poursuit de manière continue jusqu'à ce que toute la matière solide chargée dans la cartouche soit épuisée (Pibiri, 2005).

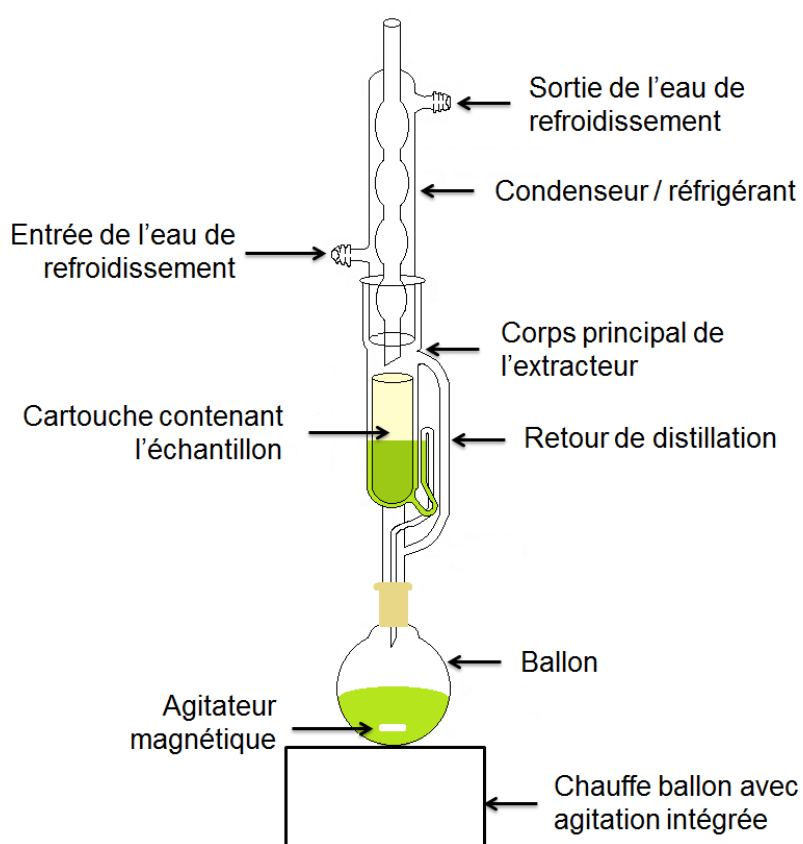


Figure 6: Schéma de l'extracteur Soxhlet pour l'extraction de composés volatils ou solubles à partir d'un solide. (Pibiri, 2005).

II.1.5. Avantages et inconvénients des méthodes conventionnelles

Les méthodes d'extraction conventionnelles présentent certains inconvénients, notamment en ce qui concerne la durée d'extraction et l'utilisation de quantités relativement importantes de solvants organiques. Cependant, malgré ces limitations, ces méthodes restent largement utilisées dans l'industrie, principalement en raison de leur étude approfondie en termes d'optimisation des conditions d'extraction et de leur application à grande échelle (**Rodsamran et Sothornvit, 2019**).

Tableau 2 : Avantages et inconvénient des méthodes conventionnelles d'extraction des principes actifs (**chemat, 2014 ; Gil-Chavez et al., 2013**).

	Avantages	Inconvénients
Décoction	<ul style="list-style-type: none"> • Dissolution efficace ; • Technique rapide 	<ul style="list-style-type: none"> • Perte d'une grande partie des composés volatils (entraînant pas la vapeur d'eau) • Altération des substances thermosensibles • Consommation d'énergie
Infusion	<ul style="list-style-type: none"> • Extraction à chaud : Meilleure dissolution ; • Technique simple et peu coûteuse ; • Extraction à partir d'une drogue fragile (fleurs) 	<ul style="list-style-type: none"> • A chaud : Risque d'altération des composés fragiles thermosensibles
Macération	<ul style="list-style-type: none"> • Conservation des molécules thermosensibles ; • Extraction à froid : Limite la perte des composés volatils ; • Méthode simple et moins coûteuse 	<ul style="list-style-type: none"> • Durée d'extraction prolongée : particules de petite taille : Pour obtenir de meilleurs rendements d'extraction • Toxicité des solvants • Phénomène de saturation : grandes quantités de solvants nécessaires.
Soxhlet	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisation de faibles quantités de solvants, sans phénomène de saturation. 	<ul style="list-style-type: none"> • Durée d'extraction prolongée : particules de petite taille : Pour obtenir de meilleurs rendements d'extraction • Toxicité des solvants • Perte des composés thermolabiles/volatils

II.2. Méthodes d'extraction non conventionnelles

II.2.1. L'extraction par fluide pressurisé

Extraction par fluide pressurisé (PLE), également appelée extraction liquide pressurisée, est une méthode largement reconnue dans le domaine de l'extraction accélérée par solvant (ASE). Elle se distingue par l'utilisation de solvants à des pressions élevées et à des températures supérieures à leur point d'ébullition (**Richter et al., 1996**).

Grâce à cette combinaison de pression élevée et de température élevée, l'extraction devient plus rapide et plus efficace. L'élévation de la température réduit la viscosité du solvant, ce qui facilite sa pénétration dans la matrice solide et affaiblit les interactions entre le solvant, la matrice et les molécules cibles. De plus, la diffusion est accélérée à des températures élevées, ce qui réduit le temps nécessaire à l'extraction. La pression appliquée force le solvant à traverser les pores de la matrice, permettant ainsi d'atteindre des composés qui étaient auparavant inaccessibles (**Richter et al., 1996**).

De plus, le processus d'extraction comprend plusieurs cycles d'extraction, ce qui permet l'introduction de solvants frais. Cela crée un gradient de concentration plus élevé entre le solvant et la matrice solide, améliorant ainsi le transfert de masse et augmentant le taux d'extraction. L'extraction est réalisée de manière statique, ce qui signifie que le solvant est en contact avec la matrice pendant une période déterminée (généralement de 5 à 10 minutes). Pendant cette période, les molécules de solvant se désorbent et se diffusent vers les solvants (**Richter et al., 1996 ; Kaufmann et al., 2002**).

Après la phase d'extraction, le solvant est évacué de la cellule de haut en bas à l'aide d'un flux d'azote. Cependant, pendant le processus d'extraction, la matrice est placée dans un réservoir en acier inoxydable équipé d'un filtre situé dans sa partie inférieure (Figure 07). Cela permet de filtrer l'extrait obtenu avant qu'il ne soit dirigé vers la bouteille de récupération, éliminant ainsi l'étape de filtration ultérieure (**Romanik et al., 2007**).

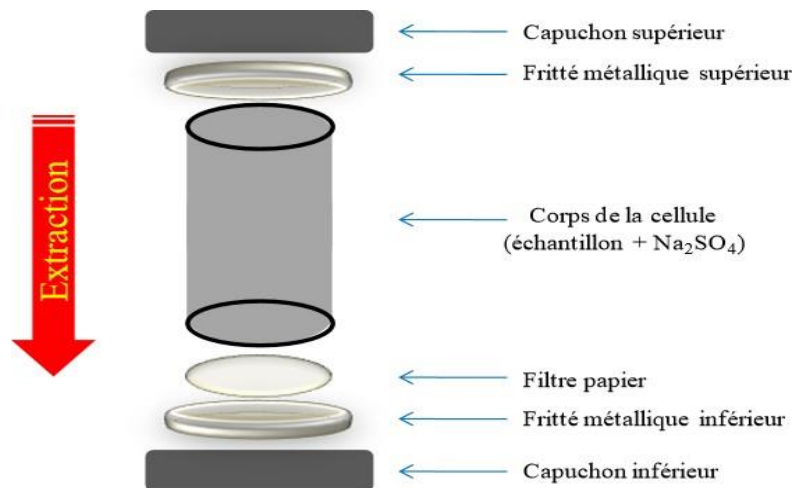


Figure 7 : Schéma simplifié d'une cellule d'extraction par fluide pressurisé pour l'extraction de composés. (Romanik et al., 2007).

II.2.2. L'extraction par fluide supercritique

Lorsqu'un composé organique pur est soumis à des pressions et des températures supérieures à celles de ses points critiques, il entre dans un état appelé état supercritique. Dans cet état, le fluide est considéré comme supercritique et présente des propriétés intermédiaires entre celles d'un gaz et d'un liquide. Ces caractéristiques uniques sont particulièrement intéressantes pour l'extraction de molécules à partir de matière végétale.

En effet, un fluide supercritique présente un coefficient de diffusion plus élevé et une viscosité plus faible par rapport à un liquide. Cela réduit les tensions de surface et favorise un transfert de masse plus efficace, ce qui améliore la cinétique et l'efficacité de l'extraction. De plus, l'utilisation d'un fluide supercritique permet une extraction hautement sélective, car il est possible de moduler son pouvoir solvant en ajustant la pression et/ou la température (Camel, 2001 ; Wang et al., 2006).

La technique d'extraction par fluide supercritique (SFE, Supercritical Fluid Extraction) est principalement réalisée avec du CO₂ supercritique. Le choix de ce fluide s'explique par plusieurs avantages : il est peu coûteux car il est un sous-produit de l'industrie, il est non-inflammable, abondamment présent dans l'atmosphère, facilement éliminable et nécessite des conditions critiques facilement atteignables (T = 31,1 °C, P = 73,8 bar). Par conséquent, la SFE présente des avantages majeurs tels que la concentration de l'échantillon et le pouvoir solvant du fluide. Pendant le processus d'extraction, le fluide est continuellement pompé à travers l'échantillon, libérant ainsi les composés d'intérêt. Après une étape de dépressurisation qui

élimine le CO₂ sous forme gazeuse, les composés récupérés sont concentrés (Herrero et al., 2010 ; Luque de Castro et al., 2000).

II.2.3. L'extraction assistée par ultra-sons

II.2.3.1. Principe de la méthode

Les ultrasons sont des ondes mécaniques vibratoires dont la fréquence varie de 16 kHz à 1 GHz, capables de se propager à travers les solides, les liquides et les gaz. Lorsqu'ils se propagent dans un milieu liquide, ces ondes engendrent des cycles répétés de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (Wang et al., 2006).

Ce changement de pression entraîne des mouvements moléculaires au sein du milieu. Lors d'un cycle de raréfaction, l'écart entre les molécules s'agrandit et au-delà d'une certaine distance, qui dépend du milieu spécifique, des bulles de cavitation se forment. Ces bulles se développent pendant les phases de raréfaction et se réduisent pendant les phases de compression (Figure 8). La répétition de ces cycles conduit à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (Pétrier et al., 2008).

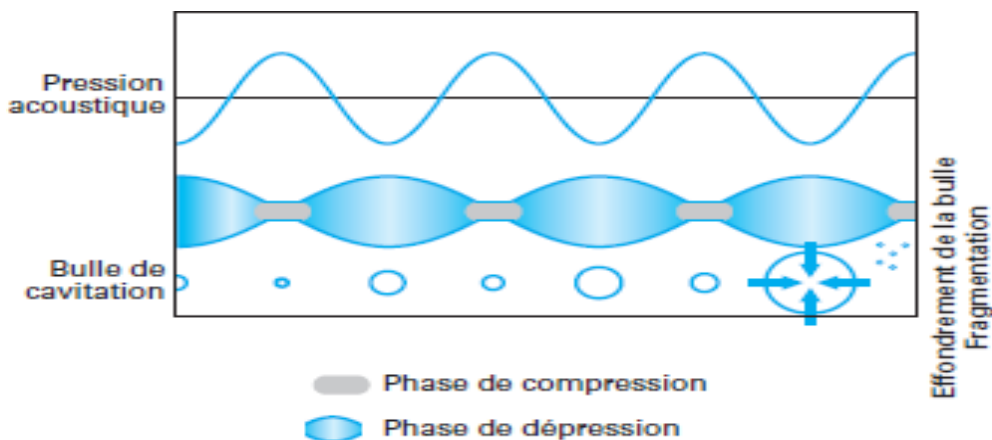


Figure 8 : Schéma de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation (Pétrier et al., 2008).

Lorsque les bulles de cavitation se forment à proximité d'une surface solide (Figure 9), elles deviennent asymétriques, et leur implosion génère des jets de liquide qui sont projetés à très grande vitesse vers la surface du solide. Cela entraîne également une augmentation locale de la température et de la pression. Dans le cas d'une matrice végétale, ces jets de liquide perforeront les parois cellulaires des végétaux, permettant ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide environnant (Wang et al., 2006).



Figure 9 : Schéma de l'évolution d'une bulle de cavitation près d'une surface solide (Pétrier et al., 2008).

II.2.3.2. Paramètres influençant l'extraction UAE

L'ensemble des paramètres d'extraction notamment ; les caractéristiques des ultrasons (la fréquence et l'intensité), les propriétés du produit (la viscosité et la surface du produit) et de l'environnement, et les conditions ambiantes (la température et la pression) peuvent influencer sur la capacité des ultrasons à provoquer une cavitation (Louni, 2013).

a) Solvant d'extraction

La nature du solvant joue un rôle très important pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt, ce dernier doit avoir deux points essentiels : il doit être d'une grande pureté et avoir un faible point d'ébullition pour pouvoir être éliminé facilement en limitant la perte de composés volatils (Bouras, 2015). Mais aussi par des paramètres physiques tels que la viscosité, la tension interraciale et la tension de vapeur (Dary et al., 2017). De préférence, il faut toujours utiliser des solvants ininflammables, non toxiques et non explosifs. L'eau et l'éthanol, sont les solvants les plus utilisés pour l'obtention d'extraits d'antioxydants phénoliques (Naidji, 2019).

b) Température

Ce paramètre a une influence sur les propriétés du solvant. L'augmentation de ce paramètre entraîne une diminution de la solubilité et de la diffusivité des substances dans la solution. De plus, il provoque une réduction de la viscosité du solvant. Cette augmentation du paramètre conduit également à une diminution de l'énergie de cavitation, qui est causée par la diminution de la tension superficielle et l'augmentation de la pression de vapeur dans le solvant, elle peut également affecter la stabilité de certains composés phénoliques (Aliouane, 2015). C'est pour cela il est important de choisir une température d'extraction en fonction du composé cible de l'extraction et la contrôler afin d'empêcher la dégradation des composés

thermolabiles. (Meghnem et Sadi, 2016).

II.2.4. L'extraction assistée par micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extraction)

II.2.4.1. Principe de la méthode

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui possèdent à la fois un champ électrique et un champ magnétique, perpendiculaires l'un à l'autre. Elles se propagent dans le vide avec des fréquences situées entre 300 MHz et 300 GHz. Cependant, dans le but d'éviter les interférences avec les radiocommunications et les radars, les micro-ondes utilisées dans les applications domestiques et industrielles sont généralement réglées sur une fréquence de 2,45 GHz (Camel, 2001). Les micro-ondes occupent une position dans le spectre électromagnétique entre les infrarouges et les radiofréquences, avec des longueurs d'onde variant entre 1 mètre et 1 centimètre. (Figure10).

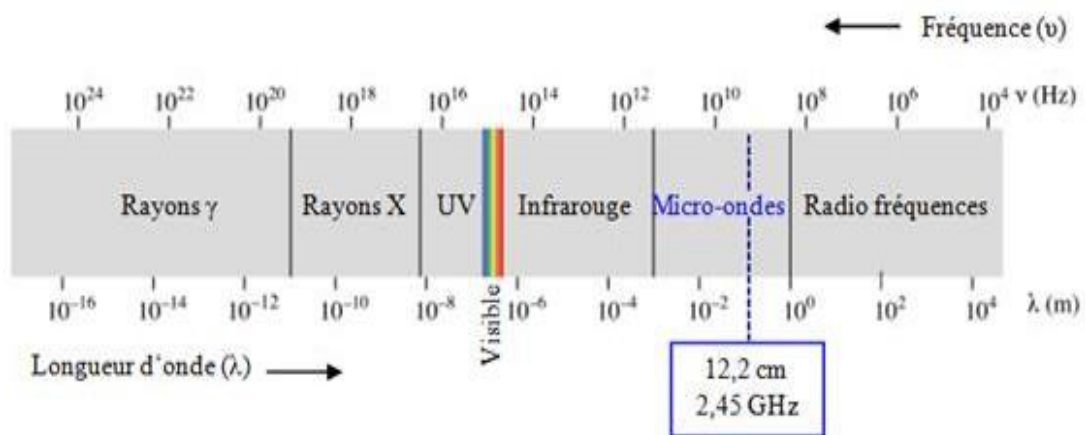


Figure 10 : Spectre électromagnétique et positionnement des micro-ondes domestiques. (Camel, 2001)

Le chauffage de la matière par les micro-ondes repose sur deux phénomènes qui se produisent simultanément : la conduction ionique et la rotation dipolaire. (Sparr Eskilsson et al., 2000 Kaufmann et al., 2002).

La conduction ionique est le résultat de la migration électro phorétique des ions dans un champ électromagnétique. Lorsque ces courants ioniques rencontrent une résistance dans le milieu, ils génèrent des frictions qui produisent de la chaleur par effet Joule.

La rotation dipolaire correspond au phénomène d'alignement ou de réalignement des molécules qui possèdent un dipôle dans un champ électrique alternatif à haute fréquence. Dans la Figure 11, on peut mieux comprendre ce phénomène. En l'absence de champ électrique, les

molécules avec un dipôle diélectrique sont orientées de manière aléatoire. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules s'alignent dans la direction du champ électrique. Lorsque ces molécules dipolaires sont soumises à un champ électrique alternatif à haute fréquence, elles s'orientent dans la direction du champ, puis se désorientent lorsque le champ s'annule, pour ensuite se réorienter dans l'autre sens du champ (Sparr Eskilsson et al., 2000 Kaufmann et al., 2002).

Les mouvements de réalignement des molécules dipolaires sont perturbés par les interactions entre les molécules, telles que les liaisons hydrogène et les forces de Van der Waals. Ces interactions entraînent des frictions entre les molécules, ce qui se traduit par une libération d'énergie thermique. À une fréquence de travail de 2,4 GHz, ce phénomène se produit environ $4,9 \times 10^9$ fois par seconde. Cela signifie que le chauffage de la matière par les micro-ondes est très rapide, voire quasi instantané (Sparr Eskilsson et al., 2000).

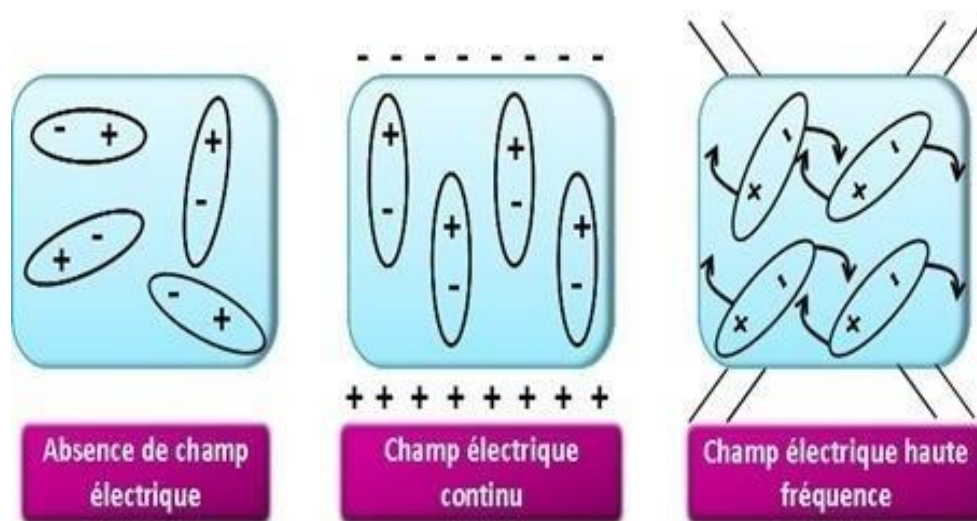


Figure 11: Comportement des molécules dipolaires en présence de champs électriques : Absence de champ, champ électrique continu et champ électrique à haute fréquence (Sparr Eskilsson et al., 2000).

II.2.4.2. Paramètres influençant l'extraction par MAE

Lors de l'utilisation de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), cinq paramètres clés peuvent avoir une influence significative sur le rendement d'extraction et la qualité de l'extrait : la nature du solvant, le temps et la température d'extraction, la puissance d'irradiation et la nature de la matrice (Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000).

a) Nature et volume du solvant

Le choix du solvant d'extraction en MAE est d'une importance fondamentale pour obtenir un processus d'extraction optimal. Tout comme pour d'autres techniques d'extraction, ce choix est déterminé par la solubilité des molécules d'intérêt et par les interactions entre le solvant et la matrice. Cependant, en MAE, le choix du solvant est principalement lié à sa capacité à absorber les micro-ondes (**Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000**).

Il est crucial de s'assurer que le volume de solvant utilisé est suffisant pour maintenir la matrice complètement immergée pendant toute la durée de l'extraction en MAE. Les ratios optimaux liquide/solide, tels que rapportés dans la littérature scientifique, se situent généralement entre 10 et 50 (ml/mg) (**Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000**).

a) Temps d'extraction

La MAE présente l'avantage d'avoir des temps d'extraction généralement courts, allant de quelques secondes à plusieurs minutes. De plus, des études ont démontré que des temps d'extraction plus longs ne garantissent pas nécessairement une amélioration du rendement d'extraction et peuvent même entraîner un risque accru de dégradation des molécules thermolabiles (**Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000**).

b) Température d'extraction

La température est un paramètre essentiel dans le processus d'extraction assistée par micro-ondes (MAE), car elle peut améliorer les rendements d'extraction. L'augmentation de la température a un impact sur la viscosité des solvants, ce qui facilite leur diffusion à travers les parties internes de la matrice. Ainsi, à des températures élevées, la désorption des molécules d'intérêt est favorisée, ce qui se traduit par de meilleurs rendements d'extraction. (**Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000**).

d) Puissance d'irradiation

La puissance d'irradiation est un paramètre important dans la méthode d'extraction assistée par micro-ondes (MAE), et son choix dépend de la température et du temps d'extraction souhaités. En général, la puissance d'irradiation est ajustée de manière à éviter d'atteindre des températures d'extraction excessivement élevées, tout en cherchant à réduire le temps d'extraction.. (**Mandal et al., 2007 ; Camel, 2000**).

e) Nature de la matrice

La teneur en eau de la matrice est un facteur crucial dans le processus d'extraction assistée par micro-ondes (MAE), car elle influence l'efficacité et la reproductibilité des résultats. Les molécules d'eau présentes dans la matrice ont une capacité élevée à absorber les micro-ondes, ce qui contribue à l'échauffement du système.

II.2.5. Avantages et inconvénients des méthodes d'extraction non-conventionnelles

Ces techniques modernes se caractérisent par leur rapidité et leur efficacité accrues. Elles permettent d'obtenir des extractions plus rapides, réduisant ainsi le temps nécessaire pour extraire les composés d'intérêt des plantes médicinales et aromatiques. De plus, ces méthodes améliorent souvent les rendements d'extraction, permettant d'obtenir une plus grande quantité de composés cibles (Rodsamran et Sothornvit, 2019).

Tableau 3 : Avantage et inconvénients des méthodes non-conventionnelles d'extraction des principes Actifs (khoddami et al., 2013 ; Wang et Weller, 2006 ; Letellier et boudzinski, 1999).

	Avantages	Inconvénients
PLE	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction des temps d'opération ; • Réduction de la quantité de solvant utilisée 	<ul style="list-style-type: none"> • Pressions d'opérations élevées ; • Température élevée : dégradation des composés thermolabiles
SFE	<ul style="list-style-type: none"> • Méthode sélective ; • Obtention de composés de grande pureté ; • Absence de résidus toxiques (CO₂) 	<ul style="list-style-type: none"> • Coûts d'investissements ; • Pressions d'opérations élevées ; • Température : généralement élevée ce qui provoque la dégradation des composés thermolabiles
UAE	<ul style="list-style-type: none"> • l'augmentation des rendements d'extraction grâce à la lyse cellulaire, • la diminution du temps d'opération, • La réduction de la quantité de solvants utilisés et la préservation des molécules 	<ul style="list-style-type: none"> • Problème de répétabilité et de reproductibilité lors de l'utilisation de sonde à ultrasons ; • Problème non observé avec un bain à ultrasons ; • Moins efficace sur des cellules rondes.

	thermolabiles à des températures basses.	
MEA	<ul style="list-style-type: none">• l'augmentation possible des rendements d'extraction grâce à la lyse cellulaire,• La diminution du temps d'opération et la possibilité de réduire la quantité de solvants utilisés.	<ul style="list-style-type: none">• Augmentation importante de la température : dégradation des composés thermolabiles ;• faibles rendements d'extraction peuvent être obtenus lorsque des solvants apolaires ou volatils sont utilisés



Chapitre I
Matériels et
méthodes

I.1. Préparation du matériel végétal

I.1.1. Matière végétale

En février 2023, dans la région d'EL-khabuzia, wilaya de Bouira, des échantillons des feuilles de *Bunium incrassatum*, connu sous le nom de Talghouda, ont été collectés de manière aléatoire.

Après la récolte, les feuilles ont été séchées à température ambiante dans un endroit bien ventilé et à l'abri de la lumière directe, dans le but de préserver au mieux les molécules sensibles à la chaleur.

I.1.2. Broyage et tamisage

Après séchage complet, la plante a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisée à l'aide d'une tamiseuse de 200 μm . La poudre obtenue a été stockée dans des récipients en verre hermétiquement fermés, étiquetés et protégés de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation.



Figure 12: A: les feuilles, B: la poudre de *Bunium incrassatum* (photo original).

I.2. Procédure de l'extraction

Dans le présent travail, les composés phénoliques des feuilles de *Bunium incrassatum* ont été extraits à l'aide de deux techniques d'extraction : la macération et l'ultrason avec l'utilisation de différents solvants (Thiaw et al., 2015 ; Anduaem et al., 2014).

I.2.1. Extraction par macération

1.2.1.1. Préparation des différents extraits de *Bunium incrassatum*

Pour étudier l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques contenus dans les feuilles de *Bunium incrassatum* et ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes, des extraits bruts ont été préparés avec différents solvants comme suit :

- ❖ Eau pour avoir les extraits aqueux
- ❖ Ethanolique à 100%
- ❖ Ethanol à 70%
- ❖ Méthanolique à 100%
- ❖ Méthanol à 70%

a) Mode opératoire

L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par **Pérez et al., (2010)**. Une quantité de 10 g de poudre a été mise à macérer dans 100 mL de chaque solvant (un rapport de P/V : 1/10) sous agitation pendant 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydation.

Le macérât a été filtré sur papier Wattman N°1 et le filtrat obtenu a été évaporé à sec dans une étuve à une température de 40°C pendant jusqu'à évaporation complète du solvant. Les extraits récupérés ont été conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés et à l'abri de la lumière.

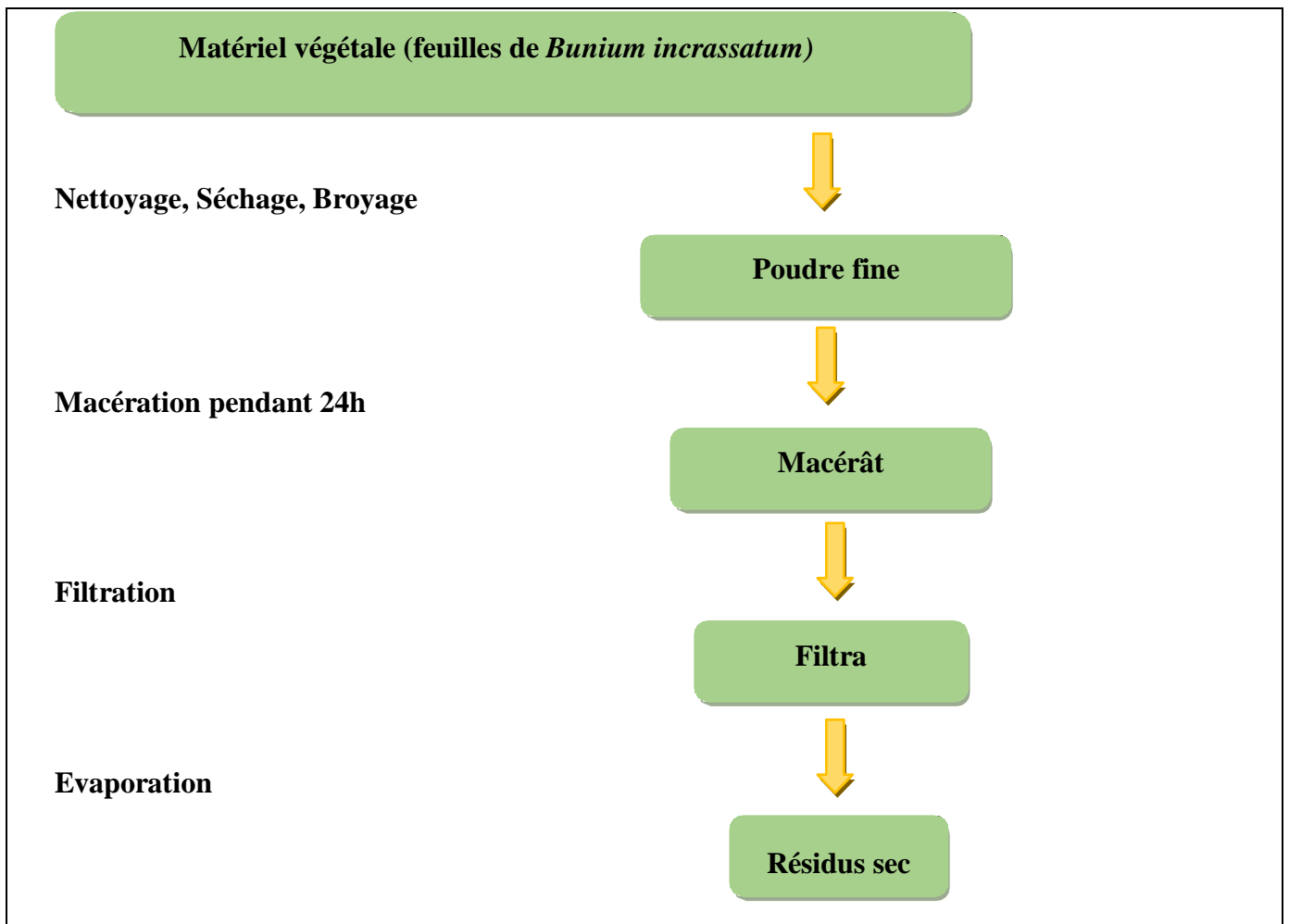


Figure 13: Méthode de préparation des extraits des feuilles de *Bunium incrassatum*. (**tiaw et al., 2015 ; Andualem et al., 2014**).

I.2.2. Extraction par ultrason

L'extraction assistée par ultrasons a été réalisée selon les conditions d'extraction optimales obtenues par **Dahmoune et al., (2015)**.

L'objectif était d'extraire les composés phénoliques totaux des feuilles de *Bunium incrassatum*. Dans cette étude, 10 g de poudre de *Bunium incrassatum* a été mélangé avec 100 ml de solvant. On utilise plusieurs solvants : Eau ; Ethanol à 100% ; Ethanol à 70% ; Méthanol à 100% et Méthanol à 70%.

L'extraction a été réalisée dans un bain à ultrasons pendant 20 min à une température de 40 °C. Par la suite, Les extraits obtenus étaient récupérés et filtrés avec un papier Wattman N° 01. Après filtration, les extraits de feuilles de *Bunium incrassatum* ont été récupéré a été conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés et à l'abri de la lumière.

I.3. Le rendement des extraits secs

Nous avons déterminé le rendement en extrait sec, en calculant le rapport entre le poids de l'extrait sec (poudre), et le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction ; selon l'équation suivante : (Mahmoudi et al., 2013).

$$R (\%) = [(P1 - P2) / P3] \times 100$$

R : est le rendement en pourcentage ; **P1** : poids du ballon après évaporation ; **P2** : poids du ballon avant évaporation ; **P3**: poids de la matière végétale initial

I.4. Dosage des composés phénolique

I.4.1. Dosage des concentrations polyphénols totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux dans les extraits a été réalisée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par Wang et al., (2006).

I.4.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀), est utilisé pour oxyder l'ensemble des composés phénoliques. Ce réactif, de couleur jaune, subit une réduction lors de l'oxydation des phénols, ce qui conduit à la formation d'un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₈) (Ribéreau-Gayon, 1968).

La coloration bleue qui se forme est directement proportionnelle à la concentration des composés phénoliques et présente une absorbance maximale autour de 765 nm (Ojeil et al., 2010). Pour accélérer la réaction d'oxydation, nous avons ajouté du carbonate de sodium, créant ainsi un milieu alcalin. Dans le cadre de l'établissement des courbes de calibration, l'acide gallique est souvent utilisé comme référence (Collin et Crouzet, 2011).

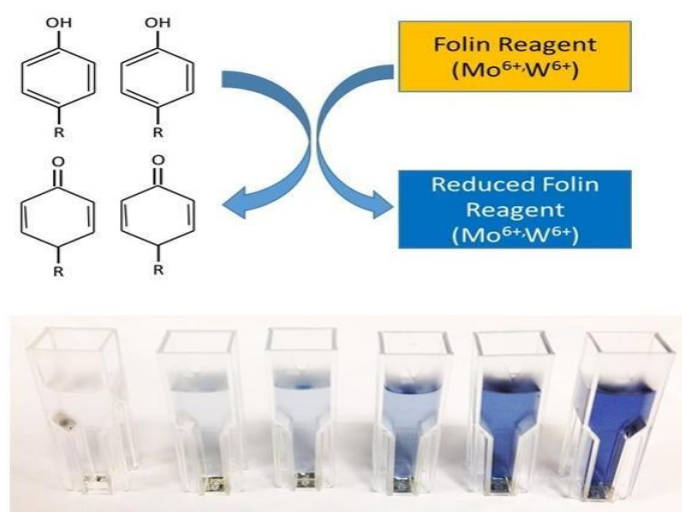


Figure 14: Principe de dosage des polyphénols :
Méthode de Ribéreau-Gayon. **(Ribéreau-Gayon, 1968).**

I.4.1.2. Mode opératoire

Dans un tube, nous avons mélangé 100 μ L d'éthanol provenant de chaque extrait avec 1,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (0,1 N). Après une incubation de 5 minutes dans l'obscurité, nous avons ajouté 1,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 6% au mélange réactionnel. Le mélange a ensuite été incubé dans l'obscurité et à température ambiante pendant 1 heure et 30 minutes. Après cette période d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 765 nm .

En parallèle, une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant de l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations. Les expériences ont été répétées trois fois, et les résultats ont été rapportés par rapport à la courbe d'étalonnage et exprimés en équivalents d'acide gallique. Pour préparer le blanc, les mêmes étapes ont été suivies, mais l'extrait a été remplacé par le solvant.

I.4.1.3. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux présents dans les extraits bruts a été calculée à l'aide d'une équation de régression linéaire basée sur la courbe d'étalonnage. L'équation utilisée était $y = 0.0054x - 0.00358$, avec un coefficient de détermination (R^2) de 0,991. L'acide gallique a été utilisé comme référence à différentes concentrations pour établir cette courbe d'étalonnage. La concentration des polyphénols est exprimée en (mg EAG/g MS).

I.4.2. Dosage des flavonoïdes

I.4.2.1. Principe

Le principe de cette méthode repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes avec le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), ce qui entraîne l'apparition d'une coloration jaunâtre. En revanche, les complexes formés entre les flavonoïdes et la soude (NaNO_2) conservent une couleur rose (Dewanto et al., 2002).

Le chlorure d'aluminium est capable de former des complexes acides stables avec le groupe cétonique C4 ainsi qu'avec les groupes d'hydroxyle situés aux positions C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. De plus, le chlorure d'aluminium peut former des complexes acides labiles avec les groupes orthodihydroxylés présents dans les cycles A ou B des flavonoïdes (Chang et al., 2002).

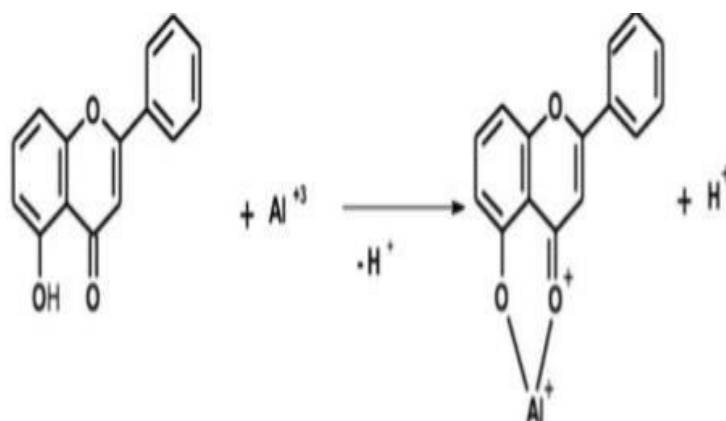


Figure 15: Principe de réaction entre les flavonoïdes et l'aluminium trichlorure (AlCl_3) (Lagnika, 2005).

I.4.2.2. Mode opératoire

Dans cette expérience, 1 mL de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à une concentration de 2% a été mélangé avec 1 mL d'extraits de plantes. Après une incubation de 15 minutes dans l'obscurité et à température ambiante, des mesures d'absorbance à 415 nm ont été prises. Un témoin a également été préparé dans les mêmes conditions, mais sans l'ajout d'extrait de plante, afin de servir de référence pour les lectures d'absorption.

I.4.2.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été réalisée en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire établie avec un standard étalon, la quercétine, à différentes concentrations. L'équation de la courbe d'étalonnage était $y = 0.04x$, avec un coefficient de détermination (R^2) de 0.99. Les résultats obtenus sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche. (mg EQ/g MS).

I.4.3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols dans les différents extraits de *Bunium incrassatum* a été déterminée par la méthode décrite par **Kosalec et al., (2004)**, avec quelques modifications.

I.4.3.1. Mode opératoire

- 1 mL de chaque extrait a été mélangé avec 1 mL de solution alcoolique $AlCl_3$ à 2 % et 3mL d'une solution d'acétate de sodium à 5 %.
- Incubation 2h30 à l'obscurité à température ambiante.
- L'absorbance mesurée à 440 nm.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations.

I.4.3.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été établie en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0.015x + 0.099$, $R^2 = 0,992$) réalisé par un standard, la quercétine, à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

I.4.4. Détermination de la teneur en pigments liposolubles

Les pigments naturels, également appelés colorants, sont largement présents dans le règne végétal et offrent une vaste gamme de nuances, allant du jaune au bleu en passant par le vert. Parmi ces pigments, la chlorophylle, le lycopène et le β -carotène sont parmi les plus couramment rencontrés et utilisés dans l'industrie agroalimentaire.

Lorsqu'ils sont utilisés conformément aux doses réglementées, ces pigments sont bénéfiques pour la santé. Certains d'entre eux sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, comme l'ont démontré des études telles que celles menées par **Ben Mansour et Tlemcani (2009)**, **Bouchet et al., (2005)** et **Kamat et al., (2000)**.

I.4.4.1. Mode opératoire

Dans le but de quantifier leur teneur dans nos plantes, nous avons opté pour la méthode décrite par **Barros et al., (2011)**.

Dans cette expérience, 150 mg de poudre végétale ont été agités vigoureusement après l'ajout de 10 ml du mélange acétone-hexane (4/6, v/v) pendant 1 minute. Ensuite, la solution a été filtrée à l'aide de papier wattman N°4. L'absorbance du filtrat a été mesurée à différentes longueurs d'onde, à savoir ($\lambda = 453, 505, 645$ et 663nm).

I.4.4.2. Expression des résultats

La teneur en pigments est calculée suivant les équations indiquées ci-dessous et exprimée en $\mu\text{g/g}$ de matière végétale sèche.

- ❖ β -carotène ($\text{mg}/100 \text{ mL}$) = $0,216 \times A_{663} - 1,220 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$.
- ❖ Lycopène ($\text{mg}/100 \text{ mL}$) = $-0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$.
- ❖ Chlorophylle a ($\text{mg}/100 \text{ mL}$) = $0,999 \times A_{663} - 0,0989 \times A_{645}$.
- ❖ Chlorophylle b ($\text{mg}/100 \text{ mL}$) = $-0,328 \times A_{663} + 1,77 \times A_{645}$

I.5. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits bruts

I.5.1. Activité de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

I.5.1.1. principe

Pour étudier l'activité anti-radicalaire de nos extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH, conformément au protocole de **Brand-Williams et al., (1995)**. Cette méthode, basée sur le test du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), est couramment utilisée pour évaluer les propriétés antioxydantes.

Le DPPH est un radical stable soluble dans le méthanol ou l'éthanol, qui présente une absorption caractéristique à 517 nm, ce qui lui confère une coloration violette. Lorsqu'il est réduit en diphenylpicrylhydrazine par un capteur de radicaux libres, la couleur violette du DPPH se transforme en jaune. L'intensité de la couleur jaune est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon.

Ce changement de couleur est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre, permettant ainsi de quantifier l'activité anti-radicalaire des extraits testés. Des études telles que celles menées par **Maataoui et al., (2006)** et **Sánchez-Moreno (2002)**, ont utilisé cette méthode pour évaluer les propriétés antioxydantes de différents composés.

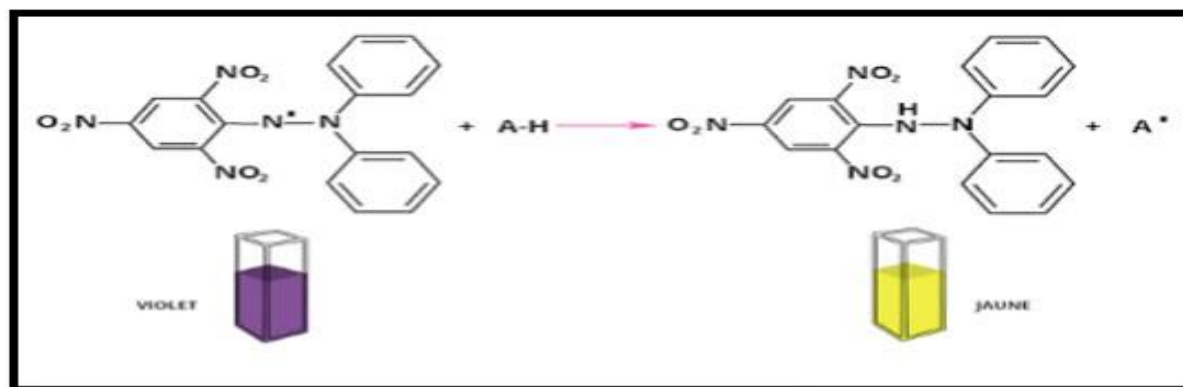


Figure 16: Mécanisme réactionnel du test DPPH• : Réduction du radical libre DPPH• (**Fettah, 2019**).

I.5.1.2. Mode opératoire

- Nous avons préparé une solution de DPPH de 6 Mm dans le méthanol.
- Les tubes de dosages contiennent 500µl de chaque extrait à différentes concentrations et 1,5 mL de solution de DPPH.
- Les tubes control contiennent à la place de l'extrait, 500µl de méthanol et 1,5 mL de solution de DPPH.
- L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre après 30min à température ambiante à la longueur d'onde de 517 nm, comparée au standard qui contient l'acide gallique, quercétine à différentes concentrations.

I.5.1.3. Expression des résultats

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

$$\text{Activité anti-radicalaire \%} = \left[\frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits nous permet de déterminer la concentration qui entraîne une inhibition de 50% (IC50). Une valeur faible de l'IC50 correspond à une grande efficacité de l'extrait dans la neutralisation des radicaux libres.

Pour calculer les valeurs de l'IC50, des graphiques ont été tracés en représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées. Les régressions linéaires ont été réalisées sur ces graphiques pour déterminer la concentration qui correspond à une inhibition de 50%. La valeur de l'IC50 est exprimée en milligrammes par millilitre (mg/ml), conformément à la méthodologie utilisée dans l'étude de **Belmassous (2017)**.

I.5.2. Activité scavenging du radical ABTS

I.5.2.1. principe

La méthode utilisée est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cationique ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique). Ce radical-cationique présente un spectre d'absorption dans le visible avec trois pics à 645 nm, 734 nm et 815 nm (**Belkheiri, 2010**).

En présence de persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS réagit pour former le radical ABTS•+ qui affiche une couleur bleue à verte. L'ajout d'un antioxydant dans le mélange va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange (voir Figure 17).

Cette méthode est largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des composés en mesurant leur capacité à neutraliser le radical ABTS•+. La décoloration du mélange est un indicateur de l'efficacité des antioxydants présents dans les échantillons testés

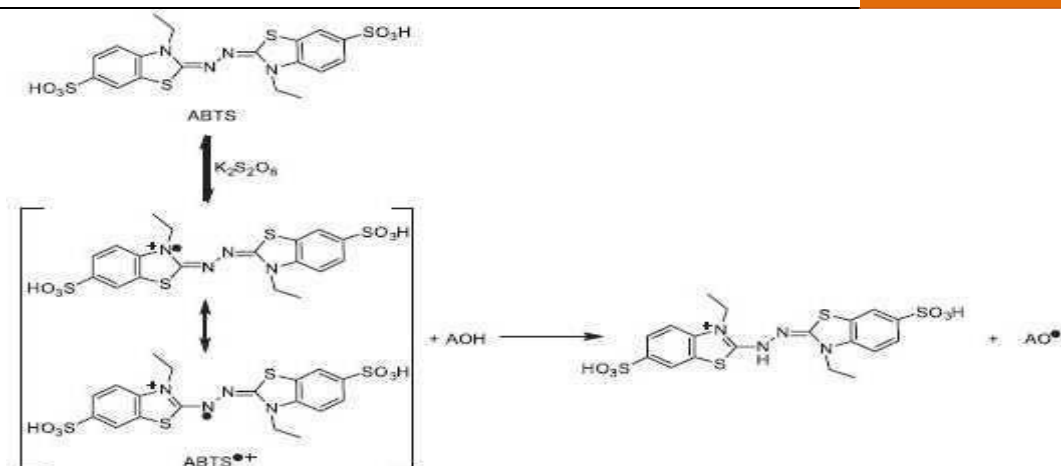


Figure 17 : Génération du radical-cation ABTS et sa réaction avec un antioxydant : Mécanisme et détection. (Oliveira et al., 2014).

La décoloration du radical cationique ABTS, mesurée par spectrophotométrie à 734 nm, est directement liée à la concentration en antioxydants. Lorsque le radical cationique ABTS est formé, un électron (e^-) est arraché à un atome d'azote de l'ABTS, créant ainsi le radical cationique $ABTS^+$. Cependant, en présence d'un antioxydant donneur de H^\bullet (radical hydrogène), l'atome d'azote concerné piège le radical hydrogène, formant ainsi l' $ABTS^+$ et entraînant la décoloration de la solution (Lien et al., 1999).

I.5.2.2. mode opératoire

- 1.9 mL $ABTS^{\bullet+}$ + 100 μ l de chaque extrait à différentes concentrations.
- Incubation 5 minutes à l'obscurité et à température ambiante,
- Absorbance à 734 nm.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique, quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations.

I.5.2.3. Expression des résultats

Les résultats permettent de calculer et d'exprimer cette activité antiradicalaire en IC_{50} comme décrit précédemment pour le test DPPH.

I.5.3. Réduction du fer : test FRAP

Le pouvoir réducteur d'un extrait est directement lié à son pouvoir antiradicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe K_3Fe en fer ferreux (Fe^{2+}). (Oyaizu, 1986).

I.5.3.1. Principe

Dans cette méthode, la présence de réducteurs dans les extraits de plantes provoque la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est observée par un changement de couleur, où la teinte jaune du fer ferrique se transforme en une teinte bleu-vert caractéristique du fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

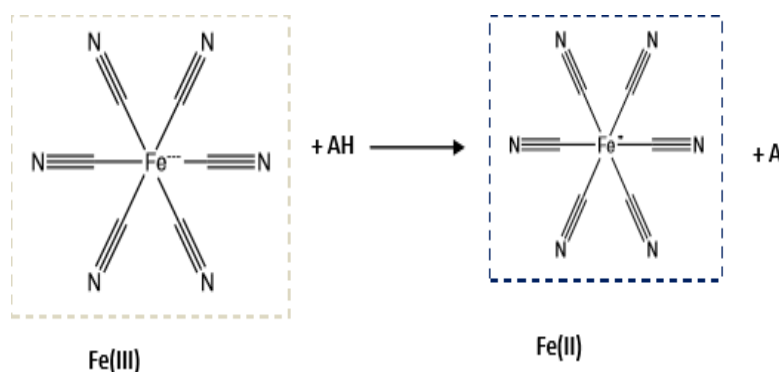


Figure 18: Mécanisme réactionnel du test FRAP : Réduction du complexe ferricyanure ferrique Fe(III) par un antioxydant (bougandoura et Bendimerad, 2012).

I.5.3.2. Mode opératoire

Dans cette méthode, les étapes expérimentales sont les suivantes:

Préparer des tubes à essai en verre contenant 500 μL de différentes concentrations d'échantillon.

- ❖ Ajouter 1 mL de tampon phosphate (pH 6,6) dans chaque tube.
- ❖ Ajouter 1 mL de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] (1%) dans chaque tube.
- ❖ Agiter vigoureusement le contenu de chaque tube.
- ❖ Incuber les tubes dans un bain-marie à 50°C pendant 20 minutes.

- ❖ Après l'incubation, laisser les tubes refroidir.
- ❖ Ajouter 1 mL d'acide trichloracétique (TCA à 10%) dans chaque tube.
- ❖ Centrifuger les tubes à 3000 tr/min pendant 10 minutes.
- ❖ Transférer 1 mL de surnageant dans un autre tube.
- ❖ Ajouter 1 mL d'eau distillée et 200 µL de chlorure ferrique (FeCl₃ à 0,1%) fraîchement préparé dans chaque tube.
- ❖ Incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante.
- ❖ Mesurer l'absorbance à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour établir la courbe d'étalonnage, des tubes contenant différentes concentrations d'acide ascorbique (contrôle positif) sont également préparés en suivant les mêmes étapes expérimentales. L'absorbance de chaque échantillon et du contrôle positif est mesurée à 700 nm.

En utilisant les valeurs d'absorbance obtenues, une courbe d'étalonnage est tracée en représentant les concentrations connues d'acide ascorbique sur l'axe des x et les valeurs d'absorbance correspondantes sur l'axe des y. Cette courbe permet ensuite de quantifier la concentration des extraits inconnus en se référant à la relation entre l'absorbance et la concentration établie par la courbe d'étalonnage.

I.5.3.3. Expression des résultats

Le pourcentage de réduction de l'échantillon par rapport au standard acide ascorbique a été calculé selon la formule : **(Rohman et al., 2010)**.

$$\text{Pouvoir réducteur \%} = [1 - \left(\frac{A_e}{A_s}\right)] \times 100$$

As : absorbance du standard pour la concentration maximale testée

Ae : absorbance de l'échantillon à une concentration donnée.

A decorative orange border that resembles a scroll, with rounded corners and small loops at the top and bottom edges.

Chapitre II
Résultats et
discussion

II.1 Rendement d'extraction à partir des feuilles de *Bunium incrassatum*

Dans cette étude, nous avons utilisé cinq solvants de polarité différente pour préparer les extraits bruts à partir des feuilles de la plante *Bunium incrassatum* : extrait aqueux, éthanol 100%, éthanol 70%, méthanol 100%, méthanol 70%. Les caractéristiques des extraits et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4 ci-dessous :

Tableau 4: Le rendement d'extraction du *Bunium incrassatum*.

	Extrais	Aspects	Couleurs	Rendements (%)
Macération	Aqueux	Poudre	Marron	23.90
	Ethanol 100%	Pâteux	Vert foncé	8.80
	Ethanol 70%	Viscose	Vert foncé	17.30
	Méthanol 100%	Pâteux	Vert	13.90
	Méthanol 70%	Pâteux	Vert	15.50
Ultrason	Aqueux	Poudre	Marron	11.20
	Ethanol 100%	Pâteux	Vert foncé	3.80
	Ethanol 70%	Viscose	Vert foncé	10.50
	Méthanol 100%	Pâteux	Vert claire	6.50
	Méthanol 70%	Pâteux	Vert claire	10

Ces résultats montrent que les meilleurs rendements d'extraction sont obtenus par macération à température ambiante par rapport à ceux obtenus par ultrasons.

D'autre part, nous constatons que le rendement le plus élevé est obtenu en utilisant l'eau comme solvant d'extraction à la fois par macération et par ultrasons (23,90 % et 11,20 % respectivement). Vient ensuite l'éthanol à 70 % (17,30 % et 10,50 %). En revanche, le méthanol à 100 % est le solvant qui a donné le plus faible rendement dans le cas de la macération ou des ultrasons.

Des études antérieures ont également rapporté que l'extraction par macération à partir des feuilles de *Bunium incrassatum* récoltées dans la région d'Ain Dis de la wilaya d'Oum El-Bouaghi avec de l'eau et du méthanol a montré de faibles rendements (7,81% et 6,79% respectivement) (**Karouche et al., 2020**).

Par ailleurs, les résultats obtenus dans la présente étude sont largement supérieurs à ceux obtenus par **Khettal et al., (2017)**, qui ont utilisé la même technique d'extraction (macération) sur des feuilles de *Bunium incrassatum*, avec l'utilisation du méthanol comme solvant d'extraction (5,15%, à 12,45%). Alors que **Rahmouni et Yaiche (2014)**. Ont obtenu un

taux de rendement de 5,4% pour l'extraction par macération en utilisant l'éthanol, ce qui est nettement inférieur à celui obtenu dans notre étude.

Ces variations des rendements d'extraction peuvent être dues à plusieurs facteurs: la solubilité des composés phénoliques dans les solvants d'extraction, les solvants utilisés et leurs degrés de pureté, la méthode d'extraction, le temps d'extraction, la taille des particules et la température (Naczki et Shahidi, 2004; Hayat et al., 2009).

Dans notre cas, la variation entre les deux méthodes peut être due au temps d'extraction qui était de 24h pour la macération et de 20min pour les ultrasons, à la température utilisée pour l'extraction qui était ambiante dans le cas de la macération, ce qui préserve les substances thermosensibles, contrairement aux ultrasons où une température de 40°C a été utilisée. Cette différence peut également être due à l'utilisation, dans le cas de la macération, d'une agitation qui assure l'homogénéité du milieu et maintient les particules végétales en suspension.

Selon Oreopoulou et al.,(2019). L'eau est un bon solvant pour les acides phénoliques et leurs glucosides que les solvants organiques, par exemple le méthanol, ou l'éthanol, en particulier sous traitement ultrasonique. Alors que les solutions aqueuses d'éthanol sont de meilleurs solvants que les alcools purs pour l'extraction des acides hydroxycinnamiques, et les solutions d'éthanol dans l'eau (50 %) étaient plus efficaces que l'eau pure pour l'extraction des acides phénoliques et des glucosides flavonoïdes de certaines plantes.

Cependant, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est qu'une quantité relative, variant d'une plante à l'autre en fonction de plusieurs facteurs: géographiques, physicochimiques, biologiques, génétiques et climatiques, ainsi que des méthodes d'extraction et des solvants utilisés et de la partie de la plante étudiée (El-Haoud et al., 2018).

II.2. Teneurs en composés phénoliques

II.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

Les polyphénols totaux dans les différents extraits bruts de *Bunium incrassatum* ont été déterminés par spectrophotométrie à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats de la teneur en polyphénols de nos extraits (figure 19) ont été déterminés à partir d'une courbe d'étalonnage développée avec différentes concentrations d'une solution standard d'acide gallique ($y=0,0054x+0,0358$; $R^2= 0,0991$), qui sont présentés dans (Annexe III.1).

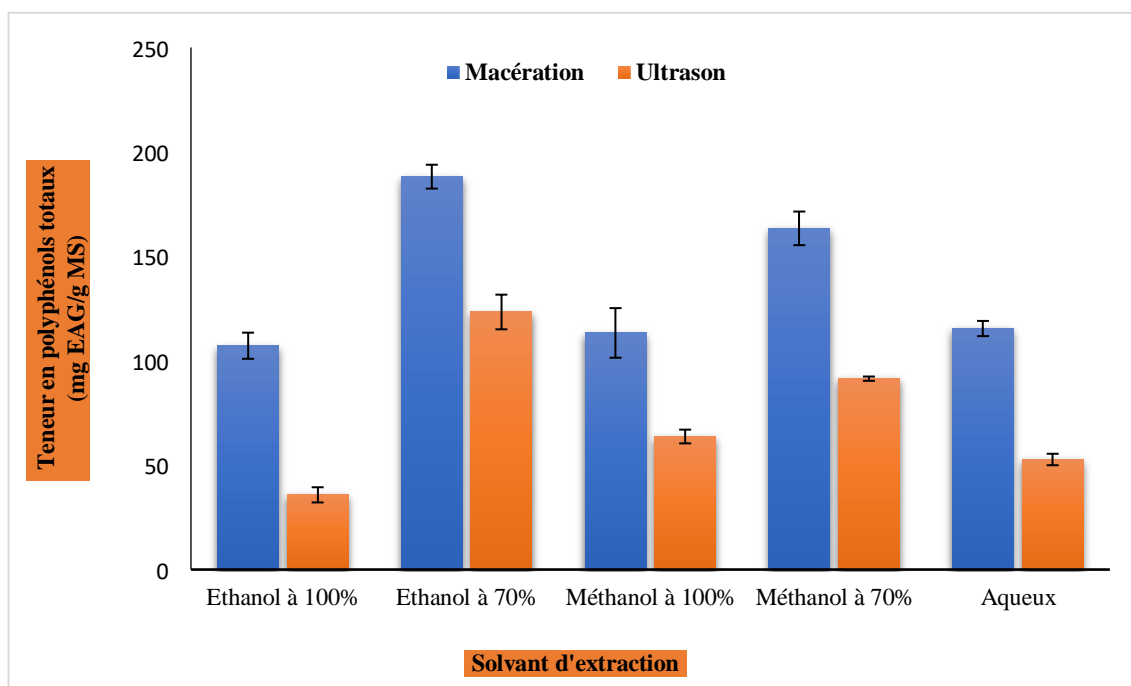


Figure 19 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles de *Buinun incrassatum*.

Les analyses effectuées dans ce travail ont montré que les extraits étudiés contenaient des teneurs élevées en composés phénoliques (figure 19). Il a également été constaté que l'extraction par macération donnait plus de polyphénols totaux que l'extraction par ultrasons, quel que soit le solvant utilisé.

D'autre part, quelle que soit la méthode d'extraction utilisée, l'éthanol 70% est le solvant qui extrait le plus de composés phénoliques, avec une quantité de $188,15 \pm 5,73$ et $123,36 \pm 8,32$ mg EAG/g MS pour la macération et les ultrasons respectivement, suivi par les extraits de méthanol 70% ($163,41 \pm 8,04$ par macération et $91,38 \pm 1,02$ par ultrasons). La plus faible teneur

en polyphénols totaux a été enregistrée dans les extraits aqueux par ultrasons, avec $52,71 \pm 2,76$ mg EAG/g MS.

Les résultats obtenus concernant la teneur en polyphénols totaux sont plus ou moins en accord avec ceux rapportés par des études antérieures comme celle d'**EIKolli et al., (2017)**, réalisée sur la même espèce *Bunium incrassatum*, qui a déduit un taux de $236,6 \mu\text{g}$ EAG/mg.

D'autre part, nos résultats sont nettement supérieurs à ceux trouvés par **Chizzola et al., (2014)**, qui ont travaillé sur l'extrait méthanolique de la même espèce, collectée dans différentes régions de l'Iran. Cette différence dans les résultats peut être expliquée par la différence de polarité des solvants utilisés ainsi que la région de la récolte et le climat.

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence de différentes conditions d'extraction sur le profil phénolique, ainsi que sur la composition chimique de plusieurs espèces (**AndziBarhé et Feuya-Tchouya, 2015**). Tandis que d'autres auteurs ont montré que non seulement chaque plante diffère de l'autre par sa composition chimique, mais également la composition des organes d'une même plante sont différentes, en plus, chaque composé chimique est extractible par un solvant approprié (**Youcefi et al., 2008**).

D'autre part, de nombreux solvants ont été utilisés pour extraire les polyphénols de différentes plantes. L'efficacité d'un solvant dépend principalement de sa capacité à dissoudre des groupes phénoliques spécifiques tels que les anthocyanes, acides phénoliques, flavonoïdes glucosides, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes et alcaloïdes. En outre, le solvant peut influencer la perméabilité des cellules végétales par des modifications chimiques ou biophysiques. Par exemple, l'éthanol augmente la perméabilité cellulaire en affectant la bicouche phospholipidique de la membrane (**Oreopoulou et al., 2019**).

D'autres paramètres peuvent influencer la solubilité des composés phénoliques, tels que la nature et la polarité du solvant, et le degré de polymérisation des composés phénoliques. De plus, la teneur totale en polyphénols des espèces végétales dépend de nombreux facteurs, dont des facteurs extrinsèques (géographiques et climatiques), des facteurs génétiques et le degré de maturation de la partie de la plante utilisée (**Naczki et Shahidi, 2004**).

II.2.2. Tenures en Flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes des extraits de *Bunium incrassatum* a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et du nitrite de sodium (NaNO_2). Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant la quercétine comme solution standard. La courbe d'étalonnage comprend une équation de régression linéaire ($y=0,040x$) et un coefficient de corrélation de $R^2= 0,99$, qui sont rapportés dans l'Annexe III.2. Les résultats obtenus sont illustrés à la figure 20.

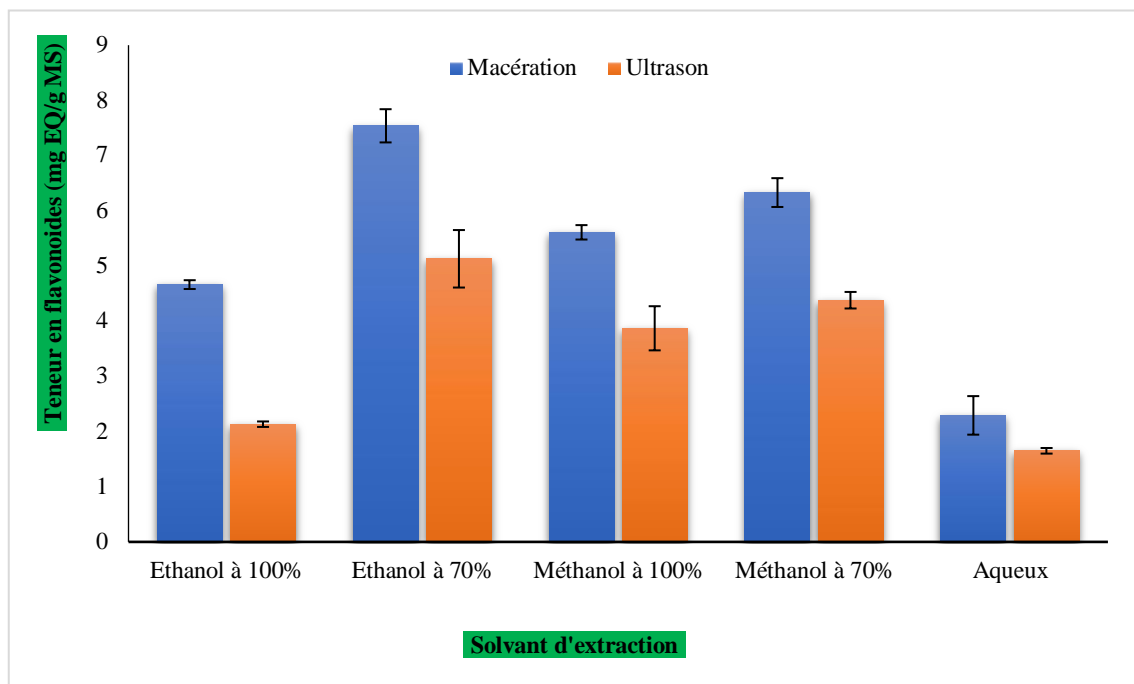


Figure 20 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de *Buniium incrassatum*.

La teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de *Buniium incrassatum* obtenus (figure 20) a révélé la présence de flavonoïdes dans tous les extraits testés, avec des teneurs non négligeables par rapport à celles rapportées dans la littérature.

Dans cette étude, l'extraction par macération a donné des teneurs en flavonoïdes plus élevées que celles obtenues par ultrasons. Ces valeurs varient de 7,54 à 2,29 pour l'extraction par macération, et de 5,13 à 1,65 pour l'extraction par ultrasons. D'autre part, l'extraction avec un solvant organique à 70% (éthanol ou méthanol) a conduit à des teneurs en flavonoïdes plus élevées qu'avec des solvants organiques purs ou de l'eau.

De tous les extraits testés, l'extraction avec 70% d'éthanol a permis d'obtenir les teneurs en flavonoïdes les plus élevées dans les deux méthodes ($7,45 \pm 0,3$ et $5,13 \pm 0,52$ mg EQ/g MS pour la macération et les ultrasons respectivement), alors que l'extrait aqueux contenait les teneurs les plus faibles ($2,29 \pm 0,35$ et $1,65 \pm 0,05$ mg EQ/g MS, respectivement).

D'autres études sur la même plante *Buniium incrassatum* ont enregistré des teneurs assez proches de celles obtenues dans notre étude, comme celle de **Ražná et al., (2018)** qui ont constaté des teneurs élevées en flavonoïdes pour l'extrait éthanolique à 70% ($10,91$ mg EQ/g). Tandis que **Chizzola et al., (2014)** ont rapporté que l'utilisation du méthanol a permis

d'extraire 4,3-9,5mg EQ/g de flavonoïdes.

Plusieurs travaux ont indiqué que l'éthanol présente des rendements similaires à ceux du méthanol dans la plupart des cas, par contre ce dernier présente un caractère toxique pour l'environnement ce qui ne favorise pas son utilisation dans les applications alimentaires (Proestos et Komaitis 2008; Yaqoob et al., 2020). Ceci justifie notre choix de l'éthanol et de l'eau, qui ont l'avantage d'être moins chers, non polluants et non toxiques pour la santé (Mahmoudi et al., 2013).

En outre, il a été prouvé que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (Apak et al., 2007).

II.2.3. Teneurs en flavonols

La méthode au trichlorure d'aluminium a été utilisée pour quantifier les flavonols dans les différents extraits de *Bunium incrassatum*. Les résultats sont exprimés en termes d'équivalents quercétine à l'aide d'une courbe standard (Annexe III.3).

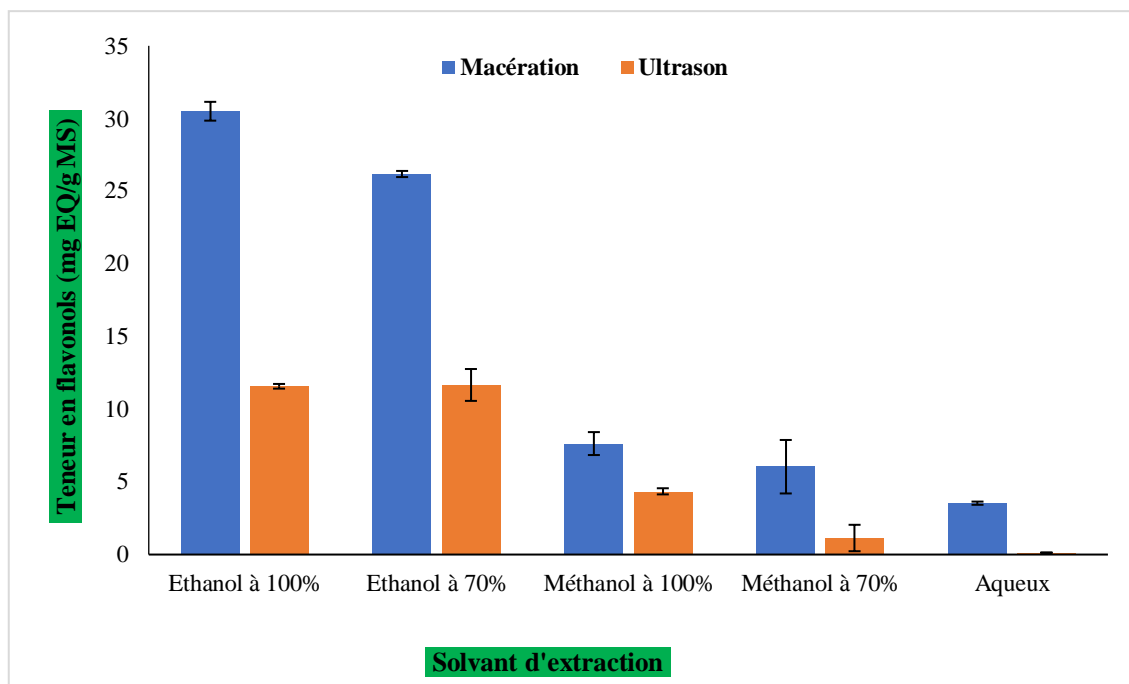


Figure 21: Teneur en flavonols des extraits de feuilles de *Bunium incrassatum*.

D'après les résultats de la figure 21, La teneur en flavonols dans les extraits obtenus par macération est significativement plus importante que dans les extraits obtenus par ultrason.

Les travaux réalisés dans cette étude, ont révélé la présence de ces composés dans tous les extraits, avec des concentrations différentes en fonction du solvant utilisé pour l'extraction. En effet, l'éthanol à 100 % et à 70 % a montré les taux d'extraction de flavonols les plus élevés par rapport aux autres solvants ($30,49 \pm 0,65$ et $26,18 \pm 0,21$ mg EQ/g MS, respectivement). Les extraits obtenus par ultrasons étaient compris entre 0,12 et 11,66 mg EQ/g MS. **D'Oliveira et al., (2016)**, ont rapporté que, pour obtenir une meilleure extraction de composés spécifiques tels que l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol, une concentration optimale d'éthanol de 70 % doit être combinée à un temps d'extraction long et à un faible rapport liquide-solide.

D'autres chercheurs ont signalé que l'utilisation d'un milieu acide (1% HCl) favorise une récupération efficace des flavonols, et que l'ajout d'acide citrique ou ascorbique et des valeurs de pH de 3-4,8 induisent une extraction accrue de ces composés (**Oreopoulou et al., 2019**).

Cependant, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la littérature, car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction rend les comparaisons entre études moins fiables (**Oroian et Escriche, 2015**).

II.2.4. Teneurs en composés liposolubles

La détermination des pigments liposolubles dans les extraits de feuilles de *Bunium incrassatum* étudiés (figure 22) a montré que la chlorophylle (a) est le composé le plus abondant par rapport aux autres pigments, où elle est présente à une concentration de $55,13 \pm 2,8$ mg/g MS, suivie par le lycopène ($51,36 \pm 1,56$ mg/g MS), d'autre part, la teneur la plus faible est enregistrée avec la chlorophylle (b) ($27,07 \pm 2,68$ mg/g MS).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Tighilet et al., (2022)**, qui ont révélé que la chlorophylle (a) et le lycopène sont les deux pigments lipo-solubles les plus abondants dans les extraits de rameaux des espèces de Retama.

Les composés liposolubles sont connus pour jouer un rôle important dans la lutte de l'organisme contre de nombreuses maladies en raison de leurs propriétés antioxydante, ce qui peut réduire le risque de maladies causées par les radicaux libres, comme les maladies cardiaques ou certaines tumeurs (**Barros et al., 2013**).

En fait, la chlorophylle est connue pour aide à protéger les membranes mitochondriales des dommages oxydatifs causés par certains radicaux libres en inhibant la peroxydation des lipides (Lecerf et al., 1994).

Les variations de la teneur en antioxydants des extraits de *Bunium incrassatum* peuvent être dues à des variations des conditions de récolte, la partie de la plante utilisée, et la période de la récolte, ainsi que les interventions d'autres groupes chimiques (Shahidi, 2004).

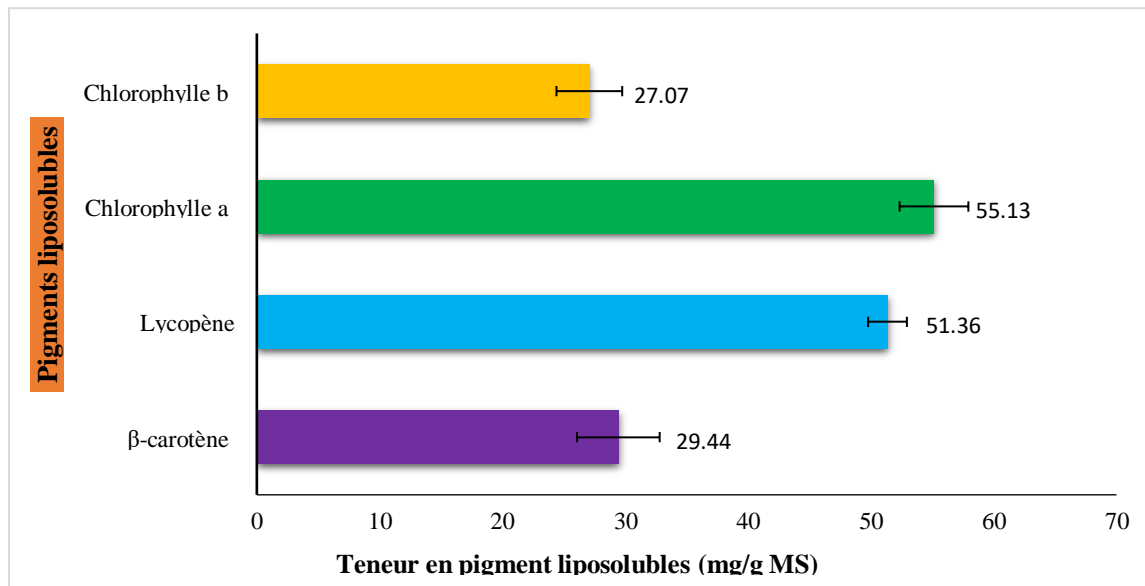


Figure 22: Teneur en composés liposolubles des extraits de feuilles de *Bunium incrassatum*.

II.3. Pouvoirs antioxydants des extraits

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *B. incrassatum* a été réalisée par trois tests in vitro : le test au DPPH, la méthode de FRAP et le test d'ABTS.

II.3.1. Activité de piégeage du radical DPPH

D'un point de vue méthodologique, cette méthode est considérée comme l'un des tests les plus simples, les plus précis et les plus reproductibles pour évaluer l'activité antioxydante des extraits végétaux. La technique est basée sur la capacité des composés testés à neutraliser les radicaux DPPH via un mécanisme de transfert d'atomes d'hydrogène (Molyneux, 2004).

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI %), nous avons établi les profils d'activité antiradicalaire présentés dans la figure 23, et c'est à partir de ces profils que nous avons déduit la valeur correspondante à l'IC50 la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour inhibé 50% du taux des radicaux libres.

Les résultats de ce test ont montré que les extraits de *B. incrassatum* présentent une variation de leur capacité à piéger les radicaux libres DPPH avec une IC_{50} allant de $79,42 \pm 0,42 \mu\text{g/mL}$ à $359,85 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$, dans le cas de l'extraction par ultrason, alors que celles sont entre $52,35 \pm 0,14 \mu\text{g/mL}$ et $322,07 \pm 22,25 \mu\text{g/mL}$ par macération (les extraits aqueux ne sont pas représentés sur la figure 23).

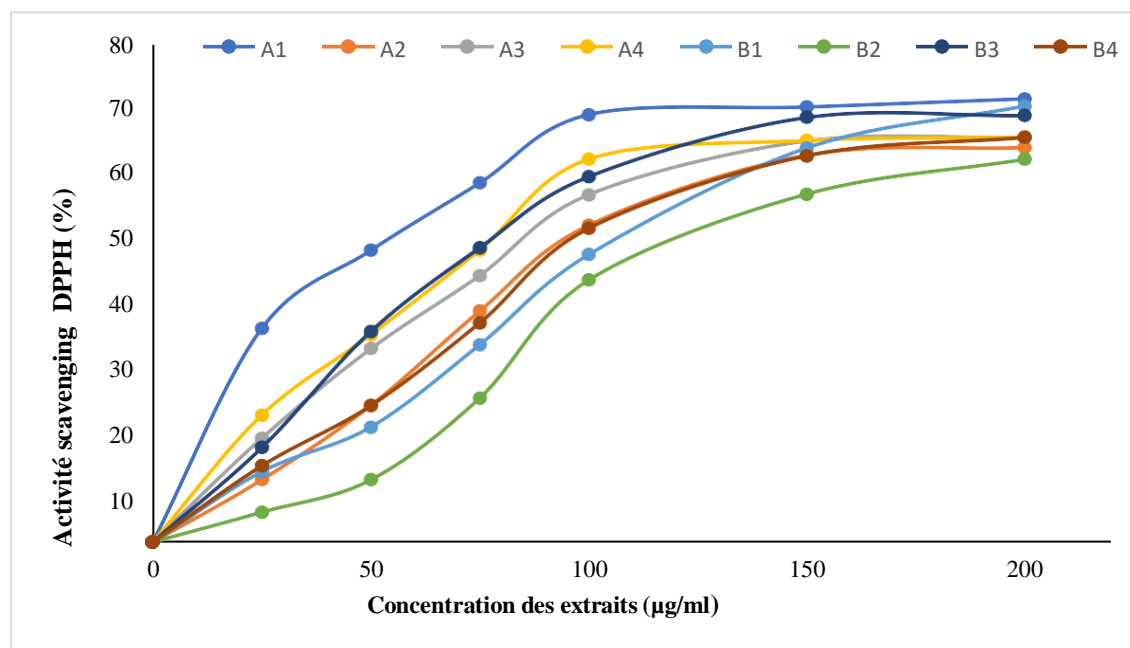


Figure 23: Activité d'inhibition du radical DPPH par les extraits de *Bunium incrassatum*.

A1 : Extrait par macération à éthanol 100% ; A2 Extrait par macération à éthanol 70% ; A3 : Extrait par macération à méthanol 100% ; A4 Extrait par macération à méthanol 70% ; B1 ; Extrait par ultrason à éthanol 100% ; B2 ; Extrait par ultrason à éthanol 70% ; B3 : Extrait par ultrason o méthanol 100%, B4 : Extrait par ultrason à méthanol 70%.

Tableau 5 : valeurs d' IC_{50} (ug/ml) pour le test de DPPH des extraits de *Bunium incrassatum*.

Solvant d'extraction	IC ₅₀ (µg/ml)	
	Macération	Ultrason
Ethanol à 100%	88,435 ± 2,13	110,11 ± 4,24
Ethanol à 70%	77,55 ± 2,01	117,215 ± 5,52
Méthanol à 100%	52,35 ± 0,14	79,42 ± 0,21
Méthanol à 70%	98,5 ± 1,70	87,385 ± 0,64
Aqueux	322,07 ± 27,25	359,855 ± 0.71
Quercétine	4.52± 0.33	
Acide Gallique	3.83± 0.16	

D'après les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente parallèlement à l'augmentation de la concentration pour les différents extraits de la plante.

Les résultats du tableau 5 montrent que l'extraction par macération a une activité de piégeage des radicaux DPPH très élevée par rapport à l'extraction par ultrasons. Le taux de piégeage le plus élevé a été observé avec les extraits méthanoliques pour les deux méthodes, avec des IC_{50} d'environ $52,35 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$ pour la technique de macération et $79,42 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$, suivis par les extraits d'éthanol à 100 % et 70 % ($77,55 \pm 2,01$ et $88,435 \pm 2,13 \mu\text{g/ml}$), tandis que l'activité la plus faible a été observée dans l'extrait aqueux des deux techniques ($IC_{50} = 322,07 \pm 27,25 \mu\text{g/ml}$ pour la macération et $359,855 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ pour les ultrasons).

Cependant, cette activité de capture était toujours inférieure à celle des standards, à savoir l'acide gallique et la quercétine ($IC_{50} = 3,13 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$, et $5,82 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$, respectivement).

Comparons les résultats de notre étude avec celle rapportée par **El Kolli et al., (2017)**. Qui ont travaillé sur les extraits méthanoliques de *B. incrassatum*, on remarque que nos extraits sont plus efficaces que ($IC_{50} = 55,77 \mu\text{g/ml}$) pour le même test.

L'efficacité de ces extraits peut être due au fait que les plantes sont riches en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes (quercétine, lutéoline, isothyme, kaempférol et leurs glycosides), qui ont montré une activité significative (**Narayana et al., 2001**).

En effet, les polyphénols et les flavonoïdes sont de bons donneurs d'électrons et/ou d'hydrogène, et leur capacité antioxydante varie d'un composé à l'autre (**Nacz et Shahidi, 2004**). Par conséquent, certains auteurs ont trouvé une bonne corrélation entre l'activité antioxydante in vitro et la teneur en composés phénoliques (**Khettal et al., 2017**).

II.3.2. Activité de piégeage du radical ABTS^{•+}

L'activité antioxydante des extraits est déduite de leur capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS comparativement à un antioxydant de référence: acide gallique et quercétine. (Annexe III.4).

Nous constatons d'après l'histogramme que tous les extraits présentent un pouvoir de neutraliser le radical cation ABTS^{•+} avec des effets dos-dépendent. Nous remarquons également que l'extrait méthanolique à 70% présente la meilleure activité antioxydante pour ce

test ($IC_{50} = 7,1 \pm 1,1 \mu\text{g/ml}$), et qui proche de celle des standards : l'acide gallique ou quercétine ($IC_{50} = 3.29 \mu\text{g/ml}$ et $5.64 \mu\text{g/ml}$, respectivement). Les extraits méthanoliques 100%, éthanoliques 70% et 100%, ont également montré des bonnes activités antioxydants (IC_{50} entre 16.67 et 56,22 $\mu\text{g/ml}$), mais elles restent inférieures à celle des composés de référence. Quant les extraits aqueux, ils ont des activités plus faibles par rapport aux autres extraits étudiés ($IC_{50} = 192.95 \mu\text{g/ml}$ pour ultrason et $IC_{50} = 206.205 \mu\text{g/ml}$ pour macération).

Les résultats montrent que la quantité des molécules qui présente l'activité scavenging du radical $ABTS^{\bullet+}$ est plus abondant dans les extraits obtenus par l'ultrason par rapport aux extraits obtenus par macération, ce qui est dû probablement à la richesse de ces extraits en métabolites secondaires.

Différentes études ont rapporté que plusieurs composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, sont impliqués dans cette activité. **Floegel et al., (2011)**. Ont démontré une corrélation positive entre cette activité et la teneur en composés phénoliques, les flavonoïdes représentant 72 % de l'activité de piégeage.

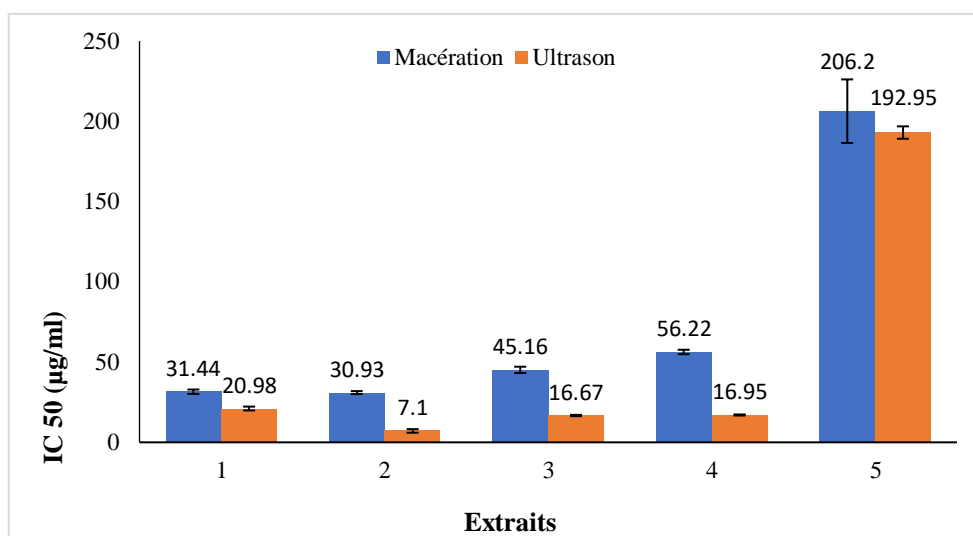


Figure 24 : Valeurs d' IC_{50} par le test d'ABTS des différents extraits des plantes étudiées 1 : Méthanol 100% 2 : Méthanol 70% 3 : Ethanol 100% 4 : Ethanol 70% 5 : Aqueux.

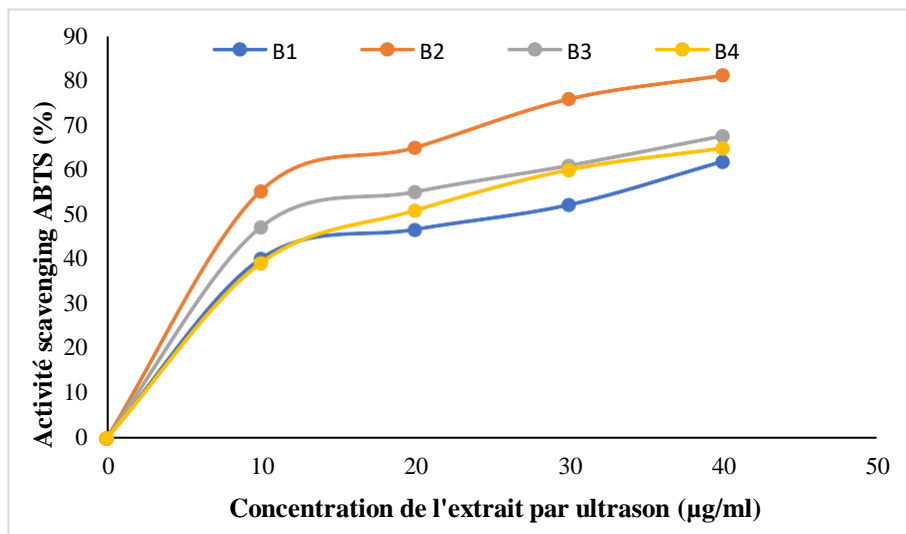


Figure 25 : Pouvoir d'inhibition des extraits de *Bunium incrassatum* par ultrason.

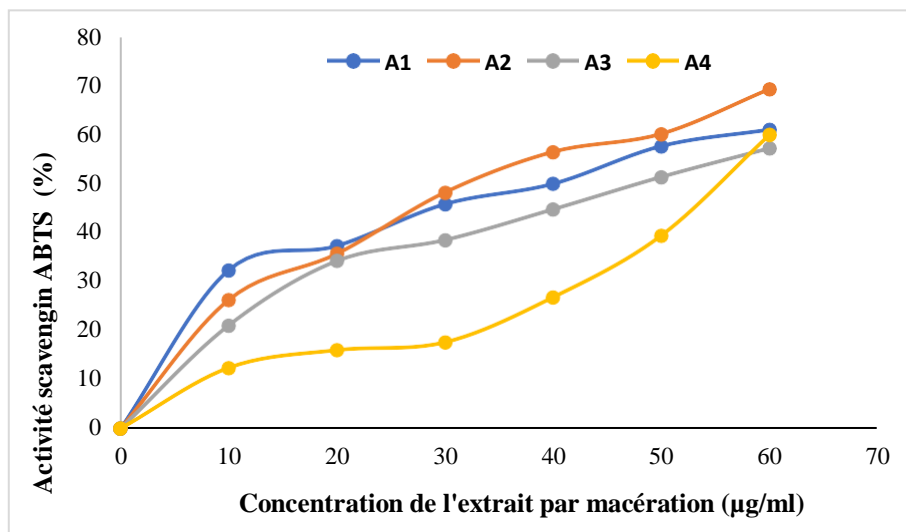


Figure 26 : Pourcentage d'inhibition des extraits de *Bunium incrassatum* par macération.

II.3.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

L'activité antioxydante des extraits de la plante a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Les résultats sont résumés dans les figures 27.

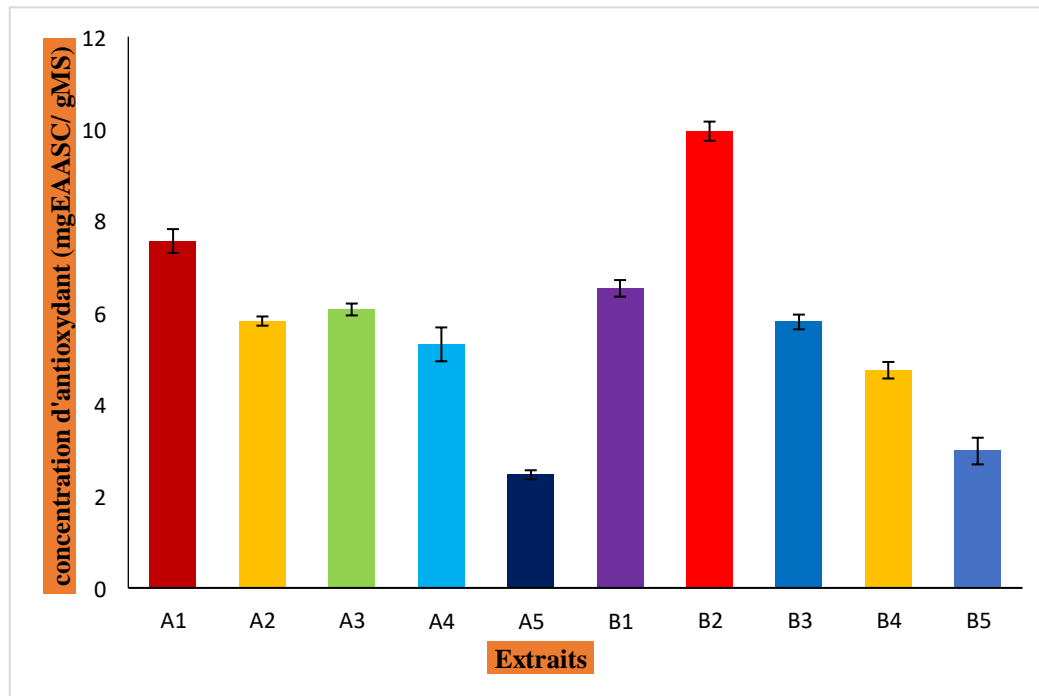


Figure 27 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Bunium incassatum* par le test de FRAP. A1 : Extrait par macération à éthanol 100% ; A2 : Extrait par macération à éthanol 70% ; A3 : Extrait par macération à méthanol 100% ; A4 : Extrait par macération à méthanol 70% ; B1 : Extrait par ultrason à éthanol 100% ; B2 : Extrait par ultrason à éthanol 70% ; B3 : Extrait par ultrason à méthanol 100% ; B4 : Extrait par ultrason à méthanol 70%.

Ce test est un essai simple, rapide et reproductible basé sur le passage du jaune au vert pâle en fonction de la concentration d'antioxydants dans les échantillons. La présence d'agents réducteurs dans les extraits de plantes entraîne la réduction du complexe Fe^{3+} /ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en contrôlant l'augmentation de la densité de la couleur dans le milieu réactionnel à 700 nm. (Chung et al., 2002 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Bentabet et al., 2014).

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur des extraits végétaux est dose-dépendant, c'est-à-dire que la capacité à réduire le fer est proportionnelle à la concentration des extraits utilisés, l'acide ascorbique étant utilisé comme étalon (Annexe VI).

Les meilleurs pouvoirs réducteurs des différents extraits de feuilles de *Bunium incrassatum* ont été obtenus par ultrasons par rapport à la macération. Parmi les extraits étudiés, l'extrait d'éthanol à 70% a montré le meilleur pouvoir réducteur, avec une teneur en antioxydants estimée à $9,94 \pm 0,21$ mg EAA sc/g MS) par rapport aux autres extraits.

Selon les résultats obtenus, les capacités réductrices des extraits obtenus par macération sont classées par ordre croissant comme suite: éthanol 100% >méthanol 100% >éthanol 70% >méthanol 70% >aqueux.

Par contre, les capacités réductrices des extraits obtenus par ultrason sont classées par ordre croissant comme suite: éthanol 70% >éthanol 100% >méthanol 100% >méthanol 70% >aqueux. **Khettal et al., (2017)**. Ont trouvé une bonne corrélation entre la teneur en composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, et la concentration inhibitrice et les valeurs FRAP, ce qui signifie que les polyphénols et les flavonoïdes sont un rôle important dans la réduction ou la neutralisation des radicaux libres.



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent une source privilégiée de principes actifs, ce qui explique leur utilisation croissante dans l'industrie pharmaceutique. Parmi les nombreux composés végétaux, les polyphénols suscitent un vif intérêt et font l'objet de nombreuses études de nos jours.

L'objectif de cette étude est de comparer deux méthodes d'extraction des composés phénoliques : la méthode conventionnelle de macération à température ambiante et l'extraction assistée par ultrasons. Cette comparaison porte sur plusieurs aspects, notamment le rendement d'extraction des métabolites ciblés, le dosage colorimétrique des extraits obtenus et l'évaluation de leur activité antioxydante.

Les résultats de l'étude comparative indiquent que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par la méthode de macération conventionnelle. Cette méthode a permis d'extraire une quantité plus importante de composés phénoliques de l'échantillon végétal par rapport à l'extraction assistée par ultrasons.

Les données d'évaluation quantitative des différentes classes de composés phénoliques, tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les flavonols, montrent que la macération conventionnelle permet une meilleure extraction quantitative des polyphénols totaux. Cela signifie qu'une plus grande quantité de polyphénols totaux est extraite de l'échantillon végétal lors de l'utilisation de la méthode de macération.

D'après les résultats des pourcentages d'inhibition de radical libre DPPH on remarque que l'extraction par macération possède une activité de piégeage très forte contre le radical DPPH comparativement avec UAE. Les extraits aqueux ont montré une valeur élevée d'IC₅₀ c'est-à-dire une activité anti radicalaire très faible contre le radical DPPH. L'extrait méthanol 100 % possède une activité de piégeage forte contre le radical DPPH avec des valeurs d'IC₅₀ allant de 52.35mg/ml par rapport aux autres extraits.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical-cation ABTS montrent que l'extrait éthanolique 70% est doté d'un pouvoir antioxydant important (IC₅₀ = 7.1 µg/ml) pour l'ultrason qui est comparable à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 2.44 µg/ml), Bien que les extraits aqueux possèdent un effet faible par rapport à la quercétine ou l'acide gallique.

Ensuite, nous avons évalué le pouvoir réducteur des produits extraits en utilisant la méthode de réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique à 70% a présenté un effet antioxydant remarquable, avec une valeur de 9,94 $\mu\text{g/ml}$. Cette valeur était comparable à celle obtenue avec l'acide ascorbique extrait par ultrasons.

En tant que perspectives de recherche, il est proposé de mener des études complémentaires afin d'identifier les composés phytochimiques présents dans les extraits étudiés, que ce soit par macération conventionnelle ou par extraction assistée par ultrasons.



***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

- ABAYOMI, Sofowora.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA Editions, 2010.
- ADOUANE, Selma.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. 2016. Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider-Biskra.
- AKKAL, Salah et LEFAHAL, Mostefa.** Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae. 2017.
- ALAIN, Koudoro Yaya, COKOU, Agbangnan D. Pascal, DIANE, Bothon, et al.** Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante usage vétérinaire récoltée au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2018, vol. 23, no 4, p. 441-450.
- ALAM, Md Eftekhar, KADER, M. A., PROMA, Shamima Akter, et al.** Development of a Voice and SMS Controlled Dot Matrix Display Based Smart Noticing System with RF Transceiver and GSM Modem. In : 2018 21st International Conference of Computer and Information Technology (ICCIIT). IEEE, 2018. p. 1-5.
- ALIOUANE, Fatiha.** Etude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange. 2015. Thèse de doctorat. UMMTO.
- AMINA, S. TREKI, MERGHEM, R., et DEHIMAT, L.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 2009, p. 25-29.
- AMIRA FETTAH, Hiba LAOUZ.** Etude phytochimique comparative des différents extraits de *Zygophyllum album L* de la région d'Ouargla et la région El Oued.
- ANDUALEM, Gizachew, UMAR, Shemsu, GETNET, Fentabil, et al.** Antimicrobial and phytochemical screening of methanol extracts of three medicinal plants in Ethiopia. *Advan Biol Res*, 2014, vol. 8, no 3, p. 101-106.
- ANISZEWSKI, Tadeusz.** *Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role.* Elsevier, 2007.
- APAK, Reşat, GÜÇLÜ, Kubilay, DEMIRATA, Birsen, et al.** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 2007, vol. 12, no 7, p. 1496-1547.
- ARIBI AMIRA, Hasasni Lamia.** Contribution à l'étude des extraits aqueux et méthanolique d'une plante médicinale (*Sonchus oleraceus L*). 2018.

- AWIKA, J. M. et ROONEY, L. W.** Sorghum Phytochemicals and Their Potential Impact on. 2004.
- AZMIR, Jannatul, ZAIDUL, Islam Sarker Mohamed, RAHMAN, Mohd M., et al.** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of food engineering, 2013, vol. 117, no 4, p. 426-436.
- BACH, D., MASCRE, M., et DEYSSON, G.** Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II. Paris, 1979, vol. 529.
- BADIAGA, Mamadou.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. 2011. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
- Barros, L., Alves, C. T., Dueñas, M., Silva, S., Oliveira, R., Carvalho, A. M., Henriques, M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013).** Characterization of phenolic compounds in wild medicinal flowers from Portugal by HPLC–DAD–ESI/MS and evaluation of antifungal properties. *Industrial Crops and Products*, 44, 104-110.
- BARROS, Lillian, CARVALHO, Ana Maria, et FERREIRA, Isabel CFR.** Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. *Food research international*, 2011, vol. 44, no 7, p. 2233-2236.
- Belmassous N.(2017).** Etude phytochimique comparative des trois plantes connues antidiabétique issues de la région de Batna. Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté de sciences exactes et sciences
- BELOUED, A.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger, 184p, 1998.
- BEN MANSOUR, H. et LATRACH TLEMCANI, L.** Les colorants naturels sont-ils de bons additifs alimentaires?. *Phytothérapie*, 2009, vol. 7, no 4, p. 202-210.
- Ben Ziane A. et Yousfi I.** (Page consulté le 14 Janvier 2018). *Bunium incrassatum* (Boiss) Batt. Et Trab, [siteweb] ([enligne]), URL: <https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantesmedicinales/enquete-ethnobotanique/resultats/bunium-incrassatum-boiss-ba>.
- BENAYACHE, Samir et KOLLI, El-hadj.** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires d'espèces du genre *Centaurea*-activité cytotoxique. 2017.
- BENGHANOU, M.** La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger), 2012, vol. 56.
- BENTABET, N., BOUCHERIT-OTMANI, Z., et BOUCHERIT, K.** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la

- région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 2014, vol. 12, no 6, p. 364-371.
- BERREGHIOUA, Abdelaziz.** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien: *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. 2016. Thèse de doctorat. 12/01/2016.
- BETTAHAR CHAHRAZAD, Chekalil Salima.** Etude biologique de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya de Ain defla. 2019.
- BOHUI, Pacôme Serge Gouegoui, ADIMA, Augustin Amissa, NIAMKÉ, Florence Bobelé, et al.**
Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société OuestAfricaine de Chimie*, 2018, vol. 46, p. 50-58.
- BONE, Kerry et MILLS, Simon.** Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine. Elsevier Health Sciences, 2012.
- BOUANINI, M., YUCEFI, A., RAHMANI, L., et al.** Temporal evolution of the thermal field of a stirred tank in Bingham fluid and laminar inertial regime. In : *Proceedings of CHT-08 ICHMT International Symposium on Advances in Computational Heat Transfer*. Begel House Inc., 2008.
- Bouchet, P., Hugon, J.-C., Maynadier, A.-M., Mortier, Y.** Les OGM en questions : Dossier pédagogique. Montpellier : Educagri, 2005.
- BOUGANDOURA, N. et BENDIMERAD, N.** Effet antifongiques des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp (Nepeta) briq.* *Revue des Bio Ressources*, 2012, vol. 2, no 1, p. 1-7.
- BOUGANDOURA, Nabila et BENDIMERAD, Nassima.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technology*, 2013, no 9, p. 14.
- BOUKEZATA, Ahlem.** La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne(*Bunium Incrassatum*). 2015. Thèse de doctorat.
- BOUKEZATA, Boualem, CHAOUI, Abdelmadjid, GAUBERT, Jean-Paul, et al.** Système solaire photovoltaïque connecté au réseau électrique et associé à un filtre actif parallèle. In : *Symposium de Génie Électrique 2014*. 2014.
- BOUKHOBZA, Florine et GOETZ, Paul.** *Phytothérapie en odontologie*. Éditions CdP, 2014.
- BOUZID, A., CHADLI, R., et BOUZID, K.** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo L.* dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 2017, vol. 15, no 6, p. 373-378.
- BRAND-WILLIAMS, Wendy, CUVELIER, Marie-Elisabeth, et BERSSET, C. L. W. T.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and*

Technology, 1995, vol. 28, no 1, p. 25-30.

BRUNETON, Jean. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4 e éd. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 2009, p. 279-281.

BrunetonJ. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales .4eme édition. Lavoisier Tec &Doc ,1268. .

CAMEL, Valérie. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2000, vol. 19, no 4, p. 229-248.

CAMEL, Valérie. Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. Analyst, 2001, vol. 126, no 7, p. 1182-1193.

CHANG-DIAZ, Franklin R. Method of infusion extraction. U.S. Patent No 4,832,951, 23 mai 1989.

CHEMAT, Farid. Eco-extraction du végétal: Procédés innovants et solvants alternatifs. 2011.

CHENTOUH, S., BOULAHBEL, S., ADJAL, F., et al. Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. 2018.

CHUNG, Sangmi, SONNTAG, Kai-C., ANDERSSON, Therese, et al. Genetic engineering of mouse embryonic stem cells by *Nurr1* enhances differentiation and maturation into dopaminergic neurons. *European Journal of Neuroscience*, 2002, vol. 16, no 10, p. 1829-1838.

CHUNG, Yun-Chin, CHANG, Cheng-Tien, CHAO, Wen-Wan, et al. Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1.

COLLIN, Sonia, CROUZET, Jean, et al. Polyphénols et procédés: transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier, 2011.

COWAN, Marjorie Murphy. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 1999, vol. 12, no 4, p. 564-582.

CYRIL, T. étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. Université de Montréal, 28p, 2001.

DAHMOUNE, Farid, REMINI, Hocine, DAIRI, Sofiane, et al. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *P. lentiscus* L. leaves: Comparative study of artificial neural network (ANN) versus degree of experiment for prediction ability of phenolic compounds recovery. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 77, p. 251-261.

DARY, Chhavarath, BAGHDIKIAN, Beatrice, KIM, Sothea, et al. Optimization of ultrasound- assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania cambodica* using

- response surface methodology. *Comptes Rendus Chimie*, 2017, vol. 20, no 11-12, p. 996-1005.
- DE CASTRO, MD Luque et JIMÉNEZ-CARMONA, M. M.** Where is supercritical fluid extraction going?. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2000, vol. 19, no 4, p. 223-228.
- De Oliveira, A.E., da Conceição, E.C., & Leles, M.I. (2016).** Multiresponse optimization of an extraction procedure of carnosol and rosmarinic and carnosic acids from rosemary. *Food Chemistry*, 211, 465-473.
- DE OLIVEIRA, Edmundo Capelas et TENREIRO MACHADO, José António.** A review of definitions for fractional derivatives and integral. *Mathematical Problems in Engineering*, 2014, vol. 2014.
- DECAUX, I.** *Phytothérapie: mode d'emploi*. Le Bien Public, 2002, p. 6-7.
- DUTERTRE, Julie Marie-Josèphe.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. 2011. Thèse de doctorat.
- EL-HAOU, H., BOUFELLOUS, M., BERRANI, A., et al.** Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 2018, vol. 7, p. 226-233.
- ESKILSSON, Cecilia Sparr et BJÖRKLUND, Erland.** Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*, 2000, vol. 902, no 1, p. 227-250.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- GHEDIRA, K.** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 2005, vol. 3, p. 162-169.
- GHEDJATI, Nadhra.** Toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines d'*Datura stramonium*. 2018. Thèse de doctorat.
- GOODWIN, T. W.** Biosynthesis of carotenoids and plant triterpenes. *Biochemical Journal*, 1971, vol. 123, no 3, p. 293.
- HERBERT, Richard B.** *The biosynthesis of secondary metabolites*. Springer Science & BusinessMedia, 1989.
- HERRERO, Miguel, MENDIOLA, Jose A., CIFUENTES, Alejandro, et al.** Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *Journal of Chromatography a*, 2010, vol. 1217, no 16, p. 2495-2511.
- HOCQUEMILLER, R., CAVE, A., JACQUEMIN, H., et al.** Alcaloides des Annonacées,

- XXXZVI(*): Alcaloides de *LAnnona crassiflora* Mart. *Plant. Med. Phyt*, 1982, vol. 16, p. 4-6.
- HOPKINS, William G. *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, 2003.
- IKRAM, BOUDEN. Diversité des plantes médicinales dans les marchés de la wilaya de Mila: Intérêt économique et thérapeutique. 2022. Thèse de doctorat. university center of abdalhafid boussouf-MILA.
- ISERIN, Paul, MASSON, Michel, et RESTELLINI, Jean-Pierre (ed.). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larousse, 2007.
- JACCOUD, Sigismond (ed.). *Nouveau dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques*. Baillière, 1872.
- JOANA GIL-CHÁVEZ, G., VILLA, José A., FERNANDO AYALA-ZAVALA, J., et al. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2013, vol. 12, no 1, p. 5-23.
- Journal of agricultural and food chemistry*, 2002, vol. 50, no 8, p. 2454-2458.
- KAMAT, Jayashree P., BOLOOR, Krutin K., et DEVASAGAYAM, Thomas PA. Chlorophyllin as an effective antioxidant against membrane damage in vitro and ex vivo. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2000, vol. 1487, no 2-3, p. 113-127.
- KAUFMANN, Béatrice et CHRISTEN, Philippe. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 2002, vol. 13, no 2, p. 105-113.
- Khettal, B., Kadri, N., Tighilet, K., Adjebli, A., Dahmoune, F., & Maiza-Benabdeslam, F. (2017). Phenolic compounds from Citrus leaves: antioxidant activity and enzymatic browning inhibition. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(1).
- KHODDAMI, Ali, WILKES, Meredith A., et ROBERTS, Thomas H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 2013, vol. 18, no 2, p. 2328-2375.
- KRIEF, Sabrina. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. 2003. Thèse de doctorat. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- LAGNIKA, Latifou. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles

- isolées de plantes béninoises. France/Bénin: Université Louis Pasteur Starsbourg/Université d'Abomey Calavi, 2005, p. 280.
- LAIGLE, Clotilde, MCCRACKEN, Henry J., ILBERT, Olivier, et al.** The COSMOS2015 Catalog: Exploring the $1 < z < 6$ Universe with half a million galaxies. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 2016, vol. 224, no 2, p. 24.
- LAOUISSI KENZA**, Chettouh Merbouha. Amélioration des propriétés fonctionnelles d'un shampooing par l'addition de flavonoïdes. 2019. Thèse de doctorat.
- LARAOUI, Habiba.** Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de bupleurum atlanticum. 2007. Thèse de doctorat. Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des Sciences.
- LATIB, Azeem, TAKAGI, Kensuke, CHIZZOLA, Giuliano, et al.** Excimer Laser LESion modification to expand non-dilatable stents: the ELLEMENT registry. *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 2014, vol. 15, no 1, p. 8-12.
- LE JURY, DEVANT.** ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES ESPECES *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniololus atratum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* ET *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). 2012. Thèse de doctorat. BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY.
- LE POGAM, Pierre, CHOLLET-KRUGLER, Marylène, et BOUSTIÉ, Joël.** Présentation des métabolites secondaires lichéniques: de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique. *Bull. Ass. fr. lichénologie*, 2015, vol. 40.
- LEBOUAZID, Roufaïda, MEZIANI, Rahmat Allah, et KAROUCHE, Saida.** Etude des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce *Bunium mauritanicum*. 2021.
- Lecerf, J. M., Luc, G., & Fruchart, J. C. (1994).** Vitamine E, antioxydants et athérosclérose. *La Revue de Médecine Interne*, 15(10), 641-649.
- LETELLIER, M. et BUDZINSKI, H.** Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analisis*, 1999, vol. 27, no 3, p. 259-270.
- LIEN, Eric J., REN, Shijun, BUI, Huynh-Hoa, et al.** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, no 3-4, p. 285-294.
- LONG, H. S., TILNEY, P. M., et VAN WYK, B.-E.** The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany*, 2010, vol. 76, no 2, p. 324-331.
- LOUNI, Mohamed.** Extraction, caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'huile essentielle de clou de girofle. 2013. Thèse de doctorat. UMMTO.
- LUGASI, Andrea.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta*

- biologicaszegediensis, 2003, vol. 47, no 1-4, p. 119-125.
- LUTGE, U., KLUGE, M., et BAUER, G.** Botanique 3ème Ed: Technique et documentation. Lavoisier. Paris, 2002, vol. 211.
- MACHEIX, Jean-Jacques, FLEURIET, Annie, et JAY-ALLEMAND, Christian.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PUR presses polytechniques, 2005.
- MAHMOUDI, Souhila, KHALI, Mustapha, et MAHMOUDI, Nacéra.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, 2013, no 9, p. 35.
- MAHMOUDI, Souhila, KHALI, Mustapha, et MAHMOUDI, Nacéra.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, 2013, no 9, p. 35.
- MALECKY, Mostafa.** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. 2008. Thèse de doctorat. Paris, AgroParisTech.
- MANALLAH, Ahlem.** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Président: Pr. BOURICHE Rapporteur: Pr. BELATTAR Noureddine. Pr. Examineur: Pr. BOUZIDI Pr. AMIRA وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. 2012. Thèse de doctorat. Université de Sétif 1-Ferhat Abbas.
- MANDAL, Vivekananda, MOHAN, Yogesh, HEMALATHA, S. J. P. R., et al.** Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy reviews*, 2007, vol. 1, no 1, p. 7-18.
- MEDJROUBI, Kamel, BOUDERDARA, Nabila, et SEGUIN, Elisabeth.** Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L. 2017.
- MEGHNEM, Rosa et SADI, Amina Cylia.** Extraction de l'huile essentielle à partir du déchet d'agrumes (Orange). 2016. Thèse de doctorat.
- MEHAOUDI, R. I., ADANE, S., SADOUKI, M., et al.** Carence en vitamine D et insulino-résistance: Association avec les facteurs de pronostic du cancer du sein chez la femme non ménopausée. In : *Annales d'Endocrinologie*. Elsevier Masson, 2020. p. 406.
- MENDIOLA, José A., HERRERO, Miguel, CIFUENTES, Alejandro, et al.** Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications. *Journal of Chromatography A*, 2007, vol. 1152, no 1-2, p. 234-246.
- MERABTI, B., LBOUZ, I., ADAMO, A., et al.** Effet toxique de l'extrait aqueux des fruits de *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad sur les larves des Culicidae. *Revue des Bio-Ressources*, 2015, vol. 5, no 2, p. 120-130.
- MEROUANI, Slimane et HAMDAR, Oualid.** Sonochemical treatment of textile

- wastewater. *Water pollution and remediation: photocatalysis*, 2021, p. 147-187.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol.*, 26(2), 211-219.
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- NAIDJI, Bouzid.** Influence de la pression sur le phénomène de cavitation en milieu liquide ionique sous irradiation ultrasonore basse fréquence. 2019. Thèse de doctorat. Bourgogne Franche-Comté.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., & Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33(1), 2-16.
- OJEIL, Anthony, EL DARRA, Nada, EL HAJJ, Youssef, et al.** Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA. *Lebanese Science Journal*, 2010, vol. 11, no2, p. 117-131.
- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019).** Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*, 243-259.
- OROIAN, Mircea et ESCRICHE, Isabel.** Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 2015, vol. 74, p. 10-36.
- OUIDAD, Mme MELLAH.** PROGRAMME ET RECUEIL DES RÉSUMÉS. 2017.
- OYAIZU, Makoto.** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 1986, vol. 44, no 6, p. 307-315.
- PALOMA, Filliat.** Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. *Sciences pharmaceutiques*, 129p, 2012.
- PELMONT, Jean, MANGIN, Philippe, KAHN, Rémi, et al.** Glossaire de biochimie environnementale. EDP sciences, 2008.
- PIBIRI, Marie-Cécile.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. EPFL, 2006.
- PINTO, Eugenia, PINA-VAZ, Cidalia, SALGUEIRO, Lígia, et al.** Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, 2006, vol. 55, no 10, p. 1367-1373.
- Proestos, C., & Komaitis, M. (2008).** Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT Food Sci Technol*;41(4):652-9.
- QUAN, Lan, LI, Shufen, TIAN, Songjiang, et al.** Determination of organochlorine pesticides

- residue in ginseng root by orthogonal array design soxhlet extraction and gas chromatography. *Chromatographia*, 2004, vol. 59, p. 89-93.
- QUEZEL, Pierre et SANTA, Sébastien.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1963.
- RAVEN, P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E., et al.** Biologie végétale, Traduction de la 7e édition américaine par J. Bouharmont avec la collaboration de CM Evrard, 2003, vol. 1.
- REGNAULT-ROGER, Catherine, PHILOGÈNE, Bernard JR, VINCENT, Charles, et al.** Biopesticides d'origine végétale. Lavoisier Tec & Doc, 2002.
- RIBÉREAU-GAYON, Pascal.** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, 1968.
- RICHTER, Bruce E., JONES, Brian A., EZZELL, John L., et al.** Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Analytical chemistry*, 1996, vol. 68, no 6, p. 1033-1039.
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019).** Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food bioscience*, 28, 66-73.
- ROHMAN, A., RIYANTO, S., YUNIARTI, N., et al.** Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*, 2010, vol. 17, no 1, p. 97-106.
- ROMANIK, Grażyna, GILGENAST, Ewelina, PRZYJAZNY, Andrzej, et al.** Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 2007, vol. 70, no 2, p. 253-261.
- SAADOUNI RABIAA, BENTALEB Houda.** Impacts de l'ingestion de *Bunium bulbocastanum* "Noix de Terre" sur la fonction testiculaire chez la souris Balb/C. 2020. Thèse de doctorat.
- SÁNCHEZ-MORENO, Concepción.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 2002, vol. 8, no 3, p. 121-137.
- SANTA-CECÍLIA, Flávia V., FREITAS, Lissara AS, VILELA, Fabiana C., et al.** Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*. *European Journal of Pharmacology*, 2011, vol. 670, no 1, p. 280-285.
- SARKER, Satyajit D. et LATIF, Zahid. Alexander I. Gray** Natural Products Isolation. 2006.
- ŠMARDA, Petr, HOROVÁ, Lucie, KNÁPEK, Ondřej, et al.** Multiple haploids, triploids, and tetraploids found in modern-day "living fossil" *Ginkgo biloba*. *Horticulture*

Research, 2018, vol. 5.

- SUHR, Karin Isabel et NIELSEN, Per Væggemose.** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 2003, vol. 94, no 4, p. 665-674.
- TAPAS, Ahmad R., SAKARKAR, D. M., et KAKDE, R. B.** Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical journal of Pharmaceutical research*, 2008, vol. 7, no 3, p. 1089-1099.
- THIAW, Cheikh, COLY, Emile Victor, DJIBA, Saliou, et al.** Senna occidentalis L., une plante prometteuse dans la lutte contre *Caryedon serratus* Ol.(Coleoptera, Bruchidae), insecte ravageur des stocks d'arachide au Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2015, vol. 9, no 3, p. 1399-1418.
- Tighilet, K., Palacios, F., Khettal, B., & de los Santos J. (2022).** GC-MS and LC-QTOF-MS Phytochemical analysis, antiproliferative and antioxidant activities of stems extracts of *Retamamonosperma* grown in Algeria. *Research Journal of Biotechnology*, 17(2).
- URQUIAGA, I. N. E. S. et LEIGHTON, Federico.** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 2000, vol. 33, no 2, p. 55-64.
- VINATORU, M., TOMA, Maricela, RADU, Otilia, et al.** The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics sonochemistry*, 1997, vol. 4, no 2, p. 135-139.
- WANG, Lijun et WELLER, Curtis L.** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 2006, vol. 17, no 6, p. 300-312.
- WILLIAMSON, Elisabeth M.** Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 2001, vol. 8, no 5, p. 401-409.
- WILLIAMSON, Elisabeth M.** Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 2001, vol. 8, no 5, p. 401-409.
- XIE, Pu-jun, HUANG, Li-xin, ZHANG, Cai-hong, et al.** Skin-care effects of dandelion leaf extract and stem extract: Antioxidant properties, tyrosinase inhibitory and molecular docking simulations. *Industrial crops and products*, 2018, vol. 111, p. 238-246.
- XU, Lei, YANG, Na, WU, Fengfeng, et al.** Effect of acid pretreatment on the physicochemical and antioxidant properties of germinated adlay (*Coix lachryma-jobi* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, vol. 42, no 2, p. e13511.
- YAQOOB, Asim Ali, UMAR, Khalid, et IBRAHIM, Mohamad Nasir Mohamad.** Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 2020, vol. 10, p. 1369-1378.
- Anonyme 1 :** <http://www.carte-du-monde.net/pays-16-carte> vegetation-algerie.html 2021.

Annexe I: Matériels non biologique

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solutions
Bec benzène	Bécher	Eau distillé
Etuve d'incubation	Entonnoir	Ethanol, méthanol
Balance de précision.	Éprouvette graduée	Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
Réfrigérant	Fioles	Trichlorure d'aluminium (AlCl_3)
Spectrophotomètre	Tubes à essais	Acide 2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ($\text{ABTS}^{\cdot+}$)
Moulin à café	Barreau magnétique	Quercétine, Acide gallique
Bain marie	Portoir à tubes	Folin-Ciocalteu (0.1N)
Tamiseur	Spatule	Persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$)
Autoclave	Boîtes de pétri	2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl (DPPH)
pH mètre		Acide Ascorbique
Agitateur		Acide chlorhydrique (HCL)
Bain ultra-son		Chlorure ferrique (FeCl_3)
		Ferricyanure de potassium ($\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$)
		Acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$)

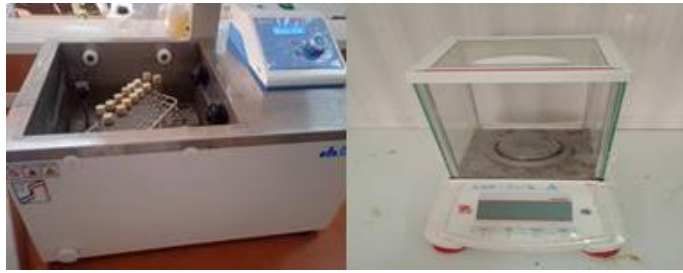


Figure 28: Bain marie

Figure 29: la balance



Figure 30: Spectrophotomètre

Figure 31: Autoclave

Annexe II : Préparation des solutions

Solution de l'acide gallique

- Dissoudre 1 mg d'acide gallique dans un volume de 1ml méthanol.

Solution de Carbonate de sodium à 6%

- Dissoudre 6g de Na_2CO_3 dans 50 ml de l'eau distillée.

Solution de Folin-Ciocalteu à 0.1N

- Ajouter 5 ml du réactif Folin-Ciocalteu dans 45 ml d'eau distillée.

Solution de Quercétine

- Dissoudre 1 mg de quercétine dans 1ml méthanol.

Solution de Trichlorure d'aluminium à 10%

- Dissoudre 10g d' AlCl_3 dans 100 ml de l'eau distillée.

Solution radical ABTS^{•+}

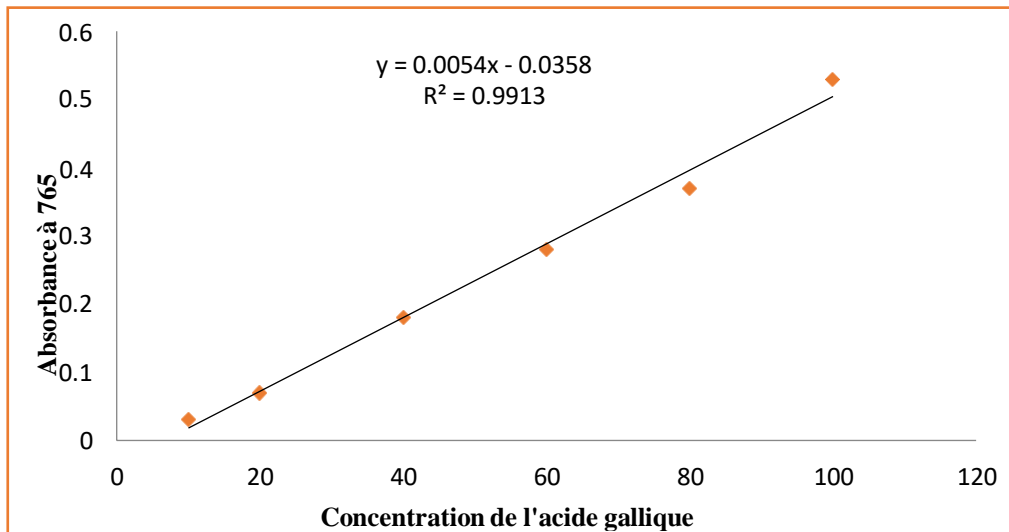
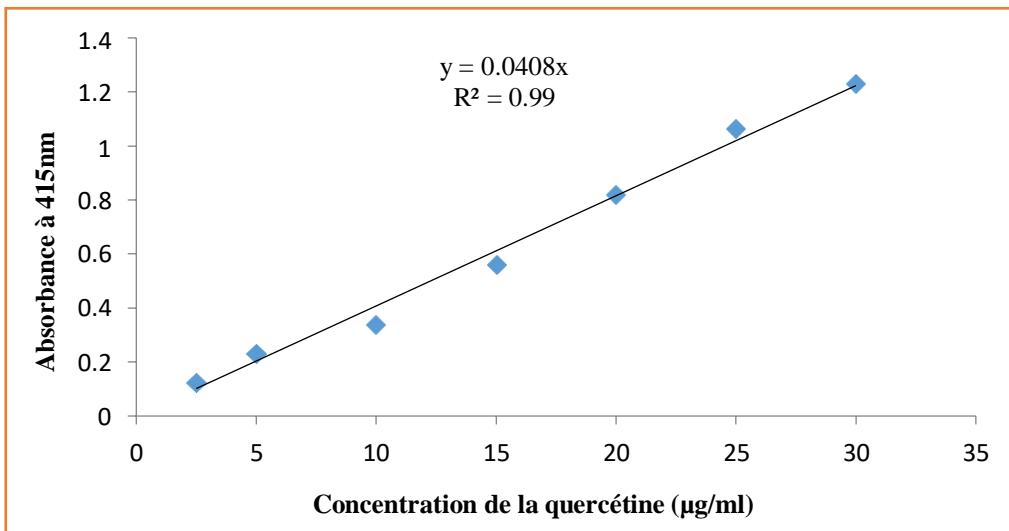
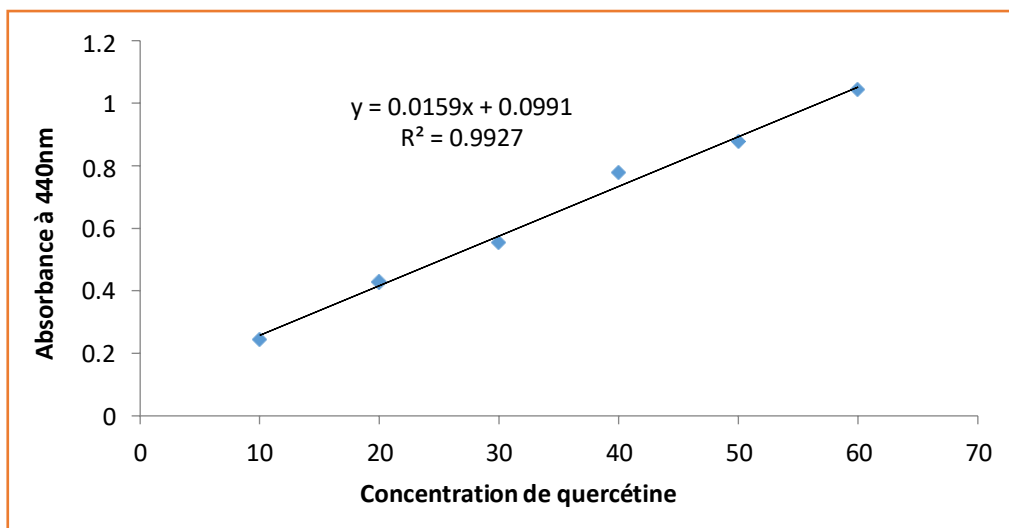
- Mélangeant une solution de 7 mM d'ABTS avec une solution de 2.5 mM du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$). La solution ABTS^{•+} a ensuite été stockée à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 16 heures, puis diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une DO de 0.700 ± 0.02 à 734 nm.

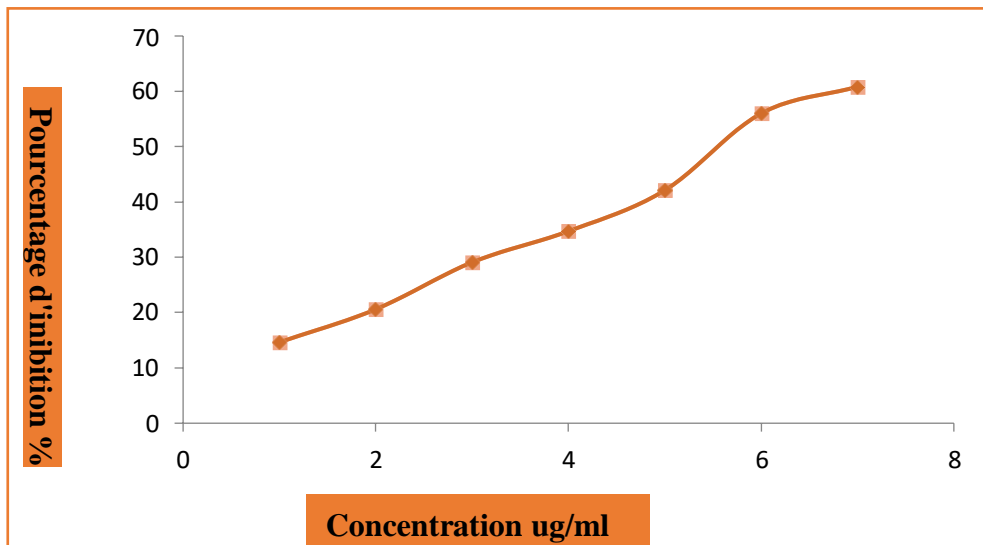
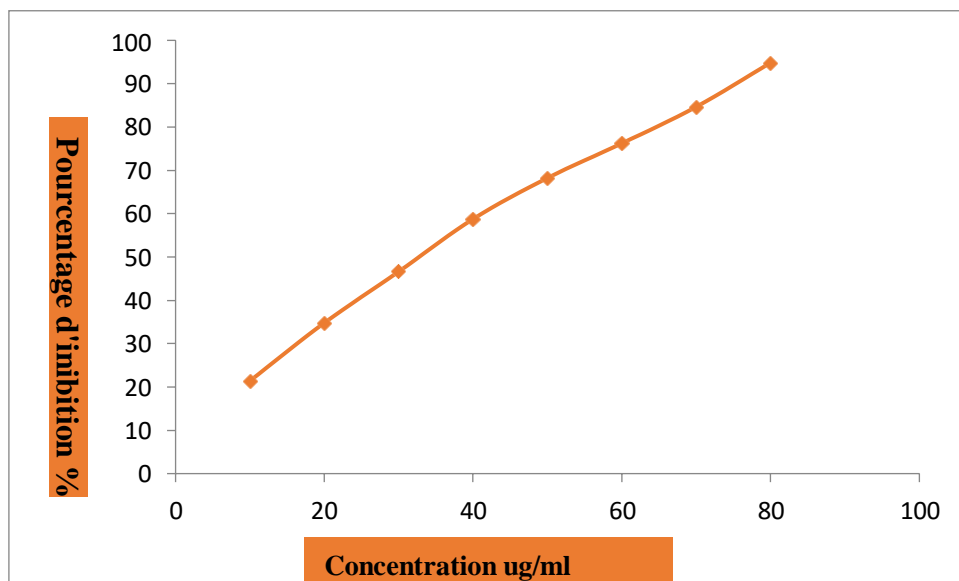
Solution de DPPH

- Mélanger dans un Bécher 2.4 mg de DPPH avec 100 ml d'éthanol. Le mélange est maintenu sous agitation continue pendant une heure après enrobage par le papier Aluminium.

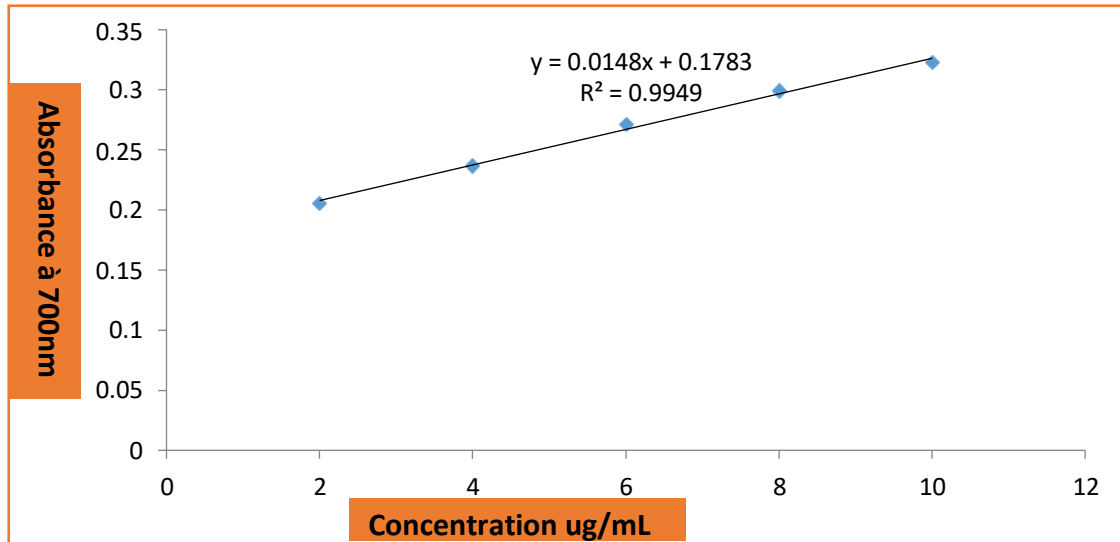
Solution tampon phosphate à pH=6,6

- Solution de di-hydrogénophosphate de potassium NaH_2PO_4 : 2.4 g/100 ml d'eau distillé.
- Solution de di-sodium hydrogénophosphate : Na_2HPO_4 : 2.84 g/100 ml d'eau distillé.
- Mélanger 50 ml Na_2HPO_4 avec 50 ml NaH_2PO_4 , jusqu'à PH 6,6.

Annexe III.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.**Annexe III.2 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.**Annexe III.3 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols.

Annexe III.4. : Variation d'inhibition d'ABTS par le quercétine.**Annexe III.5.** : Variation d'inhibition d'ABTS par l'acide gallique.

Annexe III.6 : Courbe d'étalonnage pour l'activité antioxydant par test de FRAP de l'acide Ascorbique.



Résumé

Bunium incrassatum est une plante familière des milieux ruraux présente dans les régions du tell Algérien. Elle appartient à la famille des Apiaceae, connue localement sous le nom de «Talghouda». Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans notre région pour traiter les maladies thyroïdiennes.

L'objectif de la présente étude est de valoriser différents extraits des feuilles de la plante *Bunium incrassatum* en déterminant la quantité des polyphénols et des flavonoïdes et flavonol et pigment liposoluble et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes (testée par les méthodes DPPH, ABTS et FRAP) dans deux méthodes d'extraction par macération et par ultrason.

Les meilleurs teneurs des polyphénols et des flavonol sont obtenus par d'extraction de macération dans les extrais éthanol 100% avec un taux estimés à 169.32 mg EAG/g MS, 30.42 mg EQ/g respectivement. Contrairement le meilleur teneur des flavonoïdes sont obtenus par d'extraction assiste par ultrason dans les extrais éthanol 100% avec un taux estimés à 8.28 mgEQ/gMS. Les feuilles de *Bunium incrassatum* riche en pigment liposoluble β -carotène (0.440384 mg/100mL), en lycopène (0.7835588mg/100mL), en chlorophylle a (0.8137838mg/100mL) et en Chlorophylle b (0.424348 mg/100 mL).

Par ailleurs l'extrait méthanol 100% des feuilles de *Bunium incrassatum* renferme un fort pouvoir réducteur et des capacités antioxydantes vis-à vis le radical DPPH avec un IC50 de 59.46 mg/ml, 82.58 mg/ml dans les deux méthodes d'extractions (macération, ultrason), respectivement.

Les résultats révèlent que les extraits de *Bunium incrassatum* (principalement l'extrait éthanol 70%) renferme un fort pouvoir réducteur à inhiber le radical ABTS^{•+} avec un IC50 de 6.59 mg/ml, 33.44 mg/ml dans les deux méthodes d'extractions (ultrason, macération), respectivement.

Ensuite nous avons évalué le pouvoir réducteur des produits par la méthode de réduction de fer (FRAP), les résultats obtenus montrés que l'extrait éthanol 70% (9.94 μ g/ml) a manifesté d'un effet antioxydant remarquable à celui obtenu par l'acide ascorbique par rapport les autres extraits.

Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour d'autres études orientées vers la détermination des composés actifs dans les extraits de la plante *Bunium incrassatum*

Mots-clés : *Bunium incrassatum*, extraits bruts, polyphénols, Polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, plantes médicinales, Talghouda, FRAP, ABTS, DPPH, flavonol, pigment liposoluble

Abstract

Bunium incrassatum is familiar plants of the rural environments present in the regions of the Algerian tell. It belongs to the Apiaceae family, known locally as "Talgouda". It is widely used in traditional medicine in our region to treat thyroid diseases.

The objective of the present study is to valorize different extracts from the leaves of the *Bunium incrassatum* plant by determining the quantity of polyphenols and flavonoids and flavonol and fat-soluble pigment and to evaluate the antioxidant activity of plant extracts (tested by methods DPPH, ABTS and FRAP) in two methods of extraction by maceration and by ultrasound.

The best levels of polyphenols and flavonols are obtained by maceration extraction in 100% ethanol extracts with an estimated rate of 169.32 mg EAG/g DM, 30.42 mg EQ/g respectively. Unlike the best content of flavonoids are obtained by ultrasonic assisted extraction in 100% ethanol extracts with an estimated rate of 8.28 mgEQ / gMS. *Bunium incrassatum* leaves rich in fat-soluble pigment β -carotene (0.440384 mg/100mL), lycopene (0.7835588mg/100mL), chlorophyll a (0.8137838mg/100mL) and chlorophyll b (0.424348 mg/100mL).

In addition, the 100% methanol extract of *Bunium incrassatum* leaves contains a strong reducing power and antioxidant capacities vis-à-vis the DPPH radical with an IC₅₀ of 59.46 mg/ml, 82.58 mg/ml in the two extraction methods (maceration, ultrasound), respectively.

The results reveal that the *Bunium incrassatum* extracts (mainly the 70% ethanol extract) have a strong reducing power to inhibit the ABTS•+ radical with an IC₅₀ of 6.59 mg/ml, 33.44 mg/ml in the two extraction methods (ultrasound, maceration), respectively.

Then we evaluated the reducing power of the products by the iron reduction method (FRAP), the results obtained showed that the 70% ethanol extract (9.94 μ g / ml) showed a remarkable antioxidant effect to that obtained by I ascorbic acid compared to other extracts.

These results can be considered as a starting point for further studies aimed at determining the active compounds in the extracts of the *Bunium incrassatum* plant.

Keywords: *Bunium incrassatum*, crude extracts, polyphenols, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, medicinal plants, Talghouda, FRAP, ABTS ,DPPH, flavonol, fat-soluble pigmen

المخلص

Bunium incrassatum نبات مألوف في المناطق الريفية الموجودة في مناطق التل الجزائري. تنتمي إلى عائلة Apiaceae ، والمعروفة محليًا باسم 'Talghouda'. يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في منطقتنا لعلاج أمراض الغدة الدرقية.

الهدف من هذه الدراسة هو تبيين المستخلصات المختلفة من أوراق نبات *Bunium incrassatum* عن طريق تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد والفلافونول والأصباغ القابلة للذوبان في الدهون وتقييم نشاط مضادات الأكسدة للمستخلصات النباتية (تم اختبارها بالطرق DPPH ، ABTS و FRAP) بطريقتين للاستخلاص بالنقع والموجات فوق الصوتية.

يتم الحصول على أفضل مستويات البوليفينول والفلافونول عن طريق الاستخلاص بالنقع في مستخلصات الإيثانول 100% بمعدل تقديري 169.32 مجم EAG / جم DM ، 30.42 مجم EQ / جم على التوالي. على عكس أفضل محتوى من مركبات الفلافونويد التي يتم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية في مستخلصات الإيثانول بنسبة 100% بمعدل تقديري يبلغ 8.28 مجم EQ / جم. أوراق *Bunium incrassatum* غنية بالصباغ القابل للذوبان في الدهون كاروتين (0.440384 مجم / 100 مل) ، اللايكوبين (0.7835588 مجم / 100 مل) ، الكلوروفيل أ (0.8137838 مجم / 100 مل) والكلوروفيل ب (0.424348 مجم / 100 مل).

بالإضافة إلى ذلك ، يحتوي مستخلص الميثانول بنسبة 100% من أوراق *Bunium incrassatum* على قوة اختزال قوية وقدرات مضادة للأكسدة مقابل جذر DPPH مع IC50 من 59.46 مجم / مل و 82.58 مجم / مل في طريقتي الاستخراج (النقع ، الموجات فوق الصوتية) ، على التوالي.

كشفت النتائج أن مستخلصات *Bunium incrassatum* (بشكل أساسي مستخلص الإيثانول 70%) لديها قدرة اختزال قوية لتنشيط ABTS + جذري مع IC50 من 6.59 مجم / مل ، 33.44 مجم / مل في طريقتي الاستخراج (الموجات فوق الصوتية ، النقع) ، على التوالي. ثم قمنا بتقييم القدرة المختزلة للمنتجات بطريقة اختزال الحديد (FRAP) ، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلص الإيثانول بنسبة 70% (9.94 ميكروغرام / مل) أظهر تأثيرًا مضادًا للأكسدة ملحوظًا مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

يمكن اعتبار هذه النتائج كنقطة انطلاق لمزيد من الدراسات التي تهدف إلى تحديد المركبات النشطة في مستخلصات نبات *Bunium incrassatum* .

الكلمات المفتاحية: *Bunium incrassatum* ، مستخلصات خام ، بوليفينول ، بوليفينول ، فلافونويد ، نشاط مضاد للأكسدة ، نباتات طبية ، تالغودة ، فراب ، إيه بي تي إس ، دي بي بي ، فلافونول ، صبغة تدوب في الدهون