الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة أكلي محند أولحاج
- البويرة -
معهد التكنولوجيا

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Akli Mohand Oulhadj - Bouira -
Institut de Technologie

جامعة البويرة

Département de Technologie Chimique Industrielle

قسم التكنولوجيا الكيميائية الصناعية

Mémoire

Présenté par

-MEKID Ahmed Khalil

-CHEGGOU Nadjib

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER PROFESSIONNEL

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie de la Formulation

Thème :

*Etude phytochimique et biologique de « **Globularia alypum** » en vue de son utilisation dans la formulation des compléments alimentaires*

Le jury est composé de :

Mr M.O. AZZOUG	MCA	Président
Mme D.BELLACHE	MCA	Examinatrice
Mme A. BOUDJADA	MCA	Encadrante
Mme N. BOURFIS	MCA	Co-Encadrante

Année Universitaire : 2025/2026

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu, le Tout-Puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Madame ***BOUDJADA Amina,*** *mon encadrante, pour sa disponibilité, ses conseils éclairés, et son accompagnement rigoureux et bienveillant tout au long de ce travail.*

Mes remerciements s'adressent également à Madame ***BOURFIS Nassima,*** *ma Co-encadrante, pour son appui technique, ses remarques constructives et sa précieuse aide durant toutes les étapes de ce projet.*

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à M. ***AZZOUG Mohammed Oubelkacem*** *pour sa disponibilité et son aide précieuse dans la récolte de la plante ayant servi à la réalisation de ce travail.*

Je tiens à remercier sincèrement les membres du jury pour le temps qu'ils m'ont accordé, leurs remarques constructives et l'intérêt porté à mon travail.

Enfin, j'exprime ma profonde reconnaissance à toutes les personnes, proches ou lointaines, qui ont, de près ou de loin, contribué à l'aboutissement de ce travail.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour leur soutien, leurs sacrifices et leurs encouragements tout au long de mon parcours.

À ma famille et à mes amis pour leur présence et leur soutien.

Aux ingénieurs et au personnel du laboratoire pour leur aide, leurs conseils et leur accompagnement durant la réalisation de ce travail.

Enfin, à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ce mémoire.

MEKID

DÉDICACES

Je dédie ce travail à mes chers parents, en témoignage de leur amour, de leur patience et de leurs nombreux sacrifices.

À mes frères et sœurs, pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de mon parcours.

À mes amis et à toutes les personnes qui m'ont accompagné durant mes études et qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

À tous ceux qui m'ont fait confiance et m'ont encouragé à persévérer pour atteindre mes objectifs.

.

GHEGGOU

ملخص

هدفت هذه الدراسة إلى التقييم الكيميائي النباتي وتثمين نبتة غلوبيلاريا البيم من أجل استخدامها في صياغة المكملات الغذائية. أظهرت التحاليل الفيزيائية والكيميائية جودة جيدة للمادة النباتية، تميزت بانخفاض نسبة الرطوبة واحتوائها على نسبة معتبرة من الألياف واستقرار جيد. كما كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود مهم للبوليفينولات والفلافونويدات والتانينات. وقد اختلف مردود الاستخلاص باختلاف المذيبات المستعملة، حيث أعطت الخلائط الهيدروكحولية أفضل النتائج. كما أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقتي DPPH و ABTS,قدرة مضادة للأكسدة معتبرة لمختلف المستخلصات و تؤكد هذه النتائج ان نبتة غلوبولاريا ألبيم تمثل مصدرا واعدا للمركبات الحيوية الفعالة التي يمكن تثمينها واستغلالها في تحضير مكملات غذائية طبيعية.

الكلمات المفتاحية: غلوبولاريا البيم , نشاط , اكسدة , تحليل كيميائي , مكملات غذائية

Résumé

Cette étude a porté sur l'évaluation phytochimique et la valorisation de ***Globularia alypum*** en vue de son utilisation dans la formulation des compléments alimentaires. Les analyses physico-chimiques ont montré une bonne qualité de la matière végétale, caractérisée par une faible humidité, une teneur appréciable en fibres et une bonne stabilité. Le screening phytochimique a révélé la présence importante de polyphénols, flavonoïdes et tanins. Les rendements d'extraction ont varié selon les solvants utilisés, les mélanges hydroalcooliques ont donnés les meilleurs résultats. L'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et ABTS a mis en évidence un pouvoir antioxydant important des différents extraits. L'ensemble de ces résultats confirme que *Globularia alypum* représente une source prometteuse de composés bioactifs pouvant être valorisés dans la formulation de compléments alimentaires naturels.

Mots-clés: *Globularia alypum*, activité antioxydante, screening phytochimique, compléments alimentaires.

Abstract

This study aimed to evaluate the phytochemical composition and valorization potential of ***Globularia*** alypum for its use in the formulation of dietary supplements. Physicochemical analyses revealed good quality plant material characterized by low moisture content, an appreciable fiber content, and good stability. Phytochemical screening showed a significant presence of polyphenols, flavonoids, and tannins. Extraction yields varied according to the solvents used, with hydroalcoholic mixtures providing the best results. The antioxidant activity evaluated using DPPH and ABTS assays demonstrated a considerable antioxidant potential of the different extracts. Overall, the obtained results confirm that *Globularia alypum* represents a promising source of bioactive compounds that can be valorized and exploited in the development of natural dietary supplements.

Keywords: *Globularia alpym*, activity, oxidation, phytochemical analysis, dietary supplements.

Table de matière

Introduction générale…….....…1

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1 Généralités sur l'espèce *Globularia alypum* 3
I.1.1 Historique 3
I.1.2 Ecologie et répartition géographique 3
I.1.3 Classification systématique 3
I.1.4 Description botanique 4
I.1.5 Composition chimique 5
I.1.6 Conditions de culture 5
I.1.7 Les bienfaits de l'utilisation *de Globularia alypum* 5
I.1.8 Activité pharmacologique de *Globularia alypum* 6
I.1.8.1 Activité Antioxydante 6
I.1.8.2 Activité anti radicalaire 6
I.1.8.3 Activité antibactérienne de *Globularia alypum* 6
I.1.8.4 Activité anti-tuberculose de *Globularia alypum* 7
I.1.8.5 Activité anti inflammatoire 7
I.1.8.6 Activité antidiabétique 7
I.2 Les métabolites secondaires 7
I.2.1 Les polyphénols 7
I.2.2 Les flavonoïdes 8
I.2.3 Les tanins 8
I.2.3.1 Les tanins hydrolysables 8
I.2.3.2 Les tanins condensés 9
I.2.4 Les acides phénoliques 9
I.2.5 Les alcaloïdes 9
I.2.6 Les hétérosides 9
I.2.7 Les terpénoïdes 10
I.3 Activité antioxydante 10
I.3.1 Définition 10
I.3.2 Les types d'antioxydants 11
I.3.2.1 Antioxydants enzymatiques secondaires 11
I.3.2.2 Antioxydants non enzymatiques 11
I.3.2.3 Antioxydants synthétiques 11
I.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (*in vitro*) 12

I.3.3.1 Méthodes basées sur les radicaux peroxyles (ROO•) 12
I.3.3.2 Méthode basée sur la réduction des ions métalliques 12
I.3.4 Méthodes utilisant des radicaux synthétiques stables 12
I.4 Généralités sur les compléments alimentaire 12
I.4.1 Définition d'un complément alimentaire 12
I.4.2 Composition d'un complément alimentaire 13
I.4.2.1 Vitamines et minéraux 13
I.4.2.2 Utilisation des plantes dans les compléments alimentaires 14
I.4.2.3 Substances à but nutritionnel ou physiologique 14
I.4.2.4 Probiotiques 14
I.4.2.5 Produits de la ruche 14
I.4.3 Classification des compléments alimentaires 15
I.4.4 Conception et formulation d'un complément alimentaire 16
I.4.5 Réglementation des compléments alimentaires 16
I.4.5.1 Les réglementations européennes et françaises 16
I.4.5.2 Les règlementations algériennes 17
I.5 Les plans d'expériences 18
I.5.1 Les composants d'un plan d'expériences 18
I.5.2 Quelques plans d'expériences 19
I.5.2.1 Plan Plackett–Burman 19
I.5.2.2 Plan factoriel complet 20
I.5.2.3 Plan composite centré 20
I.5.2.4 Méthodologie de surface de réponse (RSM) 22
I.6 La définition du plan de mélange 22
I.6.1 L'intérêt 22
I.6.2 La représentation géométrique des mélanges 23
I.6.2.1 Les mélanges à 2 constituants : 23
I.6.2.2 Les mélanges à 3 constituants 23
I.6.2.3 Les mélanges à 4 constituants 24

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1 Matériels et produits 26
II.1.1 Produits utilisés 26
II.1.2 Préparation des poudres de plantes 26
II.1.3 Préparations des extraits 27
II.1.4 Préparations des extraits sec 28
II.1.5 Détermination du rendement d'extraction 30

II.2 Screening phytochimique 30
II.3 Analyse quantitative des extraits 32
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux 33
II.3.2 Dosage des flavonoïdes 34
II.4 Analyses physico-chimiques 35
II.4.1 Détermination de pH : 35
II.4.2 Acidité tittrable 35
II.4.3 Détermination du taux d'humidité 36
II.4.4 Détermination de taux de cendres 37
II.4.5 Teneur en fibre (cellulose) 38
II.4.6 Teneur en matière grasse 38
II.5 Evaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH 39
II.6 Evaluation de l'activité antioxydant en utilisant le test L'ABTS 40
II.7 Optimisation de l'extraction par plan de mélange 41

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Résultats des rendements d'extraction 42
III.1.1 Comparaison avec les autres études 44
III.2 Résultats du screening phytochimique 44
III.2.1 Comparaison avec les autres études 48
III.3 Résultats du Dosage des polyphénols totaux 49
III.3.1 Comparaison avec les autres études 50
III.4 Résultats du Dosage des flavonoïdes 51
III.4.1 Comparaison avec les autres études 52
III.5 Résultats des analyses physico-chimiques 53
III.5.1 Comparaison avec les autres étudess 54
III.6 Résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH 55
III.6.1 Comparaison des extraits avec l'acide ascorbique 57
III.6.2 Comparaison avec les autres études 58
III.7 Résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test ABTS 58
III.7.1 Comparaison des extraits avec l'acide ascorbique 60
III.7.2 Comparaison avec les autres études 61
III.8 Comparaison entre les résultats des tests DPPH et ABTS 62
III.9 Résultats et interprétation du plan de mélange 63
III.9.1 Rendement d'extraction 63
III.9.1.1 Réponse Rendement 63
III.9.1.2 Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites 63

III.9.1.3 Résumé des effets....64
III.9.1.4 Graphique Résidus–Prédictions....65
III.9.1.5 Résidus standardisés de Student....65
III.9.1.6 Synthèse de l'ajustement du modèle....66
III.9.1.7 Analyse de variance....66
III.9.1.8 Estimation des paramètres....67
III.9.1.9 Tests des effets....68
III.9.1.10 Profil de prédiction....68
III.9.2 Polyphénols totaux....69
III.9.2.1 Reponse du polyphénols....69
III.9.2.2 Graphique des réponses observées et prédites....70
III.9.2.3 Synthèse des effets....70
III.9.2.4 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites....71
III.9.2.5 Résidus studentisés....72
III.9.2.6 Résumé de l'ajustement....72
III.9.2.7 Analyse de la variance....73
III.9.2.8 Estimation des paramétres....73
III.9.2.9 Tests des effets....74
III.9.2.10 Profil de prédiction....75
III.9.3 Flavonoïdes totaux....75
III.9.3.1 Reponse du flavonoïdes....75
III.9.3.2 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites....76
III.9.3.3 Synthèse des effets....77
III.9.3.4 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites....77
III.9.3.5 Résidus standardisés de Student....78
III.9.3.6 Synthèse de l'ajustement....78
III.9.3.7 Analyse de la variance....79
III.9.3.8 Estimation des paramètres....79
III.9.3.9 Tests des effets....80
III.9.3.10 Profil de prédiction....80
Conclusion générale....82
Références bibliographiques.

Liste des figures

Figure I.1 : Répartition de la plante *Globularia alypum* 3
Figure I.2 : Photographie originale de l'espèce de *Globularia alypum*. 4
Figure I.3 : Classification des polyphénols 5
Figure I.4 : Schéma récapitulatif des types d'antioxydant..... 11
Figure I.5 : Surface de réponse pour un domaine expérimental..... 19
Figure I.6: Plan composite pour deux facteurs..... 21
Figure I.7 : les compositions des mélanges à deux constituants par les points de segment de droite AB 23
Figure I.8 : Représentation des mélanges à trois constituants sur un triangle équilatéral..... 24
Figure I.9 : Représentation des mélanges à quatre constituants par un tétraèdre régulier 25
Figure II.1: La poudre de plante 27
Figure II.2: L'extrait de plante..... 27
Figure II.3: Les différents extraies préparer..... 28
Figure II.4 : Evaporation des extraits 29
Figure II.5: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux..... 33
Figure II.6: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes..... 35
Figure II.7: Détermination de pH..... 35
Figure II.8: Détermination de d'Acidité..... 36
Figure II.9: Détermination du d'humidité..... 37
Figure II.10: Détermination du taux de cendres..... 37
Figure II.11: Unité d'extraction Soxhlet..... 39
Figure III.1: Résultats des rendements des dix extraits..... 43
Figure III.2: Diagramme en barres représentant la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Globularia alypum* (mg EAG/g d'extrait) 49
Figure III.3: Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Globularia alypum*..... 51
Figure III.4: Activité antioxydante des extraits 1 à 5 vis-à-vis du radical DPPH..... 56
Figure III.5: Activité antioxydante des extraits 6 à 10 vis-à-vis du radical DPPH..... 56
Figure III.6: Activité antioxydante des extraits 1 à 5 vis-à-vis du radical ABTS..... 59
Figure III.7: Activité antioxydante des extraits 6 à 10 vis-à-vis du radical ABTS..... 59
Figure III.8: Diagramm des résultats expérimentaux du plan de mélange de rendement 63
Figure III.9: Diagramme d'analyse des résidus de la Rendement d'extraction..... 65

Figure III.10: Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du rendement d'extraction..... 65
Figure III.11: Profil de prédiction du rendement d'extraction selon les proportions des solvants.....69
Figure III.12 : Diagramme des résultats expérimentaux du plan de mélange de polyphénols totaux 70
Figure III.13 : Diagramme d'analyse des résidus de polyphénols totaux 71
Figure III.14 : Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du polyphénols totaux. 72
Figure III.15 : Profil de prédiction de la teneur en polyphénols totaux selon les proportions des solvants. 75
Figure III.16 : Diagramme des résultats expérimentaux du plan de mélange de flavonoïdes totaux 76
Figure III.17 : Diagramme d'analyse des résidus de flavonoïdes totaux.....77
Figure III.18 : Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du flavonoïdes totaux. 78
Figure III.19 : Profil de désirabilité globale permettant la détermination des conditions optimales d'extraction. 81

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Classification systématique de *Globularia alypum*.....4
Tableau I.2 : Apports quotidiens recommandés pour les différentes vitamines.....13
Tableau I.3 : Liste et doses journalières maximales des minéraux pouvant entrer dans la composition des CA..... 13
Tableau II.1 : Les réactifs utilisés et leurs rôles.....26
Tableau II.2 : Les différents solvants utilisés pour l'extraction des extraits..... 28
Tableau II.3 : Les différents extraits sec..... 29
Tableau III.1 : Résultats des rendements d'extraction pour les différents extraits.....42
Tableau III.2: Résultats du screening phytochimique des extraits de *Globularia alpum*..... 45
Tableau III.3 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Globularia alypum* exprimée en mg EAG/g d'extrait.....49
Tableau III.4 : Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Globularia alypum* (mg EQ/g d'extrait).....51
Tableau III.5 : Résultats des analyses physico-chimiques de *Globularia alypum* 53
Tableau III.6 : Valeurs des IC_{50} des différents extraits de *Globularia alypum* et du standard obtenus par le test DPPH. 55
Tableau III.7 : Valeurs des IC_{50} des différents extraits de *Globularia alypum* et du standard obtenus par le test ABTS. 59
Tableau III.8 : Rendement d'extraction (%) obtenu pour les différents mélanges de solvants et valeurs prédites par le modèle. 63
Tableau III.9 : Les résultats d'analyse des effets des différents solvants dans le mélange pour le rendrement. 64
Tableau III.10 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction du rendement d'extraction 66
Tableau III.11 : Analyse de variance du modèle appliqué au rendement d'extraction 66
Tableau III.12 : Estimation des coefficients du modèle pour le rendement d'extraction.....67
Tableau III.13 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur le rendement d'extraction.....68
Tableau III.14 : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait) des différents extraits et valeurs prédites par le modèle 69
Tableau III.15 : Les résultats d'analyse des effets des différents solvant dans le mélange pour les polyphenols totaux. 70
Tableau III.16 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction des polyphénols totaux. ...72

Tableau III.17 : Analyse de variance du modèle appliqué aux polyphénols totaux. 73
Tableau III.18 : Estimation des coefficients du modèle pour les polyphénols totaux 73
Tableau III.19 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur les polyphénols totaux. 74
Tableau III.20 : Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/g d'extrait) et valeurs prédites par le modèle. 76
Tableau III.21 : Effets des solvants et de leurs interactions sur la teneur en flavonoïdes totaux. 77
Tableau III.22 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction des flavonoïdes totaux 78
Tableau III.23 : Analyse de variance du modèle appliqué aux flavonoïdes totaux 79
Tableau III.24 : Estimation des coefficients du modèle pour les flavonoïdes totaux 79
Tableau III.25 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur les flavonoïdes totaux. 80

Liste des abréviations

DPPH : 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

UV-Vis : Ultraviolet Visible Spectromètre

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

GL : *Globularia alypum*

NAA : Acide α-naphtalène acétique

BA : Benzyladénine

MS : Milieu de Murashige et Skoog

CA : Compléments Alimentaires

NO : Monoxyde d'azote

iNOS : Inducible Nitric Oxide Synthase

R : Rendement

H : Humidité

TC : Taux de Cendre

C : Cellulose

MG : Matière grasse

Introduction générale

Introduction générale

Ces dernières années, les plantes médicinales sont de plus en plus utilisées dans le domaine de la santé. Beaucoup de personnes préfèrent les produits naturels au lieu des médicaments, parce qu'ils pensent qu'ils sont plus sûrs et moins dangereux. Depuis longtemps, l'homme utilise les plantes pour se soigner, et jusqu'aujourd'hui cette méthode reste connue, surtout dans les pays en développement.

Les plantes contiennent plusieurs substances qu'on appelle métabolites secondaires, comme les polyphénols, les flavonoïdes ou encore les terpènes. Ces composés ont des effets importants sur la santé. Par exemple, ils peuvent protéger le corps contre certaines maladies et aussi lutter contre les microbes ou les inflammations. C'est pour cela que les plantes sont toujours étudiées dans la recherche scientifique.

Avec le développement de la science, les chercheurs ont essayé d'utiliser les plantes d'une manière plus organisée. C'est là qu'on trouve les compléments alimentaires. Ce sont des produits qui contiennent des substances actives et qu'on peut utiliser facilement, par exemple sous forme de gélules ou comprimés. Aujourd'hui, ils sont beaucoup consommés pour améliorer la santé et le bien-être.

Parmi ces plantes, la *Globularia alypum* est connue dans la région méditerranéenne, surtout en Algérie. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs problèmes comme le diabète, les douleurs digestives et les inflammations. **[1]**

Des études ont montré que cette plante contient des composés importants, comme les flavonoïdes et les polyphénols. Ces substances sont responsables de ses effets. Par exemple, elle peut agir comme antioxydant et aussi aider contre certaines maladies comme le diabète. C'est pour cela que cette plante est intéressante pour les chercheurs**. [1]**

Cependant, l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales présente certaines limites. En effet, la détermination des doses appropriées, les conditions de préparation et les méthodes de conservation ne sont pas toujours bien maîtrisées, ce qui peut influencer leur efficacité et leur qualité. Afin d'assurer une utilisation plus sûre, plus pratique et mieux contrôlée, il est nécessaire de valoriser ces ressources végétales sous des formes plus élaborées, telles que les

compléments alimentaires, qui permettent une meilleure standardisation des principes actifs et une utilisation adaptée aux besoins des consommateurs.

Dans ce contexte, la formulation d'un complément alimentaire à base de *Globularia alypum* représente une approche intéressante. Elle permet de valoriser cette plante tout en garantissant la qualité et la stabilité du produit final.

Ce manuscrit est structuré en trois chapitres principaux.

Le premier chapitre présentera une étude bibliographique portant sur l'espèce étudiée, les principaux métabolites secondaires, l'activité antioxydante ainsi que les plans d'expérience.

Le deuxième chapitre sera consacré aux protocoles expérimentaux, aux matériaux et aux méthodes utilisés.

Le troisième chapitre traitera les analyses et l'interprétation des résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale sera proposé afin de synthétiser et de discuter les principaux résultats de cette étude.

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1 Généralités sur l'espèce *Globularia alypum*

I.1.1 Historique

Globularia alypum, connue sous le nom de « Globulaire » ou « Tasselgha » en kabylie, est une plante médicinale du bassin méditerranéen, largement répandue en Algérie, en Tunisie, au Maroc et dans le sud de l'Europe. Utilisée depuis l'Antiquité en médecine traditionnelle, elle est employée pour traiter diverses affections, notamment le diabète, les troubles digestifs et les inflammations. Sa richesse en composés bioactifs, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, lui confère un intérêt scientifique croissant et en fait une source prometteuse pour des applications pharmaceutiques, cosmétiques et dans le domaine des compléments alimentaires. **[1]**

I.1.2 Ecologie et répartition géographique

Cette plante, qui se trouve du sud de l'Europe autour de la Méditerranée jusqu'en Grèce, en Afrique du Nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et en Asie mineure (Égypte, Arabie), prospère en forêts et sur les terrains rocheux. Elle est considérée comme une espèce héliophile et thermophile. La Figure I.1 illustre la distribution globale de cette plante. **[2]**

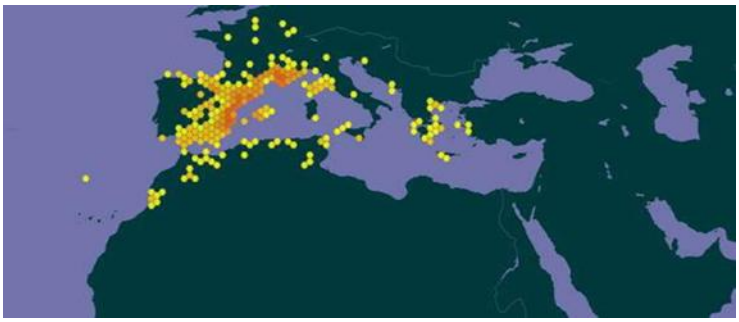


Figure I.1 : Répartition géographique de *Globularia alypum*.

I.1.3 Classification systématique

Le genre *Globularia* comprend environ une trentaine d'espèces de plantes herbacées ou arbustives, appartenant à la famille des Plantaginaceae. Ces espèces se distinguent par leurs inflorescences regroupées en capitules globuleux, qui constituent l'un de leurs principaux caractères morphologiques. **[3]**

Table I.1 : Classification systématique de *Globularia alypum*.

Globularia alypum	
Règne	Plantae
Classe	Dicotyledone
Ordre	Scrophlariales
Famille	Globulariaceae
Genre	*Globularia*
Espèce	*Globularia alypum*

I.1.4 Description botanique

Aussi connue sous le nom de globulaire, la plante *Globularia alypum* fait partie de la famille des Globulariacées qui renferme deux genres : *Globularia* et *Poskea*. On compte environ trente espèces dispersées en Europe et en Afrique du Nord. *Globularia* tire son appellation de la structure sphérique de son inflorescence, tandis qu'alyphum est dérivé du grec alypon, qui signifie adoucir la douleur. On appelle souvent la *Globularia alypum* Tasselgha ; également connue sous les noms de « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zouitna », « alk », « haselra » et « oulbarda ». Elle est nommée Ein larneb au Maroc**. [4]**

Les espèces appartenant au genre *Globularia* sont des arbustes vivaces ramifiés d'une hauteur approximative de 60 cm (30-60 cm). Leurs feuilles sont durables, résistantes, de forme ovale ou en lance, élargies à l'extrémité et amenuisées à la base ; on les qualifie de spatulées. Les fleurs, groupées en capitules denses dotés de bractées ciliées et qui peuvent atteindre presque 2 cm de diamètre, sont agencées sur les tiges ainsi qu'à leur sommet. Elles se présentent d'un bleu clair lorsqu'elles forment un globule unique et isolé à l'extrémité des branches**. [4]**



Figure I.2 : Photographie originale de l'espèce de *Globularia alypum*.

I.1.5 Composition chimique

G. alypum est une source abondante de composés bioactifs tels que les glycosides d'iridoïdes (catapol), les acides aromatiques/phénoliques, les glycosides et aglycones flavonoïdes, ainsi que les phényléthanoyl et tanins. On lui attribue plusieurs activités pharmacologiques puissantes, notamment au niveau de ses feuilles, reconnues comme une source appréciable d'antioxydants. Cela pourrait expliquer pourquoi ils sont souvent utilisés dans la médecine traditionnelle. *G. alypum* est largement utilisé dans la médecine traditionnelle algérienne comme agent curatif, tel que l'agent hypoglycémiant, le laxatif, le cholagogue, le tonique d'estomac, le purgatif et sudorifique. C'est également un remède pour les maladies cardiovasculaires, antitumorales et rénales. On rapporte que leurs feuilles sont utilisées pour traiter les maladies de la peau (notamment l'eczéma), le diabète et comme antipaludique.**[5]**

I.1.6 Conditions de culture

Globularia alypum L. est un arbuste persistant des régions méditerranéennes, caractérisé par ses fleurs bleu-violet regroupées en capitules globuleux. Des études ont montré que la multiplication in vitro constitue une approche efficace pour la conservation et la valorisation de cette espèce. Les meilleurs résultats de germination ont été obtenus sur un milieu MS complet, tandis que l'acclimatation des plantules a été optimale sur un substrat composé de tourbe et de perlite (1:1). Toutefois, des phénomènes d'hyperhydratation ont été observés au cours de la culture in vitro, ce qui peut limiter la régénération et l'acclimatation des plantes. **[6]**

I.1.7 Les bienfaits de l'utilisation *de Globularia alypum*

Globularia alypum. (Plantaginaceae) est couramment présente dans la région méditerranéenne et est traditionnellement employée pour lutter contre le diabète, les troubles digestifs, les infections et les problèmes cutanés. Cette revue récapitule ses caractéristiques botaniques, ses applications ethnobotaniques, sa phytochimie, ses effets pharmacologiques et son profil toxicologique. Des études pertinentes publiées entre 1991 et 2024 ont été collectées à partir de bases de données telles que Web of Science, Scopus, PubMed, ainsi que d'autres bases de données pertinentes. Des extraits de *G. alypum* ont démontré des activités anti-diabétiques, antioxydantes, anticancéreuses, antibactériennes, anti-inflammatoires, anticoagulantes, néphroprotectrices et de cicatrisation *in vitro* et *in vivo*. Ces effets sont principalement attribués à ses divers métabolites secondaires tels que les phénols, les flavonoïdes et les iridoïdes. **[7]**

I.1.8 Activité pharmacologique de *Globularia alypum*

Des recherches attestent que les espèces du genre *Globularia* possèdent diverses propriétés pharmacologiques, telles que des activités : antimicrobiennes, antioxydantes, cytotoxiques, cytostatiques et anti-inflammatoires. **[2]**

I.1.8.1 Activité Antioxydante

L'oxydation de certaines biomolécules, telle que la peroxydation des lipides membranaires, la dégradation de l'ADN et d'autres, peut résulter de la génération naturelle de radicaux libres par des processus biochimiques et/ou photochimiques. Les radicaux libres sont des molécules hautement instables du fait de leur électron non apparié. L'évaluation du potentiel antioxydant des extraits peut être effectuée en combinant plusieurs tests antioxydants complémentaires. **[8-9]**

Il semble que les composés présents dans *G. alypum* aient des propriétés antioxydantes protectrices.

I.1.8.2 Activité anti radicalaire

L'activité antiradicalaire a une grande importance en raison du rôle nuisible des radicaux libres tant dans le secteur alimentaire que dans les systèmes biologiques. Dans l'étude en question, on fait appel à la technique du radical DPPH, une approche couramment employée qui permet d'évaluer l'activité antioxydante de l'échantillon analysé en mesurant le niveau de décoloration de la solution DPPH. **[10]**

I.1.8.3 Activité antibactérienne de *Globularia alypum*

Suite à l'application de la solution hydro-alcoolique contenant de l'extrait de *Globularia alypum*, les bactéries prélevées sur les mains sont supprimées. Cela pourrait être dû à la concentration élevée en acides phénoliques, flavonoïdes et tanins qui ont un rôle antibactérien significatif dans les extraits des feuilles de *Globularia alypum*. **[11]**

L'espèce *Globularia alypum* affiche une activité antibactérienne notable. Cette activité concerne les composés chimiques suivants : le 6-hydroxyluteoline 7-O-laminaribioside, l'eriodictyole 7-O-sophoroside et le 6'-O-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4-dihydroxyphényl)éthyl].-β-D-glucopyranoside) ainsi que les glycosides phénylethanoïdes (actéoside, isoactéoside et forsythiaside).[2]

L'espèce ***G. alypum*** contient une huile essentielle qui a des propriétés antibactériennes. Elle est notable pour sa forte concentration en acide hexadecanoïque (acide palmitique) et d'autres molécules importantes telles que l'isomère de phytol (Z.Z) - 6,9-cis-3,4-époxy-nonadecadi; le benzèneacide-BRI dicarboxylique; le Linalool et le heptadécane. **[12]**

I.1.8.4 Activité anti-tuberculose de *Globularia alypum*

On a examiné des extraits de *Globularia alypum* pour leur composition chimique, cette plante présente une action anti-tuberculeuse. Ces recherches ont démontré que l'activité anti-tuberculose attribuée à cette espèce est due à sa forte concentration en polyphénols (acide galique), tannins (catéchine), anthocyanes (cyanidine) et flavonoïdes (quercétine).**[13]**

I.1.8.5 Activité anti inflammatoire

Il a été démontré que les composés phénoliques sont bénéfiques dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques associées à une production excessive d'oxyde nitrique (NO). Lors d'une inflammation, le NO est généré à partir de la L-arginine via la NO synthase inductible (iNOS). Le peroxynitrite, une substance toxique produite par la réaction rapide des peroxydes avec le NO, contribue aux lésions tissulaires observées dans les maladies inflammatoires. L'inhibition de la production de NO peut induire un effet anti-inflammatoire, comme l'a confirmé in vitro l'analyse des effets de l'extrait d'*Hylocereus undatus* sur les médiateurs chimiques libérés par les macrophages. Ces derniers produisent de grandes quantités de molécules cytotoxiques une fois activés par des stimuli pro-inflammatoires. Le traitement des macrophages RAW 264.7 par l'IFN-γ/LPS pendant 24 heures a induit la production de NO, qui a pu être évaluée par la mesure de l'accumulation de nitrites, Un produit métabolique stable du NO. Le NO, un médiateur issu des macrophages, est perçu comme étant essentiel dans la réaction inflammatoire, en raison de sa présence lors de la phase inflammatoire et de sa capacité à déclencher plusieurs caractéristiques de la réponse inflammatoire.**[14]**

I.1.8.6 Activité antidiabétique

L'activité antidiabétique de la globularine, un iridoïde isolé des feuilles de *Globularia alypum*, a été évaluée chez des rats normaux ainsi que chez des rats rendus diabétiques de manière expérimentale. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du glibenclamide, un médicament de référence largement utilisé pour le traitement du diabète en raison de ses propriétés hypoglycémiantes. **[15]**

I.2 Les métabolites secondaires

I.2.1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. On les trouve dans différentes parties des plantes, comme les fruits, les légumes et les produits végétaux naturels. Ce sont des dérivés non azotés contenant un cycle aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle (-OH). Ces groupes hydroxyle peuvent être libres ou impliqués dans d'autres fonctions chimiques (éthers, esters, glycosides, etc.).**[16]**

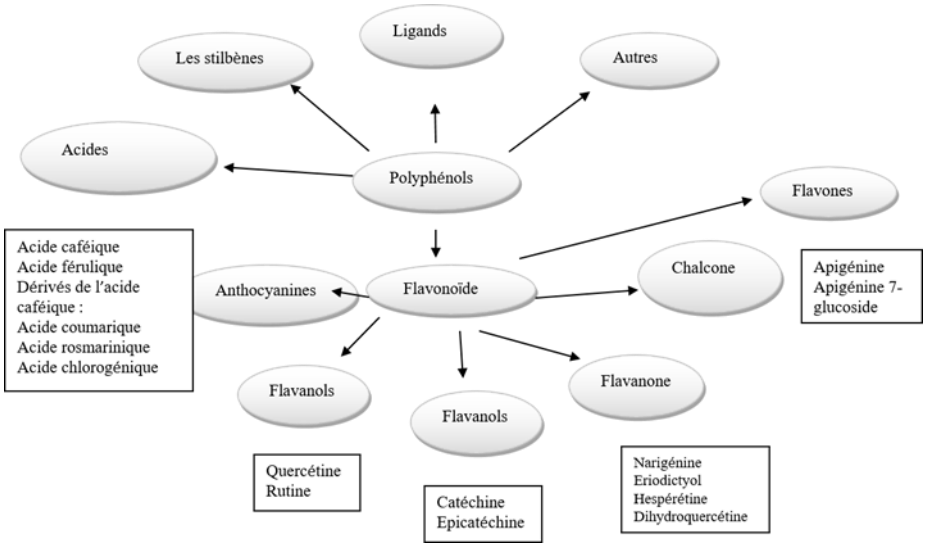


Figure I.3 : Classification des polyphénols.

Les composés phénoliques présentent des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-athérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anti-allergiques et vasodilatatrices. **[17]**

I.2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une catégorie de métabolites secondaires qui se retrouvent abondamment dans le règne végétal. Il s'agit de pigments presque omniprésents chez les plantes, qui contribuent partiellement à la couleur des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils forment un ensemble de plus de 6000 composés naturels du monde végétal**. [18]**

On connaît largement les flavonoïdes pour leurs propriétés antimicrobiennes, antifongique, anti- inflammatoire et les activités anti-oxydante **. [19-21]**

I.2.3 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques de structures diverses, dotés d'un goût astringent, qui partagent la caractéristique de rendre la peau inaltérable, en d'autres termes, résistante à la putréfaction. Ces éléments, omniprésents dans le règne végétal, sont particulièrement abondants chez les conifères et peuvent être retrouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines**.[22]**

On identifie deux catégories distinctes de tanins en fonction de leurs structures et de leurs provenances biogénétiques : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.**[2]**

I.2.3.1 Les tanins hydrolysables

Il s'agit d'oligosaccharides ou de polysaccharides d'un sucre et d'un nombre variable d'acides phénoliques. Habituellement, le sucre fait référence au D-glucose et l'acide phénolique peut être

soit l'acide gallique lorsqu'il s'agit de tanins galliques, soit l'acide ellagique lorsqu'il est question de ce que l'on appelle couramment les ellagitanins.**[2]**

I.2.3.2 Les tanins condensés

Ils se distinguent nettement des tannins hydrolysables par l'absence de résidus glucidiques dans leur structure et leur composition chimique est étroitement liée à celle des flavonoïdes. Il s'agit de polymères flavaniques formés d'unités de flavan-3-ols reliées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Ces composés sont largement répandus chez les plantes vasculaires, notamment les dicotylédones, les gymnospermes et les fougères**.[2]**

I.2.4 Les acides phénoliques

On peut utiliser l'expression acide-phénol pour désigner tous les composés organiques qui ont au moins une fonction hydroxyle phénolique et carboxylique **[17].**Dans le domaine de la phytochimie, on utilise généralement ce terme pour désigner les dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. On trouve rarement les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques sous leur forme libre, ils sont généralement présents en tant qu'esters conjugués et glycosides.**[23]**

Les acides phénoliques jouent un rôle direct dans les réponses aux stress environnementaux, tels que les invasions de nuisibles, et participent à la réparation de la plante grâce à la lignification des tissus affectés.**[24]**

I.2.5 Les alcaloïdes

Il s'agit de substances principalement végétales, biologiques et souvent reproductibles par synthèse azotée, présentant une activité alcaline variable. Elles possèdent des propriétés pharmacodynamiques notables à faible dose. À noter que seules quelques rares substances animales en font partie. Ils portent toujours un nom se terminant par « ine ». Les alcaloïdes contiennent constamment du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et généralement, en complément, de l'oxygène (dans certains cas rares, quelques alcaloïdes peuvent contenir du soufre).**[25]**

Les Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes: Action sur le système nerveux central comme anti-dépresseur, Action sur système nerveux autonome, Action sur les vaisseaux « hypertenseur », Action sur la circulation sanguine et améliore la circulation cérébrale, Antipaludique, Action antitumorale, Action antibiotique, antiparasitaire, anthelminthique à des doses variées.**[25]**

I.2.6 Les hétérosides

On trouve des hétérosides en abondance dans le règne végétal, présents quasiment dans toutes les parties de la plante : racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits. Leur concentration peut

varier considérablement, non seulement selon la partie de la plante examinée, mais aussi en fonction du stade de croissance de la plante, du type de sol et des conditions météorologiques. Il est même possible que leur présence soit influencée par le sexe de la plante.

Les hétérosides sont des molécules de petite taille, où les parties glucidiques et aglycones ont une masse moléculaire relativement petite, ce qui en fait des oligohétérosides. On se réfèrera généralement aux hétéroglycanes lorsque les molécules ont une taille considérablement plus grande. Ces éléments majoritairement d'origine végétale sont inclus dans la fabrication des gommes et des mucilages, contribuant aussi à la formation des membranes cellulaires bactériennes et des capsules.

Tous les hétérosides, dont le nom fait généralement référence à la plante source, se terminent par le suffixe « oside » plutôt que « ine », qui signale des composés azotés. **[26]**

I.2.7 Les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, présentant soit une structure cyclique, soit une structure à chaîne ouverte. Leur composition chimique est (C5HX) n où le x varie selon le niveau d'insaturation de la molécule et n peut se situer entre 1 et 8, à l'exception des polyterpènes qui peuvent dépasser les 100 (comme c'est le cas du caoutchouc). La formule de base de la molécule est C5H8, représentant l'isoprène. Le terme terpénoïde fait référence à une série de composés qui possèdent la structure des terpènes, accompagnée d'une ou plusieurs fonctions chimiques telles que l'alcool, l'aldéhyde, la cétone, l'acide, la lactone, etc.

Les Propriétés pharmacologiques des terpenoïdes : Un grand nombre de terpénoïdes se distinguent par leurs odeurs prononcées, tandis que le menthol et le limonène sont à la base de la production d'huiles essentielles. Ils trouvent leur utilisation dans les antiseptiques et dans le traitement des affections respiratoires. **[25]**

I.3 Activité antioxydante

I.3.1 Définition

Les antioxydants, naturels ou de synthétique, sont des composés présents dans les êtres vivants ou incorporés dans les aliments, qui agissent en bloquant ou en freinant les processus d'oxydation. Ils ont pour mission principale de prévenir la rancité et de freiner l'oxydation des lipides, tout en sauvegardant les attributs sensoriels et nutritifs des aliments. De ce fait, ils participent à la préservation de la qualité du produit tout en étendant la durée de conservation. Les antioxydants notables incluent la vitamine E et C, le sélénium, ainsi que plusieurs caroténoïdes comme le bêta-carotène, la zéaxanthine et la lutéine.

I.3.2 Les types d'antioxydants

Les antioxydants sont répartis en diverses catégories en fonction de leur source et de leur mécanisme d'action.

- Antioxydants naturels.
- Antioxydants enzymatiques.

L'organisme produit naturellement des antioxydants enzymatiques. Ils ont un rôle clé dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO).

I.3.2.1 Antioxydants enzymatiques secondaires

Aussi connus comme décomposeurs d'hydroperoxydes, ils jouent un rôle dans la transformation des hydroperoxydes en produits stables, non radicaux et à faible réactivité, ce qui restreint leur capacité oxydante.

I.3.2.2 Antioxydants non enzymatiques

Ce sont des composés de faible poids moléculaire qui complètent l'action des enzymes antioxydantes. Ils agissent selon plusieurs mécanismes : piégeage des radicaux libres, chélation des métaux et réduction des ERO. Leur rôle est crucial dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif

I.3.2.3 Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des composés fabriqués de manière artificielle. On les utilise couramment dans les secteurs agroalimentaires, cosmétiques, pharmacies et des matériaux pour empêcher l'oxydation. Ils sont abordables, fiables et performants, agissant à différentes étapes du processus de la réaction en chaîne des radicaux libres, y compris lors des phases d'initiation et de propagation.

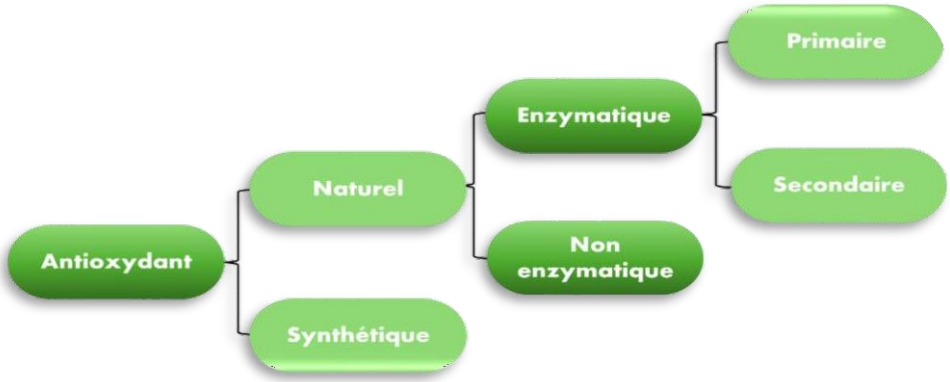


Figure I.4 : Schéma récapitulatif des types d'antioxydant.

I.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (*in vitro*)

L'évaluation de l'activité antioxydante des composés peut être réalisée *in vitro* au moyen de différentes techniques centrées principalement sur la capture de radicaux libres. Ces tests permettent d'évaluer la capacité d'un composé à neutraliser ou à inhiber l'action des espèces oxydantes.

I.3.3.1 Méthodes basées sur les radicaux peroxyles (ROO•)

- **ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity**

Évalue la capacité d'un antioxydant à empêcher l'oxydation induite par les radicaux peroxyles. Il s'agit d'une méthode dynamique qui reflète efficacement les conditions biologiques.

- **TRAP (Total Radical-Trapping Antioxydant Parameter)**

Évalue le volume total de radicaux peroxyles qu'un agent antioxydant est capable de neutraliser. Elle offre une évaluation globale de l'activité antioxydante.

I.3.3.2 Méthode basée sur la réduction des ions métalliques

- **FRAP (Ferric Reducin Antioxidant Power).**

Évalue le potentiel d'un composé à convertir les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Plus la réduction est significative, plus l'effet antioxydant est fort.

I.3.4 Méthodes utilisant des radicaux synthétiques stables

- **DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

Methodologie colorimétrique fréquemment utilisée : plus l'antioxydant attrape de radicaux DPPH•, plus la diminution de couleur est importante.

- **ABTS•⁻ (2,2′-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)**

Comparable au DPPH, cette évaluation apprécie la capacité anti-oxydante par le biais de la décoloration d'un radical stable ABTS•⁻. Il offre plus de polyvalence, puisqu'il est utilisable dans des phases aqueuses et lipidiques.

I.4 Généralités sur les compléments alimentaires

I.4.1 Définition d'un complément alimentaire

Selon la directive européenne 2002/46/CE, transposée en droit français par le décret n° 2006-352 du 20 mars 2006, les compléments alimentaires sont des denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal. Ils constituent des sources concentrées de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique, commercialisées sous forme de doses destinées à être consommées en faibles quantités. **[27]**

I.4.2 Composition d'un complément alimentaire

On distingue deux catégories de substances ayant un impact nutritionnel ou physiologique qui peuvent être employées dans les CAs : les nutriments, comprenant les vitamines et minéraux, les plantes et préparations à base de plantes, ainsi que les « autres substances » ayant un effet nutritionnel ou physiologique.

I.4.2.1 Vitamines et minéraux

Ces éléments sont essentiels au corps et à son fonctionnement optimal. Ils forment une famille indispensable et sont les compléments alimentaires les plus appréciés.

On peut classer les vitamines en deux catégories : les vitamines hydrosolubles (telles que la vitamine C et les vitamines du groupe B) et les vitamines liposolubles (comme la A, D, E et K). Presque toutes les vitamines sont indispensables, car l'organisme ne peut pas les produire (sauf pour la vitamine D et la vitamine K).

Tableau I.2 : Apports quotidiens recommandés pour les différentes vitamines. **[27]**

Vitamines	**A µg**	**D µg**	**E mg**	**K µg**	**B1 mg**	**B2 mg**	**B3 mg**	**B5 mg**	**B6 mg**	**B8 µg**	**B12 µg**	**B9 µg**	**C mg**
Doses journalières	800	5	30	25	4,2	4,8	Nicotinamide : 54 mg Acide nicotinique : 8 mg	18	2	450	3	200	180

La production de compléments alimentaires implique l'utilisation des vitamines suivantes : A, D, E, K, B1, B6, B12 et C, ainsi que la Niacine, l'Acide pantothénique, l'Acide folique et la Biotine. En guise d'exemple, la Vitamine B6 est incluse dans les Vitamines autorisées à être vendues en tant que supplément nutritionnel.

Les minéraux qui entrent dans la composition des suppléments nutritionnels comprennent le Calcium, le Magnésium, le Fer, le Cuivre, l'Iode, le Zinc, le Manganèse, le Sodium, le Potassium, le Sélénium, le Chrome, le Molybdène, le Fluore, le Chlore et le Phosphore.

Tableau I.3 : Liste et doses journalières maximales des minéraux pouvant entrer dans la composition des CA **[27]**

Minéraux	**Ca**	**Mg**	**Fe**	**Cu**	**I**	**Zn**	**Mn**	**K**	**Se**	**Mb**	**Cr**	**P**
Doses journalières	800 mg	300 mg	14 mg	2000 µg	150 µg	15 mg	3,5 mg	80 mg	50 µg	150 µg	25 µg	450 mg

I.4.2.2 Utilisation des plantes dans les compléments alimentaires

L'utilisation des plantes pour leurs propriétés médicinales remonte à l'Antiquité et se retrouve dans toutes les civilisations. De nombreuses plantes employées traditionnellement entrent dans la composition des compléments alimentaires.

Les plantes les plus fréquemment utilisées dans l'industrie des compléments alimentaires sont le ginseng, la guarana, le gingembre, la valériane et la verveine.

I.4.2.3 Substances à but nutritionnel ou physiologique

Il s'agit de composés chimiques qui ont des caractéristiques nutritionnelles ou physiologiques, à l'exception des vitamines et minéraux, ainsi que des substances qui ont seulement des propriétés pharmacologiques. On parle ici, par exemple, de la caféine, du lycopène et de la glucosamine.

Par ailleurs, divers additifs peuvent être incorporés lors de la fabrication des compléments alimentaires afin d'assurer leur stabilité et leur qualité. Ces substances permettent notamment de prolonger la durée de conservation, de limiter les phénomènes d'oxydation, de conférer une coloration aux produits ou encore d'améliorer leurs propriétés organoleptiques, telles que le goût.

I.4.2.4 Probiotiques

On définit les probiotiques comme des micro-organismes vivants ayant un impact bénéfique sur la santé. Ils représentent une demande croissante au comptoir de la pharmacie depuis quelques années, surtout concernant son rapport aux problèmes liés à la digestion. Le microbiote intestinal se définit comme l'ensemble des microorganismes qui vivent dans notre système intestinal.

I.4.2.5 Produits de la ruche

Dans la ruche, les abeilles génèrent diverses substances telles que le miel, le pollen, la propolis, la cire, la gelée royale et le venin qui comptent parmi leurs produits les plus remarquables.

Le miel, riche en glucides et énergétique, est assimilé par l'organisme grâce à sa forte concentration en glucose et fructose. Grâce à sa riche concentration en vitamines, glucides, minéraux et oligo-éléments, la gelée royale possède des attributs nutritifs notables. Elle est célèbre pour sa capacité à revigorer l'organisme et à restaurer la vitalité et l'énergie. La valeur nutritive du pollen, qui lui donne une utilité dans diverses circonstances, le caractérise ; que ce soit pendant la grossesse et l'allaitement, chez les seniors ou après un effort physique ou mental soutenu. Il a aussi un effet dynamisant qui s'explique par la présence d'hormones de croissance.**[28]**

I.4.3 Classification des compléments alimentaires

La catégorisation des compléments alimentaires est source de débat, car certains pays les classent comme des aliments, alors que d'autres les voient comme des médicaments. De plus, une confusion peut exister dans la classification des compléments alimentaire. Il est possible de rencontrer des classifications variées concernant les additifs alimentaires. Celon se fonde sur la nature, la catégorie et l'effet désiré des produits.

Les produits diététiques et nutritionnels peuvent être classés en plusieurs catégories, notamment:

- Les produits diététiques à usage médical ;
- Les aliments diététiques destinés à un usage vétérinaire ;
- Les aliments pour nourrissons et jeunes enfants ;
- Les compléments alimentaires.

Les produits diététiques et nutritionnels peuvent être classés en plusieurs catégories, notamment:

les aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales, les produits diététiques à usage médical, les produits diététiques destinés à un usage vétérinaire, les aliments pour nourrissons et jeunes enfants, ainsi que les compléments alimentaires.

Ces différentes catégories incluent non seulement les compléments nutritionnels, mais également d'autres types de produits tels que les substituts de repas, les aliments et boissons diététiques, ainsi que certains additifs alimentaires.

Toutefois, dans le cadre de ce travail, l'accent est principalement mis sur les compléments alimentaires. Ces derniers peuvent être classés, selon leur composition chimique, en plusieurs groupes, notamment :

- Les vitamines
- Les minéraux
- Les oligo-éléments
- Les acides aminés

Les plantes destinées à enrichir une alimentation standard ou à avoir des impacts positifs sur la santé, sont ingérées sous forme de comprimés, capsules, tablettes, poudre ou liquide. Par ailleurs, en tenant compte de toutes ces classifications, on peut catégoriser les compléments

alimentaires en fonction de leur effet désiré. « L'objectif de la composition est d'atteindre la classification la plus cohérente et nette, qui est celle que nous avons sélectionnée. » **[29]**

I.4.4 Conception et formulation d'un complément alimentaire

-L'élaboration d'une formule de CA implique la considération de divers éléments :

-Les ingrédients employés et leurs interactions lorsqu'ils sont mélangés ;

-L'anticipation des défis réglementaires ;

- Les restrictions techniques en relation avec la forme galénique choisie et la compatibilité avec les ingrédients sélectionnés ;

- Les composants requis pour la préparation d'un CA

Pour élaborer un CA performant et couronné de succès, il est essentiel d'associer trois catégories d'ingrédients qui optimisent son potentiel sur le marché des CA.

- Il s'agit d'un ingrédient reconnu ou identifié pour un bénéfice spécifique sur la santé, ce qui confère une légitimité aux recommandations formulées. Cela permet également d'identifier plus facilement son impact sur la santé.
- Il s'agit d'un ingrédient associé à une allégation pertinente, dont l'effet sur la santé a été démontré et confirmé sur le plan clinique. Les ingrédients soutenus par des données scientifiques bénéficient ainsi d'allégations particulièrement solides et fiables.
- Il s'agit d'un élément innovant et distinctif permettant de différencier un produit de ses concurrents sur le marché. Les produits présentant des effets similaires peuvent souvent contenir des ingrédients comparables, ce qui rend difficile pour le consommateur d'identifier clairement les bénéfices spécifiques de chaque formulation. L'introduction d'un nouvel ingrédient innovant, en plus de ses effets particuliers, contribue ainsi à renforcer la différenciation du produit et sa valeur ajoutée sur le marché.

Une parfaite connaissance des ingrédients et du mécanisme d'action de chacun d'entre eux est essentiel à l'élaboration d'un CA efficace. Cette compréhension est la clé pour déterminer comment les ingrédients interagissent les uns avec les autres. **[30]**

I.4.5 Réglementation des compléments alimentaires

I.4.5.1 Les réglementations européennes et françaises

Les premiers CA ont vu le jour aux États-Unis dans les années 1960 et étaient perçus comme des produits de consommation courante. Lorsque ces produits arrivent en France quelques années plus tard, ils ne sont couverts par aucun texte spécifique : Certains réclament une classification en tant que drogue, tandis que d'autres soutiennent qu'il s'agit de produits de consommation. Alors que la multiplication des CA sur le marché s'observait, il s'est avéré

indispensable d'établir un cadre réglementaire afin de prévenir l'exploitation excessive des fabricants.

Aujourd'hui, une nouvelle régulation européenne a été mise en application afin d'assurer un niveau élevé de sécurité pour la santé des consommateurs. Du développement à la mise sur le marché, un cadre légal complet s'impose aujourd'hui aux producteurs, importateurs et distributeurs. Lorsqu'ils arrivent en France, quelques Des années plus tard, il n'existe toujours aucun texte particulier qui traite de ces produits. Tandis que l'offre de CA sur le marché se multipliait, il devenait indispensable d'établir un cadre normatif pour restreindre la surexploitation de ces produits par les fabricants. Aujourd'hui, une nouvelle directive européenne a été mise en œuvre dans le but de garantir un niveau élevé de protection pour la santé des consommateurs. De la phase de conception à celle de la mise sur le marché, les producteurs, importateurs et distributeurs

I.4.5.2 Les règlementations algériennes

En Algérie, la définition des compléments alimentaires est fixée à l'article 3 du décret exécutif n° 12-214 du 23 Joumada Ethania 1433 (correspondant au 15 mai 2012), publié dans le Journal Officiel de la République Algérienne n° 30 du 24 Joumada Ethania 1433. Selon la réglementation en vigueur, les compléments alimentaires sont des sources concentrées de vitamines et de sels minéraux, seuls ou en combinaison, se présentant sous forme de gélules, comprimés, poudres ou solutions. Ils ne sont pas destinés à être consommés comme des aliments courants, mais à compléter l'alimentation afin de corriger d'éventuelles carences en vitamines et/ou minéraux. Face à la consommation croissante de ces produits et à leurs implications sur la santé publique, notamment à la suite de l'affaire dite des « RHB (Rahmat Rabi) », les autorités algériennes ont mis en place un cadre juridique et réglementaire visant à encadrer leur commercialisation. **[31]**

À cet effet, un comité interministériel regroupant des représentants des ministères du Commerce, de la Santé, de l'Agriculture et de l'Enseignement supérieur a été instauré. Ce comité a formulé plusieurs recommandations, notamment :

- La nécessité de réserver la dispensation des compléments alimentaires en officine à des professionnels qualifiés, notamment les pharmaciens, afin de garantir un conseil adapté aux consommateurs ;
- L'exigence de compétences techniques dans le domaine, incluant la maîtrise des données qualitatives et quantitatives relatives à la composition des produits ;

- L'obligation de fournir un certificat d'analyse pour tout complément alimentaire mis sur le marché ;
- Pour les produits importés, la nécessité d'une mise sur le marché préalable dans le pays d'origine, ainsi que le respect strict de la réglementation en matière d'étiquetage.

I.5 Les plans d'expériences

Le plan d'expérience est une méthode statistique utilisée pour organiser les essais expérimentaux et étudier l'effet de plusieurs facteurs sur les réponses étudiées, tout en réduisant le nombre d'expériences et en optimisant les conditions de travail. **[32-33,35-36].**

I.5.1 Les composants d'un plan d'expériences

Un plan d'expériences est une séquence d'expérimentations organisées et mises en œuvre de façon maîtrisée, dans le but d'accumuler un maximum d'informations sur l'impact de plusieurs paramètres examinés simultanément sur la réponse visée, suite à l'analyse statistique des résultats obtenus lors des expériences. **[32,35-36]**

- **Réponse :** elle se réfère à la mesure effectuée pour chaque expérience, souvent nommée variable dépendante, car ses valeurs sont affectées par un ou plusieurs éléments.
- **Facteur :** désigne toute variable, qui doit être impérativement contrôlable, pouvant avoir un impact sur la réponse observée. On identifie deux catégories de facteurs : les quantitatifs et les qualitatifs. On peut modifier ces variables expérimentales indépendamment les unes des autres. **[37-38]**
- **Champ d'analyse** : pour examiner l'impact d'un facteur, ses fluctuations sont souvent restreintes entre deux limites ou niveaux :

  -Le niveau bas est représenté par la limite inférieure

  -La limite supérieure dénote le niveau haut.

L'étude se concentre sur les niveaux élevés et bas de chacun des facteurs, ainsi que sur d'éventuelles contraintes liant ces facteurs entre eux. **[39]**

- **Surface de réponse :** chaque point du domaine d'investigation a une réponse associée, et la totalité des réponses pour tous ces points constitue un ensemble de réponses qui se positionne sur une surface nommée surface de réponse **(Fig.I.5).** Habituellement, certaines réponses sont connues et correspondent aux points expérimentaux réalisés. Au moyen du modèle mathématique élaboré, on déduit les réponses manquantes pour déterminer la surface de réponse. **[39]**

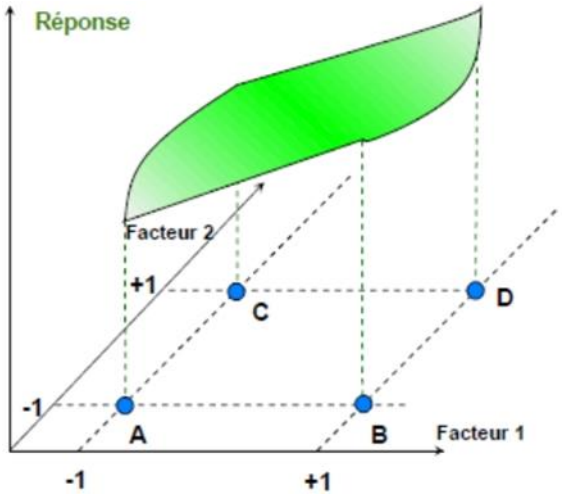


Figure I.5: Surface de réponse pour un domaine expérimental **[39]**

I.5.2 Quelques plans d'expériences

Il existe trois types de plans d'expériences : les plans de criblage, les plans de modélisation et les plans de mélange. Cependant, notre attention se portera principalement sur l'application des plans d'expériences dans le cadre de notre recherche.

I.5.2.1 Plan Plackett–Burman

Également connu sous le nom de « plan des matrices d'Hadamard », ce plan factoriel fractionnaire à deux niveaux a été élaboré par Plackett et Burman en 1946**[35-36].** Il convient lorsque plus de cinq variables indépendantes doivent être examinées**[35,40].** Cette méthode offre la possibilité d'évaluer n variables à travers N=n+1 expériences, étant donné que N doit être un multiple de 4, comme par exemple 8, 12, 16, 24, et ainsi de suite. Ainsi, les variables indépendantes pouvant être examinées par cette technique vont de 7 à 99 en augmentant par intervalles de 4, soit 7, 11, 15, 19, 23, etc. **[32,35-36,40]**

Ce modèle est extrêmement pratique pour identifier de manière économique (en réduisant le nombre d'expériences) les effets principaux, en présumant que toutes les interactions sont négligeables lorsqu'on compare certains effets significatifs et importants. **[32,35-36]**

Les plans de Plackett-Burman sont généralement saturés, c'est-à-dire qu'ils contiennent autant d'essais que de paramètres à définir dans le modèle mathématique. Il s'agit d'un modèle sans interaction de premier degré. **[35-36,39]**

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i$$

Où

Y : est la réponse,

β0 : est une constante,

βi : est un coefficient linéaire

Xi : est le niveau du facteur codé.

I.5.2.2 Plan factoriel complet

Dans le domaine de la statistique, on désigne un plan impliquant deux facteurs ou plus, où chaque facteur interagit à divers niveaux, comme un plan factoriel complet. Il analyse l'impact des éléments et l'interaction entre eux sur la réaction. Pour un plan factoriel complet de n facteurs, où chaque facteur a a niveaux, le nombre d'essais est an. Le plan factoriel complet le plus fréquemment employé est le plan à deux niveaux (s'appuyant aussi sur les matrices d'Hadamard), que l'on peut symboliser par 2n. **[35-36]**

Il est possible d'utiliser un modèle polynomial adéquat pour expliquer les effets des facteurs analysés sur la réponse, puis de l'optimiser si besoin.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{1 \le i \le j}^{k} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Où **βij :** représente les coefficients des paramètres d'interaction.

I.5.2.3 Plan composite centré

Box et Wilson ont élaboré en 1951 un plan factoriel fractionnaire à cinq niveaux. Cela se compose de trois sections : (1) Une planification factorielle exhaustive 2n (parfois fractionnée) où les facteurs ont deux niveaux, (2) un point expérimental positionné au cœur du champ d'étude et qui est reproduit pour affiner la précision de l'expérience, (3) des points axiaux. Ces éléments se trouvent sur les axes de chaque facteur, à une distance α identique du centre du domaine expérimental, et leur quantité équivaut au double de celle des facteurs utilisés dans la conception. **[32,35-39]**

La Fig.I.6 illustre un plan combiné pour deux facteurs. Les points expérimentaux sur le plan 22 sont A, B, C et D. Le point E représente le centre. On peut reproduire ce point une ou plusieurs fois. Les points axiaux sont F, G, H et I. Ces quatre derniers éléments constituent ce qu'on nomme le plan en étoile. Il faut effectuer 9 tests en tout pour déterminer 6 coefficients non connus.

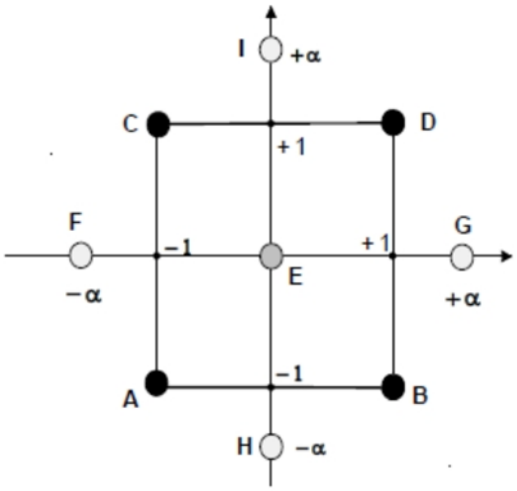


Figure I.6 : Plan composite pour deux facteurs **[39]**

On peut déterminer le nombre d'expériences pour le CCD en utilisant la formule ci-après : N = k2 + 2k + cp, avec k représentant le nombre de facteurs et (cp) indiquant le nombre de répétitions du point central**[37,39].** Cependant, plusieurs équations peuvent servir à calculer la valeur de α. Elle se base sur le nombre de points au centre, le nombre de points dans le plan factoriel et le nombre de points dans le plan en étoile**.[37].** On identifie diverses variantes du plan composite centré : CCD isovariant, CCD à face centrée, CCD quasi-orthogonal et CCD équiradial. Ces variantes se différencient par le nombre d'expériences requises et les niveaux des facteurs analysés (valeur de α). **[38]**

On propose généralement le modèle polynomial de degré deux pour illustrer les impacts de différents éléments sur la réponse, en se référant aux données expérimentales. Le modèle est comme suit :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{1 \le i \le j}^{k} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Où y est la réponse, β0, βi, βii et βij sont les coefficients de régression de termes constant, linéaires, quadratiques et d'interaction respectivement, Xi et Xj sont les niveaux de facteurs codés et ε est le résidu associé aux expériences. **[37]**

Les plans composites se prêtent idéalement à une acquisition graduelle des résultats, s'insérant aisément après un premier plan factoriel dont les résultats ne sont pas suffisamment explicables par un modèle de premier degré. Il est nécessaire de réaliser les tests correspondant aux points en étoile (zone axiale) et de recomposer les calculs pour l'ensemble des expériences.**[38-39]**

Un des bénéfices du CCD est qu'il diminue le nombre d'expériences nécessaires pour une recherche comportant un grand nombre de facteurs et de niveaux, tout en fournissant des résultats comparables ainsi que les interactions appropriées entre les facteurs. **[32,35]**

En outre, le CCD a la capacité de produire des prévisions de qualité supérieure dans l'analyse des effets linéaires, quadratiques et interactifs des facteurs qui affectent un système. En comparaison avec le plan Box–Behnken (BBD), le CCD offre une valeur d'erreur standard résiduelle plus basse et un coefficient de détermination R2 supérieur. Donc, le CCD anticipe des données plus exactes en comparaison à l'expérience concrète et est reconnu comme la conception expérimentale la plus largement adoptée pour les modèles de second ordre. **[35]**

I.5.2.4 Méthodologie de surface de réponse (RSM)

L'objectif principal de la méthodologie de surface de réponse (RSM), développée par Box et Wilson en 1951, est d'optimiser les processus en utilisant diverses techniques statistiques et mathématiques basées sur les données expérimentales recueillies **[32,35,37,41]**. L'appellation RSM découle de la visualisation graphique produite suite à l'ajustement du modèle mathématique. **[32,37,41]**

Cette approche permet d'identifier comment une réaction précise est influencée par des modifications des niveaux de facteurs en comparaison aux niveaux d'intérêt définis, et de mener une évaluation quantitative du comportement du système dans la zone examinée **[32].** Dans le but de réaliser l'objectif de la RSM, on emploie des fonctions polynomiales linéaires ou quadratiques pour modéliser le système analysé. Cela permet d'explorer (c'est-à-dire, de modéliser et déplacer) les conditions expérimentales jusqu'à parvenir à leur optimisation. **[37]**

I.6 La définition du plan de mélange

C'est un élément mathématique représenté sous forme de matrice, ayant autant de colonnes que de facteurs (m) et autant de lignes que d'expériences (n), niveaux ou modalités sélectionnés pour l'expérimentation. Dans cette matrice, l'élément xij fait référence au niveau du jème facteur lors de la ième expérience. **[42]**

I.6.1 L'intérêt

Dans le cadre des recherches et développements industriels, on utilise fréquemment des plans de mélange. Ils agissent dans divers secteurs industriels.

Leur réussite découle de la capacité à interpréter les résultats expérimentaux avec un minimum d'effort expérimental : La réduction du nombre d'expériences requises conduit à des économies de temps et de coûts financiers **[43].**

- arriver rapidement aux meilleurs résultats possibles.
- éviter de réaliser des expériences inutiles.
- obtenir la meilleure précision possible sur les résultats.
- permettre d'avancer à coup sûr.
- établir la modélisation du phénomène étudié.
- découvrir la solution optimale**[44]**

I.6.2 La représentation géométrique des mélanges

I.6.2.1 Les mélanges à 2 constituants :

Pour un mélange de deux constituants on obtient 5 mélange : (0, 100), (25, 75), (50, 50), (75,25), (100,0) se qui expliqué dans la figure n°4

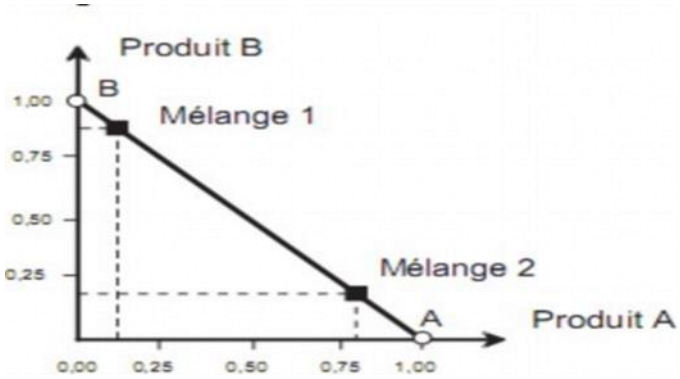


Figure I.7 : les compositions des mélanges à deux constituantspar les points de segment de droite AB **[45]**

Le modèle mathématique est présenté comme suit : $Y= b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2$

I.6.2.2 Les mélanges à 3 constituants

On utilise un triangle équilatéral pour représenter les mélanges à 3 composants.

Les produits purs sont aux sommets du triangle équilatéral, les mélanges binaires sont représentés par les cotés du triangle, un point de la surface intérieure du triangle équilatéral représente un mélange tertiaire et les compositions de chaque produit se lisent sur les cotés du triangle.

Les propriétés géométriques du triangle équilatéral assurent que la contrainte fondamentale des mélanges est bien respectée.

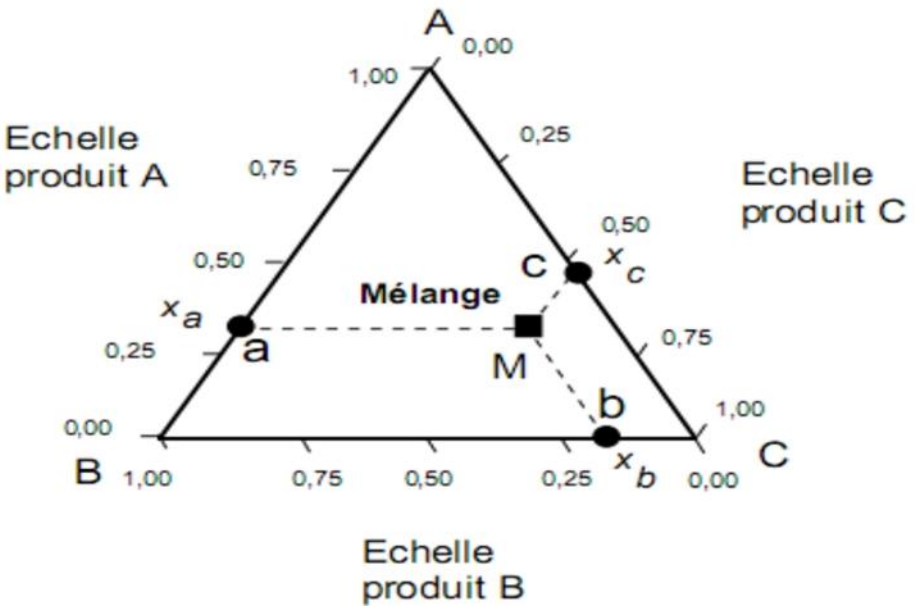


Figure I.8 : Représentation des mélanges à trois constituants sur un triangle équilatéral **[45]**

Le modèle mathématique est présenté comme suit :

$$Y= b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_{12} x_1x_2 + b_{13} x_1x_3 + b_{23} x_2x_3 + b_{123} x_1x_2x_3$$

La validation de se model S'effectue comme suit :

$$Y= b_1(1/3) + b_2 (1/3) + b_3 (1/3) + b_{12} (1/9) + b_{13} (1/9) + b_{23} (1/9) + b_{123} (1/27).$$

I.6.2.3 Les mélanges à 4 constituants

Les quatre produits purs se trouvent aux sommets d'un tétraèdre régulier. Les extrémités du tétraèdre illustrent les mélanges binaires. Les faces du tétraèdre, qui sont des triangles équilatéraux, illustrent les mélanges ternaires. Les points qui représentent les mélanges quaternaires se situent à l'intérieur du volume du tétraèdre. Les compositions d'un mélange sont déterminées en projetant le point représentant ce mélange sur les surfaces et les arêtes du tétraèdre.

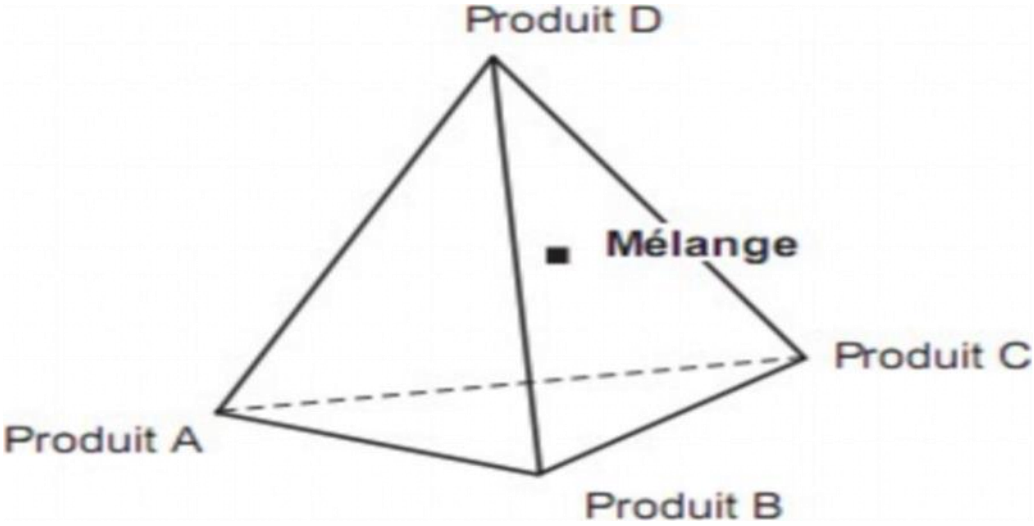


Figure I.9 : représentation des mélanges à quatre constituants par un tétraèdre régulier **[45]**

Le modèle mathématique est présenté comme suit :

$Y= b_1 x_1 + b_2 b_2 + b_3 x_3 + b_4 x_4 + b_{12} x_1x_2 + b_{13} x_1x_3 + b_{14} x_1x_4 + b_{23} x_2x_3 + b_{24} x_2x_4 + b_{34} x_3x_4 + b_{1234} x_1x_2x_3x_4$

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1 Matériels et produits

II.1.1 Produits utilisés

L'ensemble des produits utilisés pour la réalisation du présent travail est donné dans le **Tableau II.1**

Table II.1 : Les réactifs utilisés et leurs rôles.

Produits	Formule chimique	Rôle/ utilisation
Hydroxyde de potassium	KOH	Détection des métabolites secondaires.
Hydroxyde de sodium	NaOH	Détection des métabolites secondaires (anthocyanes).
Eau distillée	H_2O	Solvant principal pour dissoudre les réactifs et préparer les solutions.
Éthanol	C_2H_5OH	Solvant principal pour dissoudre les réactifs et préparer les solutions Solvant utilisé pour préparer la solution de DPPH
DPPH	$C_{18}H_{12}N_5O$	Radical libre utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits et des nanoparticules.
ether de pétrole	R-O-R'	Solvant principal pour dissoudre les réactifs
Chlorure d'aluminium	$AlCl_3$	Détection des métabolites secondaires (Flavonoïdes).
Chlorure ferrique	$FeCl_3$	Détection des métabolites secondaires (Tanins).
Acide sulfurique	H_2SO_4	Détection des métabolites secondaires (Terpènes).
Chloroforme	$CHCl_3$	Détection des métabolites secondaires (Terpènes).
Acide chlorhydrique	HCl	Détection des métabolites secondaires (Glycosides)
Sulfate de cuivre	$CuSO_4$	Détection des métabolites secondaires (Protéines)

II.1.2 Préparation des poudres de plantes

- Placer la plante dans le mortier.
- Réduire la matière en poudre fine.
- Passer la poudre obtenue à travers un tamis de diamétre appropriée pour obtenir des particules uniformes.
- Recueillir la poudre tamisée dans un récipient propre.
- Les particules trop grosses peuvent être repassées au broyeur.

- Placer la poudre tamisée dans un flacon hermétique.
- Conserver dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.

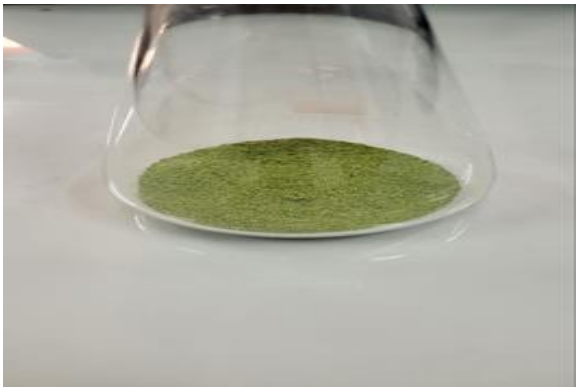


Figure II.1 : La poudre de plante.

II.1.3 Préparations des extraits

La préparation des extraits à partir des feuilles de *Globularia alypum* a été réalisée par la méthode de macération à froid. Des quantités de10g de la matière végétale ont été extraites à l'aide de 100 ml de trois solvants (eau, éthanol, éther) avec une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière afin d'éviter les phénomènes d'oxydation. Après extraction, chaque mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre. Une deuxième extraction a été effectuée dans les mêmes conditions afin d'obtenir un maximum de substances actives.



Figure II.2 : L'extrait de plante.

Le tableau II.2 présente les différents solvants utilisés pour les extractions

Table II.2 : Les différents solvants utilisés pour l'extraction des extraits

N° Exp	Eau distillée	Ethanol	Ether
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	0,5	0,5	0
5	0,5	0	0,5
6	0	0,5	0,5
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333

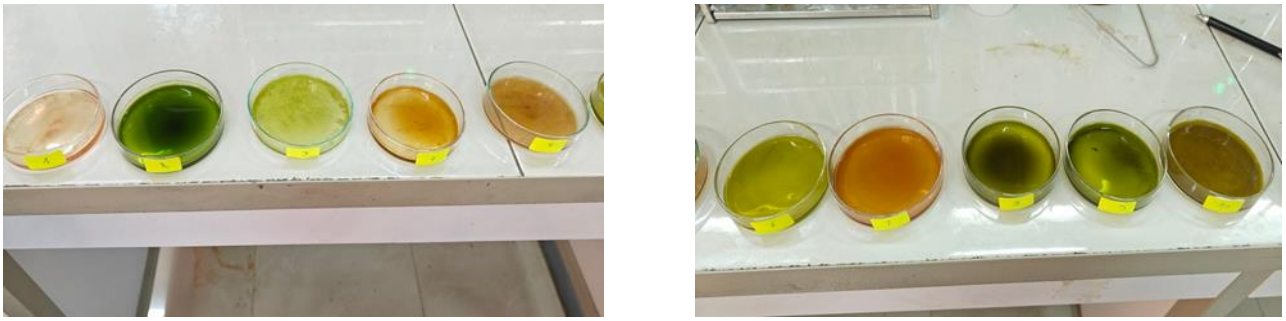


Figure II.3: Les différents extraits préparer.

II.1.4 Préparations des extraits sec

Les filtrats obtenus ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) à 48°C sous pression réduite, afin d'éliminer le solvant de manière progressive.

L'évaporation a été poursuivie jusqu'à disparition complète du solvant et obtention d'un extrait sec. L'opération a été réalisée pour l'ensemble des échantillons, soit 10 extraits préparés dans les mêmes conditions expérimentales.

Les extraits secs obtenus ont été récupérés soigneusement, puis pesés afin de déterminer la masse finale de chaque extrait.

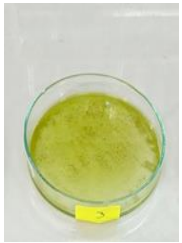
Enfin, les extraits ont été conservés dans des flacons hermétiques, à l'abri de la lumière et à basse température jusqu'à leur utilisation ultérieure.



Figure II.4 : Evaporation des extraits

Le tableau suivant présente les différents extraits secs préparer

Tableau II.3 : Les différents extraits sec.

EXT	Photographe	EXT	Photographe
1		6	
2		7	
3		8	

4		9	
5		10	

II.1.5 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'une extraction correspond à la proportion entre la masse de l'extrait sec et celle de la matière végétale en poudre employée. Il est déterminé en termes de pourcentage selon la formule ci-dessous : **[46]**

$$\mathbf{R\ (\%) = (ms\ /\ mp) \times 100\%}$$

Où

ms : poids de l'extrait sec en gramme (g)

mp : poids de la poudre en gramme (g)

II.2 Screening phytochimique

Ce test est employé pour effectuer une analyse qualitative, s'appuyant sur des réactions de coloration, précipitation, mousse et fluorescence. On utilise des agents spécifiques pour identifier la présence ou l'absence de certaines molécules ou ensembles de molécules dans un échantillon particulier. Les résultats établissent la présence et/ou l'absence, mais ne fournissent pas d'indication sur leur concentration.

(+) test positif, indiquant la présence du groupement chimique.

(-) test négatif indiquant son absence.

A-Test des Polyphénols

- 2 mL d'extrait + quelque goutte de $FeCl_3$ 5 %

Résultat attendu : Apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée**[47]**

B-Test des Anthocyanines

- 5ml de l'extrait + 5 ml acide sulfurique 10 % + quelques gouttes de NH_4OH

Résultat attendu : Apparition d'une coloration bleu ou violé **[47]**

C-Test des Flavonoïdes

- Quelque mL d'extrait + 5 mL (EtOH) + 1 mL de HCI + 5 mg copeaux de magnésium + attendre l ou 2 min

Résultat attendu ; Apparition d'une coloration rouge ou marron foncé **[47]**

- Ou Ajouter 1 ml de NaOH à 10 % à 1 ml d'extrait.

Résultat attendu : Une coloration jaune intense révèle la présence de flavonoïdes

- Ajouter à 5 ml du filtrat, 2,5 ml de $C_5H_{11}OH$. Si la phase alcoolique présente en haut du tube à essai se colore en jaune ceci implique la présence des flavonoïdes libres.
- Evaporer la phase alcoolique du test précédant sous vide dissoudre le précipité dans 3 ml d'HCl en chauffant légèrement pendant 2 minutes, refroidir puis ajouter 2,5 ml de $C_5H_{11}OH$, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de glycosides flavones.

D-Test des Tanins

- 1 mL d'extrait + 1 mL de H_2O + quelques gouttes de $FeCl_3$ 1 %

Résultat attendu : Apparition d'une Coloration verdâtre ou bleu noirâtre **[47]**

E-Test des Terpènes et Stérols

- 5 mL extrait + 1 mL H_2SO_4

Résultat attendu : Apparition d'une Coloration Rouge avec coloration brun rougeâtre à l'interphase (un anneau rouge brun) **[48]**

F-Test des glycosides

- Ajouter 1 ml d'extrait à 2 ml de chloroforme, puis quelques gouttes d'H_2SO_4 concentré.

Résultat attendu : Une coloration brun rougeâtre indique la présence de glycosides **[49]**

G-Test des protéines

- Ajouter 2 ml de NaOH à 20 % et 2 à 3 gouttes de $CuSO_4$ à 2 % à 1 ml d'extrait.

Résultat attendu : Une coloration violette (parfois rougeâtre) indique la présence de protéines **[47]**

H-Détection des saponosides

- On immerge 2g de l'extrait en poudre de nos plantes dans 80ml d'eau distillée pendant quelques minutes, puis on filtre et on agite. **[50]**

Résultat attendu : L'apparition de mousse persistante dans le milieu prouve la présence de saponines

I-Détection des anthraquinones libres

- Dans un tube à essai, on introduit 1 ml de la solution extractive avec 1 ml d'Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) puis on agite. **[51]**

Résultat attendu : Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres

J-Détection des quinones

- Dans un bécher, on ajoute 2g de la poudre avec 2 ml de HCl + 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Le filtrat a été agité avec 5 ml d'ammoniaque. **[52]**

Résultat attendu : Lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones

K-Détection des coumarines

- Une quantité de 10g de la poudre végétale est mélangé avec 20ml d'éthanol pendant 2 à 3 heures. Après filtration, à 2,5ml du filtrat, 2,5 ml du KOH (10%) et 2,5ml d'HCl (10%) sont ajoutés. **[53]**

Résultat attendu : L'apparition d'un précipité brun révèle la présence des coumarines

L-Détection des stérols

- Dans un bécher, on ajoute 2,5 ml de l'extrait à analyser ; 2,5 ml d'anhydride acétique, puis 2,5 ml de chloroforme. Ensuite, 0,5 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) est versé au fond du bécher avec une pipette et le mélange est laissé reposer pendant 20 minutes. **[53]**

Résultat attendu : L'anneau brun rouge formé dans la zone de contact des deux liquides et la couleur violette de la couche surnageant indiquent la présence de stérols

M-Détection des terpénoïdes

- Dans un tube à essai, 2,5 ml d'extrait dans 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. **[53]**

Résultat attendu : La formation d'un anneau brun rougeâtre en interphase indique la présence de terpénoïdes

N-Huiles essentielles

- 1 g de matériel végétale a été introduit dans 10 ml de dichlorométhane puis l'extrait a été évaporé à sec. Le résidu a été ensuite dissous dans 3 ml d'éthanol. Puis, la solution a été évaporée à sec de nouveau **[54]**

Résultat attendu : La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles.

II.3 Analyse quantitative des extraits

L'évaluation quantitative des extraits de plantes a été axée sur l'identification du total des polyphénols et des flavonoïdes. Ces dosages ont été effectués à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible en utilisant des méthodes colorimétriques spécifiques, ce qui permet d'évaluer la concentration en composés phénoliques de ces extraits.

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

L'évaluation des polyphénols totaux a été effectuée par spectrophotométrie, en utilisant une réaction d'oxydoréduction colorimétrique qui fait appel au réactif de Folin-Ciocalteu comme agent oxydant.Ce produit chimique est constitué d'un assemblage d'acide phosphotungstique (HPW::O) et d'acide phosphomolybdique (HPMo1:O40). En présence de composés phénoliques, il se transforme en oxydes de tungstène et de molybdène, qui sont à l'origine d'une coloration bleue distinctive dont l'intensité est proportionnelle au niveau de polyphénols présent dans l'extrait végétal étudié. **[55]**

- **Mode opératoire**

Dans cette recherche, l'évaluation du contenu total en polyphénols a été réalisée en suivant la technique de **[56]**. Chaque extrait, d'un volume de 200 ul, est combiné avec 1 ml du réactif Folin Ciocalteu (0,1N), puis on ajoute 0,8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75 g/1. Par la suite, le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant une heure. Un témoin est élaboré dans des conditions identiques en substituant l'extrait par 200 µl du solvant d'extraction. L'absorbance est déterminée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre UV-VIS, et chaque évaluation est effectuée trois fois. Les résultats sont présentés en mg EAG/g MS selon la courbe de calibration basée sur l'acide gallique. **[57]**

- **Préparation du courbe étalon d'acide gallique**

En partant d'une solution mère d'acide gallique (1 mg/mL dans de l'eau distillée), on prépare plusieurs solutions standards de concentrations connues par une dilution appropriée.

L'évaluation a été effectuée en se basant sur la courbe standard illustrée dont l'équation est $y = 8,265x – 0,0154$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9951$.**[58]**

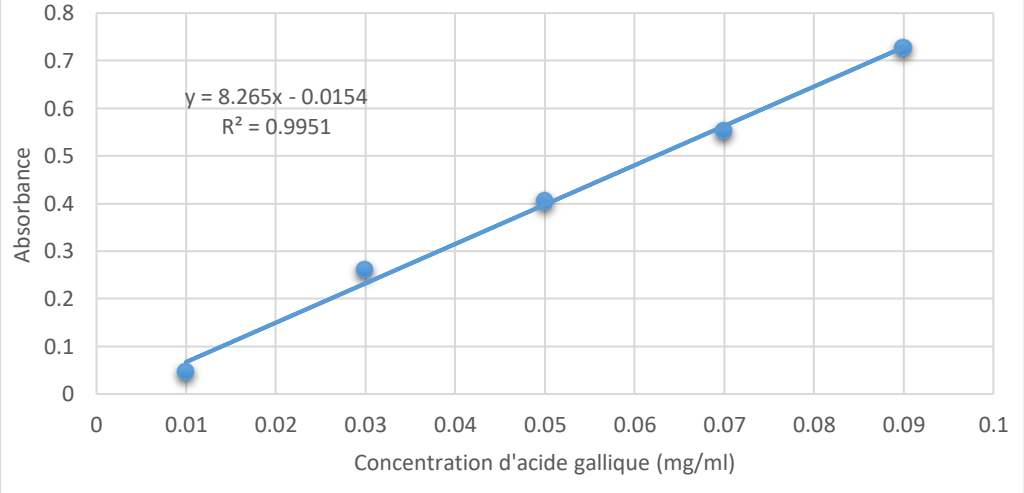


Figure II.5 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

L'évaluation des flavonoïdes se base sur la création d'un composé coloré résultant de la réaction entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Lorsqu'ils sont exposés au nitrite de sodium ($NaNO_2$), les flavonoïdes réagissent de sorte à favoriser l'établissement du complexe avec l'$AlCl_3$, conduisant ainsi à la création d'un complexe de couleur allant du jaune à l'orange. L'introduction d'hydroxyde de sodium (NaOH) rend l'environnement alcalin, ce qui intensifie la couleur et stabilise le complexe créé. La courbe d'étalonnage est construite en utilisant la quercétine comme standard de référence. La force de la couleur produite est proportionnelle à la teneur en flavonoïdes de l'échantillon, et elle est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 510 nm. L'expression des résultats se fait en milligrammes de quercétine équivalente par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS), conformément à la méthode spécifiée. **[59]**

- **Mode opératoire**

500 microlitres de l'extrait dilué sont introduits dans un tube destiné à l'hémolyse. À l'instant initial, on incorpore 150 microlitres de $NaNO_2$, soit 5% du mélange. Au bout de cinq minutes, on incorpore 150 microlitres d'$AlCl_3$ à 10 %. Après une incubation de six minutes à température ambiante, on incorpore 500 microlitres de NaOH et on combine minutieusement l'ensemble. On détermine l'absorbance directement à 510 nm en comparaison avec le témoin (sans échantillon). **[59]**

Les résultats sont présentés en mg EQ/g MS, basés sur la courbe d'étalonnage employant la quercétine.

- **Préparation du courbe étalon de la quercétine**

En diluant correctement une solution mère de quercétine (1 mg/mL dans de l'eau distillée), on prépare plusieurs solutions étalons ayant des concentrations connues.

L'évaluation a été effectuée en se basant sur la courbe standard illustrée, dont l'équation est $y = 3,4644x + 0,0181$, présentant un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9942$. **[60]**

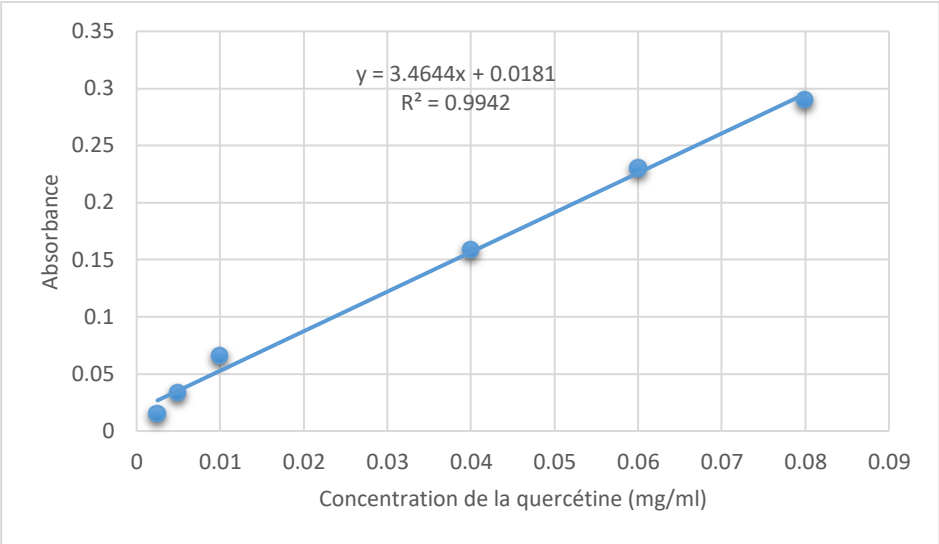


Figure II.6 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

II.4 Analyses physico-chimiques

II.4.1 Détermination de pH :

On a introduit 10 grammes de l'échantillon broyé dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir une préparation bien homogène**.[61]**. On détermine le pH à une température ambiante de 25°C à l'aide d'un pH-mètre (PH-009-A, stylo pH-mètre).**[62].** Avant la mesure, le pH-mètre a été étalonné avec des solutions tampons de pH 4,0 et 7,0. **[63]**

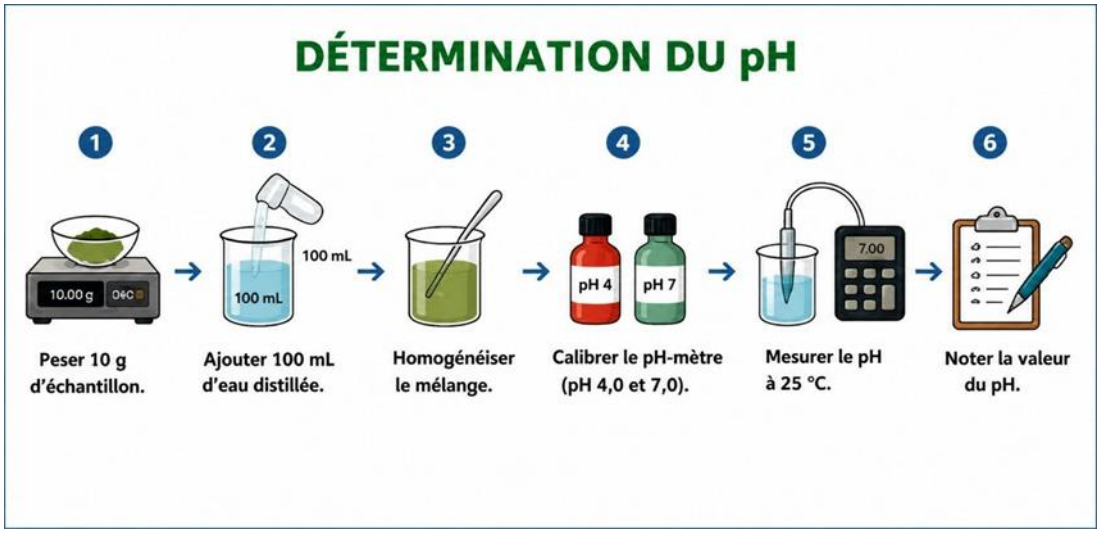


Figure II.7: Détermination de pH

II.4.2 Acidité tittrable

L'extraction des acides totaux a été effectuée dans l'eau, et leur détermination a été réalisée en suivant la méthode de titrage établie par l'A.O.A.C. (2005).**[64].** L'acidité est déterminée par l'extraction des acides, suivie de leur titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N, en ayant recours à la phénolphtaléine comme indicateur. **[65]**

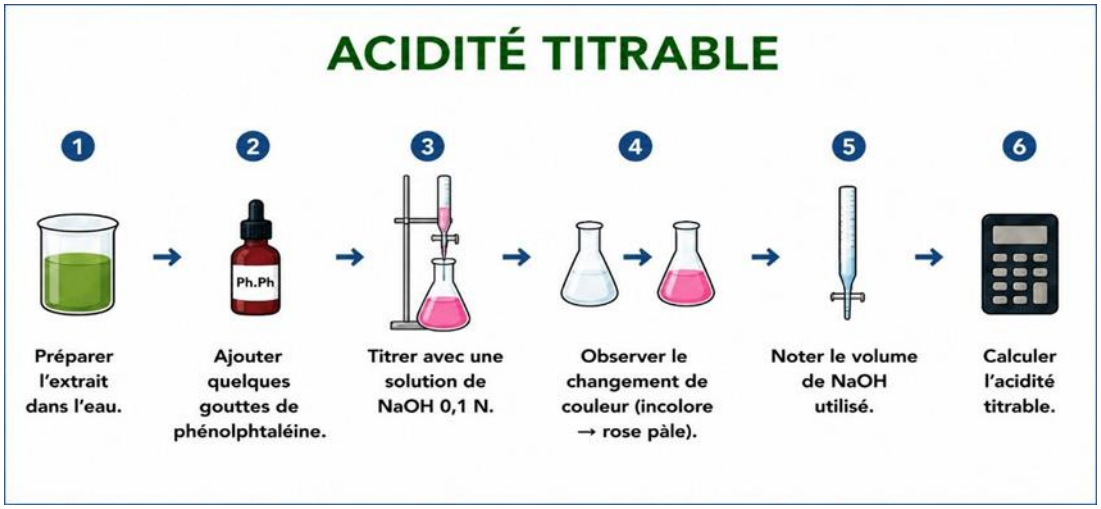


Figure II.8: Détermination de d'Acidité

II.4.3 Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité peut servir d'indicateur de qualité du produit, puisqu'il repose spécifiquement sur la manière dont le produit est entreposé.**[62].** On détermine la teneur en humidité en diminuant la quantité d'humidité perdue après 24 heures à 105 ± 3°C. **[66].**

- **Mode opératoire :** selon (Afnore ,1982).

Dans un four, les capsules vides sont d'abord séchées pendant 15 minutes à une température de 103 ± 2 °C. Leur poids est déterminé après avoir été refroidis dans le dessiccateur. Par la suite, chaque capsule est garnie d'un gramme de *Globularia alypum*, avant d'être mise dans le four à une température identique pendant trois heures. Après ce laps de temps, les capsules sont retirées, déplacées vers le dessiccateur et pesées une fois refroidies. On répète ce processus jusqu'à l'obtention d'un poids stable.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante : **[67]**

$$H(\%) = [(m - m')/m] \times 100\%$$

Où ;

H : Humidité.

m: masse de l'échantillon avant séchage.

m′: masse de l'échantillon après séchage



Figure II.9: Détermination du taux d'humidité

II.4.4 Détermination de taux de cendres

La détermination est réalisée en insérant l'échantillon dans un four à moufle à 550°C jusqu'à obtenir une cendre blanchâtre de poids stable jusqu'a quan obtient une cendre blanchatre.

$$\textbf{Calcule : } Tc\ (\%) = [(m - m')/E] \times 100\%$$

Où ;

*T*c : taux de cendre.

m : masse finale (creuset + cendres totales).

m′: masse du creuset vide.

E : prise d'essai de la matière.



Figure II.10 : Détermination du taux de cendres

II.4.5 Teneur en fibre (cellulose)

- **Principe**

La méthode consiste à éliminer les composés solubles de l'échantillon par digestion acide puis basique. Le résidu obtenu correspond principalement aux fibres cellulosiques. Après séchage et incinération, la différence de masse permet de calculer la teneur en fibres exprimée en pourcentage.

- **Mode opératoire**

- Peser le creuset lorsqu'il est vide. Prenez note de la masse.

-Digestion acide : Faites bouillir 2g de l'échantillon dans 150ml d'H_2SO_4 : 0.13mol/l pendant une demi-heure, puis filtrez et rincez à l'eau chaude trois fois.

-Digestion basique : Faites bouillir le résidu filtré dans 150 ml de NaOH à 0,23 mol/l pendant une demi-heure, filtrez-le et lavez-le avec de l'eau chaude trois fois.

-Etuvage : Après avoir filtré le résidu de la digestion, celui-ci a été étuvé pendant une heure à 130°C avant d'être pesé.

- Incinération : Placez dans le four à 550°C pendant une heure, puis effectuez la pesée.

Formule et effectue le calcul :

$$C= (b-c) /m \times 100$$

C : cellulose exprimée en %

b : prise d'essai en g

c : perte de masse à l'étuvage**.**

m : perte de masse à la calcination

II.4.6 Teneur en matière grasse

- **Mode opératoire**

Extraction : on introduit 2g de l'échantillon dans un volume d'éther de pétrole, puis on le laisse reposer pendant plusieurs heures ou une nuit.

Distillation : Distillation de l'éther de pétrole en utilisant un rota-vapeur.

Etuvage : étuvez le ballon avec son résidu pendant une heure, puis pesez-le à chaque fois jusqu'à ce que le poids soit constant.

Formule et effectue le calcul :

$$MG = (m- m_0) / Pe \times 100$$

MG : Matière grasse exprimé en %.

m : masse du ballon avec résidu.

m_0 : masse du ballon vide.

Pe : masse de la prise d'essai.



Figure II.11 : Unité d'extraction Soxhlet

II.5 Evaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH

- **Principe de la méthode**

L'évaluation de l'activité antioxydante de divers extraits a été réalisée en utilisant le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), qui repose sur la transformation colorimétrique du radical libre stable, allant du violet au jaune. Le standard de référence utilisé était l'acide ascorbique. **[68]**

- **Protocole**

L'évaluation de l'activité antioxydante s'effectue en utilisant la méthode DPPH. À cette fin, une série de dilutions de l'extrait végétal est réalisée dans du méthanol avec les concentrations suivantes :25, 50, 100, 200, 400 et 600 µg/ml. On introduit 1 ml de l'extrait dans chaque tube à essai, auquel on ajoute 1 ml de la solution DPPH (0,1 mM dans le éthanol).

Pour le témoin négatif, on ajoute 1 ml de méthanol à 1 ml de solution de DPPH sans l'extrait, tandis que le témoin positif renferme un antioxydant de référence (Acide ascorbique). Tous les mélanges sont placés en incubation pendant 30 minutes à température ambiante et dans l'obscurité. On mesure ensuite l'absorbance à 517 nm pour évaluer la capacité antioxydante.**[68]**

L'équation suivante est utilisée pour calculer le taux d'inhibition du radical DPPH (ou taux de piégeage).

Inhibition (%) = [(AControl-AExtrait) / AControl] x 100

A Control : Absorbance mesurée contenant uniquement DPPH.

A extrait : Absorbance de la solution réactionnelle contenant le DPPH et l'extrait.

II.6 Evaluation de l'activité antioxydant en utilisant le test L'ABTS

Ce test évalue la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS●+ qui présente une couleur bleu-vert. Ce cation radicalaire se forme à la suite de l'oxydation de l'ABTS, qui est initialement incolore, en présence de divers composés tels que le phosphate de potassium (KH_2PO_4). Par conséquent, la réaction s'effectue en deux phases :

Dans la première phase, un électron est arraché à un atome d'azote de l'ABTS, générant ainsi le radical ABTS●+.

La seconde a lieu en présence d'antioxydant libérant H●, le radical d'azote impliqué capture un H●, menant à la formation de l'ABTS-H+, ce qui provoque la décoloration de la solution.

L'ABTS•+ a été généré par la réaction de 7 mM d'ABTS en eau avec 2,45 mM de persulfate de potassium, puis conservé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 12 heures. L'ABTS commence à s'oxyder tout de suite, mais l'absorption ne atteint pas son pic et se stabilise après une durée de 6 heures. Le cation radical a conservé sa stabilité dans cet état, à température ambiante et dans l'obscurité, pendant plus de 2 jours. Avant son utilisation, l'ABTS a été dilué afin d'obtenir une absorbance de 0,708 ± 0,025 à 734 nm en utilisant de l'éthanol. Par la suite, 1600 µl de la solution de L'ABTS•+ ont été ajoutés à 400µl de la solution d'extrait dissout dans l'éthanol à différentes concentrations. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm **[69]**.

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à une absorbance à blanc de l'éthanol. La capacité de piégeage de L'ABTS•+ a été calculée en utilisant l'équation suivante:

Inhibition (%) = [(AControl-AExtrait) / AControl] x 100

L'expression des résultats (CI_{50}) sont déterminées sur le même mode que celui décrit pour le test DPPH.

II.7 Optimisation de l'extraction par plan de mélange

Dans cette étude, nous avons utilisé un plan de mélange (Plan de mélange) afin d'optimiser le système d'extraction des composés bioactifs de ***Globularia alypum***. Cette approche expérimentale a permis d'évaluer l'effet de différentes proportions d'eau distillée, d'éthanol et d'éther de pétrole sur les réponses étudiées. Les résultats obtenus concernent le rendement d'extraction, la teneur en polyphénols totaux et la teneur en flavonoïdes. L'utilisation du plan de mélange a ainsi permis d'identifier les combinaisons de solvants les plus favorables à l'extraction de ces composés d'intérêt.

Chapitre III : Résultats et discussion

Dans cette partie, nous présentons les résultats obtenus à partir des différents analyses réalisées sur les extraits végétaux. Ces résultats concernent les paramètres physico-chimiques ainsi que les activités biologiques, notamment l'activité antioxydante.

III.1 Résultats des rendements d'extraction

Le tableau suivant présente les différents rendements d'extraction obtenus pour les extraits de *Globularia alypum* préparés avec plusieurs mélanges de solvants à différentes proportions. Ces résultats permettent d'évaluer l'influence de la composition du solvant sur l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs de la plante.

Tableau III.1 : Résultats des rendements d'extraction pour les différents extraits

N° Exp	Eau distillée	Ethanol	Ether	Rendements d'extraction (%)
1	1	0	0	**19,4 %**
2	0	1	0	**19,8 %**
3	0	0	1	**7,4 %**
4	0,5	0,5	0	**28,8 %**
5	0,5	0	0,5	**20 %**
6	0	0,5	0,5	**12,8 %**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**25 %**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**22,6 %**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**7,6 %**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**23,4 %**

La figure III.1 représente les résultats du rendement d'extraction (%) des différents extraits de ***Globularia alypum*** préparés à l'aide de différents solvants et à différentes proportions, dans le but d'étudier l'effet de la nature et de la polarité du solvant sur l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs présents dans la plante.

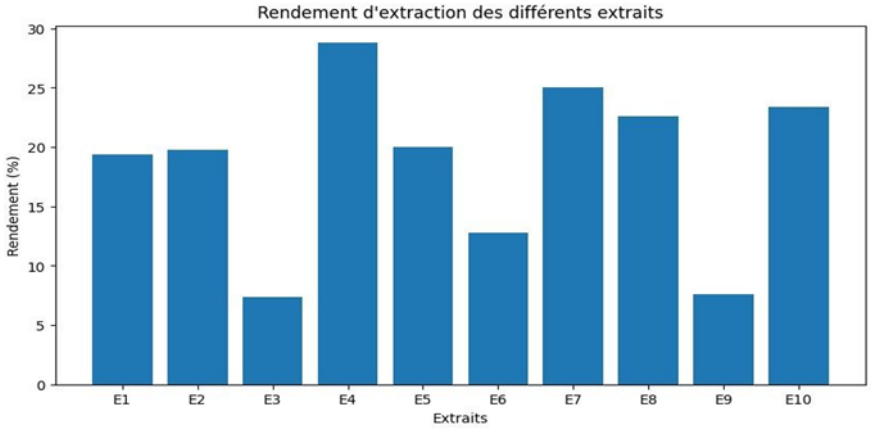


Figure III.1 : Résultats des rendements des dix extraits

L'analyse des rendements d'extraction des dix extraits de ***Globularia alypum*** montre des différences importantes selon la composition des solvants utilisés.

L'extrait 04 (50 % eau + 50 % éthanol) a présenté le rendement le plus élevé avec 28,8 %, ce qui indique que le mélange hydroalcoolique favorise fortement l'extraction des composés bioactifs polaires et semi-polaires.

L'extrait 07 a enregistré un rendement important de 25 %, suivi de l'extrait 10 avec 23,4 % et de l'extrait 08 avec 22,6 %. Ces résultats montrent que les mélanges de solvants contenant de l'eau et de l'éthanol améliorent généralement l'efficacité de l'extraction.

Les extraits 05 et 02 ont montré des rendements intermédiaires avec respectivement 20 % et 19,8 %, alors que l'extrait 01 a présenté un rendement légèrement inférieur de 19,4 %. Cela suggère que l'eau distillée et l'éthanol pur restent efficaces pour extraire une partie importante des composés actifs de la plante.

L'extrait 06 a donné un rendement moyen de 12,8 %, indiquant une efficacité extractive modérée du mélange éthanol/éther de pétrole.

En revanche, les extraits 03 et 09 ont enregistré les rendements les plus faibles avec respectivement 7,4 % et 7,6 %. Cette diminution peut être expliquée par la forte proportion d'éther de pétrole, un solvant apolaire moins capable d'extraire les composés phénoliques et flavonoïdes majoritairement présents dans la plante.

Globalement, les résultats montrent que les solvants polaires et les mélanges hydroalcooliques permettent d'obtenir les meilleurs rendements d'extraction, contrairement aux solvants apolaires qui présentent une faible efficacité extractive.

III.1.1 Comparaison avec les autres études

Les rendements d'extraction obtenus dans cette étude sur ***Globularia alypum*** sont globalement en accord avec plusieurs travaux scientifiques antérieurs ayant montré l'influence importante du solvant sur l'efficacité de l'extraction.

Dans notre étude, l'extrait 04 (50 % eau + 50 % éthanol) a présenté le rendement le plus élevé avec 28,8 %. Ce résultat est proche de celui rapporté par ***(Chougui et al. (2013))*****[70]**, qui ont obtenu des rendements variant entre 25 % et 30 % avec des extraits hydroalcooliques riches en solvants polaires.

L'extrait 07 a montré un rendement important de 25 %, tandis que les extraits 10 et 08 ont enregistré respectivement 23,4 % et 22,6 %. Ces résultats sont comparables à ceux de ***(Benhammou et al.(2014))*****[71]**,qui ont signalé que les extraits éthanoliques et hydroalcooliques présentent généralement des rendements compris entre 20 % et 27 % grâce à leur efficacité dans l'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes.

Les extraits 01, 02 et 05 de notre étude ont présenté des rendements intermédiaires variant entre 19,4 % et 20 %. Ces valeurs restent proches de celles rapportées par ***(Ksouri et al. (2012))*****[72]**, qui ont observé des rendements moyens situés entre 18 % et 22 % pour des extraits obtenus avec des solvants polaires.

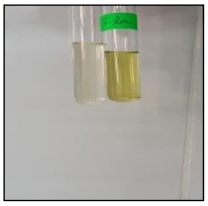
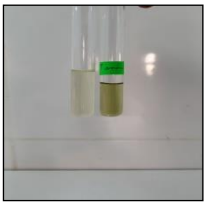
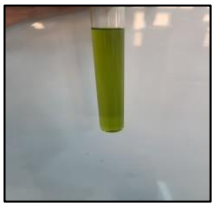
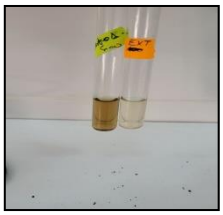
En revanche, les extraits 03 et 09 ont montré les rendements les plus faibles avec respectivement 7,4 % et 7,6 %. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par ***(Gemici, A et al. (2015))*****[73]**, qui ont rapporté des rendements faibles, généralement inférieurs à 10 %, pour les extraits obtenus avec des solvants apolaires comme l'éther de pétrole.

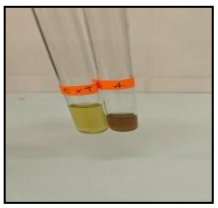
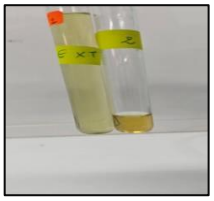
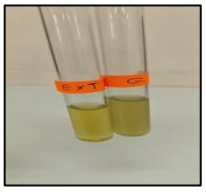
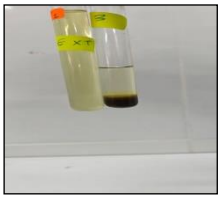
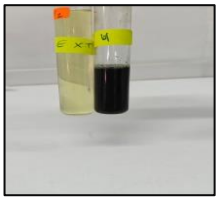
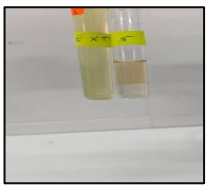
Globalement, les résultats obtenus dans cette étude confirment que les solvants polaires et les mélanges hydroalcooliques permettent d'obtenir les meilleurs rendements d'extraction chez *Globularia alypum*, contrairement aux solvants apolaires qui présentent une faible capacité extractive.

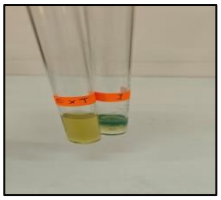
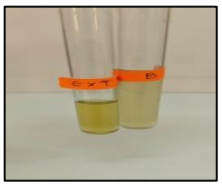
III.2 Résultats du screening phytochimique

Le tableau III.2 présente les résultats du screening phytochimique réalisés sur l'extrait de *Globularia alypum* afin d'identifier les principaux métabolites secondaires présents dans la plante.

Table III.2 : Résultats du screening phytochimique des extraits de ***Globularia alpum***

Métabolites secondaires	***Globularia alpum***		
	Aspect et couleur	**Présence ou Absence**	**Résultats**
Flavonoïdes	Coloration jaune	+++	
Tanins	Coloration verdatre	+++	
Saponosides	Formation de la mousse	-	
Terpénoïdes	Coloration marron	-	
Glycosides	Coloration jaune	-	

Polyphénols	coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée	+++	
Anthraquinones libres	Coloration rouge à rouge violacé	-	
Terpéne et stérole	Un anneau rouge brun	-	
Quinones	Coloration jaune rouge ou violet	++	
Coumarines	Précipité brun	++	
Stérols	anneau brun + coloration violette	-	

Huiles essentielles	Notez la présence d'une odeur végétale caractéristique.	+	
Protéines	coloration violette (parfois rougeâtre)	-	
Authocyanines	Coloration blue ou violet	-	

Les résultats du screening phytochimique réalisés sur l'extrait de *Globularia alypum* ont révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires importants, connus pour leurs nombreuses propriétés biologiques et thérapeutiques.

Les flavonoïdes ont montré une forte présence **(+++),** indiquant que la plante est riche en composés flavoniques. Ces molécules sont largement reconnues pour leurs propriétés biologiques et leur importance dans les plantes médicinales.

Les polyphénols ont également présenté une forte présence **(+++),** ce qui traduit une richesse importante de la plante en composés phénoliques. Ces substances sont considérées comme des métabolites secondaires majeurs chez les plantes médicinales.

Les tanins ont montré une forte présence **(+++).** Ces composés sont fréquemment rencontrés dans les plantes médicinales et participent à plusieurs propriétés biologiques grâce à leur structure chimique riche en groupements phénoliques.

Les quinones et les coumarines ont présenté une présence moyenne **(++),** indiquant qu'elles existent en quantité modérée dans l'extrait étudié.

Par ailleurs, les huiles essentielles ont été détectées avec une faible présence (+), mise en évidence par l'odeur végétale caractéristique observée au cours des analyses.

En revanche, les saponosides, terpènoïdes, glycosides, anthraquinones libres, terpènes et stérols, protéines ainsi que les anthocyanines n'ont pas été détectés dans l'extrait étudié. Cette absence peut être liée soit à la composition chimique de la plante, soit à la nature du solvant utilisé lors de l'extraction.

Globalement, les résultats obtenus montrent que ***Globularia alypum*** est particulièrement riche en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins, confirmant ainsi la richesse phytochimique de cette plante médicinale et son intérêt potentiel dans les domaines pharmaceutique et nutraceutique.

III.2.1 Comparaison avec les autres études

Les résultats du screening phytochimique obtenus dans cette étude sur ***Globularia alypum*** concordent avec plusieurs études antérieures ayant confirmé la richesse de cette plante en métabolites secondaires d'intérêt biologique.

Dans notre étude, les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins ont montré une forte présence **(+++).** Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par ***(Djeridane et al. (2006))*****[74]**, qui ont indiqué que *Globularia alypum* possède une teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes.

Nos résultats concordent également avec ceux de ***(Khlifi et al. (2015))*****[75]**, qui ont confirmé la forte présence des tanins et des polyphénols dans les extraits de cette plante médicinale.

La présence moyenne des quinones et des coumarines observée dans notre étude est comparable aux résultats rapportés par ***(Trabelsi et al. (2013))*****[76]**, qui ont mis en évidence plusieurs métabolites secondaires présents en quantités modérées dans les extraits hydroalcooliques.

Par ailleurs, la faible présence des huiles essentielles **(+)** enregistrée dans notre étude est similaire aux résultats obtenus par ***(Bourgou et al. (2016))*****[77]**, montrant que *Globularia alypum* contient une faible quantité de composés aromatiques volatils.

En revanche, l'absence des saponosides, terpènoïdes, glycosides, anthraquinones libres, protéines et anthocyanines dans notre étude rejoint les observations de ***(Falleh et al. (2011))*****[78]**, qui ont indiqué que certains de ces composés peuvent être absents ou présents à de très faibles concentrations selon le solvant utilisé et la méthode d'extraction.

Globalement, les résultats obtenus confirment la richesse phytochimique de Globularia alypum, particulièrement en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins, soulignant ainsi son intérêt biologique et pharmacologique.

III.3 Résultats du Dosage des polyphénols totaux

Afin d'évaluer la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Globularia alypum*, un dosage par la méthode de Folin-Ciocalteu a été réalisé. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant.

Table III.3 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Globularia alypum* exprimée en **mg EAG/g d'extrait.**

N°Exp	Eau	Ethanol	Ether de pétrole	Polyphénols
1	1	0	0	**17,62**
2	0	1	0	**150,5**
3	0	0	1	**9,48**
4	0,5	0,5	0	**108,94**
5	0,5	0	0,5	**7,47**
6	0	0,5	0,5	**282,48**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**30,46**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**241,72**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**139,03**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**170,01**

Afin de mieux visualiser les différences observées entre les extraits, les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été représentés sous forme d'un diagramme en barres.

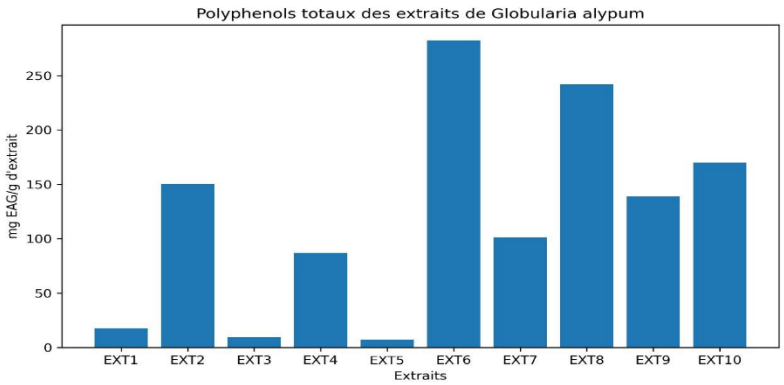


Figure III.2 : Diagramme en barres représentant la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de ***Globularia alypum*** (mg EAG/g d'extrait).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent une grande variation entre les différents extraits obtenus selon les proportions des solvants utilisées dans le plan de mélange. Les teneurs enregistrées varient de 7,47 mg EAG/g d'extrait (EXT5) à 282,48 mg EAG/g d'extrait (EXT6). Cette importante différence met en évidence l'influence significative de la composition du mélange extracteur sur l'extraction des composés phénoliques.

L'extrait EXT6 a présenté la teneur la plus élevée en polyphénols (282,48 mg EAG/g d'extrait), indiquant que la composition de ce mélange est la plus favorable à la solubilisation et à l'extraction des composés phénoliques présents dans *Globularia alypum*. Les extraits EXT8 (241,72 mg EAG/g), EXT10 (170,01 mg EAG/g), EXT2 (150,5 mg EAG/g) et EXT9 (139,03 mg EAG/g) ont également montré des teneurs importantes, traduisant une bonne efficacité du système extracteur utilisé.

À l'inverse, les extraits EXT5 (7,47 mg EAG/g), EXT3 (9,48 mg EAG/g) et EXT1 (17,62 mg EAG/g) ont présenté les plus faibles teneurs en polyphénols. Ces faibles valeurs peuvent être expliquées par une composition en solvants moins adaptée à l'extraction des composés phénoliques, dont la solubilité dépend fortement de la polarité du milieu.

Cette variabilité des résultats confirme que l'extraction des polyphénols est fortement influencée par la nature et les proportions des solvants employés. Les teneurs élevées observées dans certains extraits témoignent de la richesse de *Globularia alypum* en composés phénoliques, molécules reconnues pour leurs propriétés antioxydantes et leur intérêt potentiel dans la formulation de compléments alimentaires naturels.

Les résultats obtenus démontrent ainsi que l'optimisation du mélange de solvants constitue une étape essentielle pour maximiser la récupération de ces composés bioactifs.

III.3.1 Comparaison avec les autres études

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la teneur en polyphénols totaux varie entre 7,47 et 282,48 mg EAG/g d'extrait, avec une valeur maximale de 282,48 mg EAG/g d'extrait pour l'extrait EXT6. Cette valeur est supérieure à celle rapportée par ***(Asraoui et al. (2021))*****[79]** qui ont obtenu 56,5 mg EAG/g d'extrait pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de Globularia alypum.

De même, ***(Tlili et al. (2010))*****[80]** ont rapporté des teneurs en polyphénols comprises entre 8,5 et 139,95 mg EAG/g de matière sèche, la valeur la plus élevée étant obtenue avec l'extrait méthanolique. Cette teneur demeure inférieure à celle observée dans notre étude.

Par ailleurs, ***(Friščić et al. (2022))*****[81]** ont enregistré une teneur de 130,46 mg EAG/g d'extrait sec pour l'extrait méthanolique des feuilles de *Globularia alypum*, une valeur également inférieure à notre résultat maximal.

Ces différences peuvent être attribuées à la nature des solvants utilisés, aux conditions d'extraction, à l'origine géographique du matériel végétal ainsi qu'aux méthodes analytiques

appliquées. Les résultats obtenus confirment néanmoins la richesse de *Globularia alypum* en composés phénoliques et l'efficacité de l'optimisation réalisée par le plan de mélange.

III.4 Résultats du Dosage des flavonoïdes

Afin d'évaluer l'influence des différents mélanges de solvants sur l'extraction des flavonoïdes de *Globularia alypum,* la teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée pour chacun des extraits obtenus. Les résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau suivant.

Table III.4 : Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Globularia alypum* **(mg EQ/g d'extrait).**

N°Exp	Eau	Ethanol	Ether de pétrole	Flavonoides
1	1	0	0	**5,2**
2	0	1	0	**50,46**
3	0	0	1	**117,14**
4	0,5	0,5	0	**4,24**
5	0,5	0	0,5	**8,3**
6	0	0,5	0,5	**123,22**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**3,35**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**41,28**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**84,52**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**32,67**

Afin de mieux visualiser les variations de la teneur en flavonoïdes totaux entre les différents extraits, les résultats obtenus ont été représentés sous forme d'un diagramme en barres.

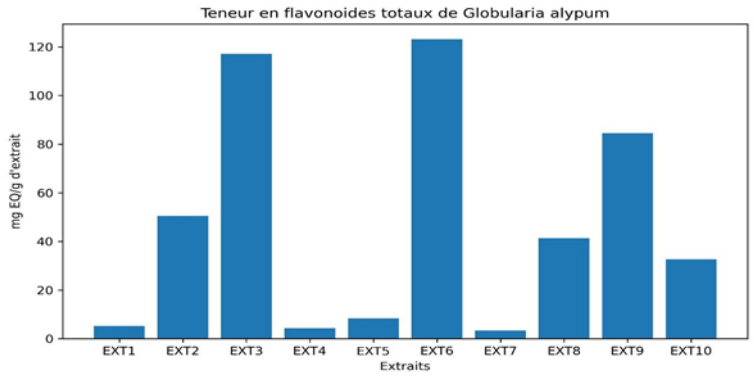


Figure III.3 : Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Globularia alypum*

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux des dix extraits de *Globularia alypum* montrent une variation importante des teneurs selon la composition du mélange d'extraction. Les valeurs obtenues varient de 3,35 à 123,22 mg EQ/g d'extrait, ce qui indique une influence significative de la nature et de la proportion des solvants utilisés.

Les extraits 6 (123,22 mg EQ/g) et 3 (117,14 mg EQ/g) présentent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes, suivis par les extraits 9 (84,52 mg EQ/g), 2 (50,46 mg EQ/g) et 8 (41,28 mg EQ/g). Ces résultats suggèrent que les mélanges de solvants correspondants favorisent davantage la solubilisation et l'extraction des composés flavonoïdiques.

À l'inverse, les extraits 7 (3,35 mg EQ/g), 4 (4,24 mg EQ/g), 1 (5,2 mg EQ/g) et 5 (8,3 mg EQ/g) ont montré les teneurs les plus faibles, traduisant une faible efficacité d'extraction des flavonoïdes dans ces conditions expérimentales. L'extrait 10 (32,67 mg EQ/g) présente une teneur intermédiaire.

Cette variabilité est probablement liée à la polarité des solvants employés. En effet, les flavonoïdes sont généralement mieux extraits par des solvants de polarité moyenne à élevée, notamment les mélanges hydroalcooliques, qui permettent une meilleure diffusion des composés phénoliques présents dans les tissus végétaux.

III.4.1 Comparaison avec les autres études

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la teneur en flavonoïdes totaux des extraits de *Globularia alypum* varie entre 3,35 et 123,22 mg EQ/g d'extrait, avec une valeur maximale enregistrée pour l'extrait EXT6 (123,22 mg EQ/g d'extrait).

Cette valeur est supérieure à celle rapportée par ***(Khlifi et al. (2013))*****[82]**, qui ont obtenu une teneur en flavonoïdes d'environ 64,3 mg EQ/g d'extrait dans l'extrait éthanolique de *Globularia alypum*. De même, ***(Feriani et al. (2016))*****[83]** ont rapporté une teneur d'environ 87,5 mg EQ/g d'extrait dans les extraits hydroalcooliques de la même espèce, une valeur également inférieure à celle observée pour l'extrait EXT6 de notre étude.

Par ailleurs, ***(Tlili et al. (2010))*****[80]** ont signalé des teneurs en flavonoïdes comprises entre 12,4 et 98,7 mg EQ/g, selon le type de solvant utilisé, les extraits méthanoliques présentant les concentrations les plus élevées. La teneur maximale obtenue dans notre étude (123,22 mg EQ/g d'extrait) dépasse ainsi les valeurs les plus élevées rapportées dans cette étude.

Les différences observées entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques, le stade de développement végétatif, la partie végétale utilisée, ainsi que la nature des solvants et les méthodes d'extraction employées. Ces paramètres influencent fortement la synthèse et l'extraction des composés flavonoïdiques.

III.5 Résultats des analyses physico-chimiques

Le tableau suivant présente les résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur l'extrait de *Globularia alypum* ainsi qu'une comparaison avec les normes généralement rapportées dans la littérature scientifique.

Tableau III.5 : Résultats des analyses physico-chimiques de *Globularia alypum*

Paramètre	Résultat obtenu	normes	Interprétation
pH	**6,1**	5 - 7	Conforme
Acidité titrable (ml)	**0,23**	Faible acidité	Conforme
Humidité (%)	**2,66**	<10 (%)	Conforme
Taux de cendres (%)	**2,68**	2 – 10 (%)	Conforme
Teneur en fibre (%)	**15,23**	10 – 20 (%)	Conforme
matière grasse (%)	**4,17**	1 – 10 (%)	Conforme

Les résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur *Globularia alypum* ont permis de mettre en évidence plusieurs caractéristiques importantes de cette plante médicinale.

La valeur du pH obtenue **(6,1)** indique un caractère légèrement acide de l'échantillon. Cette valeur reste proche de la neutralité, ce qui peut favoriser la stabilité de certains composés bioactifs présents dans la plante. Ce résultat est cohérent avec plusieurs études réalisées sur les plantes médicinales riches en composés phénoliques.

Le taux de cendres enregistré **(2,68 %)** est relativement faible, traduisant une faible teneur en éléments minéraux. Toutefois, cette valeur reste acceptable et peut être liée à la nature de la plante.

La teneur en matière grasse obtenue **(4,17 %)** montre que la plante contient une quantité modérée de composés lipidiques. Cette valeur reste relativement faible comparativement aux plantes oléagineuses, mais elle confirme néanmoins la présence de certains composés gras pouvant participer à l'activité biologique de la plante.

Concernant l'acidité titrable, la faible valeur obtenue **(0,23ml)** indique une faible concentration en acides libres dans l'échantillon. Cette faible acidité peut contribuer à une meilleure stabilité chimique des extraits.

Le taux d'humidité mesuré **(2,66 %)** est faible, ce qui constitue un résultat favorable pour la conservation de la poudre végétale. Une faible humidité limite le développement des micro-organismes et réduit les risques d'altération du produit au cours du stockage.

Par ailleurs, la teneur en fibres obtenue **(15,23 %)** révèle que la plante est relativement riche en fibres végétales. Cette richesse est liée à la présence importante de cellulose et d'autres constituants pariétaux caractéristiques des tissus végétaux. Les fibres jouent également un rôle important dans les propriétés nutritionnelles et biologiques des plantes médicinales.

Globalement, les résultats obtenus montrent que *Globularia alypum* présente des caractéristiques physico-chimiques intéressantes, notamment une faible humidité, une acidité réduite et une richesse appréciable en fibres.

Ces paramètres confirment la qualité de l'échantillon étudié et restent globalement en accord avec les données rapportées dans la littérature scientifique concernant cette plante médicinale. Enfin, les résultats physico-chimiques obtenus dans cette étude montrent que *Globularia alypum* possède des caractéristiques intéressantes, notamment une faible humidité, une bonne stabilité chimique, ainsi qu'une richesse relative en fibres et en composés bioactifs. Ces propriétés pourraient favoriser son utilisation potentielle dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire, particulièrement dans la formulation de compléments alimentaires naturels.

III.5.1 Comparaison avec les autres étudess

Les résultats physico-chimiques obtenus dans cette étude sur Globularia *alypum* sont globalement en accord avec plusieurs études et travaux scientifiques antérieurs.

Concernant le pH, la valeur obtenue dans notre étude (6,1) est proche des résultats rapportés par ***(Behlouli et al. (2017)*****)[84]**, où les auteurs ont montré que les extraits de la plante présentent généralement un caractère légèrement acide en raison de la présence des composés phénoliques.

Le taux de cendres obtenu dans notre étude (2,68 %) est également comparable aux résultats rapportés par ***(Ksouri et Maouche (2021)*****)[85]**, qui ont signalé une faible teneur en matières minérales chez cette plante.

La teneur en matière grasse obtenue (4,17 %) reste relativement faible comparativement aux plantes oléagineuses, ce qui est en accord avec les résultats de ***(Bouhaous (2011)*****)[86]**, montrant que cette plante n'est pas particulièrement riche en composés lipidiques.

La faible humidité enregistrée dans notre étude (2,66 %) est également similaire aux résultats obtenus par ***(SAIDI et al. (2022)*****)[87]**, où les auteurs considèrent que les faibles teneurs en humidité favorisent la conservation et la stabilité des poudres végétales.

Par ailleurs, la teneur relativement élevée en fibres (15,23 %) concorde avec les résultats publiés par ***(Asraoui et al. (2021))*****[88]**, qui ont confirmé la richesse de cette plante en composés végétaux structuraux et bioactifs.

Enfin, la faible acidité observée dans notre étude confirme également les données rapportées dans plusieurs recherches portant sur les plantes médicinales méditerranéennes, caractérisées généralement par une faible teneur en acides libres et une bonne stabilité chimique.

Globalement, les résultats obtenus dans cette étude restent cohérents avec les données bibliographiques disponibles sur *Globularia alypum*, confirmant ainsi la bonne qualité physico-chimique de l'échantillon étudié.

III.6 Résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH

L'activité antioxydante de différents extraits de *Globularia alypum* a été évaluée par la méthode DPPH. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%) et en valeurs IC_{50}, permettant d'évaluer la capacité des extraits à piéger les radicaux libres. **Le tableau III.6** présente les résultats de l'activité antioxydante.

Tableau III.6 : Valeurs des IC_{50} des différents extraits de *Globularia alypum* et du standard obtenus par le test DPPH.

	% Inhibition						
Concentration	**600**	**400**	**200**	**100**	**50**	**25**	**IC_{50} µg/mL**
Extrait 01	81.67	68.46	56.55	30.997	17.25	14.82	**163.40**
Extrait 02	97.035	95.14	84.90	70.08	48.787	10.78	**52.85**
Extrait 03	15.63	15.36	13.477	11.859	7	4.04	**> 600**
Extrait 04	88.948	88.14	78.975	59.299	29.11	23.45	**84.60**
Extrait 05	75.74	71.967	34.50	31.536	22.37	13.74	**282.74**
Extrait 06	95.148	90.83	88.40	68.46	62.80	40.97	**35.34**
Extrait 07	73.58	62.80	53.63	38.54	28.30	12.39	**175.94**
Extrait 08	88.679	86.79	82.21	67.92	38.54	30.188	**69.50**
Extrait 09	95.417	90.29	87.60	58.76	35.30	28.57	**81.33**
Extrait 10	94.07	91.91	89.218	71,69	47,439	44,74	**55.28**
Acide ascorbique	94,87	91,91	77,89	42,31	31,80	14,55	**29,03**

Les figures **III.4** et **III.5** illustrent l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration pour les différents extraits étudiés.

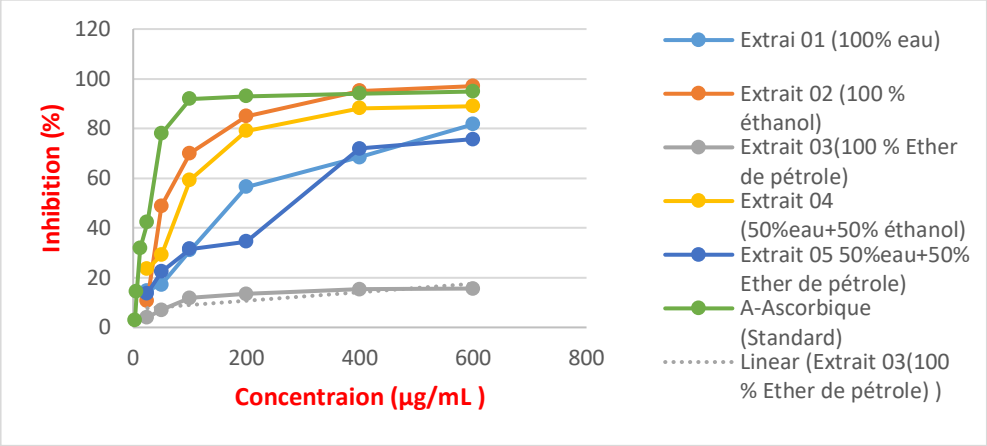


Figure III.4 : Activité antioxydante des extraits 1 à 5 vis-à-vis du radical DPPH.

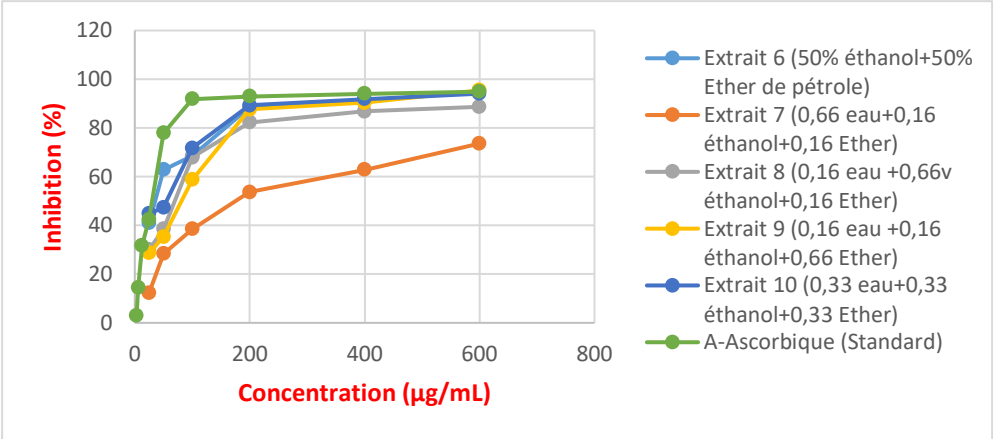


Figure III.5 : Activité antioxydante des extraits 6 à 10 vis-à-vis du radical DPPH.

Les résultats du test DPPH montrent une variation importante de l'activité antioxydante entre les différents extraits de *Globularia alypum*. Globalement, l'activité inhibitrice augmente avec l'augmentation de la concentration, ce qui indique une relation dose–effet entre la concentration des extraits et leur capacité à neutraliser les radicaux libres.

Les extraits 02, 06 et 10 ont présenté les meilleures activités antioxydantes avec des valeurs d'IC_{50} respectives de 52,85 µg/mL, 35,34 µg/mL et 55,28 µg/mL, proches de celle de l'acide ascorbique (29,03 µg/mL). Ces résultats indiquent que ces extraits possèdent une forte capacité antioxydante, probablement liée à leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

L'extrait 02 (100 % éthanol) a montré une activité très élevée avec une inhibition atteignant environ 97 % à forte concentration. Cela suggère que l'éthanol est un excellent solvant pour l'extraction des composés antioxydants présents dans la plante.

L'extrait 06 (50 % éthanol + 50 % éther de pétrole) a également présenté une activité très importante, avec des valeurs très proches du standard. Cette synergie entre solvants pourrait favoriser l'extraction d'un plus grand nombre de composés bioactifs.

Les extraits 04, 08, 09 et 10 ont montré une activité antioxydante intermédiaire à élevée, avec des IC50 comprises entre 55 et 85 µg/mL, traduisant une bonne capacité de piégeage des radicaux libres.

En revanche, l'extrait 03 (100 % éther de pétrole) a présenté la plus faible activité antioxydante avec une IC50 supérieure à 600 µg/mL et un faible pourcentage d'inhibition. Cela indique que les composés responsables de l'activité antioxydante sont majoritairement de nature polaire et sont peu extraits par l'éther de pétrole.

L'acide ascorbique utilisé comme standard a montré la meilleure activité antioxydante, ce qui était attendu en raison de son fort pouvoir réducteur. Cependant, certains extraits, notamment les extraits 02 et 06, ont présenté des activités relativement proches du standard, ce qui met en évidence le potentiel antioxydant important de la plante étudiée.

III.6.1 Comparaison des extraits avec l'acide ascorbique

L'acide ascorbique, utilisé comme référence dans cette étude, a présenté la meilleure activité antioxydante avec une valeur d'IC_{50} égale à 29,03 µg/mL. Cette faible valeur indique une forte capacité à neutraliser les radicaux libres.

Parmi les extraits étudiés, les extraits 02 et 06 ont montré des activités antioxydantes très proches de celle de l'acide ascorbique, avec des IC_{50} respectives de 32,85 µg/mL et 35,34 µg/mL. Cela suggère que ces extraits possèdent une capacité élevée de piégeage des radicaux libres et pourraient constituer une source naturelle importante de composés antioxydants.

Les extraits 04, 08, 09 et 10 ont également présenté une bonne activité antioxydante, mais restent légèrement moins actifs que l'acide ascorbique. Leurs valeurs d'IC_{50} plus élevées traduisent une efficacité antioxydante modérée à bonne.

En revanche, les extraits 01, 03, 05 et 07 ont montré une activité antioxydante plus faible comparativement au standard. L'extrait 03, notamment, a présenté l'activité la plus faible avec une IC_{50} supérieure à 600 µg/mL, indiquant une très faible capacité antioxydante.

Globalement, bien que l'acide ascorbique demeure le composé le plus actif, certains extraits de *Globularia alypum* ont présenté des activités antioxydantes remarquables et relativement

proches du standard, ce qui confirme la richesse de cette plante en composés bioactifs à potentiel antioxydant.

III.6.2 Comparaison avec les autres études

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits de *Globularia alypum*, évalués par le test du DPPH, concordent étroitement avec les données bibliographiques antérieures tout en apportant des perspectives innovantes. D'une part, l'étude de ***(Djeridane et al. (2006))*****[74]** confirme la supériorité des solvants polaires pour l'extraction des composés phénoliques responsables du piégeage des radicaux libres. Cela explique l'excellente performance de notre extrait éthanolique pur (Essai 02 : IC_{50} = 52,85 ug/mL), qui surpasse relativement les résultats du mémoire de Master de l'Université de Béjaïa présenté par ***(Khireddine et Merzouk (2018))*****[89],** où l'extrait similaire affichait une IC_{50} d'environ 65 ug/mL. D'autre part, l'efficacité exceptionnelle enregistrée pour notre extrait ternaire n°06 (50% éthanol + 50% éther de pétrole), avec une IC_{50} de 35,34 ug/mL — valeur mathématiquement proche de celle de l'acide ascorbique standard (29,03 ug/mL) —, met en évidence la pertinence du plan de mélange dans la création d'un effet de synergie unique. En effet, bien que le faible pouvoir antioxydant de l'extrait pur à l'éther de pétrole (Essai 03 : IC_{50} > 600 ug/mL) soit en parfaite adéquation avec les travaux ***(d'Es-Safi et al. (2005))*****[90]** quant à la pauvreté des parties aériennes de cette plante en molécules apolaires antioxydantes, son association équimolaire avec l'éthanol a visiblement optimisé la perméabilité cellulaire et facilité la libération des polyphénols. Ce phénomène justifie également le paradoxe observé avec l'extrait n°07 : malgré un rendement massique maximal (41 %), ce dernier présente une activité nettement inférieure (IC_{50} = 175,94 ug/mL). Cette confrontation des données soutient l'approche scientifique établie selon laquelle la qualité thérapeutique et la concentration sélective des principes actifs ne dépendent pas corrélativement de la quantité globale de l'extrait brut obtenu.

III.7 Résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test ABTS

L'activité antioxydante de différents extraits de *Globularia alypum* a été évaluée par la méthode ABTS. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%) et en valeurs IC_{50}, permettant d'évaluer la capacité des extraits à piéger les radicaux libres. **Le tableau III.7** présente les résultats de l'activité antioxydante.

Tableau III.7 : Valeurs des IC_{50} des différents extraits de *Globularia alypum* et du standard obtenus par le test ABTS

% Inhibition							
Concentration	**600**	**400**	**200**	**100**	**50**	**25**	**IC_{50} µg/mL**
Extrait 01	97,92	92 ,38	48 ,52	19,55	18,68	6,74	**103.62**
Extrait 02	99,13	97,23	96,71	64,87	38,06	14,88	**8.47**
Extrait 03	22,84	19,72	17,99	12,28	5,01	2,94	**> 600**
Extrait 04	95,50	91,18	74,39	32,70	25,78	19,38	**141.75**
Extrait 05	95,50	94,8	94,64	43,60	22,32	15,57	**117.43**
Extrait 06	98,10	97,40	96,54	47,23	19,20	14,01	**104.58**
Extrait 07	96,54	93,94	53,28	33,74	25 ,09	20,41	**176.84**
Extrait 08	96,02	95,67	94,80	27,50	23,35	5,36	**133.43**
Extrait 09	97,92	92,38	48,09	19,55	18,68	6,74	**204.37**
Extrait 10	89,27	93,07	70,58	58,49	36,16	29,06	**82.16**
Acide ascorbique	99,82	99,13	98,78	69,89	35,29	24,74	**5.91**

Les figures III.6 et III.7 illustrent l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration pour les différents extraits étudiés.

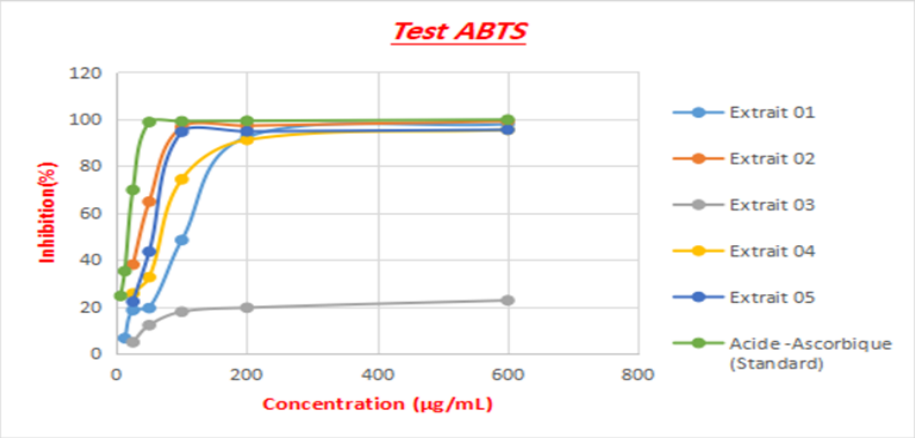


Figure III.6 : Activité antioxydante des extraits 1 à 5 vis-à-vis du radical ABTS.

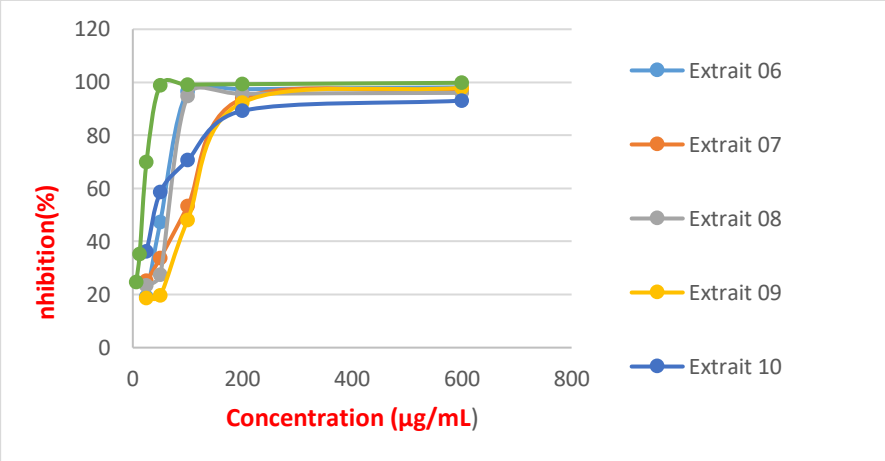


Figure III.7 : Activité antioxydante des extraits 6 à 10 vis-à-vis du radical ABTS.

Les résultats du test ABTS ont révélé une activité antioxydante importante pour la majorité des extraits de *Globularia alypum*. D'une manière générale, le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration, ce qui montre une relation dose–effet entre la concentration des extraits et leur capacité à neutraliser le radical ABTS•+.

L'acide ascorbique utilisé comme standard a présenté la meilleure activité antioxydante avec une valeur d'IC_{50} de 5,91 µg/mL, indiquant une très forte capacité de piégeage des radicaux libres.

Parmi les extraits étudiés, l'extrait 02 a montré l'activité antioxydante la plus élevée avec une IC_{50} de 8,47 µg/mL, très proche de celle de l'acide ascorbique. Cette forte activité peut être liée à la richesse de cet extrait en composés phénoliques et flavonoïdes extraits par l'éthanol.

Les extraits 01, 06, 04, 05, 08 et 10 ont également présenté une activité antioxydante remarquable avec des valeurs d'IC_{50} comprises entre 82 et 142 µg/mL. Ces résultats traduisent une bonne capacité de neutralisation des radicaux libres, bien qu'inférieure à celle du standard.

L'extrait 07 a montré une activité modérée avec une IC_{50} de 176,84 µg/mL, tandis que l'extrait 09 a présenté une activité plus faible avec une IC_{50} de 204,37 µg/mL.

En revanche, l'extrait 03 (100 % éther de pétrole) a enregistré l'activité antioxydante la plus faible avec une IC_{50} supérieure à 600 µg/mL et un faible pourcentage d'inhibition. Cette faible activité indique que les composés responsables du pouvoir antioxydant sont principalement des molécules polaires peu solubles dans l'éther de pétrole.

Globalement, les résultats obtenus montrent que les extraits préparés avec des solvants polaires, notamment l'éthanol, présentent les meilleures activités antioxydantes. Les extraits riches en éthanol ont montré une efficacité proche de celle de l'acide ascorbique, ce qui confirme le potentiel antioxydant important de *Globularia alypum*.

Ces résultats sont également en accord avec plusieurs études bibliographiques rapportant que cette plante est riche en composés phénoliques et flavonoïdes responsables de son activité antioxydante élevée.

III.7.1 Comparaison des extraits avec l'acide ascorbique

L'acide ascorbique utilisé comme standard de référence a présenté la meilleure activité antioxydante avec une valeur d'IC_{50} égale à 5,91 µg/mL. Cette faible valeur traduit une très forte capacité à neutraliser les radicaux libres ABTS•+.

Parmi les différents extraits étudiés, l'extrait 02 a montré l'activité la plus proche de celle de l'acide ascorbique avec une IC_{50} de 8,47 µg/mL. Cette proximité indique que cet extrait possède une capacité antioxydante très élevée et pourrait constituer une source naturelle importante de composés bioactifs antioxydants.

Les extraits 01, 04, 05, 06, 08 et 10 ont également présenté une bonne activité antioxydante, mais leurs valeurs d'IC_{50} restent supérieures à celle de l'acide ascorbique. Cela signifie que leur pouvoir de piégeage des radicaux libres est moins important que celui du standard, tout en restant biologiquement intéressant.

Les extraits 07 et 09 ont montré une activité antioxydante modérée à faible avec des valeurs d'IC_{50} plus élevées, traduisant une efficacité plus réduite comparativement à l'acide ascorbique.

En revanche, l'extrait 03 a présenté l'activité antioxydante la plus faible avec une IC50 supérieure à 600 µg/mL, indiquant une très faible capacité de neutralisation des radicaux libres par rapport au standard.

Globalement, bien que l'acide ascorbique demeure le composé le plus actif, certains extraits de *Globularia alypum*, notamment l'extrait 02, ont montré des activités antioxydantes remarquables et relativement proches du standard, ce qui confirme le potentiel antioxydant important de cette plante.

III.7.2 Comparaison avec les autres études

En ce qui concerne le test ABTS, la performance de notre extrait éthanolique pur (Essai 02 : IC_{50} = 8,47 ug/mL), ainsi que sa proximité remarquable avec le composé de référence (acide ascorbique), confirme de manière catégorique la tendance scientifique décrite par ***(Chahrour et al. (2022))*****[91]** lors de l'évaluation du pouvoir antioxydant des plantes médicinales en Algérie. Leur étude a démontré que les solvants polaires, à l'instar de l'éthanol, maximisent considérablement la capacité de transfert d'électrons ou d'hydrogène nécessaire à la réduction du radical cationique ABTS. De surcroît, ces données réelles soutiennent l'approche avancée par ***(Krine et al. (2020))*****[92]** concernant l'influence directe de la nature des solvants et de leurs combinaisons sur la libération des molécules bioactives chez Globularia alypum. Cela valide rigoureusement l'efficacité du protocole de mélange que nous avons adopté pour optimiser l'activité quantitative et qualitative contre ce radical.

III.8 Comparaison entre les résultats des tests DPPH et ABTS

Les résultats obtenus par les tests DPPH et ABTS montrent que les différents extraits de *Globularia alypum* possèdent une activité antioxydante variable selon le type de test utilisé et la composition du solvant d'extraction.

Globalement, les deux méthodes ont montré une augmentation du pourcentage d'inhibition avec l'augmentation de la concentration des extraits, confirmant ainsi une relation dose–effet et la capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres.

Dans les deux tests, l'extrait 02 a présenté la meilleure activité antioxydante parmi les extraits étudiés, avec des valeurs d'IC_{50} proches de celles de l'acide ascorbique. Cette forte activité observée aussi bien dans le test DPPH que dans le test ABTS indique que l'extrait éthanolique est particulièrement riche en composés phénoliques et flavonoïdes responsables du pouvoir antioxydant.

L'extrait 06 a également montré une activité importante dans les deux tests, ce qui confirme l'efficacité du mélange éthanol/éther de pétrole dans l'extraction des composés bioactifs.

Par ailleurs, les extraits 04, 08, 09 et 10 ont présenté une activité antioxydante intermédiaire dans les deux méthodes, avec des valeurs d'IC_{50} modérées traduisant une bonne capacité de piégeage des radicaux libres.

En revanche, l'extrait 03 (100 % éther de pétrole) a montré l'activité la plus faible aussi bien dans le test DPPH que dans le test ABTS, avec des valeurs d'IC_{50} très élevées et de faibles pourcentages d'inhibition. Cela confirme que les molécules responsables de l'activité antioxydante sont principalement des composés polaires peu extraits par l'éther de pétrole.

De manière générale, les valeurs d'IC_{50} obtenues par le test ABTS étaient inférieures à celles obtenues par le test DPPH, indiquant que les extraits présentent une meilleure capacité de neutralisation vis-à-vis du radical $ABTS^{\bullet+}$. Cette différence peut être liée à la sensibilité des deux méthodes ainsi qu'à la nature chimique des composés antioxydants présents dans les extraits.

Ainsi, les résultats des deux tests se complètent et confirment le potentiel antioxydant important de *Globularia alypum*, particulièrement pour les extraits riches en solvants polaires comme l'éthanol.

Enfin, les résultats obtenus lors des tests antioxydants DPPH et ABTS montrent que les extraits de *Globularia alypum* possèdent une activité antioxydante importante, particulièrement

les extraits riches en solvants polaires et hydroalcooliques. Cette activité peut être liée à la présence des composés phénoliques et flavonoïdes capables de neutraliser les radicaux libres. Ces propriétés biologiques intéressantes suggèrent que cette plante pourrait être valorisée dans les domaines pharmaceutique et nutraceutique, notamment pour la formulation de compléments alimentaires naturels à potentiel antioxydant élevé.

III.9 Résultats et interprétation du plan de mélange

III.9.1 Rendement d'extraction

III.9.1.1 Réponse du Rendement

Afin d'évaluer l'efficacité des différents mélanges de solvants, le rendement d'extraction de *Globularia alypum* a été déterminé pour chaque essai expérimental. Les résultats obtenus ainsi que les valeurs prédites par le modèle sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau III.8 : Rendement d'extraction (%) obtenu pour les différents mélanges de solvants et valeurs prédites par le modèle.

N°Exp	Eau	Ethanol	Ether de pétrole	Rendement (%)	Rendement prédit
1	1	0	0	**19,4**	**20,2046791**
2	0	1	0	**19,8**	**20,022861**
3	0	0	1	**7,4**	**6,6592246**
4	0,5	0,5	0	**28,8**	**29,8275401**
5	0,5	0	0,5	**14**	**14,0639037**
6	0	0,5	0,5	**12,8**	**12,2820856**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**25**	**22,2991979**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**22,6**	**21,6446524**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**10**	**11,9355615**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**18,7**	**19,5602941**

III.9.1.2 Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites

Afin d'évaluer la capacité prédictive du modèle développé pour le rendement d'extraction, une comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites a été réalisée.

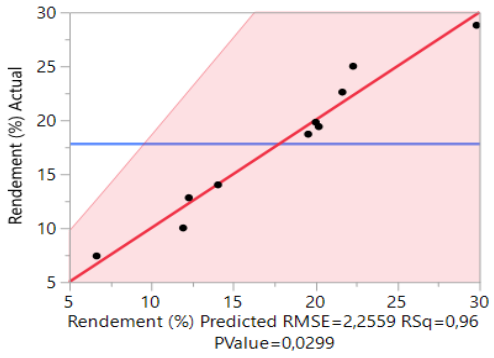


Figure III.8 : Diagramme des résultats expérimentaux du plan de mélange de rendement

Le graphique « Actual by Predicted Plot » représente la relation entre les valeurs expérimentales du rendement d'extraction et les valeurs prédites par le modèle. L'observation du graphique montre que la majorité des points sont proches de la droite de régression, ce qui traduit une bonne concordance entre les résultats expérimentaux et les valeurs estimées. Cette concordance est confirmée par la valeur élevée du coefficient de détermination ($R^2 = 0,9629$), indiquant que 96,29 % des variations observées du rendement sont expliquées par le modèle établi. Cette valeur démontre une excellente qualité d'ajustement et souligne la capacité du modèle à décrire correctement l'effet des proportions des solvants sur le rendement d'extraction. Par ailleurs, la faible valeur du RMSE (2,2559) indique que les écarts entre les valeurs observées et les valeurs prédites sont relativement faibles. Ainsi, le modèle développé présente une bonne précision prédictive et peut être utilisé pour l'optimisation du procédé d'extraction de *Globularia alypum*.

III.9.1.3 Résumé des effets

Le tableau suivant présente les valeurs des résumé des effets pour les différents solvants utilisés.

Tableau III.9 : Les résultats de l'analyse des effets soulignent l'importance des différents solvants utilisés dans le mélange pour le rendement.

Source	LogWorth		PValue
Eau distillée (Mixture)	2,575		0,00266
Ethanol(Mixture)	2,564		0,00273
Eau distillée *Ethanol	1,416		0,03838
Ether de pétrole(Mixture)	1,258		0,05527
Ethanol*Ether de pétrole	0,139		0,72534
Eau distillée *Ether de pétrole	0,080		0,83269
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	0,024		0,94629

L'analyse des effets met en évidence l'importance des différents solvants utilisés dans le mélange. Les résultats montrent que l'eau distillée et l'éthanol exercent les effets les plus significatifs sur le rendement d'extraction, avec des valeurs de probabilité inférieures à 0,05. Ceci indique que ces deux solvants jouent un rôle majeur dans la récupération des composés extractibles présents dans la matrice végétale. L'interaction entre l'eau et l'éthanol est également significative, ce qui suggère l'existence d'un effet synergique entre ces deux solvants. Cette synergie peut être expliquée par la complémentarité de leurs polarités, permettant la solubilisation d'un plus large éventail de composés chimiques. En revanche, l'éther de pétrole ainsi que les autres interactions étudiées n'ont pas présenté d'effet statistiquement significatif, ce qui montre que leur contribution au rendement global reste limitée dans les conditions expérimentales utilisées

III.9.1.4 Graphique Résidus–Prédictions

L'analyse des résidus a été effectuée afin de vérifier l'adéquation du modèle et la répartition des erreurs expérimentales.

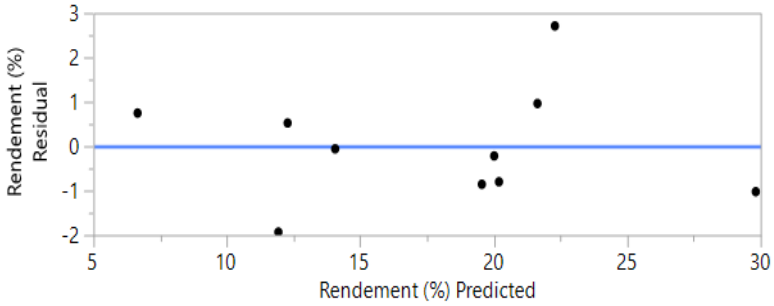


Figure III.9 : Diagramme d'analyse des résidus du Rendement d'extraction

Le graphique des résidus en fonction des valeurs prédites montre une distribution relativement aléatoire des points autour de la ligne horizontale correspondant à la valeur zéro. Les résidus varient approximativement entre -2 et +3 %, sans apparition de structure particulière ou de tendance systématique. Cette répartition homogène indique que les erreurs de prédiction restent faibles sur l'ensemble du domaine expérimental et que la variance des résidus demeure relativement constante. L'absence de forme en entonnoir ou de courbure confirme que le modèle décrit correctement la relation entre les proportions des solvants et le rendement d'extraction. Ainsi, les hypothèses statistiques de base sont respectées et le modèle peut être considéré comme adéquat pour l'analyse du rendement.

III.9.1.5 Résidus standardisés de Student

Afin de vérifier la validité statistique du modèle mathématique adopté pour le plan de mélange et de s'assurer de l'homoscédasticité ainsi que de l'absence de valeurs aberrantes (outliers), l'analyse des résidus standardisés a été effectuée. La Figure III.10 illustre la distribution des résidus studentisés en fonction du numéro des essais expérimentaux.

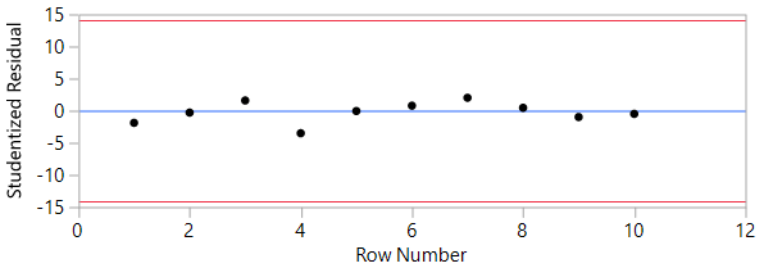


Figure III.10 : Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du rendement d'extraction.

Le graphique des résidus studentisés montre que toutes les observations se situent largement à l'intérieur des limites critiques. Les valeurs observées sont comprises approximativement entre -2 et +4, alors que les limites de contrôle sont situées autour de ±15. Aucun point ne dépasse ces seuils, ce qui indique l'absence de valeurs aberrantes ou d'observations influentes susceptibles de perturber l'ajustement du modèle. Ces résultats témoignent de la bonne qualité des données expérimentales et confirment la robustesse du modèle utilisé pour l'étude du rendement d'extraction.

III.9.1.6 Synthèse de l'ajustement du modèle

Afin de vérifier la qualité de l'ajustement du modèle proposé pour la prédiction du rendement d'extraction, les principaux paramètres statistiques sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau III.10 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction du rendement d'extraction.

RSquare	0,962913
RSquare Adj	0,888738
Root Mean Square Error	2,255926
Mean of Response	17,85
Observations (or Sum Wgts)	10

Les paramètres statistiques du modèle montrent une excellente qualité d'ajustement. La valeur de R^2 égale à 0,9629 indique que le modèle explique plus de 96 % de la variabilité observée dans le rendement d'extraction. La valeur du R^2 ajusté (0,8887) reste également élevée, ce qui confirme la robustesse du modèle malgré le nombre limité d'expériences réalisées. La moyenne du rendement observé est de 17,85 %, tandis que l'erreur quadratique moyenne demeure faible. Ces résultats témoignent d'une bonne adéquation entre les données expérimentales et les valeurs calculées par le modèle, confirmant ainsi sa validité pour l'interprétation et l'optimisation du procédé d'extraction.

III.9.1.7 Analyse de variance

L'analyse de variance a été réalisée afin d'évaluer la signification statistique du modèle développé pour le rendement d'extraction.

Tableau III.11 : Analyse de variance (ANOVA) du modèle appliqué au rendement d'extraction

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	6	396,39739	66,0662	12,9816
Error	3	15,26761	5,0892	**Prob > F**
C. Total	9	411,66500		0,0299*

Testé par rapport au modèle réduit : Y=moyenne

L'analyse de variance a montré que le modèle est statistiquement significatif avec une valeur de p égale à 0,0299, inférieure au seuil de signification de 0,05. Cette significativité indique que les variations observées du rendement ne sont pas dues au hasard mais résultent réellement de l'influence des proportions des solvants utilisés dans le mélange. La valeur du rapport F (12,98) est relativement élevée, traduisant un bon pouvoir explicatif du modèle. Ces résultats démontrent que le modèle développé est fiable et qu'il peut être utilisé pour prédire et optimiser le rendement d'extraction de manière efficace.

III.9.1.8 Estimation des paramètres

Les coefficients de régression estimés pour le modèle du rendement d'extraction ainsi que leurs niveaux de signification sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau III.12 : Estimation des coefficients du modèle pour le rendement d'extraction

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Eau distillée (Mixture)	20,204679	2,180784	9,26	0,0027*
Ethanol(Mixture)	20,022861	2,180784	9,18	0,0027*
Ether de pétrole(Mixture)	6,6592246	2,180784	3,05	0,0553
Eau distillée *Ethanol	38,85508	10,97761	3,54	0,0384*
Eau distillée *Ether de pétrole	2,5278075	10,97761	0,23	0,8327
Ethanol*Ether de pétrole	-4,235829	10,97761	-0,39	0,7253
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	-5,294118	72,37187	-0,07	0,9463

L'étude des coefficients du modèle montre que l'eau distillée et l'éthanol possèdent des coefficients positifs élevés, ce qui traduit leur effet favorable sur le rendement d'extraction. Les coefficients associés à ces deux solvants sont statistiquement significatifs, confirmant leur contribution importante à l'amélioration du rendement. Le coefficient positif observé pour l'interaction eau–éthanol indique qu'un mélange hydroalcoolique est plus efficace que l'utilisation de chaque solvant séparément. À l'inverse, les coefficients associés aux interactions impliquant l'éther de pétrole ne sont pas significatifs, ce qui suggère une contribution limitée de ce solvant à l'amélioration du rendement global dans les conditions étudiées.

Le modèle mathématique reliant les facteurs significatifs à la réponse sous forme d'une équation du premier ordre :

$Y = 20{,}20\ x_1 + 20{,}02\ x_2 + 38{,}85\ x_{12}$

III.9.1.9 Tests des effets

Les effets des différents solvants et de leurs interactions sur le rendement d'extraction ont été évalués à l'aide des tests statistiques présentés ci-dessous.

Tableau III.13 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur le rendement d'extraction

Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Eau distillée (Mixture)	1	1	436,84597	85,8378	0,0027*
Ethanol(Mixture)	1	1	429,01916	84,2999	0,0027*
Ether de pétrole(Mixture)	1	1	47,45388	9,3244	0,0553
Eau distillée *Ethanol	1	1	63,75726	12,5279	0,0384*
Eau distillée *Ether de pétrole	1	1	0,26985	0,0530	0,8327
Ethanol*Ether de pétrole	1	1	0,75772	0,1489	0,7253
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	1	1	0,02723	0,0054	0,9463

L'analyse statistique des tests des effets, regroupés dans le Tableau III.10, révèle que le rendement d'extraction de *Globularia alypum* est rigoureusement gouverné par la polarité des solvants, où l'eau distillée ($p = 0,0027$) et l'éthanol ($p = 0,0027$) s'imposent comme les facteurs linéaires purs hautement significatifs et prédominants du procédé. À l'inverse, l'éther de pétrole n'exerce aucun impact linéaire statistiquement significatif ($p = 0,0553$), ce qui s'explique par l'incapacité de ce solvant hautement apolaire à rompre les liaisons intermoléculaires des parois végétales ou à solubiliser les métabolites secondaires majoritaires de cette plante. De manière remarquable, l'étude des interactions met en évidence un effet de synergie binaire exclusif et hautement significatif entre l'eau distillée et l'éthanol ($p = 0,0384$), traduisant le fait que l'association de ces deux solvants modifie idéalement la constante diélectrique et les propriétés cinétiques (viscosité, tension superficielle) du milieu extractif, optimisant ainsi le transfert de masse par rapport aux solvants purs. Finalement, la non-significativité totale des autres interactions bilatérales et du mélange ternaire ($p > 0,05$) confirme que l'introduction de l'éther de pétrole perturbe l'équilibre thermodynamique du système, consolidant ainsi scientifiquement le choix d'un milieu hydroalcoolique optimisé comme seule voie efficace pour maximiser la rentabilité massique de la biomasse étudiée.

III.9.1.10 Profil de prédiction

Le profil de prédiction a été utilisé afin d'identifier les proportions optimales des solvants permettant de maximiser le rendement d'extraction.

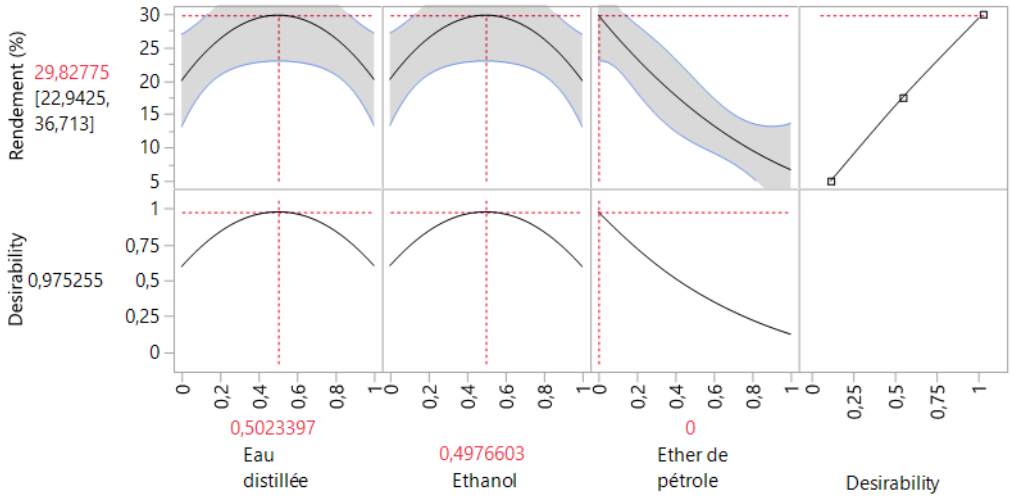


Figure III.11 : Profil de prédiction du rendement d'extraction selon les proportions des solvants

Le profil de prédiction permet de déterminer les conditions optimales d'extraction correspondant au rendement maximal. Les résultats montrent que le meilleur rendement est obtenu avec un mélange composé essentiellement d'eau distillée et d'éthanol en proportions presque équivalentes, tandis que l'éther de pétrole est absent. Dans ces conditions optimales, le rendement prédit atteint environ 29,83 %. Cette observation confirme l'intérêt de l'utilisation des mélanges hydroalcooliques dans les procédés d'extraction des composés naturels. En effet, la combinaison de l'eau et de l'éthanol favorise la pénétration du solvant dans les tissus végétaux et améliore la solubilisation d'un grand nombre de métabolites secondaires, ce qui explique l'augmentation du rendement observée.

III.9.2 Polyphénols totaux

III.9.2.1 Réponse du polyphénol

La teneur en polyphénols totaux des extraits obtenus a été déterminée afin d'évaluer l'influence du mélange des solvants sur l'extraction des composés phénoliques.

Tableau III.14 : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait) des différents extraits et valeurs prédites par le modèle

N°Exp	Eau	Ethanol	Ether de pétrole	Polyphénols	polyphénols prédit
1	1	0	0	**17,62**	**5,72966578**
2	0	1	0	**150,5**	**159,14512**
3	0	0	1	**9,48**	**12,1633021**
4	0,5	0,5	0	**108,94**	**105,694786**
5	0,5	0	0,5	**7,47**	**1,73703209**
6	0	0,5	0,5	**282,48**	**293,808422**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**30,46**	**66,6929144**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**241,72**	**216,346551**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**139,03**	**131,542005**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**170,01**	**168,324265**

III.9.2.2 Graphique des réponses observées et prédites

La qualité du modèle de prédiction des polyphénols totaux a été évaluée par la comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites.

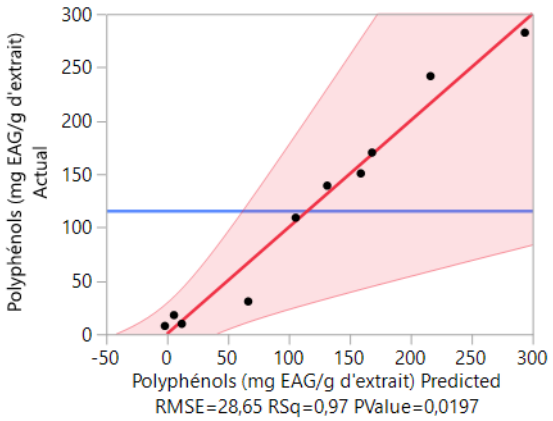


Figure III.12 : Diagramme des résultats expérimentaux du plan de mélange de polyphénols totaux

Le graphique « Actual by Predicted Plot » montre une bonne concordance entre les valeurs expérimentales des polyphénols et les valeurs prédites par le modèle. La majorité des points se situent à proximité de la droite de régression, ce qui traduit une bonne capacité prédictive du modèle. Cette observation est confirmée par la valeur élevée du coefficient de détermination ($R^2 = 0,9721$), indiquant que 97,21 % des variations observées de la teneur en polyphénols sont expliquées par les proportions des solvants utilisées dans le plan de mélange. Cette valeur témoigne d'une excellente qualité d'ajustement et montre que le modèle développé est capable de représenter fidèlement le comportement expérimental du système étudié. La faible dispersion des points autour de la droite de régression confirme également la précision du modèle et sa fiabilité pour l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques.

III.9.2.3 Synthèse des effets

Les effets des différents solvants et de leurs interactions sur la teneur en polyphénols totaux sont illustrés dans le tableau suivante.

Tableau III.15 : Les résultats de l'analyse des effets soulignent l'importance des différents solvants utilisés dans le mélange pour le polyphénols totaux .

Source	LogWorth		PValue	
Ethanol*Ether de pétrole	2,027		0,00939	
Ethanol(Mixture)	1,980		0,01047	^
Eau distillée *Ethanol	0,258		0,55233	
Ether de pétrole(Mixture)	0,161		0,69024	^
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	0,117		0,76357	
Eau distillée *Ether de pétrole	0,108		0,77925	^
Eau distillée (Mixture)	0,071		0,84935	^

L'analyse des effets met en évidence que l'éthanol constitue le facteur le plus influent (p = 0,01047) sur l'extraction des polyphénols. Son effet significatif montre que ce solvant possède une forte capacité à dissoudre les composés phénoliques présents dans *Globularia alypum*. L'interaction entre l'éthanol et l'éther de pétrole apparaît également hautement significative, indiquant qu'une combinaison appropriée de solvants de polarités différentes améliore considérablement l'efficacité de l'extraction. Cette complémentarité entre les solvants favorise probablement la solubilisation de différentes catégories de composés phénoliques. En revanche, l'eau distillée ainsi que les autres interactions n'ont pas montré d'effet significatif sur cette réponse, ce qui souligne le rôle prépondérant de l'éthanol dans l'extraction des polyphénols.

III.9.2.4 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites

La distribution des résidus a été examinée afin de vérifier la validité des hypothèses statistiques du modèle dans la figure III.13.

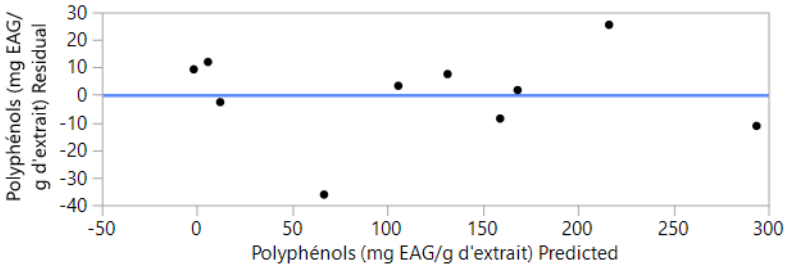


Figure III.13 : Diagramme d'analyse des résidus de polyphénols totaux .

Le graphique des résidus met en évidence une dispersion des points autour de la ligne zéro sur l'ensemble des valeurs prédites. Les résidus observés varient approximativement entre -35 et +30 mg EAG/g d'extrait. Malgré cette dispersion plus importante que celle observée pour le rendement, aucune tendance particulière n'est visible. Les points sont répartis de manière aléatoire et ne présentent ni regroupement systématique ni évolution progressive avec l'augmentation des valeurs prédites. Cette observation indique que les erreurs expérimentales sont distribuées de façon satisfaisante et que le modèle explique correctement la variation de la teneur en polyphénols.

III.9.2.5 Résidus studentisés

Afin de vérifier la validité statistique du modèle mathématique adopté pour le plan de mélange et de s'assurer de l'homoscédasticité ainsi que de l'absence de valeurs aberrantes (outliers), l'analyse des résidus standardisés a été effectuée. La Figure III.14 illustre la distribution des résidus studentisés en fonction du numéro des essais expérimentaux

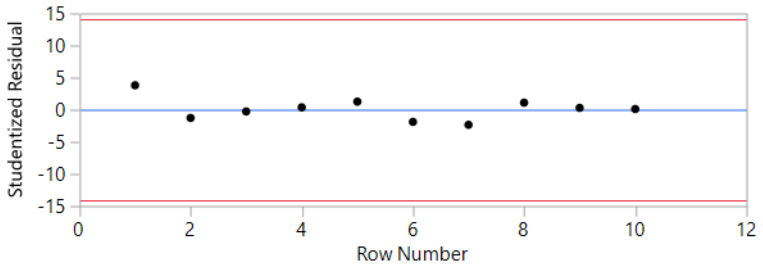


Figure III.14 : Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du polyphénols totaux.

L'analyse des résidus studentisés montre que toutes les observations restent comprises dans les limites statistiques acceptables. Les valeurs observées sont proches de zéro et aucune observation ne dépasse les limites critiques représentées sur le graphique. L'absence de points aberrants indique que les résultats expérimentaux sont cohérents et qu'aucun essai n'exerce une influence excessive sur le modèle. Cette situation confirme la validité des données utilisées et renforce la fiabilité du modèle développé pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols.

III.9.2.6 Résumé de l'ajustement

Les paramètres statistiques du modèle de prédiction des polyphénols totaux sont regroupés dans le tableau suivant afin d'évaluer la qualité de l'ajustement.

Tableau III.16 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction des polyphénols totaux.

RSquare	0,972121
RSquare Adj	0,916364
Root Mean Square Error	28,65019
Mean of Response	115,771
Observations (or Sum Wgts)	10

Les paramètres statistiques indiquent une excellente qualité de modélisation. La valeur élevée du coefficient de détermination (R^2 = 0,9721) montre que le modèle explique la quasi-totalité des variations observées. Le coefficient de détermination ajusté (R^2 ajusté = 0,9164) confirme également la robustesse du modèle malgré le nombre limité d'expériences réalisées. La valeur du RMSE reste acceptable comparativement à l'amplitude des résultats observés, ce qui démontre que les erreurs de prédiction demeurent faibles. L'ensemble de ces indicateurs

confirme que le modèle proposé est adapté à l'étude et à l'optimisation de l'extraction des polyphénols.

III.9.2.7 Analyse de la variance

Une analyse de variance a été réalisée afin de vérifier la validité statistique du modèle appliqué à la teneur en polyphénols totaux dans le Tableau III.17.

Tableau III.17 : Analyse de variance du modèle appliqué aux polyphénols totaux.

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	6	85866,626	14311,1	17,4348
Error	3	2462,500	820,8	**Prob > F**
C. Total	9	88329,126		0,0197*

Testé par rapport au modèle réduit : Y=moyenne

L'analyse de variance montre que le modèle est statistiquement significatif avec une valeur de p égale à 0,0197, inférieure au seuil de signification de 0,05. Cette significativité confirme que les variations observées dans la teneur en polyphénols sont réellement liées aux proportions des solvants et non à des fluctuations aléatoires. La valeur élevée du rapport F (17,43) traduit une forte contribution du modèle à l'explication des résultats expérimentaux. Ces résultats démontrent que le modèle développé est suffisamment robuste pour être utilisé dans l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques.

III.9.2.8 Estimation des paramétres

Les coefficients du modèle ainsi que leur contribution à la réponse étudiée sont présentés dans le tableau III.18 suivant.

Tableau III.18 : Estimation des coefficients du modèle pour les polyphénols totaux

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Eau distillée (Mixture)	5,7296658	27,69589	0,21	0,8494
Ethanol(Mixture)	159,14512	27,69589	5,75	0,0105*
Ether de pétrole(Mixture)	12,163302	27,69589	0,44	0,6902
Eau distillée *Ethanol	93,029572	139,4153	0,67	0,5523
Eau distillée *Ether de pétrole	-42,73406	139,4153	-0,31	0,7792
Ethanol*Ether de pétrole	832,61684	139,4153	5,97	0,0094*
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	302,67529	919,1204	0,33	0,7636

L'étude des coefficients du modèle montre que l'éthanol possède un coefficient positif élevé et statistiquement significatif, confirmant son rôle majeur dans l'extraction des polyphénols. Le coefficient extrêmement élevé associé à l'interaction éthanol–éther de pétrole traduit un effet synergique important entre ces deux solvants. Cette synergie permet vraisemblablement une meilleure pénétration dans la matrice végétale et une extraction plus efficace des composés

phénoliques. À l'inverse, les coefficients associés à l'eau distillée et aux autres interactions restent faibles et non significatifs, ce qui indique que leur contribution à l'augmentation de la teneur en polyphénols est limitée dans les conditions étudiées.

Le modèle mathématique reliant les facteurs significatifs à la réponse sous forme d'une équation du premier ordre :

$Y = 159{,}14\ x_2 + 832{,}61\ x_{23}$

III.9.2.9 Tests des effets

Les effets des solvants et de leurs interactions sur la teneur en polyphénols totaux ont été évalués à l'aide des tests statistiques suivants.

Tableau III.19 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur les polyphénols totaux.

Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Eau distillée (Mixture)	1	1	35,130	0,0428	0,8494
Ethanol(Mixture)	1	1	27102,608	33,0184	0,0105*
Ether de pétrole(Mixture)	1	1	158,317	0,1929	0,6902
Eau distillée *Ethanol	1	1	365,490	0,4453	0,5523
Eau distillée *Ether de pétrole	1	1	77,123	0,0940	0,7792
Ethanol*Ether de pétrole	1	1	29276,852	35,6672	0,0094*
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	1	1	89,015	0,1084	0,7636

Les résultats des tests d'effets montrent que l'interaction entre l'éthanol et l'éther de pétrole représente le facteur le plus influent sur la teneur en polyphénols totaux, avec une valeur de probabilité de p = 0,0094, indiquant un effet hautement significatif. L'éthanol utilisé seul présente également un effet significatif (p = 0,0105), ce qui confirme son efficacité dans l'extraction des composés phénoliques présents dans *Globularia alypum*.

En revanche, l'eau distillée seule (p = 0,8494) ainsi que l'éther de pétrole seul (p = 0,6902) ne présentent pas d'effet significatif sur cette réponse. De même, les interactions Eau distillée–Éthanol (p = 0,5523), Eau distillée–Éther de pétrole (p = 0,7792) et l'interaction ternaire Eau distillée–Éthanol–Éther de pétrole (p = 0,7636) ne sont pas statistiquement significatives.

Ces résultats montrent que l'extraction des polyphénols dépend principalement de la présence de l'éthanol et surtout de son association avec l'éther de pétrole. Cette synergie entre les deux solvants favorise probablement la solubilisation et la récupération d'un plus grand nombre de composés phénoliques, ce qui explique les teneurs élevées obtenues dans certaines formulations du plan de mélange. Par conséquent, l'éthanol et son interaction avec l'éther de pétrole constituent les facteurs déterminants pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols de *Globularia alypum*.

III.9.2.10 Profil de prédiction

Le profil de prédiction permet de visualiser l'influence des proportions des solvants sur la teneur en polyphénols totaux et d'identifier les conditions optimales d'extraction.

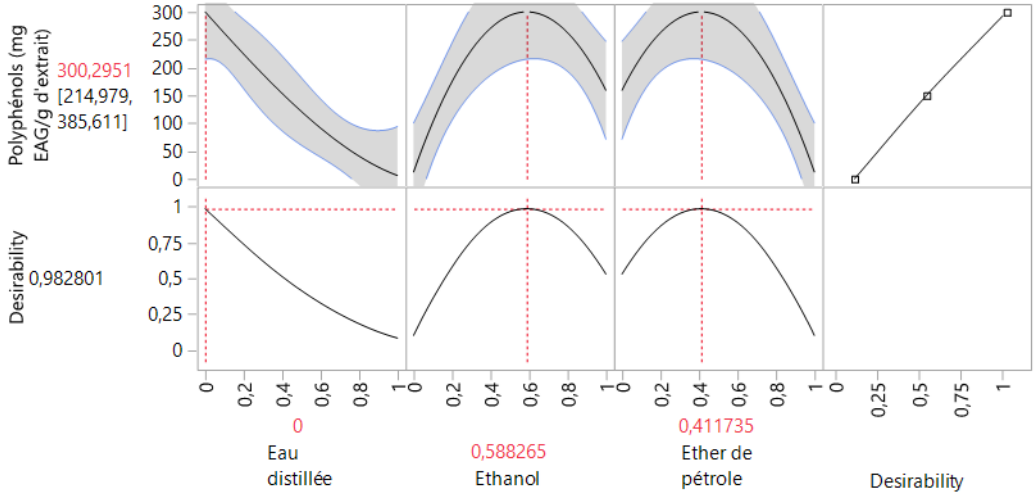


Figure III.15 : Profil de prédiction de la teneur en polyphénols totaux selon les proportions des solvants.

Le profil de prédiction permet de déterminer la composition optimale du mélange de solvants pour maximiser l'extraction des polyphénols. Les résultats montrent que la teneur maximale est obtenue avec un mélange composé d'environ 58,8 % d'éthanol et 41,2 % d'éther de pétrole, sans ajout d'eau distillée. Dans ces conditions, la teneur prédite atteint environ 300,30 mg EAG/g d'extrait. Cette valeur élevée confirme l'importance de l'association entre l'éthanol et l'éther de pétrole dans l'extraction des composés phénoliques. Ces résultats indiquent que l'utilisation d'un mélange de solvants présentant des polarités complémentaires constitue une stratégie efficace pour améliorer la récupération des polyphénols de *Globularia alypum*.

III.9.3 Flavonoïdes totaux

III.9.3.1 Réponse du flavonoïde

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée pour les différents mélanges de solvants afin d'étudier leur influence sur l'extraction de cette famille de composés bioactifs.

Tableau III.20 : Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/g d'extrait) et valeurs prédites par le modèle.

N°Exp	Eau	Ethanol	Ether de pétrole	Flavonoides	Flavonoides prédits
1	1	0	0	**5,2**	**6,40340909**
2	0	1	0	**50,46**	**47,4461364**
3	0	0	1	**117,14**	**119,487955**
4	0,5	0,5	0	**4,24**	**2,42954545**
5	0,5	0	0,5	**8,3**	**11,8513636**
6	0	0,5	0,5	**123,22**	**122,554091**
7	0,66666667	0,16666667	0,16666667	**3,35**	**-0,79772727**
8	0,16666667	0,66666667	0,16666667	**41,28**	**49,7840909**
9	0,16666667	0,16666667	0,66666667	**84,52**	**76,9386364**
10	0,33333333	0,33333333	0,33333333	**32,67**	**34,2825**

III.9.3.2 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites

La relation entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites des flavonoïdes totaux a été étudiée afin d'évaluer la performance du modèle développé.

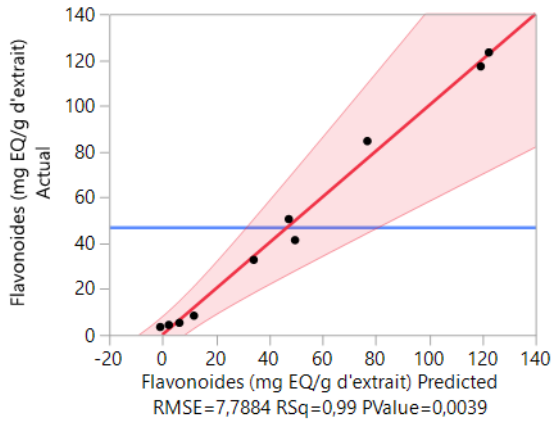


Figure III.16 : Diagramme des résultats expérimentaux du plan de mélange de flavonoïdes totaux

Le graphique « Actual by Predicted Plot » montre une excellente concordance entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites par le modèle. Les points sont très proches de la droite de régression, ce qui traduit une très faible différence entre les résultats observés et les résultats calculés. Cette observation est confirmée par la valeur très élevée du coefficient de détermination ($R^2 = 0,9906$), indiquant que plus de 99 % des variations observées dans la teneur en flavonoïdes sont expliquées par le modèle. Cette valeur exceptionnelle démontre la très grande qualité de l'ajustement statistique et confirme la fiabilité du modèle pour l'étude et l'optimisation de l'extraction des flavonoïdes.

III.9.3.3 Synthèse des effets

Les effets individuels et combinés des solvants sur l'extraction des flavonoïdes totaux sont présentés dans le Tableau suivante.

Tableau III.21 : Effets des solvants et de leurs interactions sur la teneur en flavonoïdes totaux.

Source	LogWorth		PValue	
Ether de pétrole(Mixture)	3,264		0,00054	
Ethanol(Mixture)	2,093		0,00807	
Eau distillée *Ether de pétrole	1,903		0,01250	
Ethanol*Ether de pétrole	1,588		0,02583	
Eau distillée *Ethanol	1,089		0,08141	
Eau distillée (Mixture)	0,340		0,45754	^
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	0,310		0,48925	

Les résultats de l'analyse des effets montrent que l'éther de pétrole est le facteur le plus influent sur l'extraction des flavonoïdes. Son effet hautement significatif indique que ce solvant favorise fortement la récupération des flavonoïdes présents dans l'extrait étudié. L'éthanol exerce également un effet significatif, tandis que les interactions entre l'éther de pétrole et les autres solvants contribuent de manière importante à l'amélioration de l'extraction. Ces résultats suggèrent que les flavonoïdes présents dans *Globularia alypum* possèdent une affinité plus importante pour les solvants organiques que pour l'eau distillée.

III.9.3.4 Graphique des résidus en fonction des valeurs prédites

L'analyse graphique des résidus a été réalisée afin de vérifier la qualité de l'ajustement du modèle aux données expérimentales.

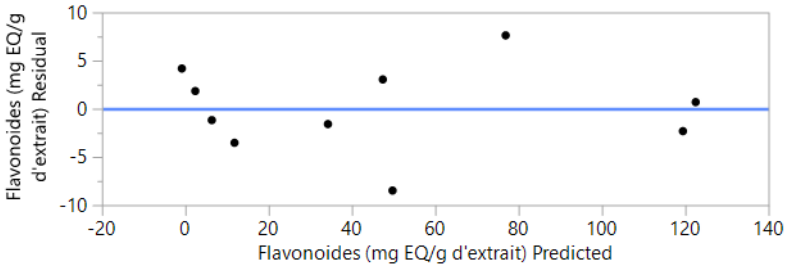


Figure III.17 : Diagramme d'analyse des résidus de flavonoïdes totaux

Le graphique « Residual by Predicted Plot » montre une répartition aléatoire des résidus autour de la ligne zéro, sans tendance particulière ni structure apparente. Les valeurs positives et négatives sont distribuées de manière équilibrée sur l'ensemble des valeurs prédites, ce qui indique une bonne homogénéité des erreurs expérimentales. Cette distribution confirme que le

modèle décrit correctement la variation de la teneur en flavonoïdes et que les hypothèses statistiques du modèle sont respectées.

III.9.3.5 Résidus standardisés de Student

Afin de vérifier la validité statistique du modèle mathématique adopté pour le plan de mélange et de s'assurer de l'homoscédasticité ainsi que de l'absence de valeurs aberrantes (outliers), l'analyse des résidus standardisés a été effectuée. La Figure III.18 illustre la distribution des résidus studentisés en fonction du numéro des essais expérimentaux

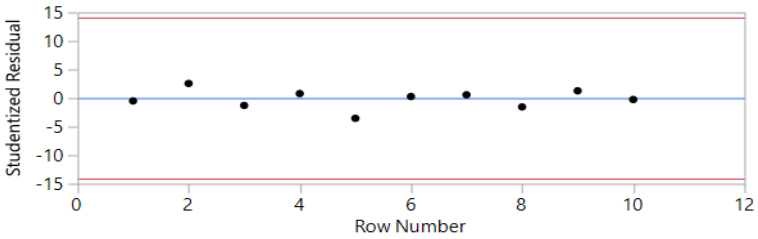


Figure III.18 : Profil de distribution des résidus studentisés pour le modèle du flavonoïdes totaux.

Le graphique des résidus studentisés montre que toutes les observations restent à l'intérieur des limites critiques et qu'aucun point aberrant n'est observé. Les valeurs sont proches de zéro et ne dépassent pas les seuils de contrôle, ce qui indique l'absence d'expériences influentes susceptibles d'affecter la qualité du modèle. Ces résultats confirment la fiabilité des données expérimentales ainsi que la robustesse du modèle utilisé pour l'optimisation de l'extraction des flavonoïdes.

III.9.3.6 Synthèse de l'ajustement

Les principaux paramètres statistiques permettant d'évaluer les performances du modèle de prédiction des flavonoïdes totaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau III.22 : Paramètres statistiques du modèle de prédiction des flavonoïdes totaux.

RSquare	0,990603
RSquare Adj	0,971809
Root Mean Square Error	7,788416
Mean of Response	47,038
Observations (or Sum Wgts)	10

Les paramètres statistiques du modèle montrent une excellente qualité d'ajustement. La valeur du coefficient de détermination (R^2 = 0,9906) indique que pratiquement toute la variabilité observée est expliquée par le modèle. Le coefficient ajusté (R^2 ajusté = 0,9718) reste lui aussi très élevé, confirmant la robustesse du modèle. La faible valeur du RMSE traduit

également une précision importante dans la prédiction des réponses expérimentales. Ces résultats démontrent que le modèle est particulièrement performant pour décrire les variations de la teneur en flavonoïdes en fonction des proportions des solvants.

III.9.3.7 Analyse de la variance

L'analyse de variance a été utilisée afin de déterminer la significativité statistique du modèle développé pour les flavonoïdes totaux.

Tableau III.23 : Analyse de variance du modèle appliqué aux flavonoïdes totaux

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	6	19183,575	3197,26	52,7084
Error	3	181,978	60,66	**Prob > F**
C. Total	9	19365,553		0,0039*

Testé par rapport au modèle réduit : Y=moyenne

L'analyse de variance montre que le modèle est hautement significatif sur le plan statistique avec une valeur de p égale à 0,0039. Cette valeur largement inférieure à 0,05 confirme que les variations observées sont principalement dues à l'effet des solvants utilisés et non à des erreurs expérimentales. La valeur élevée du rapport F (52,70) traduit un excellent pouvoir explicatif du modèle et confirme sa validité pour l'interprétation des résultats ainsi que pour la prédiction des conditions optimales d'extraction.

III.9.3.8 Estimation des paramètres

Les coefficients de régression associés aux différents facteurs du modèle sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau III.24 : Estimation des coefficients du modèle pour les flavonoïdes totaux

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
Eau distillée (Mixture)	6,4034091	7,528993	0,85	0,4575
Ethanol(Mixture)	47,446136	7,528993	6,30	0,0081*
Ether de pétrole(Mixture)	119,48795	7,528993	15,87	0,0005*
Eau distillée *Ethanol	-97,98091	37,89938	-2,59	0,0814
Eau distillée *Ether de pétrole	-204,3773	37,89938	-5,39	0,0125*
Ethanol*Ether de pétrole	156,34818	37,89938	4,13	0,0258*
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	-196,38	249,8585	-0,79	0,4893

Les coefficients du modèle montrent que l'éther de pétrole possède le coefficient positif le plus élevé, ce qui confirme son rôle essentiel dans l'extraction des flavonoïdes. L'éthanol contribue également de manière positive et significative à l'augmentation de cette réponse. En

revanche, certaines interactions impliquant l'eau présentent des coefficients négatifs, ce qui suggère que l'augmentation de la proportion d'eau peut réduire l'efficacité de l'extraction des flavonoïdes. Ces résultats confirment que les flavonoïdes de *Globularia alypum* sont mieux extraits par des solvants organiques que par des solvants fortement polaires.

Le modèle mathématique reliant les facteurs significatifs à la réponse sous forme d'une équation du premier ordre :

$Y= 47,44\ x_2 + 119,48\ x_3 - 204,37\ x_{13} + 156,34\ x_{23}$

III.9.3.9 Tests des effets

Les effets individuels et combinés des solvants sur la teneur en flavonoïdes totaux ont été étudiés à l'aide des tests statistiques présentés ci-dessous.

Tableau III.25 : Tests des effets des facteurs et de leurs interactions sur les flavonoïdes totaux.

Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Eau distillée (Mixture)	1	1	43,878	0,7234	0,4575
Ethanol(Mixture)	1	1	2408,941	39,7126	0,0081*
Ether de pétrole(Mixture)	1	1	15278,217	251,8688	0,0005*
Eau distillée *Ethanol	1	1	405,431	6,6837	0,0814
Eau distillée *Ether de pétrole	1	1	1764,002	29,0804	0,0125*
Ethanol*Ether de pétrole	1	1	1032,333	17,0185	0,0258*
Eau distillée *Ethanol*Ether de pétrole	1	1	37,472	0,6177	0,4893

Les résultats montrent que l'éther de pétrole représente le facteur le plus significatif dans l'extraction des flavonoïdes ($p = 0,0005$), suivi par l'éthanol ($p = 0,0081$). Parmi les interactions étudiées, l'interaction eau distillée–éther de pétrole ($p = 0,0125$) ainsi que l'interaction éthanol–éther de pétrole ($p = 0,0258$) présentent également des effets significatifs. En revanche, l'eau distillée seule ($p = 0,4575$), l'interaction eau distillée–éthanol ($p = 0,0814$) et l'interaction triple eau distillée–éthanol–éther de pétrole ($p = 0,4893$) ne sont pas significatives. Ces résultats indiquent que l'extraction des flavonoïdes est principalement favorisée par les solvants organiques, notamment l'éther de pétrole associé à l'éthanol, permettant d'obtenir les teneurs les plus élevées en flavonoïdes.

III.9.3.10 Profil de prédiction

Une optimisation simultanée des différentes réponses étudiées a été réalisée à l'aide de la fonction de désirabilité afin de déterminer les conditions expérimentales optimales d'extraction.

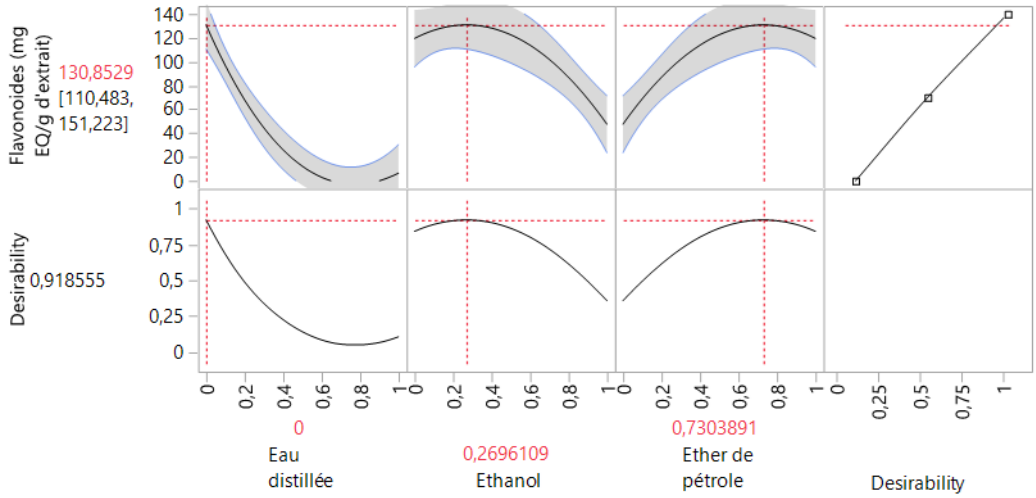


Figure III.19 : Profil de désirabilité globale permettant la détermination des conditions optimales d'extraction.

Le profil de prédiction indique que la teneur maximale en flavonoïdes est obtenue avec un mélange constitué principalement d'éther de pétrole et d'éthanol, sans ajout d'eau distillée. Les proportions optimales sont d'environ 73 % d'éther de pétrole et 27 % d'éthanol. Dans ces conditions, la teneur prédite atteint environ 130,85 mg EQ/g d'extrait. Cette valeur représente la meilleure réponse obtenue dans le domaine expérimental étudié et démontre que la combinaison de ces deux solvants permet une extraction optimale des flavonoïdes. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *Globularia alypum* comme source importante de flavonoïdes pouvant être valorisés dans la formulation de compléments alimentaires naturels.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a porté sur l'étude phytochimique et la valorisation de ***Globularia alypum*** en vue de son utilisation potentielle dans la formulation de compléments alimentaires.

Les analyses physicochimiques réalisées ont permis de caractériser la matière végétale à travers la détermination de plusieurs paramètres, notamment l'humidité, le taux de cendres, l'acidité, la teneur en matières grasses et les fibres. Les résultats obtenus témoignent de la bonne qualité de la plante étudiée et de son aptitude à être valorisée dans différents domaines d'application.

L'étude phytochimique a révélé la présence de composés bioactifs d'intérêt, particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes, reconnus pour leurs propriétés biologiques et leurs effets bénéfiques sur la santé. Les dosages effectués ont mis en évidence des teneurs variables selon les conditions d'extraction, soulignant l'importance du choix du système de solvants pour optimiser la récupération de ces molécules d'intérêt.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les extraits de ***Globularia alypum*** possèdent une capacité significative à neutraliser les radicaux libres, ce qui confirme leur potentiel en tant que source naturelle d'antioxydants. Cette activité est probablement liée à leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques.

L'utilisation de la méthodologie des plans de mélange a permis d'optimiser les conditions d'extraction et d'identifier les combinaisons de solvants les plus performantes pour maximiser le rendement d'extraction ainsi que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. Les modèles statistiques obtenus ont montré une bonne fiabilité et une capacité prédictive satisfaisante.

Au regard des résultats obtenus, ***Globularia alypum*** apparaît comme une source prometteuse de composés bioactifs pouvant être valorisés dans la formulation de compléments alimentaires naturels. Sa richesse en molécules antioxydantes, associée à ses caractéristiques physicochimiques favorables, lui confère un intérêt particulier dans le développement de produits et dite: des compléments alimentaires.

Enfin, des études complémentaires sont nécessaires afin de renforcer la valorisation de ***Globularia alypum,*** notamment à travers l'analyse de sa composition minérale, permettant de déterminer les éléments minéraux essentiels ainsi que la présence éventuelle de métaux lourds. Il serait également important de réaliser des études de **toxicité** afin de garantir l'innocuité des extraits destinés à la formulation de compléments alimentaires. Par ailleurs, l'évaluation de **l'activité antibactérienne** des extraits n'a pas été abordée dans le cadre de ce travail. Des

investigations futures portant sur cette activité permettraient de mieux caractériser le potentiel biologique de cette plante et d'élargir ses perspectives d'application. Ces études contribueraient ainsi à une meilleure évaluation de la qualité, de la sécurité et du potentiel d'exploitation de cette espèce dans le domaine des compléments alimentaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1]-Makhlouf, Y., Bouaziz, A., Bentahar, A., Djidel, S., Barghout, N., & Khennouf, S. (2023). Ethnobotanical study of medicinal plants in "El-Mergeub" nature reserve, M'sila Province, Northern Algeria. Applied Ecology and Environmental Research, 21(1), 459–472.

[2]-Guellal,S.,Kal,O.(2022-2023).Etude de l'activité antibactérienne et antibiofilm de Globularia alypum L.Mimoire de Master2. Université « MOULOUD MAMMERI » de Tizi-Ouzou.

[3]-Behlouli,R,(2017). Étude phytochimique d'une plante médicinale : Globularia alypum L. Mémoire de magister. Université Saad Dahlab de Blida.

[4]- Ksouri, H., Maouche, N,. (2020/2021). Etude phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de Globularia alypum et Retama sphaerocarpa.Mimoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

[5]-Noumeur,S.(2018).Identification of bioactive natural products from endophytic fungi isolated from Globularia alypum. mimoire de doctorat.Université Ferhat Abbas Sétif 1

[6]- Bertsouklis,K,.Papafotiou, M,. Balotis,G. (2001).Effect of medium on in vitro growth and ex vitro establishment of Globularia alypum L.International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants 616, 177-180, 2001.

[7]-Asraoui, F., Ben-Said, M., El Mansouri, N., Bakkali, I., Sakar, E. H., Bakha, M., Ortiz-Liébana, N., Cacciola, F., Louajri, A., Palma Lovillo, M., Brigui, J., & El Mansouri, F. (2025). Phytochemical, ethnobotanical, pharmacological, and toxicological profile of Globularia alypum L.: A comprehensive review. Plants, 14(23), 3641.

[8]-Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., and Abdelly C.(2008).Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes.

[9]-Harzallah J. H., Neffati A., Skandrani I., Maaloul E., Chekir G. L., and Mahjoub T. (2010). Antioxidant and antigenotoxic activities of Globularia alypum leave extracts. Journal of medicinal Plants Research. 4(19) : 2048- 2053.

[10]-Gülçin I., Mahfus E., Hassan Y. A. E. (2012). Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. Arabian Journal of Chemistry. 5(4) : 489-499.

[11] -Mehenni R., and Rahmouni M. (2017). Propriétés anti oxydantes d'extraits d'une plante médicinale: Globularia alypum. Application pharmaceutique : solution hydro alcoolique. Mémoire de fin de cycle Pour l'obtention du diplôme de Master, Université A.MIRA, BEJAIA

[12] -Ramdani M., Lograda T., Ounoughi A., Chalard P., Figueredo G., Laidoudi H., and El Kolli M. (2014). International journal of current microbiology and applied sciences. 7 : 306-318.

[13]- Khlifi, D., Hamdi, M., Hayouni, A. E., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2011). Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis Activities of various extracts of Globularia alypum L. (Globulariaceae) leaves. Molecules, 16(12), 10592-10603.

[14]-Khlifi D., Rabiaa M., Sghaier D., Laouni A., Moktar H., and Jalloul B. (2013). Anti Inflammatory and acetylcholinesterase inhibition activities of Globularia alypum. Journ al of Medical and Bioengineering. 2(4) :234-235.

[15]-Zerriouh,M.‹(2007-2008).Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique de la globularine, un iridoïde isolé des feuilles de Globularia alypum L. chez le rat Wistar.Mimoire de Magister,Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

[16]-Bennetau,P.(2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 49(4), 151-159.

[17] -Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.3émeEd Tec et Doc. Paris, P, 101-120.

[18]-Ghedira,K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4) : 162-169.

[19]-Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., et Wegrzyn, G. (2006) Activité antibactérienne différentielle de la génistéine résultant de l'inhibition globale de la synthèse d'ADN, d'ARN et de protéines dans certaines souches bactériennes. Archives de microbiologie, 184, 271-278.

[20]- Ortuño A, Báidez AG, Gómez P, Arcas MC, Porras I, García-Lidón A, Del Río JA (2006) Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids : their influence in the defence mechanism against Penicillium digitatum. Food Chemistry 98, 351-358.

[21]-Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, Lerou PH, Lensch MW, Daley GQ.(2008). Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. Nature451 (7175):141–146.

[22]-Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875 – 3883.

[23]- Hager T., Howard L. Berry fruit phytochemicals. Berry Fruit, 2009. CRC Press

[24]-Manach C., Scalbert A., Morand C, Remesy C., Jimenez L.(2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. 79(5): 727 – 747.

[25]- Benhamama.L,(2014 – 2015). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale Crataegus monogyna. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.

[26]- Enseignante :HASSAINE.A,(2019/2020), CHAPITRE 5 : LES HETEROSIDES ou GLUCOSIDES, Intitulé du Master : Biologie Végétale et Environnement,mimoire de master, Université Badji Mokhtar Annaba.

[27]- Eric Bertin et al, (2025), Mise au point sur les compléments alimentaires, Elsevier Masson France

[28]- Bennacer et Bouguenna ,(2022), Compléments Alimentaires : Etude sur ces composés, leurs effets bénéfiques et les risques liés à leur utilisation ,mimoire de master, Université Frères Mentouri Constantine 1

[29]-Guergab et Moussaoui,2021,Effet de certains paramètre sur la prescription des compléments alimentaires,mimoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem

[30]-Boukhatem et Melouka, (2024), Conception et formulation d'un complément alimentaire : Réglementation et risques de fabrication,mimoire de master, Université Abou-Bekr Belkaïd – Tlemcen

[31]-Zouraghen, A., Boulekhlalef, L., & Amimour, H. (2023). Les compléments alimentaires à base de magnésium : étude exploratoire et officinale. Mémoire de Master, Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf – Mila, Algérie.

[32]-Singh, K. K., & Goswami, T. K. (1996). Physical properties of cumin seed. Journal of Agricultural Engineering Research, 64(2), 93-98

[33]-El-Moslamy, S. H., Rezk, A. H., & Abdel-Fattah, Y. R. (2019). Applying experimental design for low-cost and eco-friendly biosynthesis of MgONPs from local endophytic actinomycetes as an antiphytopathogens agent. Nanoscience and Nanotechnology Letters, 11(3), 406-415.

[34]-Cheng, C., Huang, X., Cheng, W., Quan, X., Cheng, Z., Jiang, L., & Yang, L. (2019). Ozonation of biologically-treated municipal solid waste leachate using an integrated process of O3/Ca(OH)2 and microbubble reactor. Environmental Technology, 1-11.

[35]-Gündoğdu, T., Deniz, I., Çalışkan, G., Şahin, E. S., & Azbar, N. (2016). Experimental design methods for bioengineering applications. Critical reviews in biotechnology, 36(2), 368-388.

[36]-Han, R., Ding, D., Xu, Y., Zou, W., Wang, Y., Li, Y., & Zou, L. (2008). Use of rice husk for the adsorption of congo red from aqueous solution in column mode. Bioresour. Technol. 99, 2938–2946.

[37]-Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta, 76(5), 965-977.

[38]-Tinsson, W. (2010). Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques. Vol. (67) : Mathématiques & Applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 535 p.

[39]-Goupy, J., & Creighton, L. (2006). Introduction aux plans d'expériences-3ème édition-Livre+ CD-Rom. Hachette.

[40]-Panda, S. K., Sharma, M., & Rath, B. (2007). Optimization of process parameters for phytochemical extraction using central composite design. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 82(3), 280-289.

[41]-Kennedy, M., & Krouse, D. (1999). Strategies for improving fermentation medium performance: a review. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 23(6), 456-475.

[42]-Kadirvelu, K., Goel, J., & Rajagopal, C. (2008). Sorption of lead, mercury and cadmium ions in multi-component system using carbon aerogel as adsorbent. Journal of Hazardous Materials, 153(1-2), 502-507.

[43]-PHILIPPE, T. (2008). Conception et optimisation des formulations par la méthodologie des plans d'expériences. Thèse de doctorat, Université de Liège, Belgique.

[44]-GOUPY, J. (2005). Introduction aux plans d'expériences (2e éd.). Dunod, Paris.

[45]-Jacques, G. (2006). Essai de comparaison des rimes du tangoute et du rgyalrong. Medieval Tibeto-burman languages II, 121-154.

[46]-Mohammedi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen. Pp 155.

[47]-Békro, Y. A., Békro, J. A. M. A., Boua, B. B., Tra Bi, F. H., & Éhilé, E. E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de Caesalpinia benthamiana (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences & Nature, 4(2), 217–225.

[48]-Dubale, S., Kebebe, D., Zeynudin, A., Abdissa, N., & Suleman, S. (2023). Phytochemical screening and antimicrobial activity evaluation of selected medicinal plants in Ethiopia. Journal of Experimental Pharmacology, 15, 51–62.

[49]-Sadeq, O. R., Mechchate, H., Es-Safi, I., Bouhrim, M., Jawhari, F. Z., Ouassou, H., Kharchoufa, L., AlZain, M. N., Alzamel, N. M., & Al Kamaly, O. M. (2021). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of pollen extracts from Micromeria fruticosa, Achillea fragrantissima, and Phoenix dactylifera. Plants, 10(4), 676.

[50]-Kalla A. (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthosscoparius, Rantheriumadpressum et Traganumnudatum. Thèse doctorat. Université Mentouri – Constantine.

[51]-Diallo D. (2000). Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: Glinus oppositifolius (Azoceae), Diospyros abyssinica (Ebenaceae), Entada africana (Minosaceae), Trichilia emetic (Meliaceae). Thèse de doctorat de recherche, Faculté des sciences de l'université de Lausanne Suisse.

[52]-Dohou N. (2015).Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymeleaelythroides .thèse de doctorat.P59. Available on : dspace. Univ – tlemcem.

[53]-Trease E., Evans W.C. (1987). Pharmacognosy. 13 th Edition, Baillière Tindall, London

[54]-Ilboudo S., Ouedraogo M., Some N., et Guissou PI. Criblage phytochimique et évaluation de la toxicité aigüe de Pisolithustinctorius (Basidiomycète). Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. 2009; 10(2):6-13.

[55]-Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins and their antioxidant activities. Food Chemistry, 89(2), 191–198.

[56]- Nathalie Boizot et Jean-Paul Charpentier,(2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

[57]- Singleton et Rossi,(1965).Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents.American Journal of Enology and Viticulture

[58]- Sánchez-Rangel, J.C., Benavides, J., Heredia, J.B., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D.A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. Analytical Methods, 5(21), 5990–5999.

[59]-Zhishen, J., Mengcheng, T., & Wu, J. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry, 64(4), 555–559.

[60]- Siddiqui, K. S., Hassan, M., Rehman, S., Lee, Y. S. (2017). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Cymbopogon citratus extract and their antibacterial activity. Materials Letters, 206, 99-102.

[61]-Naseem, A., Iqbal, S., Jabeen, K., Umar, A., Alharbi, K., Antar, M., Grądecka-Jakubowska, K., Gancarz, M., & Ali, I. (2023). Organic amendments improve salinity-induced osmotic and oxidative stress tolerance in okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench). BMC Plant Biology, 23, 522.

[62]-Prabawa, S., Raida, A., Hartanto, R., & Yudhistira, B. (2023). The physicochemical quality of yellow chrysanthemum flower (Chrysanthemum indicum) brewed drink. Food Research, 7(3), 12–21.

[63]- Kale, R. G., Sawate, A. R., Kshirsagar, R. B., Patil, B. M., & Mane, R. P. (2018). Studies on evaluation of physical and chemical composition of beetroot (Beta vulgaris L.). International Journal of Chemical Studies, 6(2), 2977–2979.

[64]-Arora, S., Siddiqui, S., & Gehlot, R. (2019). Physicochemical and bioactive compounds in carrot and beetroot juice. Asian Journal of Dairy and Food Research, 38(3), 252–256.

[65]-Gocan, T. M., Andreica, I., Sándor, R., Gocan, M., & Pop, N. (2017). Issues on cultural variety and area on grape seeds oil yield. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology, 21(2), 142–145.

[66]-Cordeiro, M. J. M., Veloso, C. M., Soares Santos, L., Ferreira Bonomo, R. C., Caliari, M., & da Costa Ilhéu Fontan, R. (2018). The impact of heat-moisture treatment on the properties of Musa paradisiaca L. starch and optimization of process variables. Food Technology and Biotechnology, 56(4), 506–515.

[67]-Desai et al,(2023).Wavelet analysis for quantifying NavIC-IR multipath signal frequency with the aim of determining soil moisture in agricultural fields.

[68]-Wootton-Beard, P. C., Moran, A., Ryan, L.(2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, and Folin–Ciocalteu methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(21), 11552–11558.

[69]-Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. Free Radical Bio. Med, 26, 1231–1237.

[70]-Chougui, N., Louaileche, H., Mohedeb, S., Mouloudj, Y., Hammoui, Y., & Tamendjari, A. (2013). Physico-chemical characterisation and antioxidant activity of some Opuntia ficus-indica varieties grown in North Algeria. African Journal of Biotechnology, 12(3), 299–307.

[71]-Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., & Atik Bekkara, F. (2014). Phenolic contents and antioxidant activities in vitro of some selected Algerian plants. Journal of Medicinal Plants Research, 8(40), 1198–1207.

[72]-Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Hamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C., & Abdelly, C. (2012). Antioxidant activity and phenolic composition of medicinal plants from South of Tunisia: effect of extraction solvent. Industrial Crops and Products, 36(1), 620–627.

[73]-Gemici, A., Uslu, H., Gök, A., & Kirbaşlar, Ş. İ. (2015). Effect of diluents on the extraction of fumaric acid by tridodecyl amine (TDA). Journal of Chemical & Engineering.

[74]-Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry.

[75]-Khlifi, D., Hamdi, M., El Hayouni, A., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2015). Global chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of Globularia alypum L. Phytomedicine.

[76]-Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H., & Abdelly, C. (2013). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalum leaves. LWT - Food Science and Technology.

[77]-Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., & Legault, J. (2016). Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. South African Journal of Botany.

[78]-Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M. E., Abdelly, C., & Magné, C. (2011). Ultrasound extraction optimization of phenolic compounds from medicinal plants. Food Chemistry.

[79]-Asraoui F., Kounnoun A., El Cadi H., Cacciola F. (2021). Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of Globularia alypum L. Molecules, 26(3), 759.

[80]-Tlili N., Mejri H., Yahia Y., Saadaoui E., Rejeb S., Khaldi A., Nasri N. (2010). Global Chemical Composition and Antioxidant and Anti-Tuberculosis Activities of Various Extracts of Globularia alypum L. Leaves. Molecules, 16(12), 10592–10603.

[81]-Friščić, M., Petlevski, R., Kosalec, I., Madunić, J., Matulić, M., Bucar, F., Hazler Pilepić, K., & Maleš, Ž. (2022). Globularia alypum L. and Related Species: LC-MS Profiles and Antidiabetic, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antibacterial and Anticancer Potential. Pharmaceuticals, 15(5), 506.

[82]-Khlifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013). Composition chimique et activités biologiques des extraits de Globularia alypum. Industrial Crops and Products, 41, 151–157.

[83]-Feriani, A., Tir, M., Gómez-Caravaca, A. M. (2016). Phytochemical profile and biological properties of Globularia alypum extracts. Industrial Crops and Products, 84, 255–264.

[84]-Behlouli, R. (2017). Etude phytochimique d'une plante médicinale : Globularia alypum L. Mémoire de Master, Université Blida 1.

[85]-Ksouri, H., & Maouche, N. (2021). Etude phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de Globularia alypum et Retama sphaerocarpa. Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arreridj.

[86]-Bouhaous, L. (2011). Effet d'un extrait aqueux lyophilisé de Globularia alypum sur les teneurs en lipides plasmatiques et hépatiques et le statut redox. Thèse de Doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella.

[87]-SAIDI, H., NOUI, M., & MENHOUDJ, R. H. (2022). Contribution à l'étude de quelques activités biologiques d'une plante médicinale : Globularia alypum L. Mémoire de Master, Université Mohamed Boudiaf de M'Sila.

[88]-Asraoui, F., Kounnoun, A., El Cadi, H., Cacciola, F., Oulad El Majdoub, Y., Alibrando, F., Mandolfino, F., Dugo, P., Mondello, L., & Louajri, A. (2021). Phytochemical Investigation and Antioxidant Activity of Globularia alypum L. Molecules, 26(3), 759.

[89]-Khireddine, M., & Merzouk, A. (2018). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de Globularia alypum. Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira de Béjaïa.

[90]-Es-Safi, N.-E., Khlifi, S., Kerhoas, L., Kollmann, A., El Abbouyi, A., & Ducrot, P.-H. (2005). Antioxidant Constituents of the Aerial Parts of Globularia alypum Growing in Morocco. Journal of Natural Products, 68(8), 1293–1296.

[91]-Chahrour, W., Bouzidi, A., Merah, O., & Djeridane, A. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activities (DPPH, ABTS) of some medicinal plants from Western Algeria. Journal of Bio-Science.

[92]-Krine,O. (2020). Influence of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant capacity of Globularia alypum L. extracts. Journal of Algerian Medicinal Plants.