

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

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

**Domaine : SNV**      **Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

**Présenté par :**

*ABERKANE Kahina & BOURENANE Remaissa*

***Thème***

***Etude de l'effet de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes***

**Soutenu le : 19 / 09/ 2019**

**Devant le jury composé de :**

***Nom et Prénom***

***Grade***

*M. TAFER Morad*

*MAA*

*Univ. de Bouira*

*Président*

*M. IMESSAOUDENE Ali*

*MAA*

*Univ. de Bouira*

*Examineur*

*M. MOUNI Lotfi*

*Professeur*

*Univ. de Bouira*

*Promoteur*

*M. MOUSSA Hamza*

*Doctorant*

*Univ. de Bouira*

*Co-Promoteur*

**Année Universitaire : 2018/2019**

# Remerciement

*Avant tout, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.*

*Nos vifs remerciements et profonde gratitude s'adressent à notre promoteur Mr Lotfi MOUNI, qui a accepté de nous encadrer, nous le remercions infiniment pour sa grande patience et ses conseils durant la réalisation du présent travail*

*Ainsi nous tenons à remercions notre Co-promoteur Mr MOUSSA Hamza d'avoir accepté de nous dirigé spécialement au niveau du laboratoire ainsi pour ses précieux conseils, ses orientations, pour tous son aide et surtout pour sa gentillesse.*

*Je tiens à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordés en jugeant ce travail: Mr TAFER Mourad, qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury et Mr IMESSAOUDENE Ali, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Un chaleureux remerciement à nos parents pour leur amour inestimables, leurs Confiances, leurs soutiens, leurs sacrifices et leurs encouragements, ainsi qu'à tous ceux qui ont contribués de près ou de loin a l'élaboration de ce travail.*

*Nous voudrions aussi remercier nos familles respectives, nos amies pour leurs encouragements et leurs soutiens moral*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mon cher papa qui nous a quittés très tôt et qui est toujours présent dans nos cœurs. J'espère que, le monde qui est le sien maintenant, il apprécie cet humble geste, preuve de reconnaissance de sa petite fille qui a toujours prié pour lui. Que Dieu, tout puissant, te garde dans son vaste paradis.*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma chère mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, je vous dis merci maman d'avoir joué le rôle d'une mère et d'un père en même temps.*

*Je souhaite qu'elle trouve à travers ce mémoire le faible témoignage de ses efforts et sacrifices. Que Dieu te protège.*

*A mes chers frères Massiouane et Ghilas et mes adorables sœurs widad, kenza et Thiziri, ainsi à toute ma famille*

*A ma chère amie et binôme ; Bourenane Remaïssa*

*Un profond respect et remerciement pour ses qualités humaines et sociales et pour les efforts qu'il a fournis pour réaliser ce travail.*

*A tous ceux qui me sont chère et que je n'ai pas pu citer.*

*A l'ensemble de tous les étudiants et étudiantes de ma promotion*

*Kahina*

# Dédicace

*C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce travail spécialement*

*A mon père*

*Tu as su m'enseigner le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours*

*guidé mes pas vers la réussite. Ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur te protège de tout mal.*

*A ma très chère mère*

*Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de, tu as toujours été présente à mes cotés pour me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes*

*études. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie A la mémoire de mon très cher grand-père dont je regrette son absence en ce jour si important pour moi. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A mes très chères grands-mères .je pris Dieu le Tout Puissant de vous prêter longue vie*

*A mes très chers sœurs Rachà, Sília, Nour el houda ouíza, Maya, ainsi qu'à tout mes cousins et cousines spécialement Yassemíne, Iness, Sonia et Khaled*

*A mes oncles Boussad, Kamel, Hichem, Fethi, Rabeh et Nouredíne et mes très chers tantes Zakía, Samía, Fatiha, Lila et Faroudja*

*A ma très cher amie Kahína et tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de ce travail*

*Remaíssa*

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

### *Chapitre I: Synthèse bibliographique*

I.1. les plantes médicinales.....	3
I.2. Généralité sur les plantes étudiées .....	3
I.2.1. <i>Inula viscosa</i> .....	3
I.2.1.1. Description botanique et répartition géographique.....	4
I.2.1.2. Classification botanique .....	5
I.2.1.3. Composition chimique.....	5
I.2.1.4. Utilisations pharmacologique .....	6
I.2.2. <i>Taraxacum officinale</i> .....	6
I.2.2.1. Description botanique et répartition géographique .....	7
I.2.2.2. Classification botanique .....	8
I.2.2.3. Composition chimique.....	8
I.2.2.4. Utilisation pharmacologique.....	9
I.3. Les substances bioactifs des plantes étudiées .....	10
I.3.1. Les polyphénols.....	10
I.3.2. Les flavonoïdes .....	11
I.4. Méthodes d'extraction des composés phénoliques .....	11
I.4.1. Les méthodes conventionnelles.....	11
I.4.1.1. Macération .....	11
I.4.1.2. Soxhlet.....	11
I.4.2. Extraction assistée par ultrasons (UAE).....	11

### *Partie Expérimental*

#### *Chapitre II: Matériels et Méthodes*

I. Réactifs utilisés .....	13
II. Récolte, séchage et broyage.....	13

# Table des matières

---

III. Plan d'expérience .....	15
III.1. plan composite centré (CCD) .....	15
III.1.1. Préparation de plan expérimental .....	16
III.1.1.1. Description de protocole .....	16
III.1.1.2. Réponses .....	16
III.1.1.3. Objectif du protocole .....	16
III.1.1.4. Facteurs et niveaux .....	16
III.1.1.5. Le choix de plan expérimental .....	17
IV. Méthodes d'extraction des principes actifs .....	18
IV.1. Extraction des composés phénoliques .....	18
IV.1.1. Extraction assistée par ultrason (UAE) .....	18
IV.1.2. Macération .....	18
IV.1.3. Soxhlet .....	19
V. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes .....	20
V.1. Dosage des polyphénols totaux .....	20
V.2. Dosage des flavonoïdes .....	21

## ***Chapitre III: Résultats et Discussion***

I. Plan composite centré .....	22
I. 1. L'effet des différents facteurs d'extraction sur le rendement .....	24
I.2. Effets des différents paramètres sur la teneur en polyphénols .....	25
I.2. 1. Effet de pourcentage d'éthanol et la température sur la teneur en polyphénols .....	26
I.2.2. Effet de la température et temps d'extraction sur la teneur de polyphénols .....	27
I.2.3. effet de pourcentage d'éthanol et le temps d'extraction sur la teneur en polyphénols .....	28
I.3. Effet des différents facteurs sur la teneur en flavonoïdes .....	28
I.4. Optimisation des conditions .....	29
II. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes extraient par les méthodes classiques .....	30
II.1. Teneur en polyphénols totaux .....	30
II.2. Teneur en flavonoïdes .....	32
II. 4. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons et celle des méthodes classiques .....	33
Conclusion générale .....	35

Références bibliographiques

Annexes

# Liste des abréviations

**CCD** : Plan composite centré

**EAG** : Equivalent en acide gallique

**EQ** : Equivalent en quercétine

**MS** : Matière sèche

**OMS** : Organisation mondiale de santé

**RMS** : Méthodologie de surface de réponse

**TTP** : Teneur totale en polyphénols

**TTF** : Teneur totale en flavonoïdes

**UAE** : Extraction assistée par ultrasons

# Liste des figures

Figure 1: photographie d' <i>Inula viscosa</i> .....	4
Figure 2: Photographie de <i>taraxacum officinale</i> .....	8
Figure 3: Phénomène de cavitation .....	12
Figure 4:Poudre des plantes broyées .....	15
Figure 5: Bain à ultrason .....	18
Figure 6: La macération .....	19
Figure 7: Appareille d'un rotavapeure .....	19
Figure 8: Photo de l'extracteur Soxhlet .....	20
Figure 9: Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et la température d'extraction (°C) sur le rendement des extraits d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par ultrason (t=20 min) .....	25
Figure 10: Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et la température d'extraction (°C) sur la teneur en polyphénols totaux d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par ultrason ( t= 20 min) .....	26
Figure 11: Surface de réponse montrant l'effet de la température °C) et le temps d'extraction (min) sur la teneur en polyphénols totaux d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par ultrason (éthanol=60 %) .....	27
Figure 12: Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et le temps d'extraction (min) sur la teneur en polyphénols totaux d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par ultrason (T= 45°C) .....	28
Figure 13: Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de plantes obtenus par macération et par soxhlet.....	31
Figure 14: Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par ultrason, macération et soxhlet .....	33



# Liste des tableaux

Tableau 1: Noms et localisation du quelque composant d' <i>Inula viscosa</i> .....	5
Tableau 2: Les activités biologique d ' <i>Inula viscosa</i> .....	6
Tableau 3: Noms et localisation du quelque composant du <i>Taraxacum officinale</i> .....	9
Tableau 4: Les activités biologiques du <i>Taraxacum officinale</i> .....	10
Tableau 5: Dates et coordonnées géographiques des lieux de récoltes des plantes étudiées ...	14
Tableau 6: Facteurs et niveaux définies pour le CCD.....	16
Tableau 7: Matrice du CCD avec les valeurs codées des variables X1 (% Solvant), X2 (temps), X3 (température).....	17
Tableau 8: Analyse de la variance du modèle.....	22
Tableau 9: Plan composite centré de 20 essais pour 3 variables avec les 3 réponses obtenus.	23
Tableau 10: Les valeurs-P du rendement d'extraction d'inule visqueuse.....	24
Tableau 11: Les valeurs P de la teneur en polyphénols totaux de l'inule visqueuse.....	26
Tableau 12: Les valeurs-P des flavonoïdes d'Inule visqueuse.....	29
Tableau 13: Teneur en polyphénols totaux et en flavonoides des extraits de <i>Taraxacum officinale</i> et d' <i>Inula viscosa</i> obtenus par macération et par soxhlet.....	30

# **Introduction**

## Introduction

Les relations entre les plantes et l'homme existent depuis l'antiquité [1], elles ont été utilisées pour soulager les douleurs, guérir les maux et panser les blessures [2]. En effet les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales en raison de leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles [3].

Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement [2]. Notamment l'Algérie est l'un des pays qui regorge des plantes médicinales vue ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, mais, elles restent encore méconnues. En effet, l'utilisation de ces plantes dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste une perspective en Algérie [4].

De plus, ces plantes constituent des ressources inépuisables de substances actives pour l'industrie pharmaceutique [1]. Il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales [2], parmi eux nous avons étudié *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale*, deux plantes très répandues en médecine traditionnelle Algérienne. appartenant à la famille des *Asteraceae*, une famille très répandues dans le monde entier et plus communément dans les régions arides et semi-arides [5].

C'est l'une des plus grandes familles dans le règne végétal avec environ 25 000 espèces [6]. Plus de 5 000 espèces sont considérées comme des plantes médicinales ayant des applications thérapeutiques [5], dont environ 7 000 constituants ont été isolés et identifiés (exemples : les flavonoïdes, les polyphénols et les lactones sesquiterpéniques) [6].

A fin de pouvoir récupérer les principaux constituants des ces plantes plusieurs méthodes d'extractions ont été mis en évidence. Des méthodes conventionnelle (la macération, l'infusion, la décoction et le soxhlet) des méthodes faciles a réalisées et largement utilisées dans les différentes études scientifique, et des méthodes alternatives (l'extraction assistée par micro-onde et l'extraction assistée par ultrason) qui sont généralement utilisées pour améliorer les rendements et de réduire le temps d'extraction.

Dans le présent travail nous nous sommes intéressées à l'utilisation de trois méthodes d'extractions : la macération et le soxhlet et l'extraction assistée par ultrason dans le but de réaliser l'optimisation et la modélisation de quelques paramètres affectant l'extraction en se référant a un plan d'expérience du second degré (un plan composite centré).

# Introduction

---

Le plan composite centré permet une modélisation quadratique de la réponse en fonction des paramètres étudiés et la détermination de l'interaction entre ces derniers [7].

Le travail présenté dans ce mémoire comporte 3 chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons présenté, quelques généralités sur les plantes médicinales étudiées, une étude bibliographique sur les polyphénols et les flavonoïdes ainsi que les principales techniques d'extraction.

Le deuxième chapitre qui représente l'essentielle de notre travail est consacré au matériels et méthodes pour la réalisation de ce travail.

Enfin, dans le troisième chapitre, nous présentons les différents résultats obtenus et leurs discussions, et nous terminons par une conclusion générale qui résume l'ensemble de ces résultats.

**Chapitre I :**  
**Synthèse bibliographique**

## I.1. les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales à propriétés médicamenteuses présentent au moins au niveau dans une partie de la plante [8], et ils sont moins toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques [9]. D'où vient le terme phytothérapie qui correspond à l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies [10]. Elles sont donc utilisées comme remède pour traiter plusieurs affections et maladies dans les différentes sociétés et culture [11].

Selon l'OMS plus de 80% de la population mondiale s'est référée vers la pharmacopée traditionnelle pour prévenir et traiter leurs divers problèmes de santé et 25% des médicaments prescrits provient des extraits de plantes ou des principes actifs préparés à partir des plantes et plus de 119 substances chimiques distinctes, dérivées de 91 espèces de plantes sont considérés comme médicaments [8].

Actuellement, la médecine traditionnelle, connaît un regain d'intérêt grâce au développement humaine et aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les nouvelles expérimentations, et que le monde médical découvre de plus en plus, de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de futurs médicaments [3].

## I.2. Généralité sur les plantes étudiées

### I.2.1. *Inula viscosa*

*Inula viscosa* L ou *Dittrichia viscosa* L est une plante herbacée vivace. Elle est très résistante aux conditions défavorables et se produit dans des environnements dégradés, elle possède des caractéristiques qui lui permettent de devenir une adventice envahissante [12]. Elle pousse le long des routes, des pistes et dans les champs non cultivés [13]. C'est une espèce qui peut être utilisée pour la phytoremédiation, en tant que bio-accumulateur ou bio-indicateur, et elle pourrait être utilisée dans la lutte antiparasitaire intégrée dans l'écosystème méditerranéen en raison de son caractère entomophile [12].

C'est une source de métabolites secondaires qui joue un rôle écologique important vu que ces extraits ont montré une activité phytotoxique sur plusieurs processus physiologiques d'espèces différentes [14].

Son nom viendrait du grec dont *Inéo* qui veut dire je purge (allusion à une propriété thérapeutique de la plante) et *viscosa* : qui signifie visqueuse [15].

En Algérie (kabyle et l'est d'Algérie), cette plante est nommée « Amagraman » : qui vient de magar : rencontrer, amane : eau [16], kokarot en Turquie [17] et Stickey fleabane en Anglais [18].

## I.2.1.1. Description botanique et répartition géographique

*Inula viscosa* (figure 1) est une plante à fleurs vivaces à feuilles persistantes appartenant à la famille des *Asteraceae*. Généralement elle est bien connue pour sa forte odeur, Les jeunes tiges et les feuilles sont couvertes de poils glandulaires qui exsudent une huile collante et odorante [12]

C'est une espèce à tiges droites qui renferme de nombreuses branches, étalées, à angle irrégulier. La canopée est très dense. Il atteint 150 cm de hauteur [12].

Les feuilles sont collantes, d'où le nom de «*viscosa*», avec une forme pubescentes est allongée, les bordures serrulées à denticulées [12]

*Dittrichia viscosa* est commun dans tout le bassin méditerranéen. Son aire de répartition comprend les côtes du sud de l'Europe (France, Espagne, Grèce, Italie, Bulgarie) et la Turquie, le Moyen-Orient (Israël, la Jordanie et la Syrie) ainsi que l'Afrique du Nord (Algérie, Égypte, Libye) [15].



**Figure 1:** photographie d'*Inula viscosa*

## I.2.1.2. Classification botanique

La classification d'inule est la suivante [18]

**Embranchement :** Spermaphyte

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Astérides

**Ordre :** Astérales

**Famille :** Astéracées

**Genre :** *Inula*

**Espèce :** *Inula viscosa L*

## I.2.1.3. Composition chimique

Cette plante médicinale contient des composés pharmacologiquement actifs notamment des lactones, des flavonoïdes [17], et des huiles essentielles [19].

**Tableau 1:** Noms et localisation du quelque composant d'*Inula viscosa*

Composition	Exemple	Partie étudiée	Références
<b>Composés phénoliques</b>	-Orcinol ferulate glucoside	Feuilles	[20]
	-Malonate d'apigénine glucoside	Fleure	
	-7-méthyléther d'aromadendrine	plante entière	
<b>Sesquiterpènes</b>	-Acide isocostique	P. aérienne	[21]
	-Acide ilicique		
<b>Flavonoïdes</b>	Népétin, -Quercétine, -Hispiduline	plante entire	[22]
	-Sakuranetin		
	-7-O-Methylaromadendrin	p. aérienne	[23]
	-3-Acetyl-7-O-methylaromadendrin		
<b>Autres composés</b>	Alcools, -cétones -esters	P. Aérienne	[24, 25]
	-acides gras,- alcanes		



## I.2.1.4. Utilisations pharmacologique

*Inula viscosa* est une plante herbacée connue pour ses propriétés antiseptiques et son efficacité contre les inflammations cutanées [26]. Elle est utilisée en médecine traditionnelle dans la région méditerranéenne pour traiter les blessures, les entorses et les contusions, ainsi pour lutter contre les troubles intestinaux et la jaunisse [27]. Le (tableau 2) résume les différentes activités biologiques d'*Inula viscosa*.

**Tableau 2:** Les activités biologiques de *Inula viscosa*

Partie	Activité	Mode d'étude	Références
Feuilles	<b>anti-implantation</b>	In vivo	[28]
	<b>Cytotoxicité</b>	In vitro	[29]
	<b>Antibactérienne</b>	In vitro	[28]
	<b>Anti hypertensive</b>	In vivo	[30]
	<b>Cytotoxicité et génotoxicité</b>	In vitro	[28]
Partie aérienne	<b>hypoglycémie et hypolipidimique</b>	In vivo	[31]
	<b>Anti herpétique</b>	In vitro	[32]
Fleurs	<b>Cytotoxicité</b>	In vitro	[33]

## I.2.2. *Taraxacum officinale*

Le Pissenlit (*Taraxacum officinale*) a largement été utilisé à des fins médicinales en raison de ses activités cholérétiques, diurétiques et anti-inflammatoires [34]. En plus d'être utilisé comme un produit pharmaceutique, les feuilles et les racines sont transformés en différents produits alimentaires [35], car il s'agit d'une riche source de micronutriments comme les minéraux et les vitamines [36]. Les jeunes feuilles d'espèces cultivées ou sauvages sont consommées fraîches comme salade, tandis que les racines sont torréfiées et utilisées comme un café substitué [35]. En outre, les extraits ont été utilisés dans la

préparation du fromage en raison de sa propriété protéolytique de coagulation du lait [37]. Ainsi que comme composants de saveur dans divers produits alimentaires, y compris les boissons alcoolisées et les boissons gazeuses, les desserts laitiers congelés, les bonbons, les pâtisseries, les gélatines et les puddings [35].

*Taraxacum officinale* est un bon indicateur de la pollution de l'environnement et est souvent utilisé comme un biomoniteur parce que c'est une plante abondante, largement répartie, et ces feuilles et racines accumulent des métaux, y compris As, BR, CD, Co, Cu, CR, Hg, MN, Pb, SB, se et Zn [37].

Le nom du genre du pissenlit, *Taraxacum*, dérive des mots grec "taraxe", une maladie oculaire, "tarassen" ou "tarasos" signifiant trouble, «trogimon» signifiant comestible et «akeomai» ou «Akos» signifiant guérir ou remédier [37].

Le nom de l'espèce, *officinale*, signifie qu'il est utilisé comme médicament. Les noms communs utilisés : blowball, verrue chancre, [38] horloge de fée, dent de lion, pisse-a lit, endive blanc, endive sauvage; pissenlit (France) [39], autre appellation Dumble-Dor (à Terre Neuve), salade de taupe, florin d'or, laitue de chien [40].

*Taraxacum officinale* est une plante qui se rencontre dans toute l'Algérie septentrionale, également appelée Thoughmasth temgharth en kabyle, (الهندباء), ou (Tifaf) en arabe Algérien [41].

### II.2.2.1. Description botanique et répartition géographique

Le pissenlit est une plante herbacée très abondante, ses feuilles sont découpées en segments triangulaires forment une rosette basale qui portent de longues tiges creuses se terminant en capitules (fleur jaune) de 2 à 5 cm de diamètre [37], qui se transforme en sphère cotonneuse qui s'éclatera en graines flottantes à sa maturité (figure 2) [36].

*Taraxacum officinale* est largement distribués dans les zones tempérées les plus chaudes de l'hémisphère Nord [42], dans les régions tropicales, dans les hautes terres fraîches (1200-1500 m d'altitude) [36], dans les pâturages, les pelouses, les déchets de terre, le sable, les roches, même les fissures dans le béton [39]. Elle peut tolérer à des conditions climatiques extrêmes car elle est résistante à la sécheresse, présente une grande adaptabilité à la lumière, vue qu'elle est capable de croître vigoureusement en plein soleil. Le pissenlit peut croître dans une large gamme de sols mais il s'adapte mieux dans des sols humides [37].



**Figure 2:** Photographie de *Taraxacum officinale*

### I.2.1.2. Classification botanique

La classification est comme suit [39] :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spermatophyta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous classe :** Asteridae

**Ordre :** Asterales

**Famille :** Asteraceae

**Genre :** *Taraxacum*

**Espèce :** *Taraxacum officinale*

### I.2.2.3. Composition chimique

Plusieurs substances phytochimiques ont été identifiées dans les différentes parties du pissenlit (**tableau 3**), elles se trouvent à la fois dans les racines et les feuilles, ces racines contiennent des sesquiterpènes, plusieurs composés phénoliques ainsi que des coumarines. Outre les métabolites secondaires, les racines de pissenlit constituent une riche source de polysaccharides [43].

**Tableau 3:** Noms et localisation du quelque composant du *Taraxacum officinale*

Composition	Exemple	Partie	références
<b>Acide phénolique</b>	-Acide caféique	Racines	<b>[44]</b>
	-Acide coumarique		
<b>Flavonoïdes</b>	-Acide caféique	feuilles	<b>[45]</b>
	-Acide chlorogénique		
	-Lutéoline libre		
	- 7-glucoside de lutéoline		
	-acide p-hydroxyphénylacétique	-Feuilles	
<b>Sesquiterpènes</b>	- b-sitostérol	-Racines	<b>[46]</b>
	- eudesmanolide		
	- guaianolide		
	-germacranolide dérivés		
	-Saponines	-Feuilles	
<b>Autres composés</b>	-Polysaccharides	-Racines	<b>[43]</b>
	-Coumarins		

#### I.2.2.4. Utilisation pharmacologique

Le pissenlit a été largement utilisé comme un remède traditionnelle en vue de sa richesse en composés bioactifs qui présentent divers propriétés (**tableau 4**) [36].

Cependant il a été utilisé comme agent de désintoxication pour nettoyer de façon holistique le corps en éliminant les polluants chimiques et les substances nocives et toxiques accumulées au fil du temps [39].

**Tableau 4:** Les activités biologiques du *Taraxacum officinale*

Partie utilisée	Activité	Mode d'étude	Références
Feuilles	<b>Anti-inflammatoire</b>	In vitro	[47]
Racines	<b>hépatoprotecteur</b>	In vitro In vivo	[48]
Fleure	<b>Anti-oxydante</b>	In vitro	[45]
Fleures, feuilles et racines	<b>Anti- cancéreuse</b>	In vitro	[49]
Plante entière	<b>Anti- mutagène</b>	In vivo	[50]
Feuilles et racines	<b>Hyolipidémique</b>	In vitro	[51]

### I.3. Les substances bioactifs des plantes étudiées

Les plantes produisent un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont dits métabolites secondaires qui sont utilisés en médecine moderne et traditionnel [52], qui sont généralement les polyphénols et les flavonoïdes

#### I.3.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques (polyphénols) sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) [53]. Ils jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections [38]. De plus ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [54]. En effet beaucoup d'entre eux montrent des activités biologiques liées à leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires [55]. Comme ils permettent de prévenir de nombreuses pathologies telle que le cancer, les maladies dégénératives et cardio-vasculaires [38].

## **I.3.2. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ils ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres [56], largement répandues dans les différents organes des végétaux [57]. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux [58]. Ils peuvent également empêcher les dommages oxydatifs et de jouer un rôle très important dans le traitement du diabète, de la goutte, des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses, des allergies et des affections bactériennes et viraux [56].

## **I.4. Méthodes d'extraction des composés phénoliques**

### **I.4.1 Les méthodes conventionnelles**

#### **I.4.1.1. Macération**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple qui consiste à mettre en contact prolongé le matériel végétale avec un solvant, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. C'est une extraction qui se fait à température ambiante afin de préserver les substances thermosensibles [38].

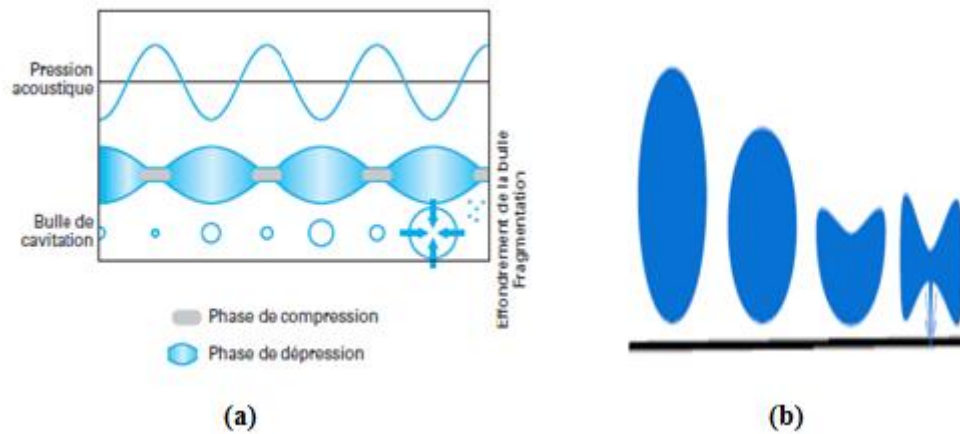
#### **I.4.1.2. Soxhlet**

C'est une est une méthode simple et convenable qui consiste a placé le matériel végétal dans une cartouche placée dans un extracteur contenant le solvant. Lorsque le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Lorsque le solvant condensé atteint le sommet du tube-siphon, il retourne dans le ballon de distillation, transportant les substances extraites. Le solvant continue alors de s'évaporer, tandis que les substances extraites restent dans le ballon. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction soit complète [59].

### **I.4.2. Extraction assistée par ultrasons (UAE)**

Les ondes sonores (> à 20 kHz) sont des vibrations mécaniques pouvant se propager dans un solide, un liquide et un gaz. Lorsqu'elles sont transmise a travers un milieu liquide

elles impliquent des cycles d'expansion (basse pression) et de compression (haute pression) [60]. Cette différence de pression génère des mouvements moléculaires au sein du milieu aboutissant à la formation des bulles de cavitations [61]. Les bulles formées, grossissent et implosent près d'une surface solide, l'implosion de la cavité est asymétrique et produit des jets de liquide à grande vitesse ce qui perturbe les parois des cellules biologiques, facilitant ainsi la libération du contenu [60]. La (figure 3) représente le phénomène de cavitation [61].



**Figure 3:** Phénomène de cavitation

(a) : la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation, (b) : Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide



**Partie**  
**Expérimentale**



# **Chapitre II :**

## **Matériels et Méthodes**

Les métabolites secondaires sont des composés phytochimiques produits par les plantes qui sont généralement une source importante de molécules bioactives.

En effet, ces dernières années, ces molécules bioactives deviennent le point de départ de toutes les études scientifiques, et l'obtention de ces dernières nécessite de nombreuses étapes souvent longues et coûteuses, telles que l'extraction [61], pour cela plusieurs techniques ont été mises en évidence pour les extraire.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'utilisation de plusieurs techniques d'extraction (la macération, Soxhlet et l'ultrason), afin d'extraire certains composés phénoliques ainsi qu'au dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium respectivement.



### **I. Réactifs utilisés**

Dans ce présent travail, nous avons utilisé : l'éthanol ( $C_2H_5OH$ ), l'eau distillée, Folin Ciocalteu, chlorure d'aluminium ( $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ), carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ), la quercétine et l'acide gallique (**Annexe 01**).

### **II. Récolte, séchage et broyage**

Les plantes ont été récoltées pendant une période allant du mois de mars au mois d'avril dans deux endroits différents : Tiks-Ighiden (Chorfa Bouira) et Ait Toudert (Tizi Ouzou) pour *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale* respectivement (**tableau 5**).

**Tableau 5:** Dates et coordonnées géographiques des lieux de récoltes des plantes étudiées

Plantes	Lieu de la récolte	Coordonnées géographiques	Date de la récolte
 <p><i>Inula viscosa</i></p>	Tiks-Ighiden (Chorfa Bouira)	Latitude : 36° 23' 58.405" N Longitude : 4° 18' 27.796" E	Du 30 Mars 2019 au 21 Avril 2019
 <p><i>Taraxacum officinale</i></p>	Ait Toudert (Tizi Ouzou)	Latitude : 36° 31' 34.378" N Longitude : 4° 9' 41.81" E	30 Mars 2019 au 10 Avril 2019

Les feuilles de chaque plantes, ont été nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autre impuretés, puis ont été séchées à l'étuve à 40°C, jusqu'à la stabilisation de leurs poids. A l'aide d'un broyeur électrique, les feuilles ont été broyées, et les poudres obtenues ont été conservées, à l'abri de la lumière et de l'humidité, dans des boîtes opaques jusqu'à leur utilisation (**figure 4**).



**Figure 4:** Poudre des plantes broyées

### III. Plan d'expérience

Dans le cadre de notre étude, notre choix s'est porté sur l'utilisation du plan composite centré afin de réaliser une procédure d'optimisation assistée par ultrason en utilisant le logiciel Mini Tab pour analyser les réponses obtenues.

#### III.1. plan composite centré (CCD)

La méthodologie de surface de réponse est un ensemble de techniques statistiques et mathématiques utiles au développement, à l'amélioration et à l'optimisation des processus. La RSM la plus populaire est basée sur un plan composé centré (CCD) [62].

Ce dernier est en fait un plan factoriel de type  $2^k$  (éventuellement factoriel fractionnaire  $2^{k-p}$ ) auquel on a ajouté des points dits en étoile et des points au centre. [63]

Dans ce plan, toutes les variables de processus sont étudiées à cinq niveaux ( $-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$ ); chacune de ces valeurs est un code pour une valeur de variable d'origine [62].

Le nombre d'expérience dans un CCD est donné par la relation suivante [64]

$$N = 2^k + 2.k + n_0 \dots \quad (01)$$

**N** : nombre totale des essais.

**K** : nombre de facteurs étudiés.

**n<sub>0</sub>** : nombre de répétitions au centre de domaine.

L'utilisation de la (CCD) permet une modélisation quadratique de la réponse en fonction des paramètres ainsi que la détermination de l'interrelation entre chaque paramètre évoluant simultanément [7].

### III.1.1. Préparation de plan expérimental

#### III.1.1.1. Description de protocole

Dans cette étude , nous avons utilisé le plan composite centré (CCD) pour identifier les paramètres qui ont un effet significatif sur l'extraction des composés phénoliques par ultrason en se basant sur l'étude de l'effet du pourcentage de solvant , temps d'extraction et la température d'extraction sur *Inula viscosa*. Chaque paramètre est codé de X1 à X3et examiné par deux niveaux -1 (faible niveau) et +1(niveau élevé).

#### III.1.1.2. Réponses

Dans ce travail, le plan composite centré a été utilisé pour optimiser les effets de 3 facteurs indépendants sur le rendement d'extraction, la teneur totale en composés phénolique (TTP) et la teneur totale en flavonoïdes (TTF).

#### III.1.1.3. Objectif du protocole

Nous avons utilisé le plan composite centré afin d'optimiser les facteurs principaux : temps (min), concentration en solvant (%), température (° C), influençant le rendement d'extraction par la méthode assistée par ultrasons.

#### III.1.1.4.Facteurs et niveaux

L'influence de divers paramètres d'extraction tels que **X1**: solvant (%), **X2** : temps (min), **X3**: température (°C), avec deux niveaux de chaque variable (**-1**, **+1**), des points au centre de domaine (**0**) et des points complémentaire (points en étoile  **$\alpha$** ) pour l'extraction par ultrasons.

**Tableau 6:** Facteurs et niveaux définies pour le CCD

Niveaux Facteurs	<b>-<math>\alpha</math></b> (-1.633)	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>+1</b>	<b>+<math>\alpha</math></b> (+1.633)
Solvant (%)	47.7526	40	60	80	72.2474
Temps (min)	13.8763	10	20	30	26.1237
Température (°C)	35.8145	30	45	60	54.1855

### III.1.1.5. Le choix de plan expérimental

Dans cette étude, le plan composite centré comprend 20 essais pour 3 variables, codés de **X1** à **X3** et examinés à des niveaux élevés (+) ou faibles (-) comme le montre le (**tableau 07**).

**Tableau 7:** Matrice du CCD avec les valeurs codées des variables X1 (% Solvant), X2 (temps), X3 (température)

<b>Facteurs</b> <b>Essai</b>	<b>X<sub>1</sub></b> <b>Solvant</b> <b>(%)</b>	<b>X<sub>2</sub></b> <b>Temps</b> <b>(min)</b>	<b>X<sub>3</sub></b> <b>Température</b> <b>(°C)</b>
1	-1.633	+1.633	-1.633
2	-1.633	-1.633	+1.633
3	-1.633	+1.633	+1.633
4	0	0	0
5	+1.633	+1.633	-1.633
6	0	0	0
7	0	0	0
8	+1.633	-1.633	+1.633
9	-1.633	-1.633	-1.633
10	+1.633	+1.633	+1.633
11	+1.633	-1.633	-1.633
12	0	0	0
13	0	0	+1
14	0	0	0
15	+1	-1	0
16	0	+1	0
17	0	0	-1
18	0	-1	0
19	-1	0	0
20	0	0	0

#### IV. Méthodes d'extraction des principes actifs

Dans le présent travail, plusieurs techniques d'extraction ont été réalisées à partir des plantes étudiées dans le but de libérer leur principe actif.

##### IV.1. Extraction des composés phénoliques

###### IV.1.1. Extraction assistée par ultrason (UAE)

La poudre des feuilles séchées a été extraite dans un appareil à ultrason dont un échantillon de 1g de la poudre d'*Inula viscosa* a été extrait avec 30ml d'un mélange hydro-éthanolique. Trois paramètres d'extraction ont été examinés dans l'ordre suivant : solvant (**40-80%**), temps d'extraction (**10-30min**) et la température d'extraction (**30-60°C**). L'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre, séché à l'aide d'un étuve à 40°C, puis conservé à 4°C.



**Figure 5:** Bain à ultrason

###### IV.1.2. Macération

Une quantité de 20 g de chaque plante sèche et finement broyée est macérée dans 200 ml éthanol-eau dans une proportion de (**70:30**) en volume sous agitation magnétique, pendant 24H (**figure 6**) [65].



**Figure 6:** La macération

Les extraits éthanoliques ainsi obtenues sont filtrées sur papier filtre, puis évaporées à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C, Comme le montre la (**figure 7**).

Ensuite les extraits ont été séchés à l'étuve à 40°C et conservés à 4°C.



**Figure 7:** Appareille d'un rotavapeur

#### IV.1.3. Soxhlet

L'extraction au Soxhlet a été réalisée en suivant le protocole de **Vongsak et al,(2013)** avec quelque modification [66].

Le protocole d'extraction est effectué comme suit 15 g de la poudre de la plante est introduite dans une cartouche en cellulose qui sera placée dans le corps de l'extracteur et 250 ml du solvant (mélange hydro-éthanolique a une proportion de 70 :30) est placé dans un ballon (**figure 8**). En chauffant, l'éthanol s'évapore entraînant le lit de solide. En passant dans un réfrigérant, les vapeurs se condensent tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec le solvant. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair. Après les extraits sont



évaporées à sec sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 45°C. Ensuite ils ont été séchés à l'étuve à 40°C et conservés à 4°C.



**Figure 8:** Photo de l'extracteur Soxhlet

### Rendement d'extraction

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement} = (\text{PB} / \text{PA}) \times 100 \dots (02)$$

**PB :** poids d'extrait brut

**PA :** poids de la plante sèche en poudre

## V. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

### V.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des feuilles des deux plantes étudiées, est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu décrite par **Georgé et al (2005)**. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus dont le maximum d'absorption est à 760 nm. Pour réaliser le dosage, 125  $\mu\text{l}$  de chaque extrait dilué, est ajouté à 625  $\mu\text{l}$  du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après 2 min d'incubation à température ambiante, 500  $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7.5%) dilué également dans l'eau distillée, sont additionnés au mélange. L'ensemble préalablement agité est incubé à l'abri de la lumière pendant 15 min à

50°C. L'absorbance est ensuite lue à 760 nm par un spectrophotomètre UV/visible. La concentration en TTP a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de , en utilisant l'acide gallique comme standard et les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g de matière sèche (EAG / g MS) (**Annexe 02**) [67].

## V.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  avec lequel ils forment des complexes aluminium-flavonoïdes [38].

La méthode adoptée pour le dosage des flavonoïdes est celle décrite par **Bahorun et al (1996)**. Un volume 1ml de chaque extrait convenablement dilué dans un mélange éthanol-eau est ajouté à 1ml de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) à 2% (p / v). Ensuite, la solution est bien homogénéisée et l'absorbance a été mesurée immédiatement à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible. Le TTF était exprimé en mg d'équivalent quercétine en mg par 100 g de matière sèche (QE / 100 g de MS) (**Annexe 03**) [68].

# **Chapitre III :**

## **Résultats et Discussion**

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats des extractions faites sur *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale* par différentes techniques d'extraction.

### I. Plan composite centré

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance. Les valeurs P et  $R^2$  ont été obtenues à l'aide de logiciel Minitab 17 en analysant la variance. La valeur p mesure la probabilité de signification d'une valeur F donnée, ce qui est inférieur à  $p < 0,05$  et indique que le facteur mesuré est significatif[69]. La valeur  $R^2$  mesure la qualité de l'ajustement du modèle de régression.

Les coefficients de détermination et les valeurs -p (p-value) sont résumés dans le **tableau 08**. Le rendement d'extraction, la teneur en polyphénols ainsi celle des flavonoïdes sont présentés dans le **tableau 09**.

**Tableau 8:** Analyse de la variance du modèle

	P-value	$R^2$	$R^2$ ajusté
<b>rendement</b>	0.007	86.69	71.89
<b>TTP</b>	0.010	85.49	69.37
<b>TTF</b>	0.130	70.68	37.09

**Tableau 9:** Plan composite centré de 20 essais pour 3 variables avec les 3 réponses obtenus

facteurs Essais	X1(éthanol%)	X2(min)	X3(°C)	Rendement (%)	TTP (mg EAG/g)	TTF (Mg EQ/g)
01	-1.633	+1.633	+1.633	14	536	73,5641227
02	-1.633	-1.633	+1.633	13	416,081	77,498033
03	-1.633	+1.633	+1.633	15	564,163	92,9714136
04	0	0	0	21	501,478	89,8242853
05	+1.633	+1.633	-1.633	16	557,804	50,5366253
06	0	0	0	17	410,630	95,0694991
07	0	0	0	19	450,603	96,3808025
08	+1.633	-1.633	+1.633	15	600,502387	106,87123
09	-1.633	-1.633	-1.633	11	586,8752527	86,9394178
10	+1.633	+1.633	+1.633	18	641,3837901	102,412798
11	+1.633	-1.633	-1.633	17	436,9767748	84,8413323
12	0	0	0	17	434,251348	96,9053239
13	0	0	+1	14	488,7598854	101,626016
14	0	0	0	15	470,5903729	85,6281143
15	+1	0	0	13	580,5159233	113,690008
16	0	+1	0	17	284,3528701	100,576974
17	0	0	-1	12	446,9700067	100,839234
18	0	-1	0	15	289,8037238	95,3317598
19	-1	0	0	10	639,5668388	83,2677682
20	0	0	0	17	350,6715906	95,0694991

*TTP: (Teneur totale en polyphénols), TTF :(Teneur totale en flavonoïdes)*

### I. 1.L'effet des différents facteurs d'extraction sur le rendement

En termes de rendement d'extraction, une description complète du comportement du processus a été obtenue en ajustant un modèle cubique réduit (**figure 11**). L'équation au dessous montre la relation entre le rendement d'extraction d'*Inula viscosa* et les différents facteurs d'extraction :

$$Y1(\%) = -81,5 + 1,860 X1 - 0,01250 X1*X1 - 0,01556 X3*X3 \dots(03)$$

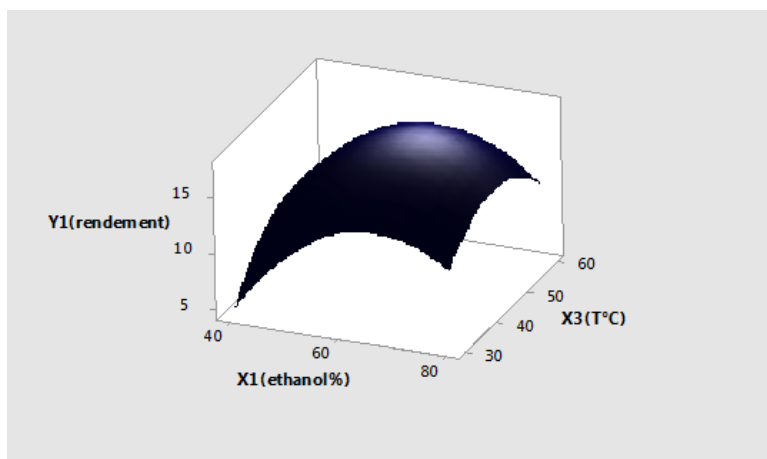
Où Y est le rendement de l'inule visqueuse (%) et X1, X2 et X3 sont les facteurs codés représentant la concentration en éthanol, le temps d'extraction et la température d'extraction respectivement. La signification de chaque coefficient a été déterminée.

L'analyse de ce tableau montre l'analyse du rendement d'extraction de l'inule visqueuse en utilisant le CCD par le logiciel Minitab17. On a constaté à partir de **tableau 08** que les données expérimentales avaient un coefficient de détermination ( $R^2$ ) de **86.69%**, et que p-value de ce model est **0.007(p-value <0.05)** ce qui indique que ce modèle est significatif.

**Tableau 10:** Les valeurs-P du rendement d'extraction d'inule visqueuse

	facteur	P-value
<b>Termes linéaires</b>	<b>X1</b>	<b>0.008</b>
	X2	0.083
	X3	0.264
<b>Termes quadratiques</b>	<b>X1*X1</b>	<b>0.001</b>
	X2*X2	0.647
	<b>X3*X3</b>	<b>0.009</b>
<b>Interactions globales</b>	X1*X2	0.480
	X1*X3	0.480
	X2*X3	0.480

On a observé à partir de l'équation (**03**) et les valeurs P (**tableau10**), que le rendement d'extraction est affecté par le terme linéaire d'un seul paramètre étudié (le pourcentage d'éthanol X1), ainsi les carrés X1\*X1 et X3\*X3. cependant tous les facteurs d'interaction sont non significatifs.



**Figure 9:** Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et la température d'extraction (°C) sur le rendement des extraits d' *Inula viscosa* obtenus par ultrason (t=20 min)

D'après le graphique de la surface en réponse illustré dans la (**figure9**), on peut constater qu'à des températures inférieures à 54°C le rendement s'améliore avec l'augmentation du pourcentage d'éthanol de 40% à 72%. Cependant à des températures supérieures à 54°C on observe une diminution du rendement d'extraction avec l'augmentation du pourcentage d'éthanol de 72% à 80%. Par conséquent on remarque que les rendements d'extractions les plus grand ont obtenus à des pourcentages élevé d'eau dans le mélange eau-éthanol, qui pourrait être due a la meilleur diffusivité de l'eau ou a une solubilité plus élevé des composés végétaux dans l'eau [62].

## I.2. Effets des différents paramètres sur la teneur en polyphénols

L'équation au dessous montre la relation entre le rendement d'extraction d'*Inula viscosa* et les différents facteurs d'extraction :

$$Y2 = 4224 + 0,565 X1*X1 - 0,969 X2*X2 + 0,433 X1*X3 \dots(04)$$

**Tableau 11:** Les valeurs P de la teneur en polyphénols totaux de l'inule visqueuse

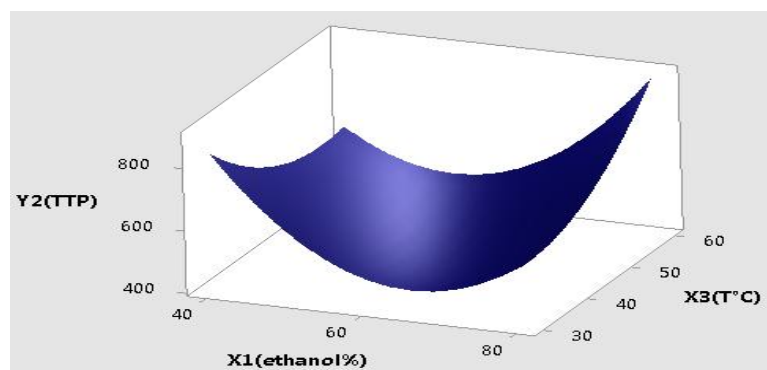
	Facteur	P-value
Termes linéaires	X1	0.865
	X2	0.270
	X3	0.437
Termes quadratiques	X1*X1	<b>0.000</b>
	X2*X2	<b>0.049</b>
	X3*X3	0.081
Interactions globales	X1*X2	0.704
	X1*X3	<b>0.042</b>
	X2*X3	0.488

On a observé à partir de cette équation (04) et les valeurs P (tableau 11), que la teneur en polyphénols n'est pas affectée par le terme linéaire de tous les paramètres étudiés, ainsi le terme quadratique  $X3*X3$  et les interactions entre les facteurs  $X1*X2$  et  $X2*X3$  sont non significatifs.

Cependant, elle est seulement affectée par les deux termes quadratiques :  $X1*X1$ ,  $X2*X2$  ainsi par un seul facteur d'interaction  $X1*X3$ .

Ainsi à partir de tableau 08, on a constaté que les données expérimentales avaient un coefficient de détermination ( $R^2$ ) de **85.89%**, et que P-value de ce model est **0.01**, donc ce model est significatif.

### I.2. 1. Effet de pourcentage d'éthanol et la température sur la teneur en polyphénols



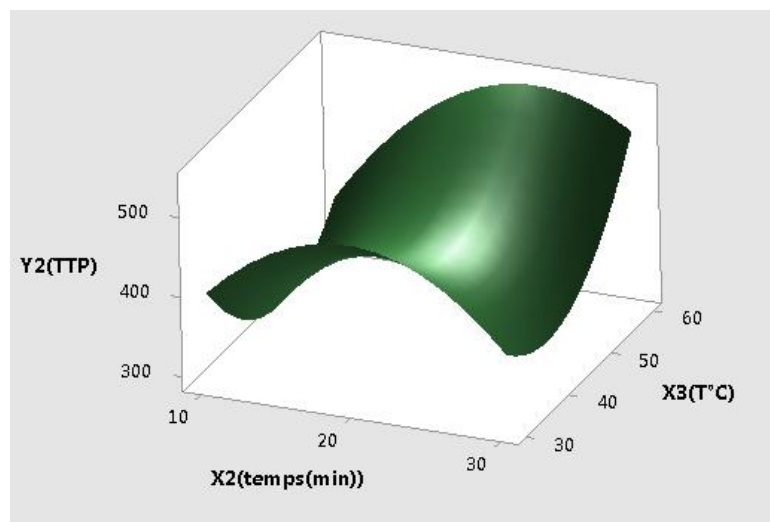
**Figure 10:** Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et la température d'extraction (°C) sur la teneur en polyphénols totaux d'*Inula viscosa* obtenus par ultrason (t = 20 min)



La **figure 10** montre qu'à des haute températures (supérieur à 30°C), les teneurs en TTP ont diminués avec l'augmentation du pourcentage d'éthanol de 40% à 72%, mais au-dessus de 72% les teneurs en TTP commence a s'améliorer légèrement. Dans ce cas on remarque que les grandes teneurs en TTP ont été obtenue avec un pourcentage plus élevé d'éthanol (supérieure a 72%) à haute température (supérieur a 30° C).

Ce qui nous a permet de conclure que l'utilisation du mélange éthanol-eau a des hautes températures permet d'améliorer le rendement en TTP avec des pourcentage un peut élevés d'éthanol ,étant donné que les solvants organiques déstabilisent les membranes cellulaires et permettent de solubiliser les polyphénols non- polaires et l'utilisation de l'eau permet la solubilisation des polyphénols polaires ainsi que le gonflement de la matrice végétale permettant au solvant de pénétrer plus facilement dans la matrice et améliorant donc l'extraction des polyphénols [70].

### I.2.2.Effet de la température et temps d'extraction sur la teneur de polyphénols

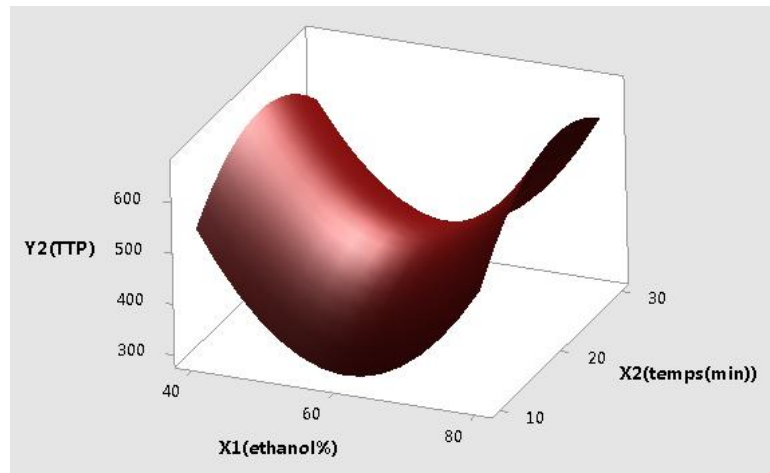


**Figure 11:** Surface de réponse montrant l'effet de la température (°C) et le temps d'extraction (min) sur la teneur en polyphénols totaux d'*Inula viscosa* obtenus par ultrason (éthanol=60 %)

La **figure 11** montre que dans la gamme de 10 à 26 min la teneur en TTP augmente avec l'augmentation de la température (de 30 °C à 60 °C). Mais la teneur des polyphénols commence à se diminuer lors de la prolongation du temps d'extraction au-dessus de 26 min.

Une température élevée pourrait augmenter le rendement en TTP vu qu'elle améliore l'accessibilité du solvant aux polyphénols en réduisant sa viscosité ce qui engendre une solubilité plus élevée de ces derniers. Puisque la chaleur rend les parois cellulaires perméables. Néanmoins, des températures surélevées ont toujours dégradé les composés phénoliques, entraînant une réduction des antioxydants [71][71].

### I.2.3. Effet de pourcentage d'éthanol et le temps d'extraction sur la teneur en polyphénols



**Figure 12:** Surface de réponse montrant l'effet du pourcentage d'éthanol (%) et le temps d'extraction (min) sur la teneur en polyphénols totaux d'*Inula viscosa* obtenus par ultrason (T= 45°C)

Selon la **figure 12** à un pourcentage d'éthanol très élevé (supérieur a 72 %), une augmentation des teneurs en TTP a été observé lorsque le temps d'extraction augmente jusqu'a 26 min . cependant a des temps prolongés (supérieur a 26 min) la teneur en TTP diminue avec un pourcentage d'éthanol de 40% à 72% . On peut dire que le temps de contact entre la matrice et le solvant est un paramètre important pour l'extraction des polyphénols ,mais un temps d'extraction plus long augmentent les risques d'oxydation et polymérisation des composés phénoliques la diminution du rendement [71].

### I.3. Effet des différents facteurs sur la teneur en flavonoïdes

Le tableau au dessous montre les valeurs-P de la teneur en flavonoïdes des trois paramètres étudiés.

**Tableau 12:** Les valeurs-P des flavonoïdes d'Inule visqueuse

	<b>Facteur</b>	<b>P-value</b>
<b>Termes linéaires</b>	X1	0.143
	X2	0.494
	X3	0.059
<b>Termes quadratiques</b>	X1*X1	0.607
	X2*X2	0.564
	X3*X3	0.857
<b>Interactions globales</b>	X1*X2	0.214
	X1*X3	0.066
	X2*X3	0.087

A partir des résultats du **tableau 12**, on constate que la teneur en flavonoïdes n'est pas affectée par les trois paramètres étudiés, ni par les termes quadratiques, ni par les interactions globales de tous ces facteurs. Donc ces paramètres sont non significatifs.

A partir de **tableau 08**, Il a été constaté que les données expérimentales avaient un coefficient de détermination ( $R^2$ ) de **70.68%**, et que P-value de ce modèle est **0.130 (P-value > 0.05)** donc ce modèle n'est pas significatif.

Vue que notre travail est basé sur de la recherche bibliographique des études précédentes, on n'a pas réalisé la première étape de la modalisation (étude préliminaire), qui est la sélection des gammes appropriés des différentes paramètres étudiés.

#### **I.4. Optimisation des conditions**

La dernière étape de tout ce plan d'expérience consiste à prédire la réponse dans les conditions optimales. En utilisant les modèles CCD obtenus, les graphiques de réponse de surface sont utilisés pour trouver les valeurs de variable optimales pour les objectifs définis.

Dans cette étude, l'objectif principal est de trouver les conditions optimales pour l'extraction de composés phénoliques à l'aide de la méthode UAE en utilisant le logiciel minitab17.

Les conditions optimales d'UAE de TTP ont été obtenues en utilisant les valeurs critiques suivantes: un pourcentage d'éthanol à 72%, température 54°C, temps 26 min pour le rendement des TTP et un pourcentage d'éthanol à ,80%température 45 °C, temps 20 min pour

le rendement des TTF. Les rendements d'extraction obtenus pour les TTP et les TTF étaient 641,3837901(mg EAG/g), 113,690008 (mg EQ/g) respectivement.

D'après **Chen** .Les paramètres tels que la concentration en éthanol, la température et le temps d'extraction ont eu un impact significatif sur l'extraction des composés phénoliques.

Selon la littérature l'eau et l'éthanol sont préférés en tant que solvant dans l'industrie alimentaire et recommandé par l'US Food and Drug Administration à des fins d'extraction. Il a été rapporté qu'une température élevée favorise l'extraction, augmentant à la fois le coefficient de diffusion et la solubilité du soluté. Cependant, à des températures élevées et les composés phénoliques peuvent être dénaturés [72].

## II. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes extraient par les méthodes classiques

Les concentrations totales en polyphénols et en flavonoïdes sont estimées à partir des courbes d'étalonnage établies avec l'acide gallique et la quercétine. Les résultats obtenus par les deux méthodes d'extraction (macération et soxhlet), sont présentées dans le (**tableau 13**).

**Tableau 13:** Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de *Taraxacum officinale* et d'*Inula viscosa* obtenus par macération et par soxhlet

Type d'extraction	<i>Inula viscosa</i>		<i>Taraxacum officinale</i>	
	TTP (mg EAG/g)	TTF (mg EQ/g)	TTP(mg EAG/g)	TTF (mg EQ/g)
<b>Macération</b>	156,030±0,009	68,751±0,014	65,864 ±0,005	58,969 ±0,008
<b>Soxhlet</b>	184,874±0,011	39,902±0,003	72,450 ±0,000	48,373 ±0,011

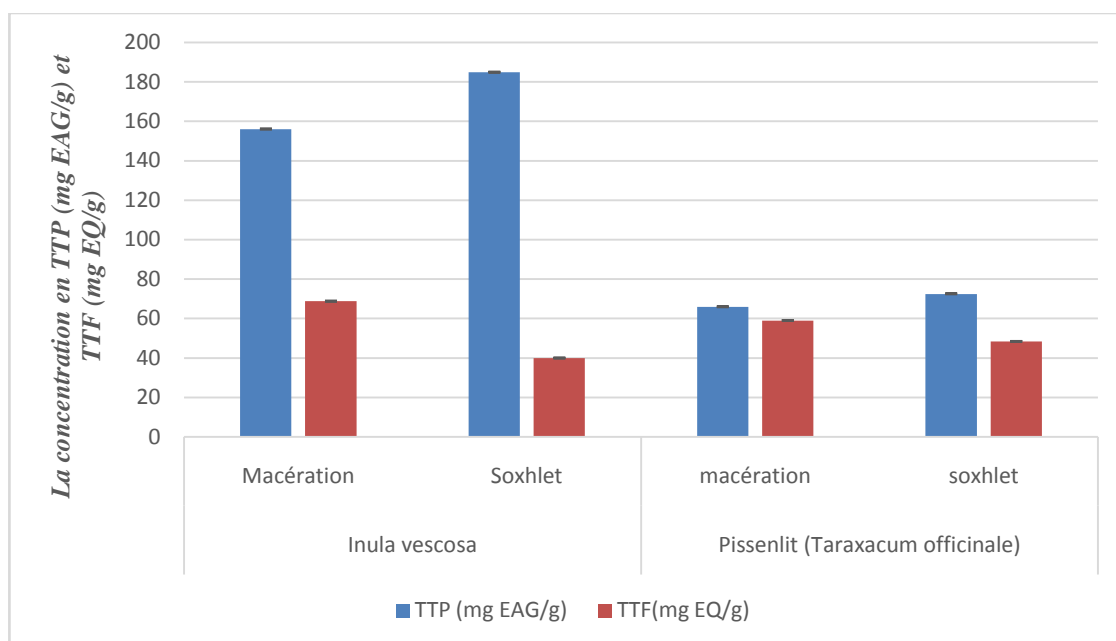
*TTP: teneur totale en polyphénols ; TTF : teneur total en flavonoïdes*

### II.1. Teneur en polyphénols totaux

Dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des extraits préparés à partir des feuilles d'*Inula viscosa*, et *Taraxacum officinale*, un dosage des phénols totaux et des flavonoïdes a été effectué.

Toutefois, la technique du soxhlet semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux de deux plantes étudiées *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale* soit de 184,874± 0,011(mg EAG/g) et 72,450 ±0,000 (mg EAG/g) respectivement par contre 156,030± 0,009(mg EAG/g) et 65,864 ±0,005 (mg EAG/g) pour la macération (**figure 13**).

Cela pourrait être dû à la capacité d'extraction exhaustive du Soxhlet [72]. Car c'est une méthode convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec le solvant jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matrice végétale d'où vient son efficacité élevée [59], concernant les résultats obtenus par la macération le rendement des polyphénols est peut être affecté par le degré d'agitation mécanique des particules dans le solvant, du fait que la vitesse d'agitation peut influencer la mise en suspension des particules solides. Si elle est maintenue durant une longue période, elle favorise des chocs entre les différentes particules et permet ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu [73].



**Figure 13:** Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits de plantes obtenus par macération et par soxhlet

D'après l'étude réalisée par **Lee** sur les feuilles de *Taraxacum officinale*, il a rapporté pour des teneurs en composés phénoliques d'un extrait éthanolique obtenu par macération de  $130 \pm 1,53$  (mg / 100g MS) qui est une teneur supérieure à celle retrouvée dans la présente étude [74].

Par contre, pour les extraits éthanoliques d'*Inula viscosa*, **Chahmi** a trouvé une teneur de  $274.39 \pm 6.94$  mg EAG/g en TTP, et ceci est supérieur de la valeur obtenue dans notre étude [75].

Des études effectuées par **Sengul** et **Mohan** sur *Taraxacum officinale* et *Inula viscosa* respectivement, la teneur en polyphénols totaux trouvées dans l'extrait méthanolique de *Taraxacum officinale* obtenus par Soxhlet est de 15,50 (mg EAG/g MS) [76].

Par ailleurs, dans l'extrait hydro-éthanolique d'*Inula racemosa* (une espèce de la même famille que *Inula*) une teneur de  $17.729 \pm 0.843$  mg EAG/g en TTP [77], ces résultats sont plus inférieures que les résultats obtenus dans notre étude [77].

D'après les résultats obtenus par **Mahmoudi**, l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux, et pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau [78].

L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols par modulation de la polarité du solvant organique, qui peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses [78]. Elle joue un rôle important dans le gonflement de la matière végétale, tandis que l'éthanol est responsable de perturber la liaison entre les solutés et la matrice végétale et permettre aussi un meilleur transfert de masse des composés [79].

## II.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïdes obtenus par macération et par soxhlet (**tableau 11**) montrent que la macération a donné les meilleurs teneurs en flavonoïdes pour les deux plantes *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale* avec des teneurs de  $68,751 \pm 0,014$  (mg EQ/g) et de  $58,969 \pm 0,008$  (mg EQ/g) respectivement. Quant à  $39,902 \pm 0,003$  (mg EQ/g) et  $48,373 \pm 0,011$  (mg EQ/g) pour la technique du soxhlet **figure 13**. Cela est probablement due à l'effet de la température, car il a été observé que le principal problème de la technique du soxhlet est son application aux composés thermolabiles, en raison qu'elle nécessite des températures relativement élevées, les échantillons sont généralement extraits au point d'ébullition du solvant pendant une longue période ce qui augmente le risque d'une décomposition thermique des composés cibles [80], dont les flavonoïdes qui sont susceptibles de se dégrader à haute température [81].

Les résultats de **Brighente**, ont montrés chez *Baccharis illinita* espèce de la même famille que *Taraxacum officinale* une teneur en flavonoïdes de  $61.82 \pm 0.02$  (mg QE /g dry extract) dans un extrait éthanolique obtenu par macération qui est une teneur proche à celle de nos résultats [82]

D'autre part, d'après **Chahmi**, la teneur totale en flavonoïdes est de  $44.70 \pm 0.16$  mg EQ/ $\mu$ g de l'extrait sec [75].

L'étude de **d'Ara Jahan**, sur l'extrait éthanolique de *Stevia rebaudiana*, espèce de la même famille que *Taraxacum officinale* obtenus par soxhlet enregistre une teneur en

flavonoïdes de  $125.64 \pm 1.07$  (mg QE /mg dry extract) qui est un taux plus élevé par rapport aux résultats trouvés dans le présent travail. Ce qui peut être due à une courte durée d'extraction [83].

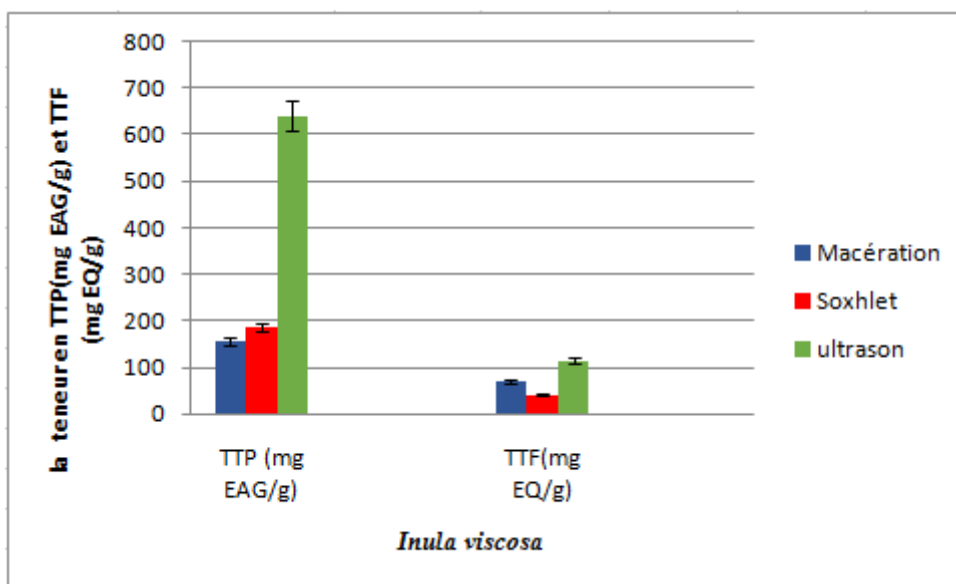
par contre l'étude de **Mohan** a montré une teneur  $66.026 \pm 35$  mg EQ/ $\mu$ g en flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanolique obtenu à partir des racines de *Inula racemosa*, espèce de la même famille que *Inula viscosa* [77].

Nous remarquons que les mélanges éthanol-eau sont plus efficaces pour l'extraction des composés phénoliques que l'eau pure et l'éthanol pur puisqu'ils sont considérés comme des solvants de qualité alimentaires, abondants, et peut coûteux par rapport à d'autres solvants comme le méthanol [70].

D'après les résultats obtenus par **Mahmoudi**, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol reste le meilleur extracteur des flavonoïdes [78].

#### II .4. Comparaison entre l'extraction assistée par ultrasons et celle des méthodes classiques

L'efficacité de l'extraction par ultrasons a été comparée à celle d'autres méthodes classiques, **la figure 14** montre que l'extrait obtenu par ultrason a donné le rendement le plus élevé en TTP et en TTF que les méthodes classiques.



**Figure 14:** Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes d'*Inula viscosa* obtenus par ultrason, macération et soxhlet

On remarque que la teneur totale en polyphénols obtenus par ultrason est la plus élevée  $641,3837901$  (mg EAG/g), que celle du soxhlet  $184,874$  (mg EAG/g) et macération

156,0030 (**mg EAG/g**). Ainsi, la teneur en TTF obtenus par ultrason est la plus élevée 113,690008(**mg EQ/g**) que celle obtenu par macération 68,751 (**mg EQ/g**) et soxhlet 39,902 (**mg EQ/g**).

Selon la littérature, la sonication a simultanément amélioré le processus d'hydratation et de gonflement, tout en facilitant le transfert de masse des constituants solubles vers le solvant d'extraction [72]. Ce qui nous a permis de conclure que les EAU permettent d'améliorer les processus d'extraction existants en raison des avantages qu'ils offrent dont un temps d'extraction plus court, une température d'extraction modérée ce qui est un bénéfice pour les composés sensibles à la chaleur [70].



**Conclusion**

## Conclusion générale

Dans ce travail, trois techniques d'extraction ont été utilisées pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Taraxacum officinale*, la macération, la méthode du soxhlet l'extraction assistée par ultrason. L'UAE a été utilisée pour l'optimisation à l'aide d'une analyse CCD, dont trois facteurs d'extraction ont été évalués (le pourcentage d'éthanol, temps d'extraction et température d'extraction).

Les résultats obtenus durant ce travail montrent que la méthode du soxhlet est la meilleure technique conventionnelle pour l'extraction des polyphénols totaux : **184,874mg EAG/g** et **72,450 mg EAG/g** respectivement à partir de l'inule visqueuse et de pissenlit, par contre la macération, semble être la meilleure technique pour l'extraction des flavonoïdes, avec une teneur de **68,751 mg EQ/g** pour les extraits éthanoliques d'*Inula viscosa* et de **58,969 mg EQ/g** pour celui de *Taraxacum officinale*.

Concernant l'optimisation par ultrason des polyphénols et des flavonoïdes d'*Inula viscosa*. Les résultats ont indiqués que les conditions optimales d'UAE de TTP ont été obtenues en utilisant les valeurs critiques suivantes: un pourcentage d'éthanol à **72%**, température **54°C**, temps **26 min** pour le rendement des TTP. Par contre, un pourcentage d'éthanol à 80%, température à 45 °C, temps à 20 min pour le rendement des TTF. Les rendements d'extraction obtenus pour les TTP et les TTF étaient **641,3837901 mg EAG/g**, **113,690008 mg EQ/g** respectivement, et en comparant ses résultats avec ceux obtenus par les méthodes précédentes on conclue que l'ultrason est la meilleure technique qui a donnée les meilleurs teneurs en TTP et en TTF pour l'inule visqueuse.

En perspective, ce modeste travail n'est qu'une démarche qui s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles approches y compris l'optimisation et la modélisation des processus d'extraction assistée par micro-ondes et conventionnelles permettant une bonne extraction des polyphénols et des flavonoïdes vue que plusieurs études ont rapporté leurs utilisation pharmacologique. Il est donc intéressant de poursuivre ces travaux en mettant en évidence l'intérêt biologique de *Taraxacum officinale* et d'*Inula viscosa*.

# Références bibliographiques

---

## Références bibliographiques

1. Ngene, J., et al., *Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun)*. Journal of Applied Biosciences, 2015. **88**(1): p. 8194–8210.
2. Benkhighe, O., et al., *Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc)*. Acta Botanica Barcinonensia, 2010. **53**: p. 191-216.
3. Lahsissene, H., A. Kahouadji, and S. Hseini, *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental)*. Lejeunia, Revue de Botanique, 2009.
4. Miara, M., M.A. Hammou, and S.H. Aoul, *Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie)*. Phytothérapie, 2013. **11**(4): p. 206-218.
5. Achika, J.I., et al., *A review on the phytoconstituents and related medicinal properties of plants in the Asteraceae family*. International Organization of Scientific Research Journal of Applied Chemistry, 2014. **7**(8): p. 1-8.
6. Bouziane, M. and H.M. Mahfoud, *Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinal*, 2016.
7. Ibrahim, H.M., et al., *Optimization of medium for the production of  $\beta$ -cyclodextrin glucanotransferase using Central Composite Design (CCD)*. Process Biochemistry, 2005. **40**(2): p. 753-758.
8. Farnsworth, N.R., et al., *Place des plantes médicinales dans la thérapeutique*. Bulletin of the World Health Organization, 1986. **64**(2): p. 159.
9. Didier, D.S., et al., *Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun*. Journal of Applied Biosciences, 2011. **37**: p. 2496-2507.
10. Létard, J.-C., V. Costil, and P. Dalbiès, *Phytothérapie-principes généraux*. HEGEL, 2015.
11. Eddouks, M., et al., *L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc*. Phytothérapie, 2007. **5**(4): p. 194-203.
12. Parolin, P., M. Ion-Scotta, and C. Bresch, *Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review*. Phytion, International Journal of Experimental Botany, 2016. **83**(2): p. 251-262.

## Références bibliographiques

---

13. Gonçalves, M. and S. Gonçalves, *Allergic contact dermatitis from Dittrichia viscosa (L.) Greuter*. Contact Dermatitis, 1991. **24**(1): p. 40-44.
14. Araniti, F., et al., *Allelopathic potential of Dittrichia viscosa (L.) W. Greuter mediated by VOCs: A physiological and metabolomic approach*. PloS one, 2017. **12**(1): p. e0170161.
15. Bakhta, R., *extraction des flavonoides de la plante Inula viscosa de la region d'Oran et la mise en evidence de l'activité microbienne*, in *biochimie* 2013, oran p. 77.
16. Hamza, A. and H. Tayeb, *inhibition de la dénaturation de la sérumalbumine par les huiles essentielles d'Inule visqueuse, d'Origan et de Verveine* in *biologie physico-chimique* 2017, Abderrahmane Mira de Bejaia p. 30.
17. Pérez-Alonso, M.J., et al., *Composition of the volatile oil from the aerial parts of Inula viscosa (L.) Aiton*. Flavour and Fragrance Journal, 1996. **11**(6): p. 349-351.
18. Rahmouni, K., H. Redouane, and K. née Kheyar, *L'activité antioxydante des extraits de feuilles d'Inula viscosa*. 2012.
19. Aşkin Çelik, T. and Ö.S. Aslantürk, *Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of Inula viscosa leaf extracts with Allium test*. Journal of BioMed Research, 2010. **2010**.
20. Trimech, I., et al., *Evaluation of Anti-oxidant and Acetylcholinesterase Activity and Identification of Polyphenolics of the Invasive Weed Dittrichia viscosa*. Phytochemical analysis, 2014. **25**(5): p. 421-428.
21. Tebbaa, M., et al., *Short and efficient hemisynthesis of  $\alpha$ -eudesmol and cryptomeridiol*. Tetrahedron letters, 2011. **52**(29): p. 3769-3771.
22. Talib, W.H., M.H.A. Zarga, and A.M. Mahasneh, *Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from Inula viscosa*. Molecules, 2012. **17**(3): p. 3291-3303.
23. Seca, A.M., D.C. Pinto, and A.M. Silva, *Metabolomic profile of the genus Inula*. Chemistry & biodiversity, 2015. **12**(6): p. 859-906.
24. Haoui, I.E., et al., *Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian Inula viscosa (L.) Aiton*. Arabian Journal of Chemistry, 2015. **8**(4): p. 587-590.
25. Santos, S.A., et al., *Changes in volatile compounds of Dittrichia viscosa caused by the attack of the gall-forming dipteran Myopites stylatus*. Industrial Crops and Products, 2016. **87**: p. 71-77.
26. Hernández, V., et al., *Effects of naturally occurring dihydroflavonols from Inula viscosa on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism*. Life sciences, 2007. **81**(6): p. 480-488.

## Références bibliographiques

---

27. De Laurentis, N., et al., *Chemical investigations of volatile constituents of Inula viscosa (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy*. Delpinoa, 2002. **44**: p. 115-119.
28. Seca, A.M., et al., *The genus Inula and their metabolites: from ethnopharmacological to medicinal uses*. Journal of ethnopharmacology, 2014. **154**(2): p. 286-310.
29. Bouyahya, A., et al., *Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants: a review*. Asian Pac J Trop Dis, 2017. **7**(1): p. 57-64.
30. Kattouf, J., et al., *Effet antihypertenseur des feuilles d'Inula viscosa*. Phytothérapie, 2009. **7**(6): p. 309-312.
31. Zeggwagh, N.-A., et al., *Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of Inula viscosa L. aqueous extract in normal and diabetic rats*. Journal of ethnopharmacology, 2006. **108**(2): p. 223-227.
32. Ben Sassi, A., et al., *Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against Herpes simplex virus type 1*. Natural Product Research, 2008. **22**(1): p. 53-65.
33. Afifi-Yazar, F.U., V. Kasabri, and R. Abu-Dahab, *Medicinal plants from Jordan in the treatment of cancer: traditional uses vs. in vitro and in vivo evaluations—Part 1*. Planta medica, 2011. **77**(11): p. 1203-1209.
34. Kisiel, W. and B. Barszcz, *Further sesquiterpenoids and phenolics from Taraxacum officinale*. Fitoterapia, 2000. **71**(3): p. 269-273.
35. Schütz, K., R. Carle, and A. Schieber, *Taraxacum—a review on its phytochemical and pharmacological profile*. Journal of ethnopharmacology, 2006. **107**(3): p. 313-323.
36. Wirngo, F.E., M.N. Lambert, and P.B. Jeppesen, *The physiological effects of dandelion (Taraxacum officinale) in type 2 diabetes*. The review of diabetic studies: RDS, 2016. **13**(2-3): p. 113.
37. Stewart-Wade, S., et al., *The biology of Canadian weeds. 117. Taraxacum officinale GH Weber ex Wiggers*. Canadian Journal of Plant Science, 2002. **82**(4): p. 825-853.
38. Bouchouka, E., *extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes in chimie 2016*, Badji Mokhtar de Annaba. p. 114.
39. Omer, H.E.M., *Antifungal Activity of the Extracts of Moleata (Dandelion) Plant (Taraxacum officinale L.)*, 2013, University of Gezira.
40. Small, E. and P.M. Catling, *Les cultures médicinales canadiennes*. 2000: NRC Research Press.

## Références bibliographiques

---

41. Benhamza, L. and P.Y. Hamdi, *Effets biologiques de la petite centauree Erythraea centaurium (L.) Pers.* 2008.
42. Sharifi-Rad, M., et al., *Ethnobotany of the genus Taraxacum—Phytochemicals and antimicrobial activity.* *Phytotherapy Research*, 2018. **32**(11): p. 2131-2145.
43. Petkova, N., et al., *Biologically active substances and in vitro antioxidant activity of different extracts from Dandelion (Taraxacum officinale) roots.* *Sci. Bull. Ser. F. Biotechnol*, 2015. **19**: p. 190-197.
44. Wojdyło, A., J. Oszmiański, and R. Czemerys, *Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs.* *Food chemistry*, 2007. **105**(3): p. 940-949.
45. Hu, C. and D.D. Kitts, *Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (Taraxacum officinale) flower extracts in vitro.* *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003. **51**(1): p. 301-310.
46. Bosi, G., et al., *Ethnobotany of purslane (Portulaca oleracea L.) in Italy and morpho-biometric analyses of seeds from archaeological sites of Emilia Romagna (Northern Italy).* *Plants and Culture: seeds of the cultural heritage of Europe*, 2009: p. 129-139.
47. Koh, Y.-J., et al., *Anti-inflammatory effect of Taraxacum officinale leaves on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells.* *Journal of medicinal food*, 2010. **13**(4): p. 870-878.
48. You, Y., et al., *In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from Taraxacum officinale (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress.* *Food and chemical toxicology*, 2010. **48**(6): p. 1632-1637.
49. Sigstedt, S.C., et al., *Evaluation of aqueous extracts of Taraxacum officinale on growth and invasion of breast and prostate cancer cells.* *International journal of oncology*, 2008. **32**(5): p. 1085-1090.
50. Di Giorgio, C., et al., *In vitro and in vivo antimutagenic effects of DIG, a herbal preparation of Berberis vulgaris, Taraxacum officinale and Arctium lappa, against mitomycin C.* *Journal of natural medicines*, 2015. **69**(3): p. 267-277.
51. García-Carrasco, B., et al., *In vitro hypolipidemic and antioxidant effects of leaf and root extracts of Taraxacum officinale.* *Medical Sciences*, 2015. **3**(2): p. 38-54.
52. Mohammedi, Z., *Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie*, 2013.
53. Khater, F., *Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des composés phénoliques*, 2011, Montpellier, SupAgro.

## Références bibliographiques

---

54. Boizot, N. and J.-P. Charpentier, *Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier*. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial, 2006: p. 79-82.
55. Ojeil, A., et al., *Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA*. Lebanese Science Journal, 2010. **11**(2): p. 117-131.
56. Benhammou, N., *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien*, 2011.
57. Pessel, F., *Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisés par le glucose comme antioxydants potentiels*, 2013, Université Paris Sud-Paris XI.
58. Ghedira, K., *Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique*. Phytothérapie, 2005. **3**(4): p. 162-169.
59. Penchev, P.I., *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*, 2010, INPT.
60. Wang, L. and C.L. Weller, *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*. Trends in Food Science & Technology, 2006. **17**(6): p. 300-312.
61. Michel, T., *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides)*, 2011, Université d'Orléans.
62. Izadiyan, P. and B. Hemmateenejad, *Multi-response optimization of factors affecting ultrasonic assisted extraction from Iranian basil using central composite design*. Food chemistry, 2016. **190**: p. 864-870.
63. Vial, J. and A. Jardy, *Utilisation des plans d'expériences pour évaluer la robustesse d'une méthode d'analyse quantitative par Chromatographie en Phase Liquide*. Analusis, 1998. **26**(1): p. 15-24.
64. Faucher, J., *Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue*, 2006.
65. Mezhoud, K., M. Benmokhtar, and D. Smati, *Contribution à l'étude de Fumaria capreolata L.(Papaveraceae), Wilaya de Constantine: caractérisation phytochimique et recherche de l'activité anti-inflammatoire*.
66. Vongsak, B., et al., *Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of Moringa oleifera leaf extract by the appropriate extraction method*. Industrial Crops and Products, 2013. **44**: p. 566-571.

## Références bibliographiques

---

67. Georgé, S., et al., *Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005. **53**(5): p. 1370-1373.
68. Bahorun, T., et al., *Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations*. Arzneimittel-forschung, 1996. **46**(11): p. 1086-1089.
69. Kim, H.S., et al., *Optimization of ultrasound-assisted extraction of quercitrin from *Houttuynia cordata* Thunb. using response surface methodology and UPLC analysis*. Food Science and Biotechnology, 2014. **23**(1): p. 1-7.
70. Pradal, D., *Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire*, 2016, Lille 1.
71. Chen, M., Y. Zhao, and S. Yu, *Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses*. Food chemistry, 2015. **172**: p. 543-550.
72. Annegowda, H., et al., *Effect of extraction techniques on phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Bauhinia purpurea*: HPTLC determination of antioxidants*. Food analytical methods, 2012. **5**(2): p. 226-233.
73. Amor, B.B., *Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC)*, 2008.
74. Lee, H.-H. and S.-Y. Lee, *Cytotoxic and antioxidant effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. and *T. officinale* WEB. extracts*. Korean Journal of Medicinal Crop Science, 2008. **16**(2): p. 79-85.
75. Chahmi, N., et al., *Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2015. **5**(3): p. 228-233.
76. Sengul, M., et al., *Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009. **22**(1).
77. Mohan, S. and D. Gupta, *Phytochemical analysis and differential in vitro cytotoxicity assessment of root extracts of *Inula racemosa**. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017. **89**: p. 781-795.
78. Mahmoudi, S., M. Khali, and N. Mahmoudi, *Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)*. Nature & Technology, 2013(9): p. 35.



## Références bibliographiques

---

79. Siham, K. and M. Maroua, *Optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien*, in *Sciences Biologiques* 2016, Kasdi Merbah Ouargla p. 81.
80. De Castro, M.L. and L. Garcia-Ayuso, *Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future*. *Analytica chimica acta*, 1998. **369**(1-2): p. 1-10.
81. Aspé, E. and K. Fernández, *The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from Pinus radiata Bark*. *Industrial Crops and Products*, 2011. **34**(1): p. 838-844.
82. Brighente, I., et al., *Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species*. *Pharmaceutical Biology*, 2007. **45**(2): p. 156-161.
83. Jahan, I.A., et al., *Antioxidant activity of Stevia rebaudiana Bert. leaves from Bangladesh*. *Bangladesh Pharm. J*, 2010. **13**(2): p. 67-75.

# **Annexes**

# Annexes

---

## Annexes

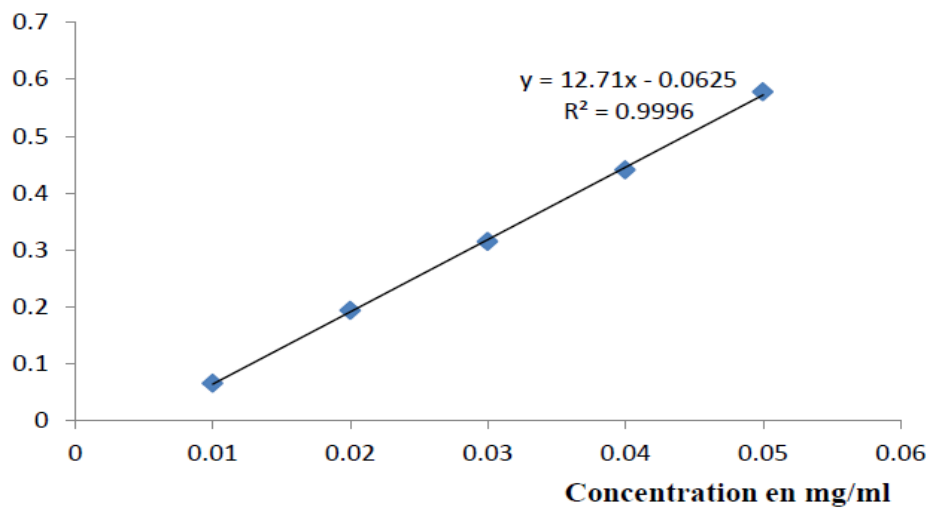
### Annexe 01 : réactifs et matériels utilisés

#### I. Réactifs utilisés

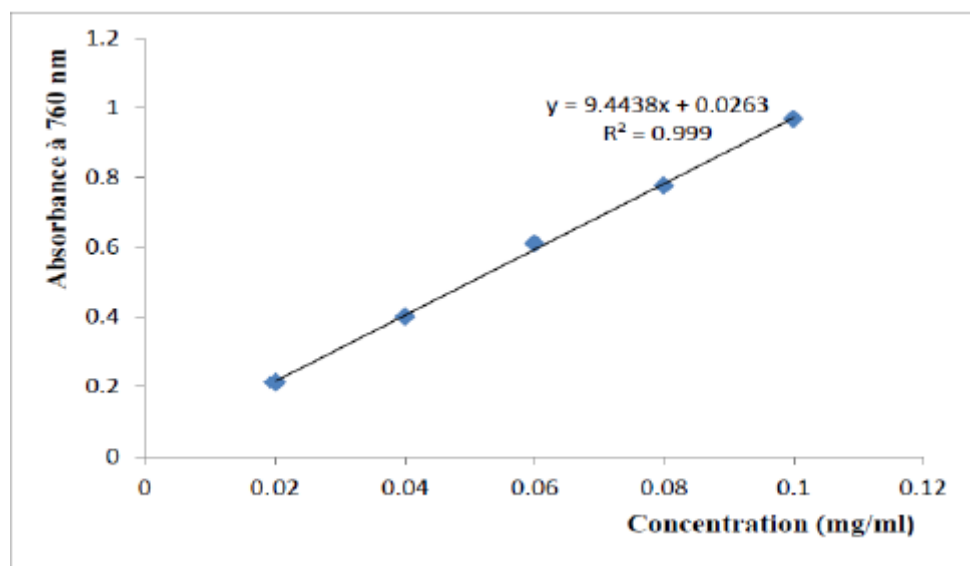
		<b>Réactifs</b>	<b>Pureté</b>	<b>Fournisseur</b>
<b>Extraction</b>	Macération	Ethanol	96%	Honeywell.
	Soxhlet ultrason	Glace	-	-
<b>Dosage</b>	TTP	Folin ciocalteu	-	Sigma
	TTF	Chlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )	97-102%	BIOCHEM, Chemopharma.
		Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	69.9%	BIOCHEM, Chemopharma.

#### II. Matériels et appareillages utilisés

	<b>Matériels</b>	<b>Appareillages</b>
<b>Extraction</b>	spatule	Balance électrique
	Cartouche	Plaque agitatrice
	Erlenmeyer	Appareil de soxhlet
	Coton	Rotavapeur
	Papier aluminium	Réfrigérateur
	Entonnoir	Bac à ultrason
	Papier filtre	
	Flacons en verre	
<b>Dosage</b>	Tubes à essais	Spectrophotomètre
	Porte tubes	Bain marie
	Eprouvettes graduées (10ml et 100ml)	
	Béchers	
	Cuves	



**Annexe 02** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



**Annexe 03** : Courbe d'étalonnage de la quercétine

# Résumé

## Résumé

La présente étude porte sur l'extraction des composés phénoliques d'*Inula viscosa* et *Taraxacum officinale* en utilisant la **macération**, le **soxhlet** et l'**UAE** comme méthodes d'extraction.

Premièrement on s'est intéressées à l'extraction par macération et soxhlet a fin de faire une comparaison entre ces deux méthodes conventionnelles ,dont les résultats ont montrés que la méthode du soxhlet est la meilleure technique conventionnelle pour l'extraction des **polyphénols totaux** : **184,874mg EAG/g** et **72,450 mg EAG/g** respectivement à partir de l'inule visqueuse et de pissenlit, par contre la macération, semble a être la meilleure technique pour l'extraction des **flavonoïdes**, avec une teneur de **68,751 mg EQ/g** pour les extraits éthanoliques d'*Inula viscosa* et de **58,969 mg EQ/g** pour celui de *Taraxacum officinale*. En deuxième lieu on s'est intéressées à réaliser un plan d'expérience a l'aide du **plan composite centré**, en utilisant le logiciel minitab 17 afin d'optimiser les conditions optimales de l'extraction d'inule visqueuse par ultrason et de comparer les résultats par celle obtenus par les deux techniques précédentes (macération et soxhlet). Les résultats ont suggérés que les rendements d'extraction obtenus pour les TTP et les TTF étaient **641,3837901 mg EAG/g**, **113,690008 mg EQ/g** respectivement. Enfin, en comparant UAE par rapport aux méthodes d'extraction conventionnelle, la technique UAE montre un rendement d'extraction plus élevé.

**Mots clés** : Polyphénols totaux, flavonoïdes, *Inula viscosa*, *Taraxacum officinale*, macération, soxhlet, UAE, plan composite centré.

## Abstract

This study concerns the extraction of phenolic compounds from *Inula viscosa* and *Taraxacum officinale* using **maceration**, **soxhlet** and **UAE** as extraction methods.

First, maceration and soxhlet extraction were used to compare these two conventional methods, where the results showed that the soxhlet method is the best conventional technique for extracting **total polyphenols**: 184,874mg EAG / g and 72,450 mg EAG / g respectively from the viscous inula and dandelion, however maceration, seems to be the best technique for the extraction of **flavonoids**, with a content of 68,751 mg EQ / g for the ethanolic extracts of *Inula viscosa* and 58.969 mg EQ / g for that of *Taraxacum officinale*. Secondly, an experimental design was carried out using the **central composite design**, using the minitab 17 software to optimize the optimal conditions of the ultrasonic of *Inula viscosa*'s extraction and compare results by those obtained by the two previous techniques (maceration and soxhlet). The results suggested that the extraction yields obtained for TTPs and TTFs were 641.3837901 mg EAG / g, 113.690008 mg EQ / g respectively. Finally, comparing UAE with conventional extraction methods, the UAE technique shows a higher efficiency extraction

**Key words**: Total polyphenols, flavonoids, *Inula viscosa*, *Taraxacum officinale*, maceration, soxhlet,UAE, central composite design.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى استخراج هذه المركبات البوليفينولية من *Inula viscosa* و *Taraxacum officinale* باستخدام **النقاعة**, **ال Soxhlet** و **الموجات فوق الصوتية** كطرق استخلاص. أولاً قمنا باستخدام النقاعة و ال Soxhlet وذلك لمقارنة هاتين الطريقتين التقليديتين, حيث أظهرت النتائج أن طريقة Soxhlet هي أفضل تقنية تقليدية لاستخلاص البوليفينول الكلي : **184,874 ملغ EAG/غ** ل *Inula viscosa* و **72,450 ملغ EAG/غ** ل *Taraxacum officinale* في حين يبدو أن النقاعة تعد أفضل تقنية لاستخلاص الفلافونويدات ب : **68,751 ملغ EQ/غ** ل *Inula viscosa* و **58,969 ملغ EQ/غ** ل *Taraxacum officinale* في الجزء الثاني, اهتمنا بانجاز تصميم تجريبي باستخدام **تصميم مركب مركزي**, وذلك باستعمال برنامج منيطاب 17 من اجل تحسين العوامل المؤثرة في استخلاص البوليفينولات الإجمالية و الفلافونويدات الإجمالية عن طريق تقنية الموجات فوق الصوتية ومقارنة النتائج بالمتحصل عليها بالطرق التقليدية السابقة , النتائج المتحصل عليها هي **641,3837901 ملغ EAG/غ** بالنسبة للبوليفينولات أما بالنسبة للفلافونويدات فالنتائج المتحصل عليها هي **113,690008 ملغ EQ/غ** وأخيراً, بمقارنة تقنية الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية مع التقنيات التقليدية , فإن تقنية الموجات فوق الصوتية تُظهر أعلى كفاءة استخلاص.

**الكلمات المفتاحية** : البوليفينول الكلي, الفلافونويدات, النقاعة, Soxhlet, الموجات فوق الصوتية, *Inula viscosa*, *Taraxacum officinale*, تصميم مركب مركزي.