

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

Projet de Fin d'Etudes

*En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur
d'Etat en Génie Chimique*

THÈME :

**Evaluation de l'activité
antioxydante des extraits de l'inule
visqueuse**

Proposé et dirigé par :

Pr. R. DERRICHE

Présenté par:

SALHI Hadjer
SEHAL Imene

Promotion juin 2012

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail.

En témoignage de notre profonde reconnaissance, nous remercions la promotrice de cette thèse Madame R.DERRICHE Professeur à L'Ecole Nationale Polytechnique pour sa patience, son soutien et son aide tout au long de ce travail.

Nous remercions Madame CHARCHARI professeur à L'Ecole Nationale Polytechnique pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail. Nos remerciements s'adressent également à madame A.MEFTI ainsi qu'à mademoiselle F.KIES Docteurs à L'Ecole Nationale Polytechnique pour avoir accepté de faire partie du jury.

Nous remercions également tous nos enseignants du département de Génie Chimique. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude pour la formation qu'ils nous ont donnée.

Nous exprimons toute notre gratitude à tout personnel du département Génie Chimique pour leur assistance.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Génie chimique à L'Ecole Nationale Polytechnique D'Alger. A cette occasion nous remercions vivement Madame le chef du département pour avoir mis à notre disposition tous les moyens pour la réalisation et la réussite de ce travail.

Merci 

Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes parents, qu'ils trouvent ici toute
ma Gratitude pour leur Soutien Tout Au long*

de mes études

*A mes sœurs, Amina, Asma, Meriem et Sarah
et mes frères, Khaled, Oussama et le petit Ishak*

Que Dieu les bénisses

A mes adorable neveux : WASSIM & NAZIM

A ma grande mère Fatma

A ma tante Nacira et mes cousines

Khadija et Sarah

A mes proche amies : Imene, Asma,

Imen, Sourour, Manel et Assia

A mes amis, Hamza, Amine, azzedine et Rafik

Et à tous ceux que J'aime

HaDjer

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A mes parents ; en témoignage de ma reconnaissance
pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien
tout au long de mes études.*

*A ma deuxième famille ; Oncle Aïssa,
Tante Khadidja, Halima, Amine et Elbatoule
en témoignage de mon affection
et de ma reconnaissance pour leurs encouragements.*

*A mes deux grand-mères Mani et Mima
A mon frère Abderrahmane, à Ma sœur Raihane.*

A tous mes oncles et tantes.

*A tous mes cousins et cousines en particulier
à Rania, Asma, Midou et Mohcine*

Aux familles SEHAL, NASRI et NEMMAR

A la famille BELKAID

A tous mes amis (es) particulièrement

à Hadjer, Asma, Sourour, Imen,

Hamza, Oussama et Bilel

Imene

Résumé

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés aux extraits de l'inule visqueuse. Deux lots d'inule ont été étudiés, l'un de SKIKDA, l'autre d'ALGER.

L'extraction par solvant a été réalisée en utilisant le mélange méthanol-eau comme solvant. Un dosage des polyphénols et un test de piégeage du radical DPPH ont été faits afin de valoriser les extraits. L'activité antioxydante des extraits obtenus a été évaluée.

Nous avons fait deux comparaisons :

- Une première comparaison concernant le teneur en polyphénols et d'activité antioxydante est réalisée entre ces deux lots.
- une deuxième comparaison concernant toujours cette activité, mais cette fois entre les feuilles et les fleurs de l'inule d'ALGER.

Mots clés : Inule visqueuse, extraction, polyphénols, activité antioxydante

Abstract

In the context of this modest work, we have focused our attention to recover the viscous inula's extracts.

The extraction by solvent has been made using a water-methanol mixture as solvent

A Polyphenol's dosage and radical trapping test DPPH are made to value and enhance the extracts, the evaluation of the antioxidant activity of these extracts as well

We have taken two different samples of viscous inula from two different origins. One sample from SKIKDA and the other from ALGIERS.

Two comparisons have been done to reach our results:

- 1- The first is achieved between these two samples, concerning polyphenols content and the antioxidant activity.
- 2- The second comparison concerns the anti-oxidant activity between the leaves and flowers of Algiers viscous inula's sample only.

Key words: inula viscosa, extraction, polyphénols, antioxidant activity

الملخص

تقييم نشاط مضادات الأكسدة لمستخلصات نبتة المقرمان

في إطار هذا العمل المتواضع، ركزنا اهتمامنا على استخلاص العينات من نبتة المقرمان، وذلك عن طريق عملية الاستخلاص بالمذيبات باستخدام الميثانول والماء كخليط مذيب، و بعدها قمنا بتقييم نشاط مضادات الأكسدة من هذه المستخلصات.

لتعزيز وتثمين هذه المستخلصات قمنا بمعايرة كمية البوليفينول و اجراء اختبار المحاصرة بـ DPPH تم اختبار عينتين من المقرمان؛ الأولى من ولاية سكيكدة و الثانية من الجزائر العاصمة، و قمنا بإجراء المقارنة على صورتين:

الأولى عبارة عن مقارنة أولية من محتوى مادة البوليفينول و النشاط المضاد للأكسدة بين العينتين، والثانية عبارة عن مقارنة النشاط المضاد للأكسدة بين الأوراق و الأزهار للعينة الثانية المنحدرة من الجزائر العاصمة.

الكلمات المفتاحية: المقرمان ، الاستخلاص بالمذيبات، البوليفينول، النشاط المضاد للأكسدة.

Liste des abréviations

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

AFR : aspergillus flavus de référence

AGE : Acide gallique équivalent

BGN : bacilles à gram négatif

BHA : butylhydroxyanisole

BHT : butylhydroxytoluène

DPPH : diphényl-picrylhydrazyle

EXDIF : Experimental Diffusion Fit

FRAP : Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

HE : huile essentielle

MeOH : Le methanol

MS : matière sèche

OMS : organisation mondiale de la santé

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

QUE : Quercétine

RO• : radical oxyl

ROO• : radical peroxy

TBHQ : ter-butyl-hydroxyquinone

TRAP : Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

UV: Ultra-Violet

Liste des symboles

$A_{\text{Contrôle}}$: Absorbance de la réaction de contrôle	
$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance l'échantillon.	
Abs : Absorbance	
C : Concentration de l'extrait	$[\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}]$
$C_{\text{polyphénols}}$: Concentration des polyphénols	$[\text{mg GAE/g MS}]$
D : Coefficient de diffusion.	$[\text{cm}^2.\text{s}^{-1}]$
d_{eau}^T : Densité de l'eau à la température ambiante	$[\text{kg}.\text{m}^{-3}]$
H : Hydromodule	$[\text{ml}.\text{g}^{-1}]$
h : Taux d'humidité	$[\%]$
I : Pourcentage d'inhibition	$[\%]$
LC50 : Concentration de l'extrait qui réduit 50% de DPPH	$[\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}]$
M_{∞} : Quantité à un temps infini	$[\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}]$
M_{ext} : Masse de l'extrait	$[\text{g}]$
M_{ms} : Masse de la matière végétale sèche	$[\text{g}]$
M_{mv} : Masse de la matière végétale mise dans le ballon	$[\text{g}]$
M_t : Quantité récupérée à l'instant t	$[\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}]$
r : Rayon de la sphère.	$[\text{cm}]$
t : Temps	$[\text{s}]$
T : Température	$[\text{°C}]$
V_{eau} : Volume d'eau	$[\text{ml}]$

Glossaire

Akène : fruit sec et indéhiscent ne contenant qu'une graine.

Alcaloïde : molécule organique hétérocyclique azotée basique pouvant avoir une activité pharmacologique.

Analgésique : antidouleur.

Anfongique : substance qui tue les champignons parasites.

Anthelminthique : antiparasite

Antiallergique : Qui lutte contre les allergies.

Antibactérien : substance qui détruit les bactéries.

Anticatharrhale : qui prévient ou guérit le catarrhe

Anticoncérigène : Qui lutte contre le cancer.

Antidiabétique : Destiné à lutter contre le diabète.

Antiémétique : Remède contre les vomissements.

Anti-inflammatoire : qui fait dégonfler, et diminuer l'irritation. La plupart des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.

Anti-œdémateux : Qui empêche la rétention d'eau.

Antioxydant : Molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.

Antiparasitaire : Destiné à lutter contre un parasite.

Antipyrétique : en médecine, Remède contre la fièvre

Antiradicalaire : Produit qui s'oppose à l'action des radicaux libres.

Antiseptique : ce qui détruit les micro-organismes : bactéries (sur les surfaces externes des corps).

Antispasmodique : qui lutte contre les spasmes, les convulsions.

Antitumoral : Qui lutte contre les tumeurs

Antiulcéreux : Destiné à lutter contre l'ulcère.

Antiviral : Molécule perturbant le cycle de réplication d'un ou de plusieurs virus, permettant ainsi de ralentir et plus rarement de stopper une infection virale.

Anxiolytique : tranquilisant, contre les angoisses.

Athérosclérose : Sclérose artérielle secondaire à l'athérome.

Cancer œsophagien : cancer se développant dans la muqueuse de l'œsophage.

Cardiovasculaire : maladies qui concernent le cœur et la circulation sanguine.

Chimie computationnelle : Une branche de la chimie concernée par la prévision ou la simulation de propriétés chimiques, les structures, ou des procédés utilisant des techniques numériques.

Cicatrisant : Remède propre à cicatriser les plaies.

Dermatophytes : des champignons microscopiques filamenteux.

Digestive : Qui sert à la digestion (chimiquement parlant, opération ayant pour but d'extraire, par macération dans un liquide approprié, certains éléments solubles contenus dans une substance donnée).

Diurétique : qui favorise l'élimination de l'urine.

Effet de chélation : processus physico-chimique au cours duquel est formé un complexe (le chélate) : entre un Ligand (chélateur) et un cation (ou atome) métallique .

Effet prebiotique : Sucres lents à courte chaîne constitués approximativement de deux à vingt unités Ils échappent à la digestion dans l'intestin pour l'hydrolyse et la fermentation par les bactéries intestinales.

Hépatoprotecteur : protecteur du foie.

Hypoglycémique : relatif à l'hypoglycémie (diminution du taux de glucose dans le sang).

Hypolipidémique : insuffisance du taux de lipides dans le sang.

Hypotenseur : Médicament capable de faire diminuer la pression dans les artères.

Infarctus : épanchement sanguin dans un tissu dû à une oblitération d'un vaisseau par artérite, par embolie ou par thrombose

Migraine : Douleur qui affecte une partie de la tête.

Mutagène : Qualifie un agent susceptible de provoquer des mutations de l'ADN (étape initiale de la cancérogenèse)

Neurodégénérative : qui entraîne une dégénérescence du système nerveux.

Paludisme : Maladie de l'être humain provoquée par un parasite transmis par une variété de moustique.

Pathologie : Partie de la médecine qui traite de la nature, des causes et des symptômes des maladies.

Phytochimie : Étude biochimique des substances végétales.

Phytothérapie : étude de l'utilisation d'extraits végétaux dans la conception de médicaments

Polysaccharide : Corps qui comprend des espèces de sucres, synonyme ancien de glucide.

Stress oxydatif : un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées.

Trouble gastroduodénaux : Des symptômes chroniques évoquant une origine gastrique

Thérapeutique : Qui est relatif au traitement des maladies.

Veintonique : Substance chimique qui traite l'insuffisance veineuse.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
------------------------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation de la matière végétale

I. Introduction.....	3
II. L'inule visqueuse.....	4
II.1. Classification.....	4
II.2. Description botanique.....	4
II.3. Localisation.....	5
III. Structure générale de la plante.....	5
III.1. Les feuilles.....	6
III.2. Les fleurs.....	6
III.3. Les grains.....	7
III.4. Les fruits	7
IV. Aspects pharmacologiques.....	7
V. Quelques espèces d'inules.....	8
V.1. <i>Inula crithmoïde</i>	8
V.2. <i>Inula magnifica</i>	9
V.3. <i>Dittrichia graveolens</i> L. greuter.....	9
V.4. <i>Inula conyza</i> DC.....	10
V.5. <i>Inula salicina</i>	10

Chapitre II : Les polyphénols

I. Introduction.....	12
II. Classification des polyphénols.....	13
II.1. Les non flavonoïdes.....	14
II.2. Les flavonoïdes.....	16
II.3. Les tanins.....	18
III. Rôle et intérêt des composés phénoliques.....	19
III.1. Chez les végétaux.....	19
III.2. Chez les humains	19

Chapitre III : les antioxydants

I. Introduction	21
II. Rappel sur les processus d'oxydation.....	22
III. Définition de l'antioxydant.....	23
IV. Antioxydants naturels.....	23
V. Mécanisme d'action des antioxydants.....	25

Chapitre IV : les travaux antérieurs

I. Introduction.....	26
II. Travaux sur les huiles essentielles de l'inule visqueuse.....	26
III. Travaux sur les extraits de l'inule visqueuse.....	28
IV. Conclusion.....	29

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre V : le dosage des polyphénols

I. Introduction	31
II. Matériel et méthode.....	31
II.1. Méthode utilisés.....	31
II.2. réactifs utilisés... ..	31
II.3. Mode opératoire.....	32
II.4. Mise en œuvre de dosage.....	32
II.5. Résultats et discussions.....	32

Chapitre VI : Extraction des polyphénols de l'inule visqueuse

I. Introduction.....	34
II. Détermination de taux d'humidité.....	34
III. Extraction solide-liquide.....	36
III.1. Préparation de la plante.....	37
III.2. Choix de solvant.....	38
III.3. Protocole expérimentale.....	38
III.4. Le calcul de rendement.....	38
IV. Essais préliminaires.....	38
IV.1. La cinétique d'extraction	39
IV.2. Influence de la granulométrie.....	41
IV.3. Influence de solvant.....	43

IV.4. Influence de l'hydromodule.....	44
IV.5. Influence de la température.....	45
V. Inule visqueuse D'ALGER.....	46
VI. Conclusion.....	47

Chapitre VII : Évaluation de l'activité antioxydante des extraits

I. Introduction.....	48
II. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH	48
III. Matériel et méthode.....	50
III.1. Méthode utilisés.....	50
III.2. réactifs utilisés... ..	50
III.3. Mode opératoire.....	50
IV. L'étude de l'influence de solvant sur l'activité antioxydante	52
IV.1. BHT.....	54
IV.2. L'acide ascorbique.....	55
V. L'activité antioxydante des extraits d'inule visqueuse	56
VI. Comparaison des résultats.....	56
VII. L'inule visqueuse d'ALGER.....	57
VIII. Activité antioxydante des fleurs et des feuilles d'inule visqueuse.....	59
IX. Conclusion.....	59
Conclusion Générale.....	60

Liste des tableaux

Partie bibliographique

Tableau II.1: teneur en polyphénols de quelques produits alimentaires.....	13
Tableau II.2: Principaux acides benzoïques.....	14
Tableau II.3: Principaux acides cinnamiques.....	15
Tableau II.4: Principaux types de coumarines.....	16
Tableau II.5: Principales classes des flavonoïdes.....	17
Tableau II.6: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.....	20

Tableau III.1: les types d'antioxydants et leurs caractéristiques	24
--	----

Tableau IV.1 : rendement des huiles essentielles obtenues par différents procédés d'extraction.....	27
--	----

Tableau IV.2 : pourcentage d'inhibition de radical DPPH par l'extrait de l'inule visqueuse, vitamine C et E, BHT et QUE.....	29
---	----

Partie expérimentale

Tableau V.1 : l'absorbance de solutions diluées de l'acide gallique.....	32
---	----

Tableau VI.1 : Diamètre et fraction massique des différentes classes d'échantillon à étudier.....	37
--	----

Tableau VI.2 : diamètre et fraction massique des différentes classes d'échantillon de fleurs.....	37
--	----

Tableau VI.3 : Evolution de la concentration des polyphénols en fonction du temps.....	40
---	----

Tableau VI.4 : Influence de la granulométrie sur le rendement.....	42
---	----

Tableau VI.5 : Influence de solvant sur le rendement.....	43
--	----

Tableau VI.6 : Influence de l'hydromodule sur le rendement.....	44
--	----

Tableau VI.7: Influence de la température sur le rendement.....	45
--	----

Tableau VII.1: Protocole expérimentale (test de DPPH).....	50
---	----

Tableau VII.2: Les concentrations des extraits en fonction des fractions de solvant	51
--	----

Tableau VII.3: Le pourcentage d'inhibition des différents extraits d'inule visqueuse.....	52
--	----

Tableau VII.4 : les LC50 des différents extraits d'inule.....	53
--	----

Tableau VII.5 : La variation de l'activité antioxydante de BHT avec la concentration.....	54
--	----

Tableau VII.6: Variation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique en fonction de la Concentration.....	55
---	----

Tableau VII.7 : les LC50 des différents échantillons.....	57
--	----

Tableau VII.8: Variation de % d'inhibition avec la concentration de l'extrait de l'inule visqueuse d'ALGER.....	57
--	----

Tableau VII.9 : Comparaisons de l'activité antioxydante des fleurs et des feuilles d'inule visqueuse d'ALGER.....	59
--	----

Liste des figures

Partie bibliographique

Figure I.1 : Inule visqueuse L.....	4
Figure I.2 : tige principale.....	5
Figure I.3 : poiles glandulaires.....	6
Figure I.4 : feuilles d'inule visqueuse.....	6
Figure I.5 : fleurs d'Inule visqueuse L.....	7
Figure I.6 : grain d'inule visqueuse L.....	7
Figure I.7 : fruit d'inule visqueuse L.....	7
Figure I.8 : Inula crithmoide L.....	8
Figure I.9 : Inula magnifica L.....	9
Figure I.10 : Dittrichia graveolens L. Greuter.....	9
Figure I.11 : Inula conyza DC.....	10
Figure I.12 : Inula salicina.....	11
Figure II.1 : trans-resveratro1.....	15
Figure II.2 : Matairesinol.....	15
Figure II.3 : structure de base des xanthones.....	16
Figure II.4 : Structure de base des flavonoïdes.....	17

Partie expérimentale

Figure V.1 : L'acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque).....	31
Figure V.2 : Courbe d'étalonnage, l'absorbance en fonction de la concentration des solutions préparées.....	33
Figure VI.1 : Montage de Dean Stark.....	34
Figure VI.2 : Montage d'extraction solide liquide.....	36
Figure VI.3 : évolution de la concentration des polyphénols en fonction de temps, simulation de l'EXDIF.....	40
Figure VI.4 : Influence de la granulométrie sur le rendement.....	42
Figure VI.5 : Influence de solvant sur le rendement.....	44
Figure VI.6 : Présentation de l'influence de l'hydromodule sur le rendement.....	45
Figure VI.7 : Influence de la température sur le rendement.....	46
Figure VII.1 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle).....	49
Figure VII.2 : Réduction du radical DPPH.....	49
Figure VII.3 : Les concentrations des extraits en fonction de fraction de solvant.....	52
Figure VII.4 : Le pourcentage d'inhibition des différents extraits d'inule visqueuse.....	53
Figure VII.5 : La variation de l'activité antioxydante de BHT avec la concentration.....	54

Figure VII.6: Variation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique avec la concentration.....55

Figure VII.7 : Pourcentage d'inhibition de radical DPPH de l'extrait d'inule, l'acide ascorbique le BHT.....56

Figure VII.8 : variation de % d'inhibition avec la concentration de l'extrait de l'inule visqueuse d'ALGER.....58

Figure VII.9 : comparaison de l'évolution de % d'inhibition de DPPH des deux plantes....58

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Historiquement, les hommes ont toujours puisé dans la nature de quoi se nourrir, se vêtir et se soigner. Quatre personnes sur cinq se servent des plantes pour conjurer leurs maux et quatre enfants sur cinq, en particulier dans les pays émergents, ne disposent d'aucun autre remède. En Afrique, en Asie et en Amérique latine, nombreux sont les pays qui font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaire. En Afrique, jusqu'à 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle pour se soigner.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et des développements exponentiels sont observés dans les domaines tels que la biotechnologie et la chimie computationnelle. Cela tient principalement au fait que le règne végétal est une source inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels, tout en étant accessible à un grand nombre de pays, y compris les pays en voie de développement. De plus, cette science évolue et s'affine sans cesse avec l'amélioration des instruments d'investigation (méthodes préparatoires et analytiques, tests de dépistage d'activité) et l'accès à l'information scientifique. La pharmacognosie et la phytochimie sont donc en totale adéquation avec les objectifs d'une recherche moderne de composés à visée thérapeutique.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que plus de 80% de la population du monde compte toujours sur les plantes médicinales pour leur santé primaire. C'est en fait une indication claire pour le rôle des plantes médicinales dans l'entretien de la santé et le traitement des maladies (**Enam et al., 2007**).

Les observations du matériel végétal et de son milieu lors de sa cueillette peuvent donner des informations précieuses. Ainsi, une plante qui pousse dans un milieu tropical riche en microorganismes (champignons, bactéries, etc.) et parasites divers et qui ne présente aucun signe d'attaque par ces microorganismes, serait susceptible de produire des métabolites secondaires (substances chimiques synthétisées par les plantes) qui lui permettraient de faire face à des agressions. Une telle plante peut être une source inestimable de nouveaux produits possédant des activités biologiques intéressantes (antifongique, antibactérienne, anti-parasitaire ou antioxydante par exemple). (**Bruneton , 2001**).

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activité à la fois antidiabétique et antioxydante.

L'application des antioxydants naturels dans le domaine des cosmétiques et même pharmaceutique est un domaine très prometteur en plein développement. Cela conduit à des recherches de plus en plus nombreuses, destinées à diversifier les ressources de ses substances naturelles et à améliorer les méthodes de récupération et de purification.

L'inule visqueuse est l'une des plus importantes plantes médicinales connue dans le bassin méditerranéen depuis longtemps et ses huiles ont été utilisées par les anciens pour la guérison de plusieurs maladies.

Notre travail a comme objectif d'extraire les polyphénols des fleurs de l'inule visqueuse et de les valoriser par la suite comme antioxydants.

La première partie de ce travail sera consacrée à la revue bibliographique des connaissances concernant l'inule visqueuse, sa composition ainsi que les propriétés biologiques des substances actives contenue dans cette plante. Parmi les composés à effet médicale, nous nous intéresserons aux polyphénols ayant montré une activité antioxydante importante.

La deuxième partie présente les matériels et méthodes utilisées, les résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre I

PRÉSENTATION

DE

LA MATIÈRE VÉGÉTALE

I. Introduction

Depuis le début des temps, l'être humain utilise des plantes médicinales pour soigner des maux et des blessures. Ce sont elles qui constituèrent les médicaments du passé.

Certes l'utilisation des plantes médicinales, de la phytothérapie s'avère extrêmement salvatrice pour l'homme. Parfois une utilisation inadéquate des plantes médicinales peut entraîner d'autres problèmes de santé ou les accentuer.

« Il est temps de redécouvrir ces végétaux trop longtemps oubliés, dont nous pouvons mettre à profit les multiples vertus dans notre vie quotidienne » (François Couplan).

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées, on cite « l'inule ». C'est une plante très anciennement connue, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées.

Le terme « Inule » dérive du grec « inaien » qui signifie purifié car certaines inules ont des propriétés diurétiques.

Les inules sont des plantes de la famille des Astéracées. Le genre *Inula* comprend environ 90 espèces.

Ce sont des plantes à fleurs généralement jaunes, exceptionnellement violacées. Ces fleurs sont en fait un capitule formé de nombreux fleurons entourés d'un involucre de bractées. Le fruit est surmonté d'une aigrette de soies disposées sur un seul rang, il est étranglé puis élargi au sommet. Les feuilles sont alternes chez les plantes du genre *Dittrichia*. (Levrault, 2007)

Les inules sont présentes à l'état sauvage dans toute l'Asie et dans certains pays d'Europe. Ces plantes sont vivaces et fleurissent tous les ans. Elles ne demandent aucun soin particulier mis à part un sol sec, Elles se propagent là où la terre ne reste pas trop mouillée. Le calcaire est souvent présent dans les lieux où elle pousse.

En Afrique du nord ainsi que dans le pourtour méditerranéen, l'Inule est connue pour ses propriétés anthelminthiques et occupe une place appréciable dans les médications traditionnelles.

II. L'inule visqueuse L

II.1. Classification

Noms scientifiques : *Dittrichia viscosa* ; *Inula viscosa*

Famille : Astéracées.

Genre : *Dittrichia*.

Ordre : Astérales.

Règne : Plantae.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

II.2. Description botanique

L'inule est une plante vivace d'assez grande taille, dressée et à racine pivotante, (jusqu'à 1,50 mètre) et qui peut former d'assez vastes populations.

Ses tiges sont assez ramifiées et pourvues d'un feuillage dense. Avec l'âge, elles deviennent ligneuses et foncées à la base. La plante est collante et très odoriférante, à odeur de camphre.

Les feuilles sont allongées et lancéolées, disposées en alternance directement sur la tige sans pétiole. La base du limbe des feuilles de la tige semble l'entourer partiellement (feuilles embrassantes) (figure I.1).



Figure I.1 : Inule visqueuse .

Leur marge est lisse ou dentée, et le sommet aigu. Toute la plante est couverte de poils glanduleux qui libèrent une résine odoriférante et collante.

Du point de vue de la reprise, la meilleure période pour planter l'inule (comme pour la plupart des vivaces) est le début de l'automne, avant l'arrivée des pluies. Les pluies

automnales suffisent alors à l'arrosage, et il n'y a pas besoin de suivi d'irrigation (hors l'arrosage de plantation qui est toujours nécessaire) (**Lambion J., 2010**).

II.3. Localisation

L'inule visqueuse se trouve surtout en région méditerranéenne sur les bords de chemins, les décombres, les terrains abandonnés, jachères, arrière dunes ou garrigues bien ouvertes. Elle affectionne les milieux fraîchement perturbés par des travaux ou le passage du feu. Elle se rencontre autant sur sols argileux que sableux.

En Algérie l'espèce est localisée en général dans les régions de moyenne altitude du tell, dans les terres garrigues et rocailleuses ainsi que dans les terrains argileux humides (**Guezet et al., 1962**).

Elle est connue au Maghreb sous les noms vernaculaires : Terhalâ, Mâgrâmân, Bagramane ou encore Amagramane.

En générale elle est localisée dans les zones suivantes :

- **Afrique du Nord:** Algérie, Egypte, Libye, Maroc, Tunisie.
- **Asie Occidentale:** Chypre, Palestine, Jordanie, Liban, Syrie, Turquie.
- **Europe:** Albanie, Bulgarie, Grèce, Italie, Yougoslavie. L'Europe Du sud-ouest: France (Corse inclus), Portugal, Espagne (îles Canaries inclus) (**Boulus, 1983**).

III. Structure générale de la plante

L'inule visqueuse se caractérise par une forme de croissance droite verticale à partir de la terre, ses branches nombreuses se refoulent le long de la tige commune principale. (Figure I.2)



Figure I.2 : Tige principale

Sa surface possède des cheveux appelés poils glandulaires qui soutiennent des glandes ou des gonflements à leur bout. (Figure I.3)

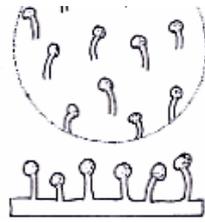


Figure I.3 : Poils glandulaires

1. Les feuilles

Les feuilles ont une forme de lance qui se forme le plus largement dans le troisième basique et s'enfilent graduellement vers le bout. Elles possèdent des dents pointues inclinées (comme une scie) (figure I.4)



Figure I.4 : Feuilles d'inule visqueuse .

2. Les fleurs

Les fleurs sont de couleur jaune lumineuse, d'une taille de 20 à 22mm en moyenne pour les espèces méditerranéennes. Dans certaines régions la taille est de 15 mm. Elles possèdent une odeur douce et aromatique. Elles se composent de pétales rayonnant au tour du réceptacle central, et leur nombre dépend de la taille des fleurs mais en général il varie entre 12 et 18. Les sépales sont au nombre de 30 à 40 en moyenne (Figure I.5).



Figure I.5 : Fleur d'Inule visqueuse .

3. Les grains

Les grains ont une structure apicale de couleur brun clair, leur nombre varie entre 40 - 50 et leur taille ne dépasse pas 2 mm (Figure I.6).



Figure I.6 : Grain d'inule visqueuse

4. Les fruits

Les fruits de la plante (akènes) sont de couleur marron/beige, attachés à un réceptacle commun. En murissant les fruits se détachent et sont dispersés par le vent. (Figure I.7)

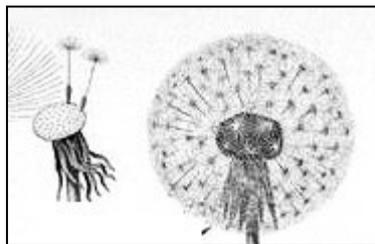


Figure I.7 : fruit d'inule visqueuse.

IV. Aspects pharmacologiques

Différents effets pharmacologiques en thérapeutique médicale ont été cités dans plusieurs études scientifiques.

- Effet antipyrétique. (**Fournier 1947**)
- Effet antitussif contre les spasmes bronchiques. (**Benayache et al., 1991**)
- Effet antiseptique au niveau des appareils respiratoires et génito-urinaire. (**Fournier 1947**)

- Effet cicatrisant de traitement des brûlures expérimentales chez les lapins. (**Chari 1999, Susplugas et al., 1980**)
- Effets différents sur l'appareil digestif : antiémétique, améliore l'appétit et contre l'atonie gastro-intestinale. (**Lastra et al., 1993**)
- Effet anti-inflammatoire. (**Barbetti et al., 1985**)
- Effet antifongique de l'huile d'inule visqueuse et de l'extrait flavonoïde. (**Cafarchia et al., 2002**)

V. Quelques espèces d'inules

1. *Inula crithmoide* L.

- **Description :**

Plante vivace de 5-8 dm sous-frutescente à la base, dressée ou ascendante, simple ou rameuse, glabre à feuilles charnues, sessiles, étroites, linéaires, obtuses, entières ou terminées au sommet par 3 dents et émettant à leur aisselle des faisceaux ; involucre à folioles dressées, appliquées, linéaires et acuminées ; à chaînes velues, aigrettes roussâtres ; capitules portés par des pédoncules bractéolés, en corymbe très lâches. (Figure I.8)

- ✓ Habitat : Marais des terrains salés ; rives de la Méditerranée, de l'Océan, de la Manche jusqu'au Calvados. Angleterre Italie, Afrique septentrionale.
- ✓ Noms communs: Inule fausse criste, Inule faux crithme, Inule perce-pierre
- ✓ Classification:

Régne : Plantae

Famille : Asteraceae

Genre : *Inula*

- ✓ Capitule : 20 à 25 mm.
- ✓ Floraison : Juillet - Octobre. (**Fouilloy R., 1937**)



Figure I.8 : *Inula crithmoide*

2. *Inula magnifica* L.

Plante vivace d'un vert sombre, plus ou moins pubescente, à poils tuberculeux à leur base.

- **Caractéristiques**

- Tige : de 30-80 cm, dressée, simple.
- Feuilles : molles, irrégulièrement inégales, obscurément dentées, assez étroitement lancéolées, longues et aiguës, parfois glabrescentes. Les inférieures atténuées en pétiole, à aigrette blanche ; capitules en corymbe.
- Fleurs : jaunes à ligules glanduleuses mais non poilues. (Figure I.9)
- Sol : meuble, bien drainé et frais. (Levrault et al., 2007)



Figure I.9 : *Inula magnifica* L.

3. *Dittrichia graveolens* L. Greuter

C'est une plante glanduleuse-visqueuse à forte odeur camphrée. La tige est très ramifiée et le port est pyramidal. Les capitules sont petits, allongés, et les ligules, jaunes ou violacées, courtes. On rencontre cette espèce dans les lieux sablonneux. (Levrault et al., 2007) (Figure I.10)



Figure I.10 : *Dittrichia graveolens* L. Greuter.

4. *Inula conyza* DC

C'est une grande plante de grande taille qui peut dépasser **1,50 m** avec une tige solide et pourprée, ramifiée vers l'extrémité.

Les feuilles disposées en alternance sont ovales, finement dentées et pointues, leur surface plus ou moins gaufrée est grisâtre au revers. (Figure I.11)

Les petits capitules, plus hauts que larges, ont des ligules très courtes et parfois rougeâtres. Les bractées sont arquées.

Inula conyza est une plante commune dans les bois clairs ou sur leur lisière. (Baptiste et al., 2008).

Caractéristiques

- ❖ **Capitule** : 8 à 12 mm.
- ❖ **Floraison** : juillet à septembre.



Figure I.11 : *Inula conyza* DC.

5. *Inula salicina*

C'est une plante vivace souvent calcicole poussant en touffes denses de **20 à 60 cm** de hauteur, à tiges dressées, glabres et rarement poilues, simples ou rameuses au sommet. (Figure I.12) Elle pousse dans les lieux ensoleillés secs de plaines et de basses montagnes calcaires, ainsi que dans les clairières. Les capitules sont sans poils et porte de jolies fleurs jaunes de **1 à 3 cm** de diamètre, fleurissant de Juin à Août. Les feuilles inférieures sont moins longues que les feuilles moyennes. Les feuilles moyennes et supérieures sont larges à leur base et engainante à la tige faiblement denticulées et ciliées (Levrault et al., 2007).

- **Caractéristiques**

- ❖ **Hauteur** : 30 à 70 cm.
- ❖ **Capitule** : 3 à 5 cm.
- ❖ **Floraison** : juin à septembre.
- ❖ **Altitude** : à 600 m.



Figure I.12: *Inula salicina*

Chapitre IV

LES POLYPHÉNOLS

I. Introduction

Le terme « polyphénol » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono-phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale composés phénoliques concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Fleuriet et al., 2005**).

Les composés phénoliques ou 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) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Ribéreau, 1968**).

Ces précieuses molécules possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent des applications dans divers domaines, à savoir en médecine, en pharmacie.. Il est à signaler qu'il y a bien longtemps que les remèdes traditionnels à base de plantes sont utilisées sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les composés phénoliques.

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes.

Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (**Psotova et al., 2003**). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : acide chlorogénique, acide caféique, acide protocatechique, acide vanillique, acide férulique, acide sinapique et acide gallique (**Hale, 2003**).

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets antioxydants, de chélation et anti-inflammatoires. Leur toxicité est faible et est considéré non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (RA). (**Psotova et al., 2003**). L'acide caféique et l'acide férulique empêcherait la formation du cancer des poumons chez les souris. L'acide gallique inhiberait la formation du cancer oesophagien chez les rats (**Hale, 2003**).

Ces polyphénols se trouvent dans différents aliments fruits et légumes en quantités variables. Le tableau ci-dessous (Tableau II.1) donne la teneur en polyphénols de quelques aliments.

Tableau II.1 : Teneur en polyphénols de quelques aliments

Légumes	Teneur en polyphénols (mg/100g)	Fruits	Teneur en polyphénols (mg/100g)
Artichaut cœur	321,3	Fraise	263,8
Persil	280,2	Litchi	222,3
Choux de Bruxelles	257,1	Raisin	195,5
Échalote	104,1	Abricot	179,8
Brocoli	98,9	Pomme	179,1
Céleri	84,7	Datte	99,3
Oignon	76,1	Cerise	94,3
Aubergine	65,6	Figue	92,5
Ail	59,4	Poire	69,2
Navet	54,7	Nectarine blanche	72,7
Céleri rave	39,8	Fruit de la passion	71,8
Radis	38,4	Mangue	68,1
Pois	36,7	Pêche jaune	59,3
Salade	35,6	Banane	51,5
Poireau	32,7	Ananas	47,2
Poivre rouge	26,8	Citron	45
Tomate cerise	26,4	Nectarine jaune	44,2
Pomme de terre	23,1	Pamplemousse	43,5
Courgette	18,8	Orange	31
Poivre vert	18,2	Clémentine	30,6
Chicorée	14,7	Citron vert	30,6
Asperge	14,5	Kiwi	28,1
Tomate	13,7	Pastèque	11,6
Fenouil	13	Melon	7,8
Chou-fleur	12,5		
Carotte	10,1		

II. Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (alcoolique (OH), carboxylique COOH,...).

Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et de ce fait sont des éléments faisant partie de l'alimentation animale. Ces composés présentent une grande diversité de structures, divisées en non flavonoïdes, flavonoïdes et tanins.

La première est représentée par les acides phénoliques, qui comprennent les acides benzoïques (acide gallique).

La seconde classe est constituée d'un noyau phénolique porteur d'une chaîne latérale insaturée en C3 (acide caféique).

Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées.

II.1. Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones.

➤ Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acides phénoliques; les dérivés de l'acide benzoïque (tableau II.2) et les dérivés de l'acide cinnamique (tableau II.3). La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans les aliments contrairement aux acides hydroxy-cinnamiques très présents (Fleuret et al, 2005).

Tableau II.2: Principaux acides benzoïques (Sarni-Manchado et al., 2006)

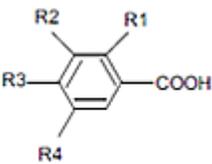
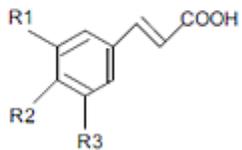
Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Tableau II.3: Principaux acides cinnamiques

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

➤ Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans les aliments humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resveratrol (figure II.1) (Fleuriet et al.,2005).

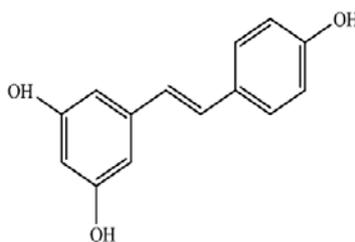


Figure II.1 : trans-resveratrol

➤ Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines.

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C6-C3) c'est le propylbenzène.

Les lignanes se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux (Fleuriet et al., 2005). La figure II.12 représente les lignanes matairesinol.

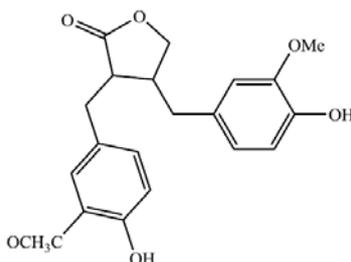
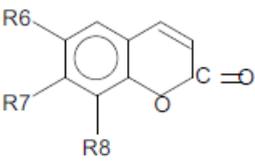


Figure II.2 : Matairesinol

➤ Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy-cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (Tableau II.4)

Tableau II.4: Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aesculitol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

➤ Les xanthones

C'est une famille constituée des composés polyphénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures et dans les microorganismes répondant à une structure de base (C6-C1-C6). La structure de base des xanthones est représenté ci-dessous (figure II.3).

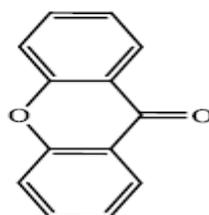


Figure II.3 : structure de base des xanthones

II.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux.

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C). (Figure II.5)

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydro--xyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Malešev et al., 2007)

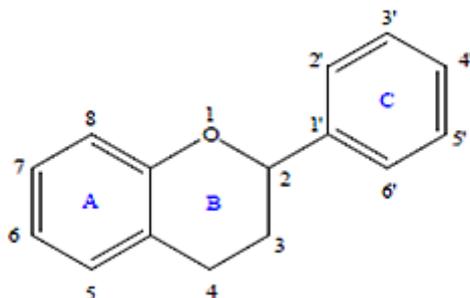


Figure II.5 : Structure de base des flavonoïdes

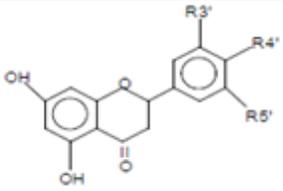
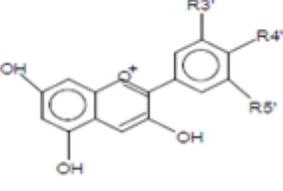
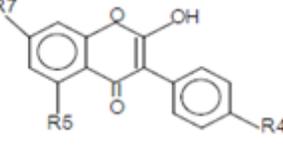
Il existe plusieurs classes de flavonoïdes (Tableau II.5)

Les flavonoïdes, sont contenus dans les fruits et les légumes, dans le vin et le thé. Leur caractère antioxydant contribue à la prévention de pathologies telles que les maladies cardiovasculaires (**Epidemiol et al.,1999**) et les cancers (**Hertog et al., 1993**). Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique.

Tableau II.5 : Principales classes des flavonoïdes

(W –Erdman et al., 2005)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine

Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II.3. Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Ce sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. Ils se caractérisent par leur capacité à former des complexes avec les protéines, les alcaloïdes et certains polysaccharides. Ces substances de structure variée ont des propriétés antioxydantes (**Duval, 1978**).

En 1987 Mole et Waterman ont défini les tanins comme étant des "produits naturels phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses (**Bruneton, 1999**).

II.3.1. Les tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique . Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (**Conrad et al., 1998**).

II.3.2. Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B.

Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Wollgast et al., 2000).

- **Sources végétales des tanins**

Les tanins sont particulièrement abondants chez les conifères, les fagacées, les rosacées (Wollgast et al.,2000). On les trouve dans de nombreuses plantes utilisées dans l'alimentation, notamment les céréales et les légumineuses (orge, haricots secs, petits pois, caroube, sorgho) (Dykes et al.,2006).

Parmi les fruits riches en tanins sont le cassis, la myrtille, le raisin, la canneberge et la fraise ayant des teneurs maximales observées entre 1,2% et 0,2% du poids frais. Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (racines, écorces, feuilles) mais on note fréquemment une accumulation dans les organes âgés (Ghestem et al.,2000).

III. Rôle et intérêt des composés phénoliques

III.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes seraient impliqués dans un certain nombre de fonctions :

- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graine,
- représentent un système de défense contre les micro-organismes pathogènes.
- protègent les plantes des radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées,
- interviendraient dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (Malešev et al., 2007).

III.2. Chez les êtres humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet et al., 2005). Spécifiquement, on attribue

aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rende plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent les artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (caillots dans les artères). Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le tableau II.6 :

Tableau II.6: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme

Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti- inflammatoires, anti parasitaires, analgésiques et anti œdémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, antiallergique
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydant, antitumoral, antifongique et anti-inflammatoire
Tannins galliques et catéchiques Lignanes Saponines Phytostérols	Antioxydantes Anti-inflammatoires, analgésiques Antitumorale, anticancérigène,... Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons

Chapitre III

LES ANTIOXYDANTS

I. Introduction

L'oxydation des lipides est un processus qui fait intervenir plusieurs types de réactions, une variété d'intermédiaires chimiques et une multitude de facteurs. Cependant, plusieurs approches permettant de contrôler l'oxydation.

En termes de protection et de préservation des aliments, différentes mesures pour contrôler et minimiser l'oxydation de lipides sont recherchées par les industries. Ceci implique le remplacement des acides gras polyinsaturés avec plus de lipides mono-insaturés et stables ; une hydrogénation partielle des lipides polyinsaturés, le contrôle du paramètre de stockage comme la limite d'aération, la minimisation des traces de métaux, ainsi que des conditions de stockage appropriés. Néanmoins il est quasi impossible de maîtriser pratiquement tous les facteurs qui provoquent l'oxydation. Cependant l'addition des antioxydants peut prévenir ou ralentir le processus d'oxydation (**Decker, 1998**).

L'oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le diabète, le cancer, les infections, les maladies cardiaques ou neurodégénératives et accélère le processus de vieillissement (**Luximon-Ramma et al., 2002**). Elle serait même impliquée dans le paludisme et des ulcères gastriques (**Gülçin et al., 2006**).

L'oxydation des lipides pose également de sérieux problèmes pour les industries agroalimentaires. Elle conduit à des modifications de goût, d'odeur et de couleur et par conséquent à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments.

L'utilisation des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique est suspectée à long terme d'effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes (**Chavéron et al., 1999**).

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes et comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. Il nous a semblé intéressant d'inscrire ce travail dans ce contexte de recherche.

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le peroxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyle, collectivement connu sous le nom d'oxygène actif.

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif.

L'initiation des phénomènes de réactions d'oxydations en chaîne dans l'organisme humain peut conduire à des pathologies comme l'athérosclérose, le cancer, l'infarctus, les allergies, les rhumatismes et d'autres (Yepez et al., 2002).

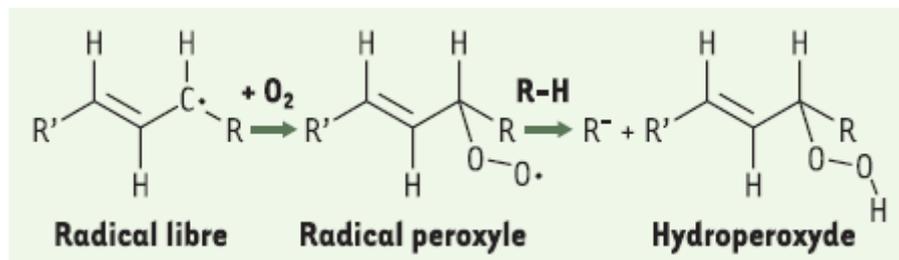
II. Rappel sur les processus d'oxydation

Les mécanismes d'oxydations des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales (Chaveron et al., 1999).

- **La phase de déclenchement** : où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...) (Marc et al., 2004).



- **La phase de propagation** : où l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydroperoxyde.



- **La phase de terminaison** : où se recombinent différents radicaux formés (Marc et al., 2004).

III. Définition d'un antioxydant:

Le terme antioxydant a été formulé comme « une substance qui à faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels » (**Halliwell et al., 1995**).

Les antioxydants exercent leur protection à différents stades de l'oxydation lipidique et par l'intermédiaire de mécanismes différents. Une distinction doit être prévue entre une courte et une longue protection de l'antioxydant par rapport à la cinétique de réaction. La classification de tous les antioxydants connus est difficile, ils sont classés généralement par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique (**Antolovichet al., 2002**)

Dans la détermination de l'activité antioxydante d'extraits de plantes, la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux est aussi déterminée dans le but d'établir une corrélation essentielle entre teneur en composés phénoliques et activité antioxydante et ou entre teneur en flavonoïdes et activité antioxydante.

De nombreux polyphénols d'origine végétale : vitamine E (d-tocophérol), flavonoïdes et flavones, caroténoïdes et vitamine C (acide L-ascorbique) sont des antioxydants naturels disponibles.

D'autres composés phénoliques (antioxydants) de synthèse tels que le butyl hydroxy anisole (BHA) et le butyl hydroxy toluène (BHT) sont certes très efficaces mais susceptibles de manifester des effets secondaires voire même toxiques. Plusieurs molécules à propriétés antioxydantes sont extraites des plantes.

Il est donc louable de chercher des antioxydants naturels efficaces avec ou sans effets secondaires pour remplacer les synthétiques ou pour plus de choix à partir des plantes alimentaires et médicinales (**Manian et al., 2008**).

Un bon antioxydant doit présenter plusieurs propriétés :

- Efficacité à faible concentration.
- Compatibilité physique et chimique avec le substrat qu'il est censé protéger.
- Absence de toxicité.

IV. Antioxydants naturels

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, outre les tocophérols de certaines graines et plantes, de nombreuses autres substances présentent des propriétés antioxydantes : polyphénols de l'olivier, du chêne, sésamol des graines de sésame, flavonoïdes des plantes (quercétine, myricétine, etc.), huiles essentielles extraites d'épices et d'herbes : thym, carvi, cumin, clou de girofle, romarin, sauge. Le tableau III.1 illustre les types d'antioxydants ainsi que leurs caractéristiques :

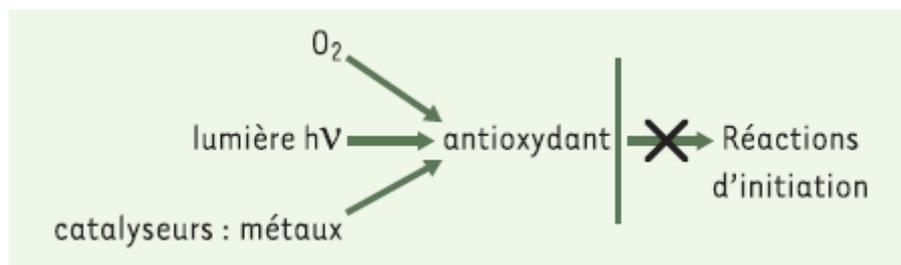
Tableau III.1: les types d'antioxydants et leurs caractéristiques (Marcheix et al., 2005)

Antioxydants fournis par l'alimentation	Caractéristiques
<ul style="list-style-type: none"> • Extraits naturels riches en tocophérols ou vitamine E • Vitamine C 	<ul style="list-style-type: none"> - mélanges concentrés obtenus à partir d'huile végétales ou de leur sous-produits. Vitamine E – 4 tocophérols + 4tocotriénols – Liposolubles (membranes) – Graines céréales, noix et les huiles olive et tournesol - Hydrosoluble – Recycle la vitamine E – protègent contre l'oxydation – Instable (lumière et T.) – Agrumes et légumes verts.
<ul style="list-style-type: none"> • Caroténoïdes • Glucosinolates 	<ul style="list-style-type: none"> – Rôle antioxydant – Présent dans plus de 600 plantes (fruits et légumes colorés) – Choux, brocolis, etc
<ul style="list-style-type: none"> • Composés phénoliques extraits des végétaux : -thymol, carvacrol -acide carnosique -carnosol -acide rosmarinique <ul style="list-style-type: none"> - Flavonoides - Catéchins -Anthocyanes 	<p>les végétaux riches en ces substances sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> -La muscade, le clou de girofle, vanille. - Sauge et le romarin : une forte activité antioxydante a été observée <p>Oignon, pommes thés - Isoflavones – soy – Raisins, vin rouge</p>
Antioxydant de synthèse	/
<ul style="list-style-type: none"> • Tocophérols de synthèses -α tocophérol -γ tocophérol -δ tocophérol 	/
<ul style="list-style-type: none"> • Gallates - Gallates de propyle - Gallates d'octyle - Gallatesdedodécyle 	/
<ul style="list-style-type: none"> • BHA (butyl hydroxy anisol) 	<p>il accroît l'utilisation de la vitamine A il présente des propriétés tératogènes et cancérogènes</p>

• BHT (butyl hydroxy toluène)	il agit au niveau du métabolisme énergétique du foie, des poumons et de la coagulation sanguine
• TBHQ(ter-butyl-hydroxyquinone) • Ethoxyquinone	possibilité d' effets toxiques
• Erythorbates de sodium	/

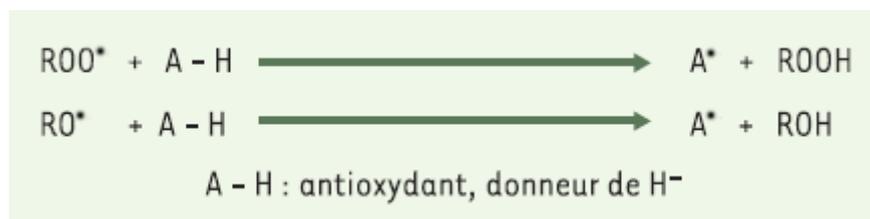
V. Mécanisme d'action des antioxydants :

Les molécules aptes à ralentir, retarder ou prévenir les processus d'oxydation sont en fait des agents de prévention ou de terminaison capables d'éviter ou de piéger les radicaux libres. L'action préventive bloque l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment des effets de lumière ou des rayonnements (**Gordon, 1990**).



En tant qu'agents de terminaison (piégeage de radicaux), les antioxydants transforment les radicaux en composés plus stables et bloquent la phase de propagation.

Un tel effet résulte d'une structure de donneurs de H• souvent aromatique, cas des dérivés du phénol (tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...) (**Marc et al., 2004**).



chapitre IV

LES TRAVAUX ANTERIEURS

I. Introduction

L'inule visqueuse connue dans le bassin méditerranée est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle. Aujourd'hui, cette plante est connue comme antifongique, antiseptique, antibactérien, anti-inflammatoires.

C'est pour cette raison que les chercheurs médecins, chimistes, botanistes ont fait plusieurs études sur les différentes activités de cette plante. Ces études sont basées sur le mode d'extraction des composés, huiles essentielles et extraits et leur valorisation.

II. Les travaux sur les huiles essentielles de la plante

- ✚ Une étude publiée en 1981 par la scientifique russe **Belova L.F.Baginskaia** sur les propriétés pharmacologiques de l'inule visqueuse du Japon a montré que ces HE contiennent des lactones de sesquiterpène, Une dose de 5-60mg/kg de poids exerce une action de stimulant sur le système nerveux central et sur muscles lisses de l'intestin.
- ✚ En 1989, **Rabbi Moshé ben Mimoun** a montré que les huiles essentielles de l'inule visqueuse possèdent des propriétés antipyrétique, antifongique.
- ✚ Trois composants flavoniques isolés des parties aériennes de l'inule visqueuse ont été testés en 1999 par **Manez et al** «in vivo» sur la souris présentant une dermatite. Une action anti-inflammatoire nette a été observée. En plus de l'effet cicatrisant, cette même propriété a été constatée lors des expériences «in vivo» sur les brûlures de 3ème degré chez le lapin par **Chari et Hamdi Pacha** en 1999.
- ✚ Une étude faite par **Silva D. et al** en 2001 sur la composition des huiles essentielles de l'inule visqueuse et leur activité antibactérienne.
Les parties aériennes de l'inule visqueuse ont été recueillies lors de la floraison phase Septembre-Octobre 2001, près de Lisbonne (Portugal). Les huiles essentielles extraites par hydrodistillation pendant 4 h en utilisant un appareil de type Clevenger. Les huiles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. L'examen préliminaire des huiles essentielles a permis l'identification de 32 composants. Seuls quatre des composants ont atteint des pourcentages plus de 5%: fokiéol (11,8%), T-muurorol (7,9%), (E)-nérolidol (5,5%) et-cadinène (5,0%). Les huiles essentielles ont été testés contre les bactéries *Helicobacter pylori* et *Listeria monocytogenes*. Elles se sont révélées sans activité antimicrobienne contre *L. monocytogenes*. L'huile essentielle à 0,88 à 22,22 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ n'a pas inhibé la croissance de *H. pylori*, affecté légèrement la croissance à 44,40 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, et a complètement inhibé la croissance de 88,80 à 133,20 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Les

résultats montrent l'utilisation de *D. viscosa* huile essentielle dans le traitement des troubles gastriques.

✚ **Levizon E. et al** en **2002** ont étudié le pouvoir antifongique des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de l'inule visqueuse. Les flavonoïdes, azulènes, les sesquiterpènes, les huiles essentielles ont été isolées et identifiées à partir des feuilles de l'inule visqueuse. Cette étude a montré la composition et l'activité antifongique in vitro contre les dermatophytes et *Candida* spp. Les quatre huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur des feuilles, des fleurs, toute la plante et des plantes entières sans extraits de fleurs d'*I. viscosa*. Tous les extraits se sont avérés ayant une activité antifongique significative contre les dermatophytes, même à de faibles concentrations (0,01 mg / ml). Les extraits de feuilles possèdent la plus grande efficacité antifongique. La forte concentration de la sesquiterpène (carboxydeusmadiene), survenant dans les extraits de feuilles, peut expliquer sa plus grande activité antifongique.

✚ En **2006**, **Tédjini** a fait une étude sur l'extraction des HE de l'inule visqueuse provenant de la région de Mascara. La plante a été cueillie à la fin du mois de mars. A cet effet deux procédés ont été utilisés :

- une extraction par entraînement à la vapeur d'eau (avec et sans cohobation).
- Une hydrodistillation.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV.1 :

Tableau IV.1: rendement des huiles essentielles obtenues par différents procédés d'extraction.

Le procédé d'extraction	Entraînement à la vapeur d'eau	hydrodistillation
Rendement (%)	1.727	0.491

Ces résultats montrent que l'entraînement à la vapeur d'eau est plus efficace par rapport à l'hydrodistillation car certains phénomènes physiques interviennent pour limiter le rendement de l'hydrodistillation.

✚ **Benhammou N. ; Atik Bekkara F** en **2006**, ont étudié le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse provenant de la région de Tlemcen.

Les résultats obtenus montrent que l'activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*Inula viscosa* est puissante, les pourcentages d'inhibition dépassent 50% dans toutes les souches, il varie entre 56, 75% dans le cas d'*aspergillus flavus* de référence (AFR) et 84,11% dans le cas de *Rhizopus stolonifer* à 200ml.

✚ En **2008** ; une étude clinique menée par l'entreprise israélienne « **Avisco Ltd** » sur les propriétés pharmacologiques de l'inule visqueuse a montré que ces extraits possèdent

plusieurs activités tels que : activité antifongique, antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire.

Une analyse chromatographique a permis d'identifier la composition chimique des HE d'inule visqueuse, les principaux composants obtenus sont les suivants : **35%** tomentosin et sesquiterpène, lactones, **13.5 %** bioflavanoids, **0.5%** caroténoïdes, des stérols, des stérols, des saponines et des acides gras.

✚ **Haoui I.E et al. en 2011**, ont fait une étude sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de l'inule visqueuse obtenue par deux méthodes d'extraction, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau en utilisant un appareil de type Clevenger pendant 4h. Les huiles ont été stockées à 4°C jusqu'à l'analyse par GC-MS. Les principaux composants obtenus par hydrodistillation étaient les suivants : 12-carboxyeudesma-3, 11 (13) diène (28,88%), l'acide linoléique (7,80%); l'acide palmitique (5,38%); butyl hydroxy toluène (4,11%) et fokienol (3,37%).

Les principaux composants obtenus par l'entraînement à la vapeur étaient les suivants: 12-carboxyeudesma-3, 11 (13) diène (56,81%), le 2,3-didehydrocortic acide (3,25%); butyl hydroxy toluène (2,63%) et pentacosane (2,31%).

Les résultats présentés dans cette étude sont les premières informations sur la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de l'inule visqueuse algérienne. Cette étude a montré que les sesquiterpènes oxygénés constituent la fraction la plus importante pour les deux méthodes d'extraction (de 46,7 à 72,98%). L'huile essentielle de cette plante peut être une bonne source de composés acides sesquiterpènes.

III. Les travaux sur les extraits de l'inule :

✚ Une étude est faite par **Bensegueni-Tounsi L.** en **2001** sur l'inule visqueuse et a montré que les extraits des particules aériennes de la plante ont mis en évidence les effets antifongiques et antibactériens.

✚ En **2001** une étude publiée par **Hernandez V. et al** a montré que inuviscolide, l'un des sesquiterpène lactones dans l'inule visqueuse agit en tant qu'agent anti-inflammatoire.

✚ **En 2006**, l'étude menée par **Zeggwagh et al.** a concerné les parties aériennes de l'inule visqueuse préparées selon la méthode traditionnelle employée au Maroc (décoction, 1g de plante entière en poudre mélangée à 100 ml d'eau distillée bouillie pendant 10 minutes et puis refroidie pendant 15 minutes). Cette étude a montré que l'inule visqueuse possède une activité hypoglycémique mais non hypolipidémique.

✚ Une étude publiée en **2008** par un groupe de scientifiques de l'université de Grenade appartenant au département de chimie organique et à l'institut de biotechnologie a montré que l'inule visqueuse permet d'obtenir des inhibiteurs de la vasodilatation neurogénique, ce qui pourrait constituer un grand pas dans le traitement contre la migraine et le cancer.

✚ En 2009, **Mahmoudi L. et Rougou N.** ont fait une étude sur l'activité antibactérienne des extraits de l'inule visqueuse. Les concrètes extraits par solvant (pentane, heptane, acétate d'éthyle, méthanol et l'éthanol), ont été récupérer et testés contre les bactéries BGN (bacilles à gram négatif) et les Cocci.

Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de révéler la présence d'une activité antibactérienne des différents extraits.

✚ En 2010, **Aoucher** a étudié le pouvoir antioxydant des extraits des feuilles de l'inule visqueuse d'Alger. Il a utilisé l'extraction par solvant acétone-eau à 75%.

L'étude de l'influence des paramètres tel granulométrie, température, hydromodule, a permis de déterminer le point optimal de rendement est maximal. Ce point est caractérisé par une température de 45°C, un diamètre des particules inférieur à 112 µm, et un hydromodule égal à 40ml/g.

Les résultats obtenus ont montré que l'activité antioxydante des extraits des feuilles de l'inule est puissante puisque celle-ci se situe entre l'activité de deux antioxydants utilisés dans l'industrie. Les pourcentages d'inhibition dépassent 90% pour des concentrations de 20mg/l comme le montre le tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par l'extrait de l'inule visqueuse, vitamine C et E, BHT et QUE

Concentration (µg/ml)	20	40	60
Extrait d'inule	93,6%	93,6%	92,0%
Vit E	79,8 %	82,9 %	83,5 %
Vit C	91,46 %	91,46 %	91,46 %
BHT	95 ,73%	96,75%	96,34%
QUE	59 ,14%	73,78%	81,70%

IV. Conclusion

Des nombreux travaux effectués sur les extraits et les huiles essentielles de l'inule visqueuse. Les activités et les propriétés de cette plante montrent son importance en médecine et en agriculture.

Chapitre V

MÉTHODE DE DOSAGE DES POLYPHÉNOLS

I. Introduction

Avant toute extraction, nous devons mettre au point une méthode de dosage des polyphénols.

La méthode de FOLIN-CIOCALTEU, simple et sensible, est utilisée pour doser les phénols totaux. Le principe de ce dosage est adapté par **Singleton** et **Ross** (en **1965**).

Le réactif de FOLIN CIOCALTEU est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Ghazi et al., 2005**).

N.B : Malgré la sensibilité et la simplicité de la méthode Folin, elle n'est cependant pas spécifique des polyphénols. En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide ascorbique et des composés soufrés (**Singleton et al., 1999**).

Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique dont la formule chimique est présentée dans la figure V.1

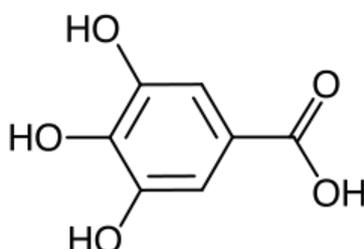


Figure V.1 : l'acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque)

II. Matériel et méthode

II.1 Méthode utilisée

La méthode utilisée est celle de FOLIN CIOCALTEU. Nous avons utilisé un domaine de concentration où la densité optique est inférieure à 0,5. C'est une méthode qui a l'avantage d'être économique quant à l'utilisation du réactif.

II.2. Réactifs utilisés

- Réactif de FOLIN CIOCALTEU
- Carbonate de soude Na_2CO_3 ($75g.L^{-1}$)

II.3. Mode opératoire

- Préparation des échantillons dilués de l'acide gallique
- Dilution du réactif de FOLIN CIOCALTEU (dix fois)
- Préparation de la solution Na_2CO_3 75g.L^{-1}

II.4. Mise en œuvre de dosage :

- L'acide gallique est dilué dans de l'eau distillée pour obtenir une absorbance finale inférieure à 0,5.
- Une gamme étalon est réalisée en milieu aqueux.

Pour réaliser le dosage, 2.5mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 0,5mL de l'échantillon, agiter et laisser 5minutes. On ajoute ensuite 2mL de Na_2CO_3 (75g.L^{-1}). Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités et incubés 10 min à température ambiante

On verse les solutions dans des tubes à essais puis on les met dans un bain marie (50°C) pendant 25 minutes, ensuite on refroidi les tubes dans la glace.

La lecture de l'absorbance à 760 nm se fait grâce à un spectrophotomètre.

II.5. Résultats et discussions

Dans un premier temps, la stabilité et l'intervalle de linéarité des solutions de l'acide gallique ont été évaluées et les résultats sont présentes sur le tableau V.1.

Dix solutions de l'acide gallique faites dans du l'eau distillée dans l'intervalle $1\text{-}20\mu\text{g.mL}^{-1}$ ont été testées. L'acide gallique a été utilisé à de faibles concentrations afin d'obtenir une variation linéaire de l'absorbance avec la concentration.

Tableau V.1 : Absorbance de solutions diluées de l'acide gallique.

Concentration de l'A.G. g.L^{-1}	Absorbance			Moyenne
	Lecture1	Lecture 2	Lecture 3	
0.001	0,018	0,018	0,019	0,018
0.0015	0,023	0,023	0,025	0,024
0.002	0,031	0,031	0,031	0,031
0.003	0,034	0,035	0,035	0,035
0.004	0,049	0,049	0,048	0,049
0.006	0,073	0,073	0,074	0,073
0.008	0,098	0,098	0,103	0,099
0.01	0,126	0,126	0,129	0,127
0.015	0,173	0,173	0,174	0,173
0.02	0,242	0,242	0,242	0,242

Les résultats obtenus dans un même tube sont très proches, ceux qui montrent que l'appareil est de bonne précision, (figure V.2)

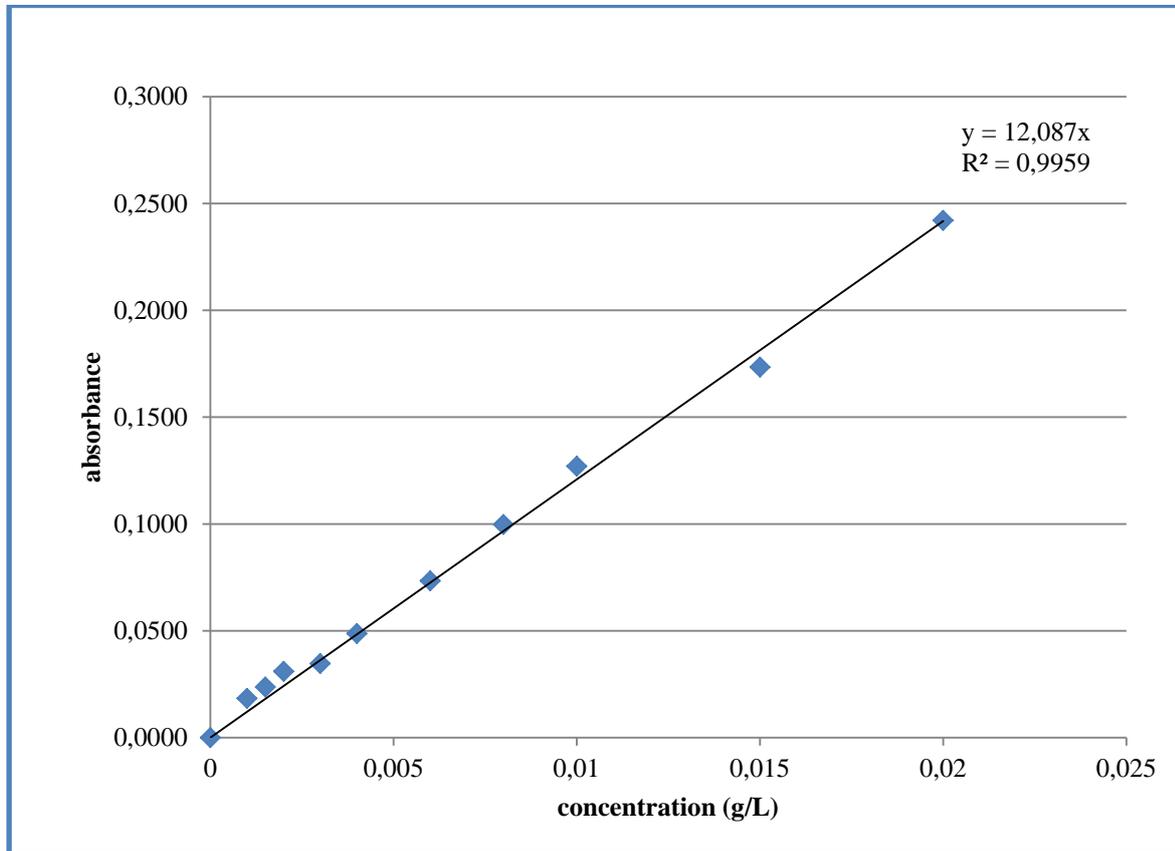


Figure V.2 : Courbe d'étalonnage d'absorbance en fonction de la concentration des solutions préparées

Une bonne linéarité concentration-absorbance est observée dans le domaine des faibles concentrations.

En utilisant cette courbe d'étalonnage ; nous pourrions déterminer par la suite les concentrations des extraits de l'inule visqueuse d'où la teneur en polyphénols.

Les résultats seront alors exprimés en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

Chapitre VI

EXTRACTION DES POLYPHÉNOLS DE L'INULE VISQUEUSE

I. Introduction

Pour récupérer les extraits d'une plante, plusieurs procédés sont utilisés. Dans notre travail nous avons choisi l'extraction par solvant. Notre choix s'est porté sur ce procédé en raison de la facilité de la mise en œuvre d'une part et en raison de la possibilité de tester les extraits recueillis d'autre part.

II. Détermination de taux d'humidité

Avant toute analyse, la mesure de l'humidité de la plante est nécessaire pour savoir la masse exacte de la matière végétale sèche utilisée.

Nous utilisons l'appareil de Dean Stark, il s'agit d'un montage de verrerie destiné à l'extraction de l'eau du milieu réactionnel (figure VI.1).

Il est utilisé en association avec un réfrigérant à eau et un chauffe-ballon afin d'éliminer l'eau par chauffage à reflux.

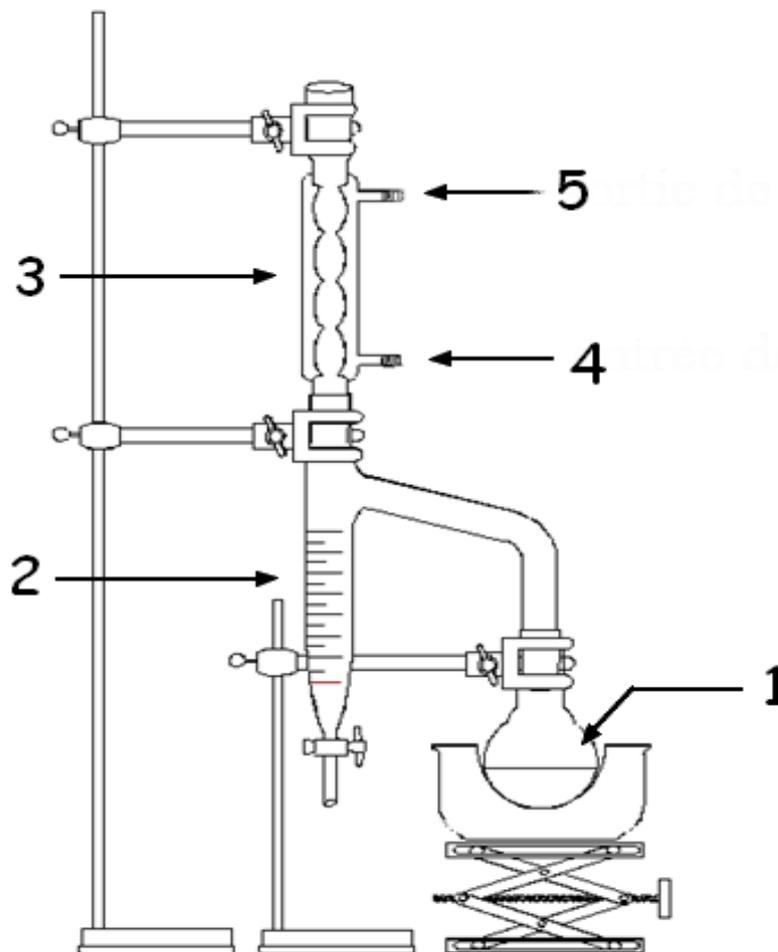


Figure VI.1 : montage de Dean Stark

1 : mélange matière végétale-solvant

2 : décanteur

3 : réfrigérant

4 : entrée de l'eau

5 : sortie de l'eau

Au cours du chauffage, des vapeurs contenant le solvant et l'espèce à extraire montent jusqu'au condenseur. Une fois liquéfiées, elles sont récupérées dans le cylindre gradué. A l'intérieur du cylindre les liquides non-miscibles se séparent en deux phases. La phase supérieure, moins dense, (xylène) coule dans le bras et retourne dans le ballon réacteur. La phase inférieure (eau) reste dans le cylindre gradué.

Après la séparation complète des phases, une lecture du volume d'eau contenue dans la matière végétale est réalisée.

Le calcul se fera ainsi : $H = \frac{V_{eau}}{M_{mv}} \times \rho_{eau}$

M_{mv} : la masse de la matière végétale mise dans le ballon.

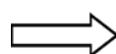
ρ_{eau} : la masse volumique de l'eau à la température ambiante.

Nous avons mis 5,8g de la matière végétale avec un solvant (xylène) dans le ballon, et comme la plante est peu humide nous avons ajouté quelques millilitres d'eau au décanteur avant le début de l'évaporation que nous allons les soustraire après.

Nous avons obtenu 0,7ml d'eau, la masse volumique de l'eau est égale à $0,9974\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ à la température ambiante (environ 22°C).

Donc $H = (0,7 \times 0,9974) / 5,8 = 0,12037$

Alors l'humidité de la matière végétale est de 12,037%

 La matière sèche représente environ **88%**

III. Extraction solide-liquide

L'extraction par solvant est un procédé de transfert de masse dans lequel la matière provenant d'une matrice initiale (matière végétale par exemple) est transportée dans une autre phase (solvant) dans le but de séparer une ou plusieurs composantes d'un mélange complexe.(Figure VI.2)

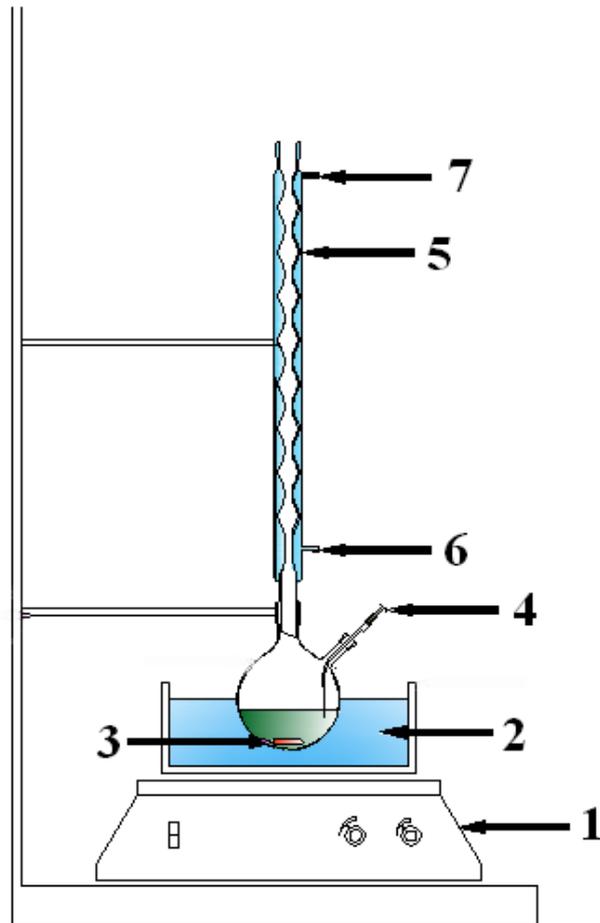


Figure VI.2: Montage d'extraction solide liquide

- 1 : plaque chauffante.
- 2 : bain marie.
- 3 : mélange matière végétale-solvant.
- 4 : seringue
- 5 : réfrigérant
- 6 : entrée d'eau de réfrigération.
- 7 : sortie d'eau de réfrigération.

III.1. Préparation de la plante

L'étape de préparation de la matière première est d'importance cruciale pour l'obtention d'un rendement optimal.

➤ La matière végétale utilisée

Les fleurs de l'inule visqueuse ont été cueillies durant la floraison en octobre 2011 dans la région de Skikda. Après séchage, la plante a subi un traitement préliminaire à savoir broyage, tamisage et séparation en fractions de différentes granulométries. L'échantillon obtenu (mélange fleurs-tiges) est formé de six classes de diamètres. Le tableau II.1 représente les différentes classes de l'échantillon avec leurs fractions.

Tableau VI.1 : Diamètre et fractions massiques de différentes classes d'échantillons à étudier

Classes	Diamètres (μm)	Pourcentage (%)
Classe 1	>500	21.22
Classe 2	500-250	15.84
Classe 3	250-224	16.12
Classe 4	224-160	5.95
Classe 5	160-112	30.34
Classe 6	<112	10.61

La plante étant constituée de fleurs et de tiges, nous avons réalisé un broyage d'une certaine masse des fleurs sans tiges afin de connaître la composition de chaque classe. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VI.2 :

Tableau VI.2 : Diamètre et fraction massique de différentes classes d'échantillon de fleurs.

Diamètre (μm)	Fraction (%)
> 500	7,61
500-250	14,41
250-224	10,56
224-160	5,52
160-112	29,99
<112	10,28

La classe granulométrique < 160 µm représente 40.95% pour le mélange et 40.27% pour les fleurs. Le premier échantillon donc constitué de 98% de fleurs.

III.2. Choix de solvant

Dans un procédé d'extraction par solvant, il est facile de concevoir que le choix d'un solvant d'extraction constitue une étape cruciale. Celui-ci doit répondre à diverses conditions comme par exemple : avoir une forte capacité d'extraction, une grande sélectivité pour le soluté choisi, une faible toxicité, etc... Nous avons choisi le mélange méthanol-eau comme solvant car :

- Le mélange méthanol-eau est un solvant polaire. Les composés extraits sont donc plus nombreux par rapport aux composés obtenus par un solvant apolaire (ceci a été démontré dans des travaux antérieurs).
- Le méthanol a une grande capacité de dissolution.

III.3. Protocole expérimental

L'extraction solide liquide consiste à extraire les polyphénols de la matière végétale en utilisant le mélange méthanol-eau comme solvant.

Les paramètres qui peuvent influencer sur l'extraction sont :

- 1- La fraction de méthanol dans le mélange eau-méthanol (pourcentage volumique)
- 2- La température.
- 3- L'hydromodule.

Nous allons déterminer la teneur en polyphénols grâce à la courbe d'étalonnage faite dans le chapitre I.

III.4. Le calcul de rendement

Le rendement est calculé par la relation suivante :

$$C = \frac{M_{ext}}{M_{mv}}$$

M_{ext} : la masse en [mg AGE] extraite (calculée à partir de la courbe d'étalonnage)

M_{mv} : masse de la matière végétale sèche en [g]

IV. Essais préliminaires

IV.1. La cinétique d'extraction

Avant toute extraction dans le cadre de cette étude nous avons effectué un essai pour l'étude de la cinétique afin de déterminer la durée de l'extraction pour laquelle le rendement est maximal.

Comme un point de départ des différents paramètres, nous avons pris l'optimum obtenu dans l'étude faite sur les feuilles de l'inule visqueuse par AOUCHER (2010) (T=45°C, H=40ml.g⁻¹, mélange eau-méthanol 75% en volume, granulométrie : diamètre <112µm)

L'essai : Nous avons pris 2.5g de la matière végétale dans un ballon et nous avons ajouté 100ml de solvant (méthanol-eau 75%). La température de bain marie est fixée à 45°C et l'agitation est maximale grâce à un barreau aimanté pour diminuer l'épaisseur de la couche limite.

Nous prélevons à l'aide d'une seringue 1ml de la solution dans des différents intervalles du temps. Ces prélèvements sont filtrés avec du papier whatman. Après filtration les extraits sont dilués en prenant 1ml dans une fiole de 200ml et nous ajustons le volume (diluer 200 fois).

Nous dosons après notre échantillon de la même façon que l'acide gallique.

Calcul des concentrations de l'échantillon analysé : $C_1 = \text{abs}/12,087 \text{ g.l}^{-1}$

(12,087 : la pente de la droite de la courbe d'étalonnage).

Concentration de l'extrait : $C_2 = C_1 \times 200 \text{ g.l}^{-1} \text{ (g/1000ml)}$.

Masse extraite : $M_{\text{ext}} = C_2 \times (V_1 = 100) \text{ g}$.

La concentration des polyphénols: $C_{\text{polyphénols}} = (C_2 / (2,5 \times 0,88)) \times 100 \text{ (mg AGE/g MS)}$.

➤ Conditions opératoires :

Région	SKIKDA
Taux d'humidité	12%
Masse de la matière végétale	2,5g
Volume de solvant	100ml
Pression	Atmosphérique

Les résultats sont donnés dans le tableau VI.3.

Tableau VI.3 : Evolution de la concentration des polyphénols en fonction du temps

Le temps (min)	Absorbance					C polyphénols (mg AGE/g MS)
	Lecture 1	Lecture 2	Lecture 3	Lecture 4	Moyenne	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,089	0,089	0,096	0,091	0,091	68,631
15	0,092	0,092	0,092	0,095	0,093	69,759
20	0,092	0,096	0,096	0,094	0,095	71,076
25	0,093	0,099	0,102	0,103	0,099	74,648
30	0,100	0,101	0,102	0,102	0,101	76,152
40	0,094	0,094	0,095	0,095	0,095	71,076
60	0,094	0,095	0,095	0,095	0,095	71,264
90	0,096	0,095	0,096	0,096	0,096	72,016
120	0,098	0,099	0,098	0,098	0,098	73,896

L'exploitation de ces résultats par EXDIF, qui est un logiciel de traitement des phénomènes de transfert de matière dans un solide donne les résultats dans la figure VI.3 :

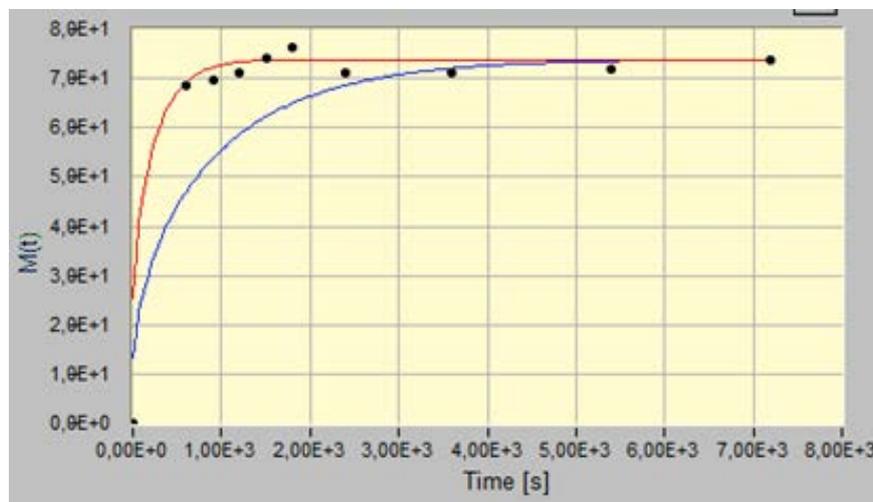


Figure VI.3 : Calcul du coefficient de diffusion par le logiciel EXDIF (T=45°C ; H=40mL).

Nous remarquons qu'il n'y a pas une bonne concordance entre points expérimentaux et points calculés dans la courbe bleue. Par contre dans la courbe rouge, qui est une courbe moyenne passe par quelques points expérimentale.

Pour cela nous allons émettre l'hypothèse que la courbe cinétique est celle de couleur rouge.

L'équation du calcul

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} e^{-\frac{D n^2 \pi^2 t}{r^2}}$$

Cette équation, est une solution de l'équation différentielle d'un bilan de matière de transfère externe dans le solide.

Avec :

M_t : est la quantité récupérée à l'instant t.

M_∞ : la quantité à un temps infini (maximale, nous l'avons prise égale à **73,896 mg GAE/g MS**).

D : est le coefficient de diffusion.

r : le rayon de la sphère.

t : le temps.

Le profil cinétique obtenu révèle une vitesse d'extraction élevée dès le début à tel point que le rendement atteint les **68mg AGE/g MS** à 10 minutes de contact solide-liquide.

À 25 minutes, le rendement augmente de **6 mg AGE/g MS** (par rapport à la dixième minute), à partir de ce moment, la vitesse devient très lente voir constante. C'est pour cela nous avons pris 30 minutes de temps d'extraction des polyphénols par le mélange méthanol-eau.

N.B : l'étude de la cinétique nous a permis de dire que le méthanol est un très bon solvant pour extraire les polyphénols de la matière végétale dans un temps limité.

Le logiciel EXDIF a permis de déterminer le coefficient de diffusion des polyphénols dans le solide égale à :

$$2,18 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$

- Par la suite, une série d'extractions a été effectuée pour évaluer l'influence de chaque paramètre et le point optimal.

IV.2. Influence de la granulométrie

L'inule visqueuse étant constituée de six classes de diamètre, Il était intéressant de faire une étude d'influence du diamètre sur le rendement des polyphénols.

Pour cela, les extractions ont été effectuées dans les conditions opératoires optimales d'un travail déjà fait par AOUCHER (2010) (T=45°C, H=40ml.g⁻¹, fraction solvant méthanol-eau 75%) pour les différentes classes de diamètre.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VI.4 et dans la figure VI.4

Tableau VI.4 : Influence de la granulométrie sur la concentration des polyphénols

Diamètre (µm)	Absorbance					C. polyphénols (mg GAE/g MS)
	Lecture 1	Lecture 2	Lecture 3	Lecture 4	Moyenne	
<112	0.099	0.098	0.098	0.098	0,098	73,900
112-160	0.096	0.098	0.098	0.098	0,098	73,330
160-224	0.090	0.088	0.087	0.089	0,089	66,560
224-250	0.054	0.052	0.053	0.055	0,054	40,240
250-500	0.059	0.060	0.060	0.058	0,059	44,560
>500	0.059	0.056	0.056	0.057	0,057	43,170

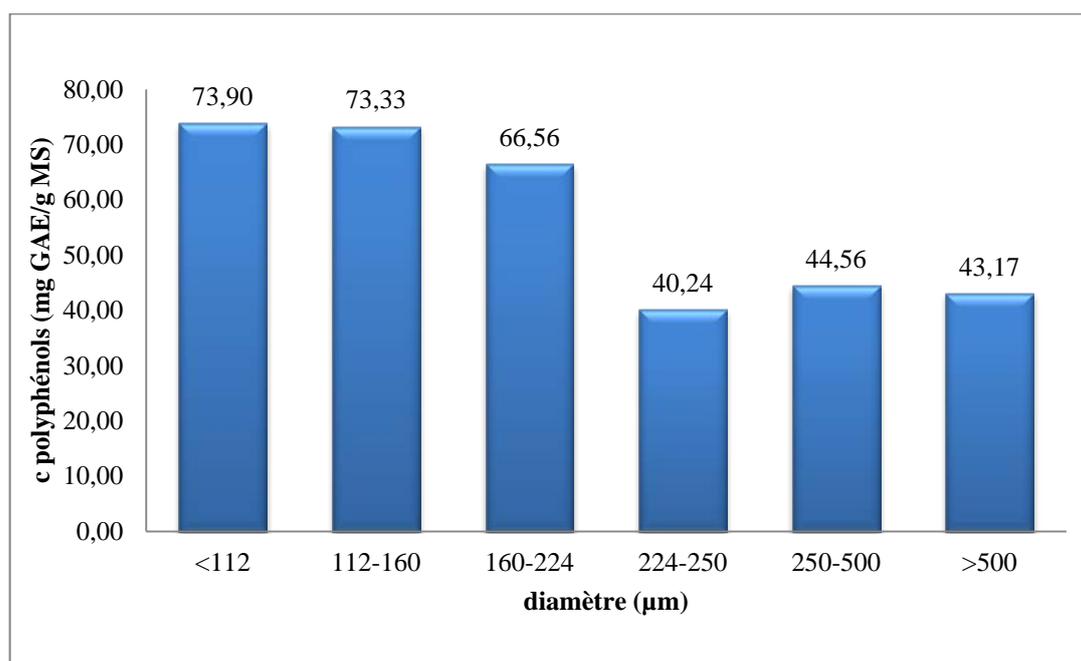


Figure VI.4 : Influence de la granulométrie sur la concentration des polyphénols

Les résultats obtenus montre que les particules de diamètre <160µm donnent le meilleur rendement en polyphénols.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par AOUCHER et d'autres auteurs. Le rendement augmente lorsque le diamètre des particules diminue, cela est dû au fait que la surface d'échange est plus grande lorsque les particules sont petites.

Dans la série des extractions ce sont les particules de diamètre inférieur à 160 μm qui seront utilisées.

IV.3. Influence du solvant

La composition du solvant influe sur le rendement des polyphénols. A cette fin une étude a été faite en changeant la fraction de méthanol dans le mélange méthanol-eau, et le rendement des polyphénols obtenus a été calculé.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VI.5 et La figure

Tableau VI.5 : Influence du solvant sur la concentration des polyphénols

Fraction du solvant MeOH-eau	Absorbance					C. polyphénols (mg GAE/g MS)
	Lecture1	Lecture 2	Lecture 3	Lecture 4	Moyenne	
0,4	0,101	0,102	0,102	0,101	0,102	76,340
0,5	0,107	0,106	0,107	0,106	0,107	80,100
0,6	0,111	0,111	0,1101	0,11	0,111	83,110
0,65	0,115	0,111	0,112	0,112	0,113	84,610
0,7	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	86,490
0,75	0,105	0,106	0,105	0,104	0,105	78,970
0,8	0,095	0,095	0,095	0,095	0,095	71,450
1	0,084	0,083	0,083	0,083	0,083	62,610

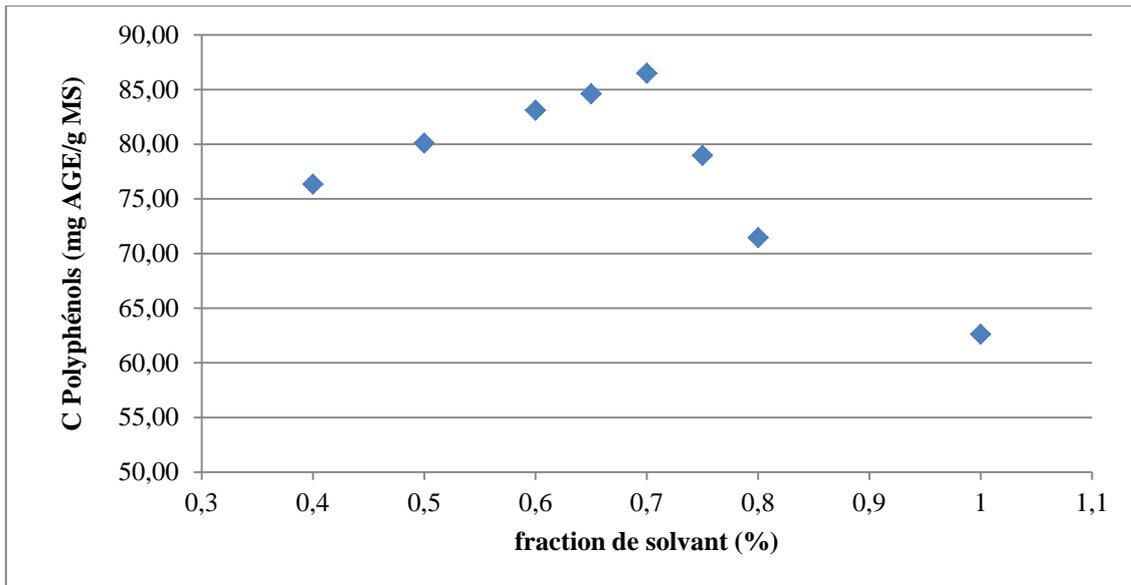


Figure VI.5 : Influence de solvant sur la concentration des polyphénols

Cette étude montre que le point optimal correspond au point 70% de méthanol dans le mélange méthanol-eau et où la teneur en polyphénols obtenue a une valeur maximale.

IV.4. Influence de l'hydromodule

Nous allons déterminer le taux de solvant qui optimise le rendement en polyphénols en changeant l'hydromodule et fixant les autres paramètres ($T=45^{\circ}\text{C}$, fraction de solvant méthanol-eau 70% en volume, diamètres des particules $<160\ \mu\text{m}$).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VI.6 et la figure VI.6

Tableau VI.6 : Influence de l'hydromodule sur la concentration des polyphénols

H (ml/g)	Absorbance					C. Polyphénols (mg AGE/g MS)
	Lecture 1	Lecture 2	Lecture 3	Lecture 4	Moyenne	
20	0,175	0,174	0,174	0,174	0,17425	65,529
30	0,126	0,128	0,128	0,129	0,12775	72,063
40	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	86,494
50	0,095	0,094	0,095	0,095	0,09225	89,080
60	0,079	0,08	0,079	0,079	0,078	89,127

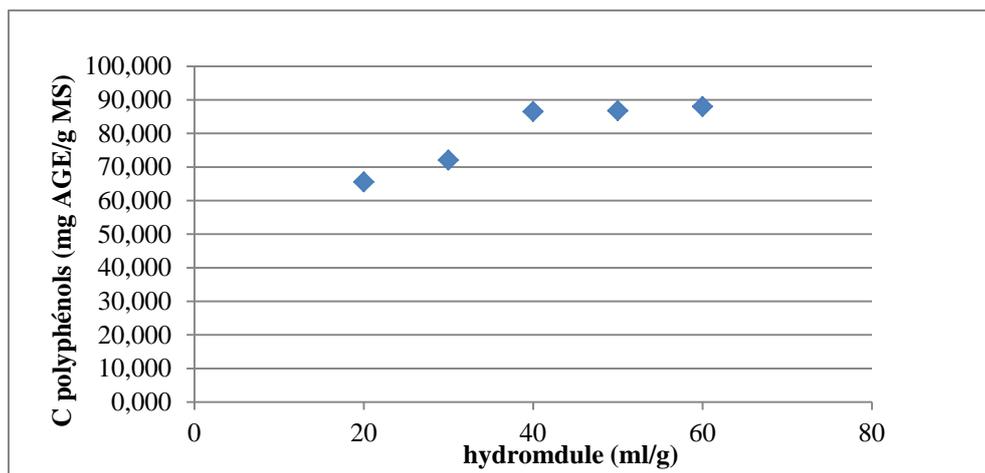


Figure VI.6: L'influence de l'hydromodule sur la concentration des polyphénols

A partir de $H=40\text{ml/g}$ le rendement devient presque constant. Donc nous pouvons travailler avec $H=40\text{ml/g}$.

IV.5. Influence de la température

La température influe sur le rendement de l'extraction. Le transfert de matière n'augmente de façon considérable avec les variations de température. Une température élevée peut influencer négativement sur le rendement à cause de la dégradation de l'extrait.

Pour cette raison, une étude de l'influence de la température sur le rendement en polyphénols est nécessaire.

En fixant l'hydromodule à $H=40\text{ml/g}$ et fraction de solvant à 70% en méthanol

Les résultats sont représentés dans le tableau VI.7

Tableau VI.7: Influence de la température sur la concentration des polyphénols

Température (°C)	Absorbance					C. Polyphénols (mg AGE/g MS)
	Lecture 1	Lecture 2	Lecture 3	Lecture 4	Moyenne	
30	0,099	0,099	0,098	0,099	0,099	74,272
35	0,102	0,101	0,102	0,102	0,102	76,529
40	0,105	0,102	0,103	0,103	0,103	77,657
45	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	86,494
50	0,108	0,106	0,107	0,109	0,108	80,853

La variation de la teneur en polyphénols en fonction de la température est représentée dans la figure VI.7.

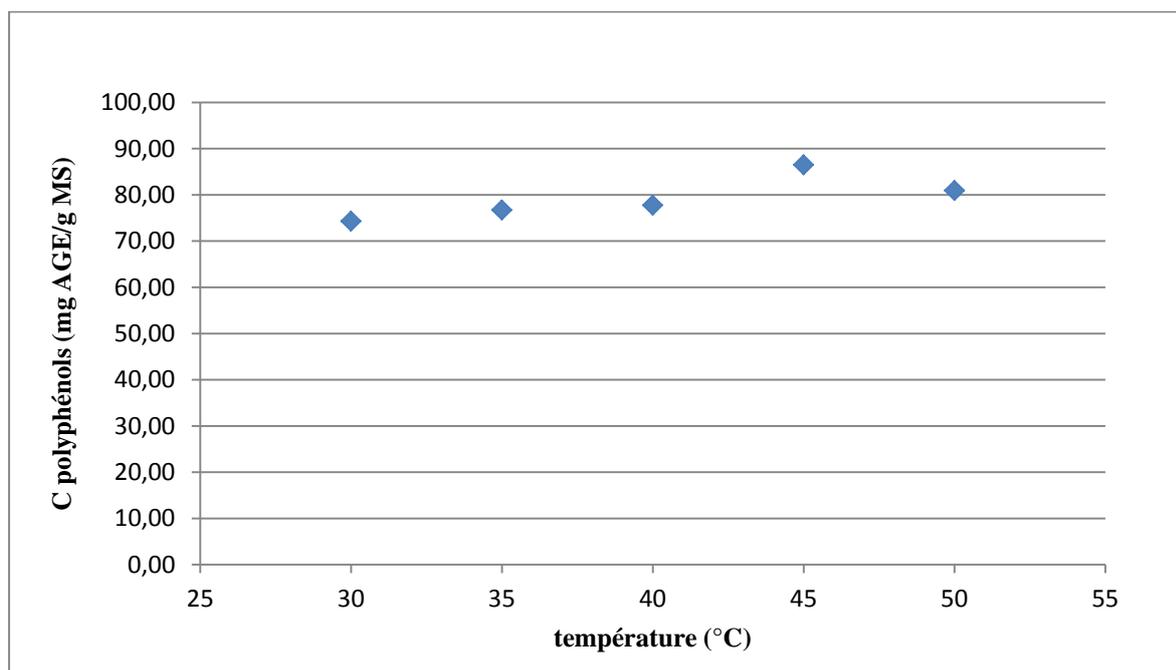


Figure VI.7: Influence de la température sur la concentration des polyphénols

La teneur en polyphénols varie peu à température inférieure à 40°C. Toutefois un optimum est observé à la température de 45°C, cela confirme les résultats trouvés par AOUCHER.

V. Inule visqueuse d'ALGER

Nous avons fait une extraction au point optimal ($T=45^{\circ}\text{C}$, $H=40\text{ml/g}$ et solvant méthanol-eau de 70%) à des fleurs d'inule cueillies dans la région de SIDI REZINE (sud d'Alger) en octobre 2011.

Nous avons dosé l'extrait obtenu de la même façon que celle de SKIKDA.

La concentration de l'extrait était de **1,845mg/ml**

Et la concentration des polyphénols calculée est de **81,998 mg AGE/g MS**

Remarque :

La plante de SKIKDA contient plus de polyphénols que celles d'ALGER.

La concentration des polyphénols de la plante de SKIKDA a été trouvée de 97,024 mg AGE/g MS

VI. Conclusion

Le dosage de FOLIN CIOCALTEU n'est pas quantitatif, il permet d'évaluer les concentrations des polyphénols en équivalent d'acide gallique.

Bien que la méthode de dosage de FOLIN CIOCALTEU soit considérée comme une méthode simple et sensible, les rendements trouvés sont considérés comme un peu plus élevés. Cela peut être expliqué par le fait que le réactif de FOLIN CIOCALTEU peut réagir avec d'autres composés (protéines, acide ascorbique, des composés soufrés...).

Chapitre VII

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS

I. Introduction

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter); ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**Tabart et al., 2009**).

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• est recommandé pour des composés contenant SH-, NH- et OH- groupes. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles en provenance de thé vert, des jus de fruits et de raisins, pépins et pulpes, très riches en composés phénoliques (**Hatzidimitriou et al., 2007**).

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antioxydante des extraits et des huiles essentielles des fleurs de l'inule visqueuse.

II. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

La mesure de l'activité antioxydante a été testée selon la méthode de **Blois** (1958) telle qu'elle a été décrite par **Brand-Williams et al.** (1995) avec quelques modifications.

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (diphényl picryl hydrazyl) en solution dans le méthanol.

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure VII.1). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire.

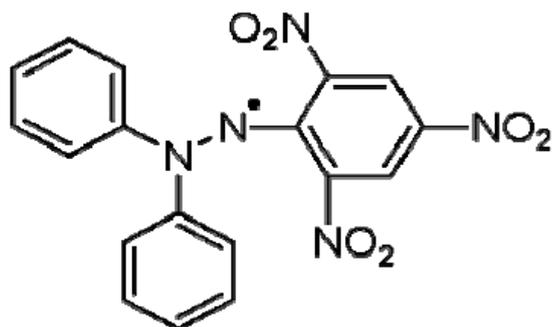


Figure VII.1 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhényle-1-Picryl-Hydrazyle)

L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à une décoloration de ce dernier (figure VII.2) qui est directement proportionnelle à la capacité antioxydante du produit ajouté. Cette décoloration peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à **517 nm**. Elle fournit donc un moyen pratique de mesurer l'activité antioxydante des extraits.

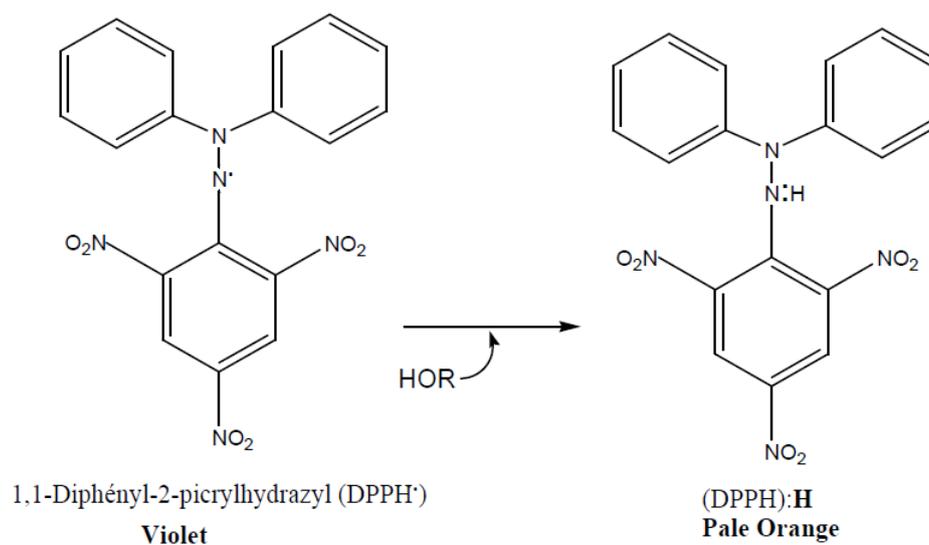
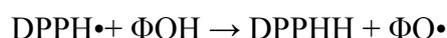
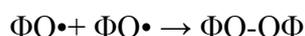


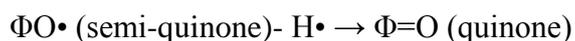
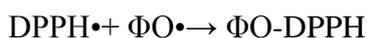
Figure VII.2 : Réduction du radical DPPH•

Dans le cas des composés phénoliques (Φ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPH (**Molyneux et al., 2004**).



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus ou moins stables :





Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH• et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction.

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme le BHT (butyl-hydroxy-toluène) et l'acide ascorbique.

III. Matériel et méthode

III.1 Méthode utilisée

L'activité de piégeage des radicaux libres des extraits d'inule visqueuse est décrite selon Blois (1958) avec quelques modifications :

III.2. Les réactifs utilisés

- DPPH (diphényl picryl hydrazyl)
- Méthanol (pureté >97%)

III.3. Le mode opératoire

La solution de DPPH• à 0,1mM (39,4 mg dans 100 ml de méthanol) est préparée à l'avance (au moins 1-2 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité.

Tableau VII.1: Protocole expérimental (test de DPPH)

	DPPH	Echantillon	MeOH
Blanc	1ml	0	3ml
Echantillon	1ml	3ml	0
Incubation pendant 30 minutes à l'obscurité (à température ambiante)			
La mesure est effectuée par la lecture de l'absorbance à 517 nm			

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\%I = [(A_C - A_{\text{échantillon}}) / A_C] * 100$$

A_C : Absorbance du blanc.

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'échantillon.

- ❖ Avant toute mesure, nous devons connaître les concentrations exactes de nos extraits. Pour cela, nous avons refait le dosage des extraits après quinze jours de stockage (essai 2).

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VII.2 et la figure VII.3

Tableau VII.2: Concentrations des extraits en fonction des fractions de solvant

fraction de solvant	Concentration de l'extrait (mg/l) ESSAI 1	Concentration de l'extrait (mg/l) ESSAI 2
0,4	1,679	1,994
0,5	1,762	2,010
0,6	1,828	2,072
0,7	1,903	2,130
0,75	1,737	1,903
0,8	1,572	1,766
1	1,378	1,493

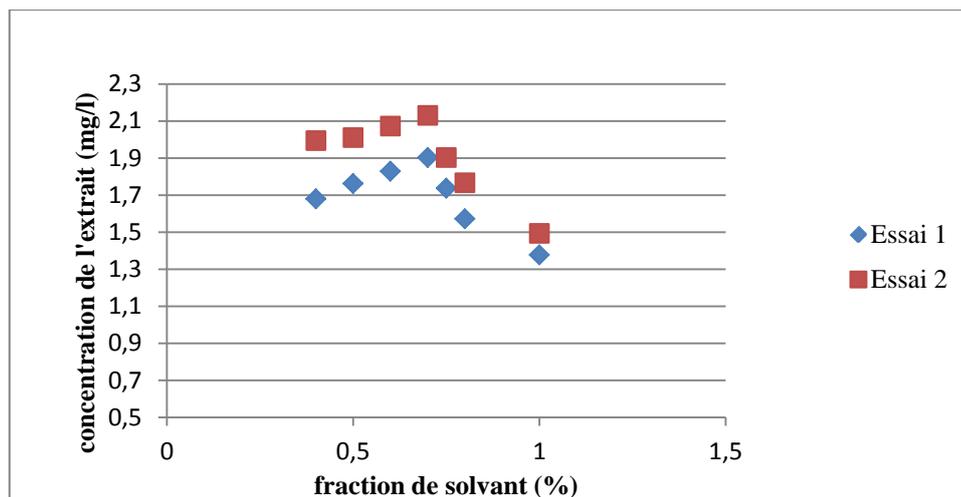


Figure VII.3 : Concentrations des extraits en fonction de fraction de solvant

Ces résultats montrent que les concentrations changent (augmentent) avec le temps. Cela est dû de fait que le méthanol est un produit volatil d'où il s'évapore ce qui permet à la solution de devenir plus concentrée.

IV. L'étude de l'influence de solvant sur l'activité antioxydante :

Nous avons effectué des mesures de pourcentage d'inhibition pour chaque solution de fraction de méthanol dans le mélange méthanol-eau. Les résultats obtenus sont données dans le tableau VII.3 et la figure VII.4

Tableau VII.3: Absorbance et pourcentage d'inhibition des différents extraits d'inule visqueuse

Teneur en meth (%) C _{Poly} [mgAGE/g MS]	A	40	A	50	A	60	A	70	A	80	A	100
2	0,217	40,17	0.243	33,01	0.185	48,97	0.155	57,50	0.239	34,11	0.187	31,69
10	0,041	88,58	0.040	88,86	0.040	88,86	0.032	91,33	0.033	90,78	0.030	88,89
20	0,039	89,27	0.038	89,41	0.038	89,55	0.027	92,57	0.026	92,71	0.025	90,71
40	0.038	89,55	0.035	90,37	0.033	90,78	0.023	93,67	0.025	93,12	0.021	92,17
60	0.033	90,78	0.029	91,88	0.028	92,30	0.020	94,50	0.021	94,22	0.021	92,35

Absorbance du Blanc de 100% : **A = 0,275**

Absorbance du Blanc de reste : **A = 0,333**

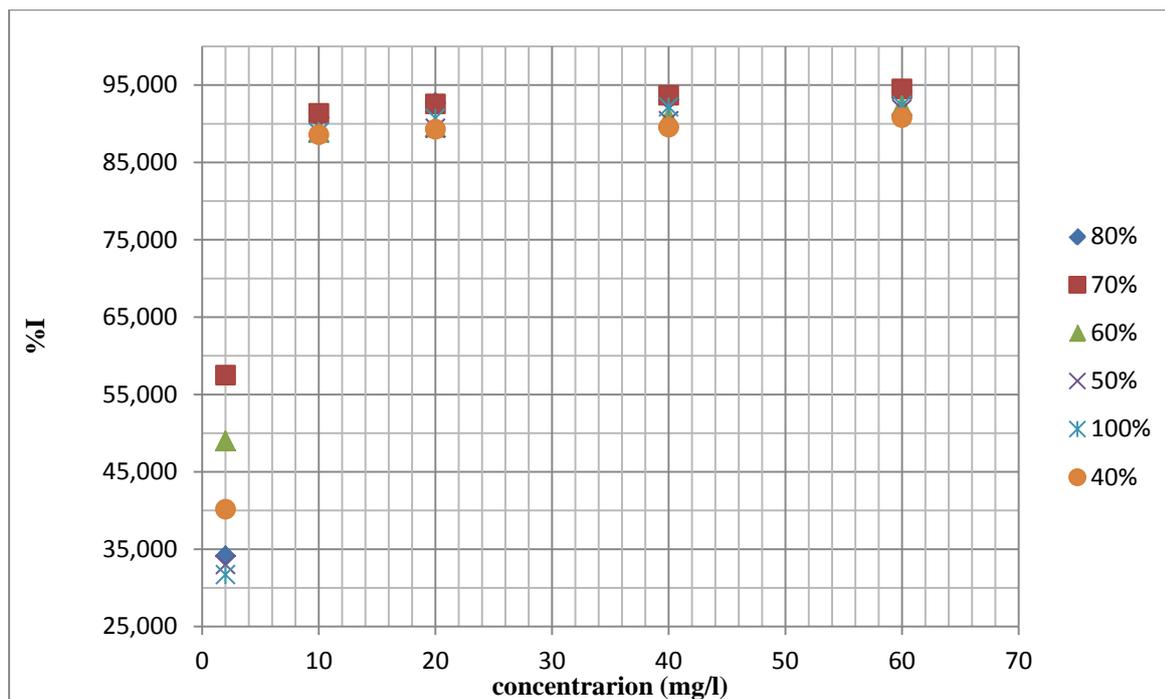


Figure VII.4: Pourcentage d'inhibition des différents extraits d'inule visqueuse.

Des profils très identiques sont observés à des concentrations élevées, quel que soit la fraction de méthanol utilisée : plateau atteint vers 90 % d'inhibition de DPPH pour 20 mg/l maximum.

On peut conclure que l'activité antioxydante augmente avec la teneur en composés phénoliques, jusqu'à atteindre un plateau.

Par contre, il y a des différences significatives dans la réduction de DPPH dans le cas des solutions à plus faibles concentrations ce qui est expliqué par une réduction partielle de DPPH.

Les LC50 des différents extraits sont donnés dans le tableau VII.4

N.B : la LC50 est la concentration de l'extrait qui réduit 50% de DPPH.

Tableau VII.4 : les LC50 des différents extraits d'inule

Teneur en MeOH(%)	100	80	70	60	50	40
LC50 (µg/ml)	4,27	3,893	1,049	1,985	4,184	3,252

✓ La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa LC50 est petite.

Donc, à partir de ces résultats, l'activité antioxydante la plus élevée est celle de l'extrait à 70% de méthanol dans le mélange méthanol-eau (c'est-à-dire l'extrait au point optimal).

❖ En parallèle, on fait des solutions de référence de BHT et d'acide ascorbique. On prépare des solutions mères de concentration 0,1mg/ml.

Des solutions de différentes concentrations sont préparées et testées de la même manière que les extraits.

1. BHT :

Les résultats obtenus de BHT sont donnés dans le tableau VII.4 et la figure VII.5

Tableau VII.4 : Variation de l'activité antioxydante de BHT avec la concentration

Concentration de BHT ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance			% I
	Lecture 1	Lecture 2	moyenne	
2	0,152	0,148	0,15	46,81
10	0,137	0,127	0,132	53,19
20	0,13	0,118	0,124	56,03
30	0,087	0,082	0,0845	70,03
50	0,084	0,077	0,0805	71,45
60	0,076	0,073	0,0745	73,58

Avec $A_c = 0,282$

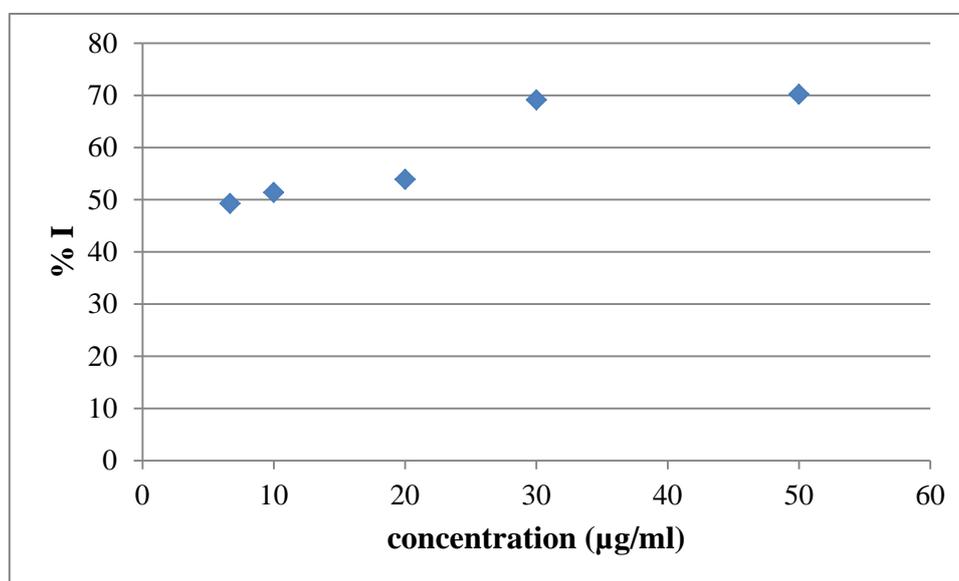


Figure VII.5 : Variation de l'activité antioxydante de BHT avec la concentration

Ces résultats montrent que le BHT ne présente pas une grande activité antioxydante ce qui n'est pas d'accord avec les résultats obtenus dans la plus part des travaux ou le BHT a des pourcentages d'inhibition élevés

Cela est dû probablement à la pureté de ce produit.

La concentration de BHT qui réduit 50% de DPPH est de 5,838 mg/l

$$LC_{50}(\text{BHT})=5.83 \mu\text{g/ml}$$

2. L'acide ascorbique :

Et pour l'acide ascorbique, les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VII.5 et la figure VII.6

Tableau VII.5: Variation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique en fonction de la concentration

Concentration de l'acide ascorbique ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance	%I
2	0,182	21,212
10	0,025	89,177
20	0,025	89,177
40	0,02	91,342
60	0,015	93,506
100	0,015	93,506

Avec Acontrol négatif = 0,231

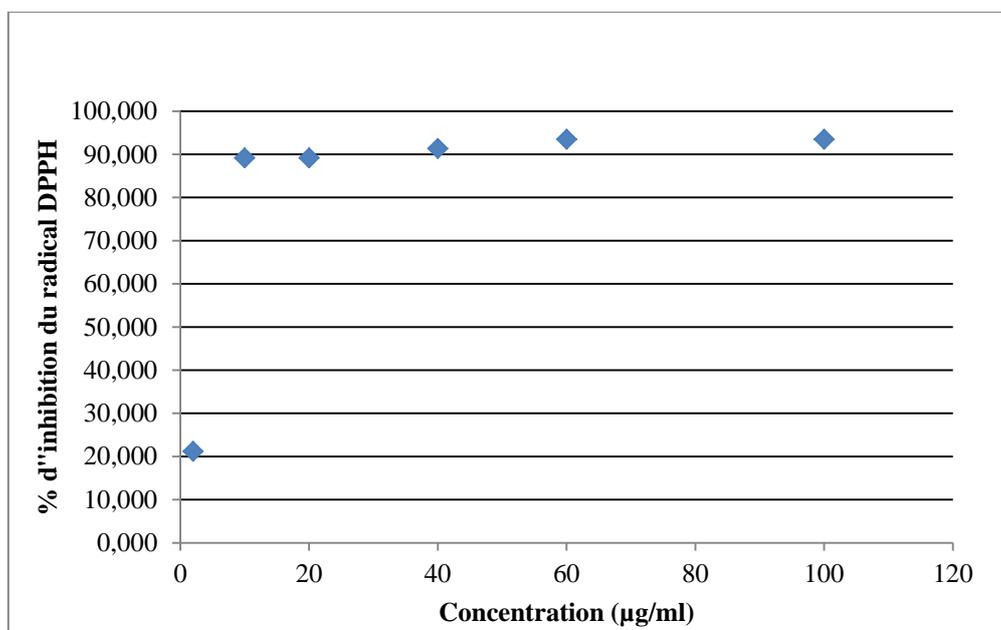


Figure VII.6: Variation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique avec la concentration

L'acide ascorbique possède une activité élevée que celle de BHT

La concentration de l'acide ascorbique à 50% d'inhibition de la DPPH est de 4,4 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{LC}_{50} (\text{A.A.}) = 4,4 \mu\text{g/ml}$$

V. L'activité antioxydante des extraits d'inule visqueuse

Nous avons pris l'extrait au point optimal (70% de méthanol) et nous l'avons testé de la même manière que le BHT. Les résultats obtenus de % d'inhibition en fonction de concentration sont montrés dans le tableau VII.3 et la figure VII.4

Ces résultats indiquent que l'extrait a un effet notable sur les radicaux libres.

VI. Comparaison des résultats

Nous allons comparer les pourcentages d'inhibition du radical DPPH de l'extrait d'inule (tableau VII.3), l'acide ascorbique (tableau VII.6) et le BHT (tableau VII.5).

Les résultats sont représentés dans la figure VII.7

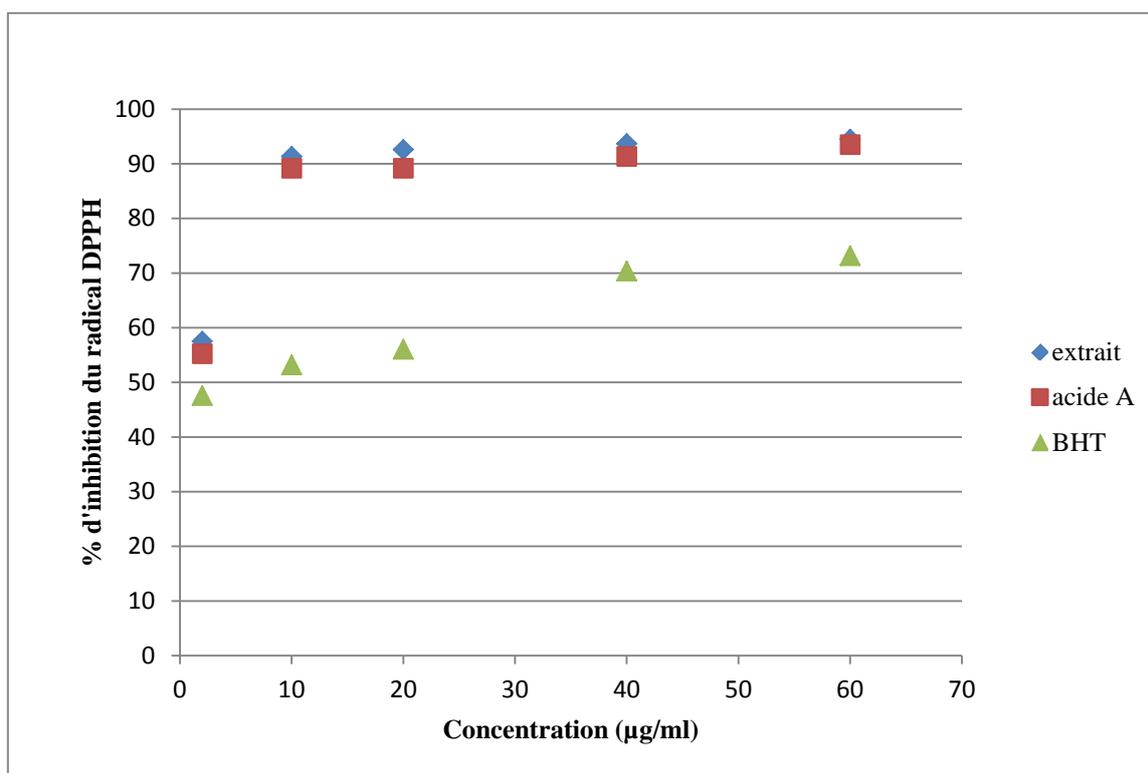


Figure VII.7 : Pourcentage d'inhibition de radical DPPH de l'extrait d'inule, l'acide ascorbique et le BHT

A partir de ces résultats, le pouvoir antioxydant est enregistré comme suit :

Extrait d'inule > l'acide ascorbique > BHT

Les concentrations des différents échantillons à 50% d'inhibition sont données dans le tableau VII.7

Tableau VII.7 : les LC50 des différents échantillons

L'échantillon	Extrait de l'inule visqueuse	BHT	Acide ascorbique
LC50 (µg/ml)	1,049	5,838	4,400

Les résultats des LC50 confirment que l'extrait de l'inule visqueuse de SKIKDA présente une activité antioxydante supérieure à celle des composés industriels testés (BHT et Acide ascorbique).

VII. L'inule visqueuse d'ALGER

L'activité antioxydante de l'extrait de l'inule visqueuse d'ALGER est évaluée de la même manière que l'extrait de SKIKDA. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VII.9 et la figure VII.9

Tableau VII.9 : Variation de % d'inhibition avec la concentration de l'extrait de l'inule visqueuse d'ALGER.

Concentration de l'extrait (µg/ml)	Absorbance	% I
2	0,135	41,558
10	0,041	82,251
20	0,034	85,281
40	0,026	88,745
60	0,02	91,342
100	0,018	92,208

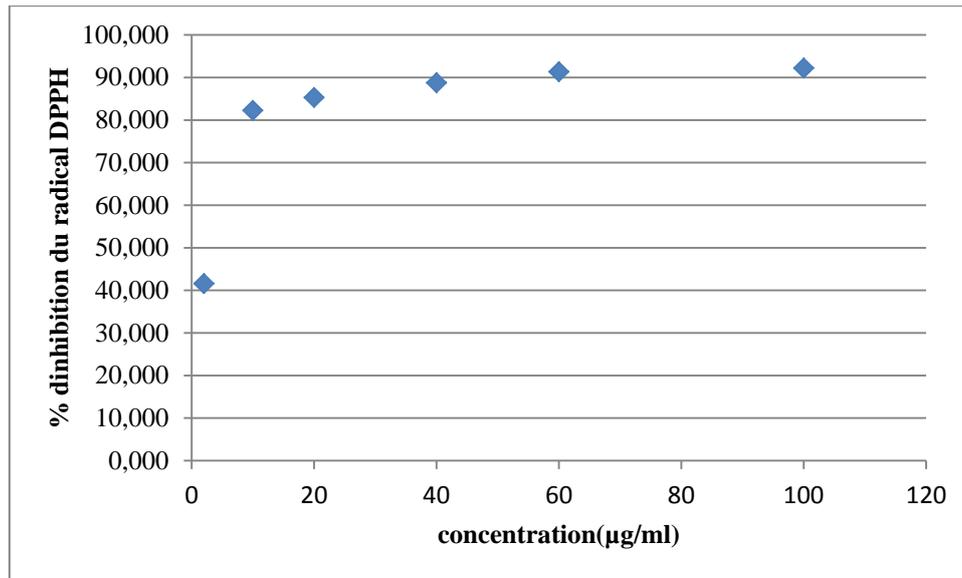


Figure VII.9 : Variation de % d'inhibition du radical DPPH avec la concentration de l'extrait de l'inule visqueuse d'ALGER.

Comparons ces résultats avec celle de l'inule visqueuse de SKIKDA :

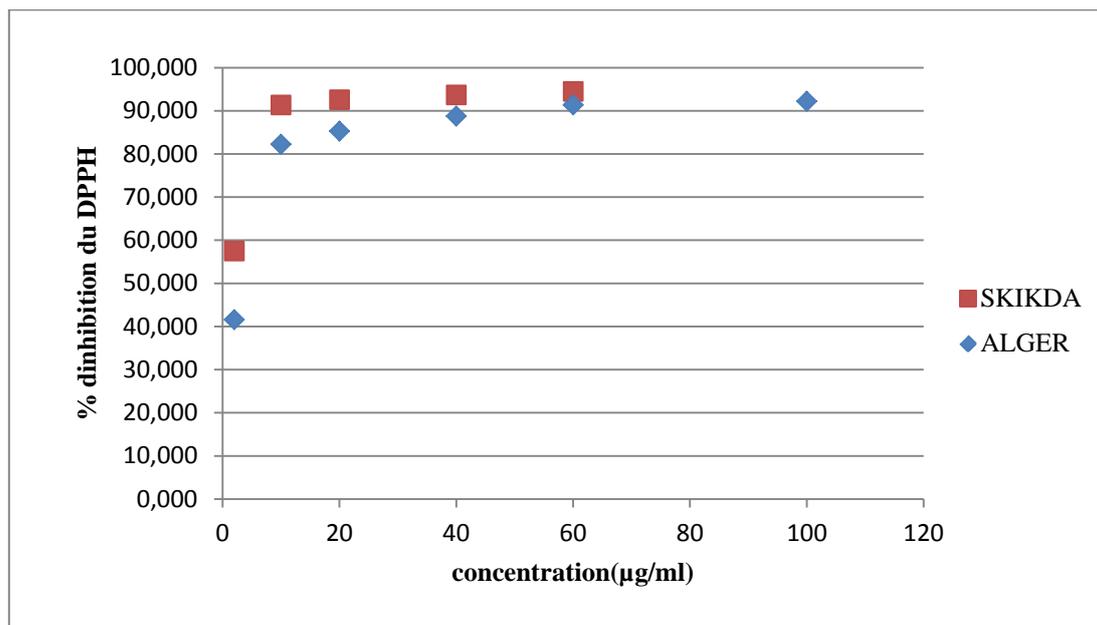


Figure VII.10 : Comparaison de l'évolution de % d'inhibition de DPPH des deux plantes.

Les concentrations des extraits à 50% de réduction de DPPH sont de **2,810 µg/ml** et **1,049 µg/ml** pour les plantes d'ALGER et de SKIKDA successivement.

Nous pouvons dire que l'inule visqueuse de SKIKDA possède une activité antioxydante plus élevée que celle d'ALGER.

VIII. Activité antioxydante des fleurs et des feuilles d'inule visqueuse

Après avoir évalué l'activité antioxydante des fleurs de la plante d'ALGER, nous allons les comparer à celle des feuilles déterminées par AOUCHER (2010).

Il faut signaler que les polyphénols des feuilles sont extraits par un solvant acétone-eau, tandis que les polyphénols des fleurs sont extraits par le mélange méthanol-eau. Le tableau VII.9 donne la comparaison entre ces fleurs et ces feuilles.

Tableau VII.9 : Comparaison de l'activité antioxydante des fleurs et des feuilles d'inule visqueuse d'ALGER

[Concentration] ($\mu\text{g/ml}$)	20	40	60
Feuilles (acetone-eau)	93,6	93,6	92
Fleurs (methanol-eau)	85,28	88,74	91,342

Ces résultats montrent que les feuilles ont une activité antioxydante un peu plus élevée à celle des fleurs.

IX. Conclusion

Le test au DPPH n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH et d'apprécier ainsi les variations qualitatives des composés phénoliques.

L'évaluation de l'activité antioxydante doit être interprétée avec précaution du fait de l'absorbance du DPPH• à 517nm diminue sous l'action de la lumière, de l'oxygène, et la fraction du solvant additionne à l'antioxydant.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'inule visqueuse, sujet de notre expérimentation, a une réputation certaine dans la médecine populaire. Le but de notre travail était de confirmer une des activités de cette plante, en mesurant la teneur de ses extraits en polyphénols et les pourcentages d'inhibition du radical DPPH. Une étude bibliographique réalisée a montré l'aspect pharmacologique de cette espèce étudiée, ainsi que l'intérêt des composés phénoliques chez les végétaux et les humains.

Dans la première partie de ce travail, nous avons effectué le dosage des polyphénols en choisissant la méthode utilisée dans des travaux antérieurs pour déterminer la teneur en polyphénols des extraits des plantes. Avant de commencer la série d'extraction solide-liquide, nous avons déterminé le taux d'humidité de notre plante pour connaître la masse exacte de la matière végétale sèche utilisée.

Pour les conditions opératoires d'extraction solide liquide, nous avons pris l'optimum obtenu dans l'étude faite sur les feuilles de l'inule visqueuse par AOUCHER (2010) comme point de départ ($T=45^{\circ}\text{C}$, $H=40\text{ml.g}^{-1}$, mélange acétone-eau 75% en volume, granulométrie : diamètre $<112\mu\text{m}$).

Un broyage des fleurs de la plante a été fait, puis une étude d'influence de la granulométrie sur le rendement a montré que le meilleur rendement est obtenu avec des particules de diamètre inférieur à $116\mu\text{m}$.

L'évaluation de la cinétique d'extraction par le logiciel EXDIF a permis de déterminer le coefficient de diffusion, et de déterminer le temps nécessaire pour obtenir un bon rendement de polyphénols extraits avec un mélange méthanol-eau.

Comme ce procédé d'extraction peut être influencé par différents paramètres, nous avons effectué une étude sur l'évolution de la teneur en polyphénols en fonction de ces paramètres.

L'influence de la fraction de solvant méthanol-eau, la température ainsi que l'hydromodule sur le rendement nous a permis de connaître l'optimum des conditions opératoires ($T=45^{\circ}\text{C}$, $H=40\text{ml.g}^{-1}$, mélange méthanol-eau 70% en volume).

Le dosage quantitatif des composés phénoliques totaux des extraits de l'inule visqueuse a montré que la plante est riche en polyphénols, **97,024** mg AGE/g MS pour le lot de SKIKDA et **81,998** mg AGE/g MS pour le lot d'ALGER.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode qui est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH en solution dans le méthanol montre que le pourcentage d'inhibition est proportionnel à la teneur en polyphénols.

L'extrait possède une activité antioxydante très importante **%I=94,5%** Pour une concentration de **60 $\mu\text{g/ml}$** des polyphénols extraits, elle est un peu plus élevée que celle de l'acide ascorbique (**%I=93,5%**) pour la même concentration. (L'acide ascorbique est un antioxydant chimique puissant utilisé dans les industries).

Une comparaison a été faite entre les fleurs des deux régions a montré que l'activité antioxydante de la plante de SKIKDA est supérieure à celle d'ALGER.

Une autre comparaison entre les feuilles et les fleurs d'ALGER a montré que les feuilles possèdent une activité antioxydante un peu plus élevée que celle des fleurs.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- ❑ **Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S. Et Robards K.**
"Methods for testing antioxidant activity." *Analyst*, 2002, 127: (p.183-198)
 - ❑ **Aoucher H.**
Extraction et Valorisation des Polyphénols D'Inule Visqueuse.
Thèse de fin d'étude, 2010. Ecole Nationale Polytechnique-Alger.
 - ❑ **Baptiste J., Pyramus A.**
Flore française .vol. 4 Copie de l'exemplaire univ. Lausanne, 2008, (p.147-156).
 - ❑ **Barbetti P., Chiappini I., Fardella G., Menghini A.**
A new eudesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica*, 1985, 51 (p: 471).
 - ❑ **Belova LF Baginskaia;**
"Farmakol Toksikol" (1981 Jul-Aug) 44(4):463-7 ISSN: 0014-8318(édité en Russe).
 - ❑ **Benayaches S. , Banayache F., Dendoughi H., Jay M.**
Les Favomoïdes de *Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome 25, n° 4, 1991. (p.170-176).
 - ❑ **Benhammou N.; Atik bekkara F. ;**
Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*", 2005.
(www.inpv.edu.dz/downloads/publication/file/25contribution_a_letude_du_pouvoir_antifongique_de_lhuile).
 - ❑ **Bensegueni-Tounsi L.**
Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de : *iluna viscosa*, *Lawsonia inermis*, *Asphodelus microcarpus*, *Aloe vera*, *Juniperus oxycedrus*.
de magistère, 2001. Université de Constantine.
 - ❑ **Blois M.S.**
Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* 1958, 181: (p.1199-1200).
 - ❑ **Boulus L.**
Plantes médicinales de l'Afrique du Nord. Édité par « Référence Publications », Etats-Unis, 1983.
 - ❑ **Brand-Williams W. Cuvelier M.E. and Berset C.**
Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, Food Science and Technology*, 1995, 28: (p.25 – 30).
 - ❑ **Bruneton J.**
Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, Lavoisier Technique & Documentation, Paris, France.2001.
 - ❑ **Bruneton J.**
pharmacognesie, phytochimie, plante médicinales, ed médicales internationale, 1999
 - ❑ **Cafarchia C. ; De Laurentis N. ; Milillo M.A. ; Losacco V. ; Puccini V.**
Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia* , 2002, 44 : (p.153-156).
 - ❑ **Chavéron H.**
Molécules toxiques. Dans « Introduction à la toxicologie nutritionnelle ». TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 1999 : (p. 98).
 - ❑ **Chari Z.**
Effets cicatrisants de *Inula viscosa* sur les brûlures expérimentales chez le lapin.
Thèse de Magister, 1999. Université de Constantine.
-

- ❑ **Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W.**
Two triterpene esters from Terminalia macroptera bark. *Phytochemistry* , 1998, 48 (p.647 – 650).
 - ❑ **Decker, E.A.**
"Antioxydant mechanisms." *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and biotechnology*, 1998, (p.397-423).
 - ❑ **Duval R.**
« Dictionnaire de la chimie et ses applications», 3^{ed}, paris, 1978.
 - ❑ **Dykes L., Rooney LW.**
Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences*, 2006, 44 (p. 236-241).
 - ❑ **Enama A., Fatmab K., Atla. U., Afif U. et Al-Hussaini M.**
Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*), *Journal of Ethnopharmacology*, 3 January 2007, Volume 109, Issue 1, (p.104-112).
 - ❑ **Epidemiol J.**
"Coronary Heart Disease and Flavonoids" *Nutrition Week*, 1999, 149(10): (p.943-949).
 - ❑ **Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J.**
Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 2005, (p 121-216).
 - ❑ **Fouilloy R.**
Le Monde des Plantes, Monde plantes, Intermédiaire des botanistes internationale , 1937, Série V, N°225 : (p.13)
 - ❑ **Fournier P.**
Livre des plantes médicinales et veneneuses de France. Ed. Lechevalier, 1947, Tome (p.176-178).
 - ❑ **Ghazi F. et Sahraoui S.**
Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de datte communes Tantboucht et Hamraia, mémoire d'ingénieur en agronomie, 2005. Institut national d'agronomie, Alger.
 - ❑ **Ghestem A., Segun E ., Paris M ., Orecchioni A-M.**
Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 2001, (p.273).
 - ❑ **Gordon MH.**
The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In : Hudson B.J.F, ed. *Food antioxidants*. Amsterdam : Elsevier, 1990 : (p.1-18).
 - ❑ **Guezel P. Et Santa S.**
Nouvelle flore de l'Algérie, tome 1 l'édition du centre national de la recherche scientifique 1962.
 - ❑ **Gülçin, I., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R.**
Screening of antiradical and antioxidant activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber *Phytomedicine*, 2006, 13, (p.343–351).
 - ❑ **Hagerman A .E.**
Tannin handbook. Department of chemistry and biochemistry. 2001, Miami University.
 - ❑ **Hale A.L.**
Screening potato genotypes for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using aflp and microsatellite
-

- market analysis. Office of graduate studies of texas A&M university. Genetics, 2003, (p.260)
- ❑ **Halliwell B.**
"Antioxydant characterisation." Methodology and mechanism, 1995, 49 (p.1341-1348).
 - ❑ **Haoui I.E, Derriche R., Madani L., Oukali Z.**
Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de l'inule visqueuse de l'Algérie, 2011. Laboratoire de valorisation des énergies fossiles, Département Génie Chimique, Ecole Nationale Polytechnique, 10 Avenue, Hassen Badi BP182 El-Harrach, 16200 Alger, Algeria (<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.005>, How to Cite or Link Using DOI)
 - ❑ **Haslam E.**
« pratical polyphenolic :from structure to molecular recognition and physiological function» Cambridge university press,UK, 1998.
 - ❑ **Hatzidimitriou Ef., Nenadis N., Tsimidou M.Z.**
Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. Food Chemistry 2007, 105 : (p.1504-1511).
 - ❑ **Hernandez V., M.C. Recio, S. Manez, J. M. Prieto, R. M. Giner, J. L. Rios;**
A mechanistic approach to the in vivo anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa* , Planta Medicinally, 2001.
 - ❑ **Hertog M G.L.,**
Intake of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids and Their Determinants in Adults in The Netherlands. Nutrition and Cancer, 1993, (p 21-29).
 - ❑ **Lambion J.**
Biodiverdité fonctionnel:plante des inules visqueuses sur son exploitation, article paru dans le bulletin du GRAB n°65. 2012
 - ❑ **Lastra C., Lopez A., Motiva V.**
Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavenoids of *Dittrichie viscosa*. Planta Medica, 1993, 59 : (p.497-501).
 - ❑ **Levizou E., Karageorgou P., Psaras G.K., Manetas Y.**
Inhibitory effects of water soluble leaf leachates from *Dittrichia viscosa* on lettuce root growth, statocyte development and graviperreption Flora, march 2002. Volume 197, number 2: (p.152-157)
 - ❑ **Levrault F.G.**
Dictionnaire des sciences naturelles vol. 23 Copie de l'exemplaire l'Université du Michigan Numérisé, 2007 (p.550 -559).
 - ❑ **Luximon-Ramma A., Bahorun T., Soobrattee M.A., et Aruoma, O.I.**
Antioxidant Activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in Extracts of *Cassia fistula* J. Agric. Food Chem. 2002, **50**,(p. 5042-5047).
 - ❑ **Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C.**
Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. 2005, (p.4-5).
 - ❑ **Mahmoudi L. et Rougou N.**
Extraction et valorisation des extraits de l'inule visqueuse d'Alger. Projet de fin d'étude, 2009. Ecole Nationale Polytechnique,Alger.
 - ❑ **Malešev D. et Kuntić V.**
Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via
-

metal-flavonoid complexing reactions. Journal of the serbian chemical society. 2007, 72 (10) (p. 921-939).

- ❑ **Manian R., Anusuya N., Siddhuraju P., Manian S.**
The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. Food Chemistry , 2008,**107**: (p.1000–1007).
 - ❑ **Marc F., Davin A., Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P.**
Méthode d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, médecine/sciences, 2004 ; 20 : (p. 458-63).
 - ❑ **Marcheix J.J.**
Les composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et Universitaires Romandes. Sciences des aliments. 2006 ; 26 : (p. 189-190).
 - ❑ **Molyneux P.**
The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004, 26 (2) : (p. 211-219).
 - ❑ **Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R.**
Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology. 2001, 33 (p. 2-16).
 - ❑ **Psotova Já., Lasovský J. et Vičar J.**
Methal-chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. Biomed. , 2003,papers 147 : (p.147-153).
 - ❑ **Rabbi Moshé ben Mimoun ;**
"Les plantes médicinales". israel, p 125, 1989.
 - ❑ **Ribéreau-Gayon P**
Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris,1968, (p.254).
 - ❑ **Sarni-Manchado P. et Cheynier V.**
Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. 2006, (p.2- 10).
 - ❑ **Silva D., Denham E., Faleiro L., Miguel G., Cavaleiro C., Salgueiro L.**
Antimicrobial activity of the essential oils of *Dittrichia viscosa* subsp. *viscosa* on *Helicobacter pylori* ISHS Acta Horticulture 680; III WOCMAP Congress on Medicinal and aromatic plants-volume 6 ; traditional medicine and nutraceuticals. 2008.
 - ❑ **Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R.M.**
Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol , 1999,299 : (p.152-178).
 - ❑ **Susplugas C.; Balansard G. Julien J.**
Evidence of anthelmintic action of aerial part from *Inula viscosa* » Ait. Herba Hung, 1980, (p.19-33).
 - ❑ **Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J., Dommes J.**
Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry , 2009,113 : (p 1226-1233).
 - ❑ **Tedjini B. ;**
Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse", mémoire de fin d'étude, 2006. ENP, Alger, Algérie.
 - ❑ **W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J.**
Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition. 2007, **137** (3 supp 1) : (718 s-737 s)
-

- ❑ **Wollgast J., Anklam E.**
Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* , 2000,33 (p. 423 – 447).
 - ❑ **Yepez B., Espinosa M., López S. and Bolaños G.,**
Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria* , 2002, (p194–197).
 - ❑ **Zeggwagh N.-A., Ouahidi M.-L., Lemhadri A. et M. Eddouks;**
Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats", *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, Volume 108, Issue 2, 24: (p.223-227).
-