



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCCEN

THÈSE LMD

Présentée à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT

Spécialité : **Chimie physique et analytique**

Par :

Melle BENMANSOUR Nassima

Sur le thème

Etude physico-chimiques et applications de quelques extraits de plantes

Soutenue publiquement le 22/10/2020 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr DAHMANI Benamar	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr SELLES Chaouki	Professeur	Université de Tlemcen	Directeur de thèse
Mr BENMAHDI Houcine	Professeur	Université de Bechar	Examineur
Mr BOUSSALEM Smain	Professeur	Centre univ Ain Temouchent	Examineur
M ^{me} MERIAH Salima	Professeur	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mr DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Invité

*Laboratoire de Spectrochimie et Pharmacologie Structurale (LSPS)
BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

À mes chers parents

À mes très chers frères

À mes sœurs Ahlem et Meriem

À mon neveu Aymene et ma nièce Manel

À tous ceux ou celles qui me sont chers

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) à l'université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen.

*Je tiens à exprimer ma gratitude et mes remerciements à mon directeur de thèse, Monsieur **C.SELLES**, pour sa pleine disponibilité, son aide permanente, ses précieux conseils et ses connaissances scientifiques, sa patience et ses réelles qualités humaines.*

*Je tiens à remercier très sincèrement Monsieur **B.DAHMANI**, Professeur à l'université de Tlemcen et directeur du Laboratoire de recherche Spectrochimie et Pharmacologie Structurale (LSPS) pour son attention de tout instant sur mes travaux et avoir mis tout son équipement à notre disposition. Je le remercie également d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Mes sincères remerciements s'adressent également à Monsieur **H.BENMEHDI**, Professeur à l'université de Béchar, et Monsieur **S.BOUSSALEM**, Professeur au centre universitaire de Ain Temouchent, pour l'importance qu'ils ont accordé à mon travail en acceptant d'être membres de ce jury et pour le temps qu'ils ont consacré à l'examen de cette thèse.*

*Que Madame **S.MERIAH**, Professeur à l'université de Tlemcen, trouve ici l'expression de mes sincères remerciements d'avoir accepté de participer au jury et d'examiner ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Monsieur **M.A.DIB**, Professeur à l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse. Je suis particulièrement reconnaissante et honorée par sa participation comme invité dans cette thèse.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur **B.TABTI**, chef d'équipe des huiles essentielles au laboratoire LASNABIO pour son aide, ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Que Monsieur le Professeur **A.Muselli**, Directeur du laboratoire de chimie des produits naturels de l'université de Corse (France), trouve ici mes remerciements les plus*

distingués pour les moyens qu'il a mis à notre disposition dans la réalisation des analyses par CPG et CPG/SM.

*Je tiens à remercier Monsieur **T.ATTAR**, Docteur à l'école des sciences et techniques de Tlemcen, pour m'avoir aidé dans la réalisation de l'activité anticorrosion.*

*Toute ma gratitude va également à Messieurs **B.MEDJAHDI**, et **F.HASSANI**, professeurs à la faculté SNV de l'université de Tlemcen pour leur aide dans l'identification des espèces végétales étudiées.*

*Mes remerciements vont également à mes amies **W.DJEMAI**, **R.LEMOUCHI**, et **A.ALLAL** pour leur soutien, leur aide précieuse et leur disponibilité qui furent pour moi une source de motivation.*

*Que Mademoiselle **I.TERBECHE**, Ingénieur de laboratoire, trouve ici ma vive reconnaissance pour son aide technique si précieuse.*

Je remercie également tous les membres du laboratoire LSPC et LASNABIO pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leur disponibilité tout au long de ma thèse.

Je dois aussi remercier mon entourage dans la vie de tous les jours ma famille, mais surtout mes parents, pour m'avoir soutenu tout au long de mon parcours scolaire et universitaire.

Je ne saurai oublier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

TABLE DES MATIERES

Dédicaces

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

PREMIERE PARTIE : ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DE QUELQUES EXTRAITS DE PLANTES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : PLANTES MEDICINALES

I.	Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques	7
II.	Métabolites secondaires	7
III.	Métabolites primaires	15
IV.	Activités biologiques des plantes médicinales	17
IV. 1.	Activité antioxydante	17
IV. 2.	Activité antibactérienne	19
IV. 3.	Activité antifongique	20
	Références bibliographiques	21

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

I.	Huiles essentielles	27
I. 1.	Définition et caractéristiques	27
I. 2.	Composition chimique et facteurs de variabilité	27
I. 3.	Méthodes d'extraction des huiles essentielles	30
I. 4.	Rôle et action biologique des huiles essentielles	33
II.	Hydrolat	35
III.	Méthodes d'analyses des huiles essentielles et des extraits d'hydrolat	36
IV.	Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	37
	Références bibliographiques	40

CHAPITRE III : PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEES

I. Etude de l'espèce <i>Rhus pentaphylla</i> Desf.....	44
I. 1. Famille des Anacardiaceae	44
I. 2. Genre <i>Rhus</i>	44
I. 3. Espèce <i>Rhus pentaphylla</i> Desf.	45
II. Etude de l'espèce <i>Ferula communis</i> L	49
II. 1. Famille des Apiaceae	49
II. 2. Genre <i>Ferula</i>	50
II. 3. Espèce <i>Ferula communis</i> L.....	51
III. Etude de l'espèce <i>Rhaponticum acaule</i> L.....	55
III. 1. Famille des Asteraceae	55
III. 2. Genre <i>Rhaponticum</i>	56
III. 3. Espèce <i>Rhaponticum acaule</i> L.....	56
IV. Etude de l'espèce <i>Agave americana</i> L	58
IV. 1. Famille des Agavaceae	58
IV. 2. Genre <i>Agave</i>	58
IV. 3. Espèce <i>Agave americana</i> L.	59
Références bibliographiques	63

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel végétal.....	77
II. Préparation des extraits bruts	78
II. 1. Préparation de l'extrait aqueux.....	78
II. 2. Extraction par des solvants organiques	78
II. 3. Extraction des composés phénoliques	79
1) Dégraissage du matériel végétal.....	79
2) Extraction des flavonoïdes	79
3) Extraction des tanins.....	80
4) Extraction des saponosides	81
5) Extraction des anthocyanes.....	82
III. Criblage phytochimique	84

III. 1. Epuisement du matériel végétal à l'eau chaude	84
III. 2. Epuisement du matériel végétal à l'éthanol.....	85
III. 3. Epuisement du matériel végétal à l'éther diéthylique	87
IV. Analyses quantitatives	88
IV. 1. Dosages des polyphénols totaux	88
IV. 2. Dosages des flavonoïdes.....	88
IV. 3. Dosage des tanins condensés	88
IV. 4. Dosage des sucres totaux.....	88
IV. 5. Détermination de la teneur en eau.....	89
IV. 6. Teneur en cendres totales	90
IV. 7. Dosage des minéraux	90
V. Caractérisation de la partie volatile des plantes	91
V. 1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	91
V. 2. Récupération de l'extrait d'hydrolat.....	92
V. 3. Analyse chromatographique des huiles essentielles et des hydrolats.....	93
V. 4. Détermination des constantes physico-chimiques.....	95
V. 4. 1. Caractéristiques physiques	95
V. 4. 2. Indices chimiques.....	96
VI. Extraction des acides gras et des insaponifiables.....	98
VII. Activité antioxydante.....	99
VII. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH	99
VII. 2. Test de la réduction du fer FRAP	100
VIII. Analyse statistique	100
Références bibliographiques	101

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. <i>Rhus pentaphylla</i> Desf.....	105
I. 1. Rendements des extraits bruts	105
I. 2. Criblage phytochimique	106
I. 3. Analyses quantitatives.....	108
I. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres	108
I. 3. 2. Teneur en eau	110
I. 3. 3. Teneur en cendres totales.....	111

I. 3. 4. Dosage des minéraux.....	111
I. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile	112
I. 4. 1. Propriétés organoleptiques.....	112
I. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat.....	113
I. 5. Composition en acides gras	118
I. 6. Activité antioxydante de l'huile essentielle, de l'extrait d'hydrolat et des différents extraits par solvants de <i>R. pentaphylla</i> Desf.	120
I. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH	120
I. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP)	124
II. <i>Ferula communis</i> L.	128
II. 1. Rendements des extraits bruts	128
II. 2. Criblage phytochimique	129
II. 3. Analyses quantitatives	131
II. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres	131
II. 3. 2. Teneur en eau	132
II. 3. 3. Teneur en cendres totales.....	133
II. 3. 4. Dosage des minéraux.....	133
II. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile	134
II. 4. 1. Propriétés organoleptiques.....	134
II. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat.....	136
II. 5. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle.....	140
II. 6. Activité antioxydante de l'huile essentielle, de l'extrait d'hydrolat et des différents extraits par solvants de <i>F. communis</i> L.	141
II. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH	141
II. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP)	144
III. <i>Rhaponticum acaule</i> L.	147
III. 1. Rendements des extraits bruts.....	147
III. 2. Criblage phytochimique	148
III. 3. Analyses quantitatives de <i>R. acaule</i>	149
III. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres.....	149

III. 3. 2. Teneur en eau.....	150
III. 3. 3. Teneur en cendres totales	151
III. 3. 4. Dosage des minéraux	151
III. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile.....	152
III. 4. 1. Propriétés organoleptiques	152
III. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat	153
III. 5. Activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. acaule</i> L.	157
III. 5. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH	157
III. 5. 2. Test de réduction du fer (FRAP)	159
IV. <i>Agave americana</i> L.....	160
IV. 1. Rendements des extraits bruts.....	160
IV. 2. Criblage phytochimique	161
IV. 3. Analyses quantitatives	163
IV. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres.....	163
IV. 3. 2. Teneur en eau	165
IV. 3. 3. Teneur en cendres totales	165
IV. 3. 4. Dosage des minéraux	166
IV. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile	167
IV. 4. 1. Propriétés organoleptiques	167
IV. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat	167
IV. 5. Composition en acides gras	171
IV. 6. Activité antioxydante des différents extraits par solvants de <i>A. americana</i> L.	174
IV. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH	174
IV. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP)	177
Références bibliographiques	181
DEUXIEME PARTIE : APPLICATIONS AUX NANOPARTICULES D'ARGENT	
Introduction.....	185

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les nanoparticules métalliques	188
I. 1. Définition des nanoparticules	188
I. 2. Propriétés des nanoparticules	188
I. 3. Nanoparticules d'argent	189
I. 4. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent	191
I. 5. Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent.....	192
I. 6. Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent	192
Références bibliographiques	195

CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE

II. Synthèse verte des nanoparticules d'argent	199
II. 1. Protocole expérimentale.....	199
II. 2. Caractérisation des nanoparticules d'argent.....	200
II. 2. 1. Caractérisation par spectroscopie UV-visible	200
II. 2. 2. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX).....	203
II. 2. 3. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge.....	206
II. 2. 4. Détermination de la taille moyenne des nanoparticules d'argent	210
II. 3. Evaluation de l'activité antioxydante	211
II. 4. Evaluation de l'activité anticorrosive	215
II. 4. 1. Corrosion des métaux	215
II. 4. 2. Inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides.....	215
II. 4. 3. Produits naturels comme inhibiteurs de corrosion des métaux.....	215
II. 4. 4. Méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion	216
II. 4. 5. Conditions expérimentales.....	216
II. 4. 6. Résultats et discussion	218
Références bibliographiques	228
Conclusion générale	231

Annexes

Publications et communications

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

A.A	: Acide ascorbique
ABS	: Absorbance
Ac-Et	: Acétate d'éthyle
Ag	: Argent
AgNO₃	: Nitrate d'argent
AgNPs	: Nanoparticule d'argent
BF₃	: Trifluorure de bore
C	: Concentration
CFC	: Cubique à face centrée
CI50	: Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse
CPG/SM	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
d	: Densité
DPPH	: 2, 2-Diphényl-1- Picrylhydrazyle
DRX	: Diffraction des rayons X
EI	: Efficacité inhibitrice
EqC	: Équivalent catéchine
EqG	: Équivalent acide gallique
EqQ	: Équivalent quercétine
F	: Feuille
FID	: Détecteur à ionisation de flamme
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
FTIR	: Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
H	: Humidité
HE	: Huile essentielle

Hy	: Hydrolat
IR	: Indice de rétention
MEB	: Microscopie électronique à balayage
MO	: Matière organique
MS	: Matière sèche
Pa	: Partie aérienne
R	: Racine
RP-HPLC	: Chromatographie de partage à polarité de phases inversée
T	: Température
UV-visible	: Spectrométrie ultraviolet-visible
W_{corr}	: Vitesse de corrosion
W_{inh}	: Vitesse d'inhibition de corrosion
λ	: Longueur d'onde

LISTE DES FIGURES

Figure 01	: Structures de bases des acides phénoliques.....	09
Figure 02	: Structures chimiques des tanins.....	10
Figure 03	: Structure de base des principales classes des flavonoïdes.....	11
Figure 04	: Structure de base des coumarines.....	12
Figure 05	: Structure de base des anthocyanes.....	12
Figure 06	: Structures de quelques alcaloïdes.....	13
Figure 07	: Structures des saponosides à génine stéroïdique et triterpénique.....	15
Figure 08	: Structures de quelques acides gras.....	16
Figure 09	: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	18
Figure 10	: Réaction du test FRAP.....	18
Figure 11	: Structures chimiques de quelques mono- et sesquiterpène.....	28
Figure 12	: Structures chimiques de quelques composés aromatiques.....	29
Figure 13	: Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles..	30
Figure 14	: Appareil Clevenger.....	31
Figure 15	: Montage de distillation par entraînement à la vapeur.....	31
Figure 16	: <i>Rhus pentaphylla</i> Desf.....	46
Figure 17	: Feuilles et fruits de <i>R. pentaphylla</i>	46
Figure 18	: Racines de <i>R. pentaphylla</i>	46
Figure 19	: <i>Ferula communis</i> L.....	52
Figure 20	: Fleurs de <i>Ferula communis</i>	52

Figure 21	: <i>Rhaponticum acaule</i> L.....	57
Figure 22	: <i>Agave americana</i> L.....	60
Figure 23	: Montage du reflux.....	78
Figure 24	: Montage d'extraction au soxhlet.....	79
Figure 25	: Evaporateur rotatif.....	79
Figure 26	: Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	80
Figure 27	: Protocole d'extraction des tanins.....	81
Figure 28	: Protocole d'extraction des saponosides.....	82
Figure 29	: Protocole d'extraction des anthocyanes.....	82
Figure 30	: Extraction des composés phénoliques.....	83
Figure 31	: Creusets contenant la matière végétale.....	89
Figure 32	: Cendres des différents échantillons.....	90
Figure 33	: Spectromètre d'absorption atomique (SAA).....	91
Figure 34	: Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger.....	92
Figure 35	: Récupération de l'hydrolat.....	93
Figure 36	: Extraction liquide-liquide.....	93
Figure 37	: Chromatographie en phase gazeuse.....	94
Figure 38	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectrométrie de masse.....	95
Figure 39	: Rendements des extraits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	106
Figure 40	: Huile essentielle de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	113

Figure 41	: Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. pentaphylla</i> . Desf.....	118
Figure 42	: % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle et de l'hydrolat de <i>R. pentaphylla</i> . Desf.....	121
Figure 43	: % d'inhibition du DPPH des anthocyanes et des saponosides des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	121
Figure 44	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	122
Figure 45	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de <i>R. pentaphylla</i> Desf...	122
Figure 46	: % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	122
Figure 47	: % d'inhibition du DPPH des tanins de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	122
Figure 48	: Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	125
Figure 49	: Pouvoir réducteur du fer des anthocyanes et des saponosides des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	125
Figure 50	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	125
Figure 51	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de <i>R. pentaphylla</i> Desf...	125
Figure 52	: Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	126
Figure 53	: Pouvoir réducteur du fer des tanins de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	126
Figure 54	: Rendements des extraits de <i>F. communis</i> L.....	129
Figure 55	: Huile essentielle de <i>F. communis</i> L.....	135
Figure 56	: Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>F. communis</i> L.....	139

Figure 57	: % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle et de l'hydrolat de <i>F. communis</i> L.....	142
Figure 58	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique de <i>F. communis</i> L...	142
Figure 59	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de <i>F. communis</i> L.....	142
Figure 60	: % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de <i>F. communis</i> L.....	143
Figure 61	: % d'inhibition du DPPH des tanins de <i>F. communis</i> L.....	143
Figure 62	: Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat de <i>F. communis</i> L.....	145
Figure 63	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de <i>F. communis</i> L...	145
Figure 64	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de <i>F. communis</i> L.....	145
Figure 65	: Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de <i>F. communis</i> L.....	146
Figure 66	: Pouvoir réducteur du fer des tanins de <i>F. communis</i> L.....	146
Figure 67	: Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. acaule</i> L.....	157
Figure 68	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait d'hydrolat de <i>R. acaule</i> L.....	158
Figure 69	: % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle de <i>R. acaule</i> L.....	158
Figure 70	: Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. acaule</i> L.....	159
Figure 71	: Rendements des extraits de <i>A. americana</i> L.....	161
Figure 72	: Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>A. americana</i> L.....	171
Figure 73	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique de <i>A. americana</i> L.	174
Figure 74	: % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de <i>A. americana</i> L.....	174

Figure 75	: % d'inhibition du DPPH des saponosides de <i>A. americana</i> L.....	175
Figure 76	: % d'inhibition du DPPH des tanins de <i>A. americana</i> L.....	175
Figure 77	: % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de <i>A. americana</i> L.....	175
Figure 78	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de <i>A. americana</i> L.....	178
Figure 79	: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de <i>A. americana</i> L.....	178
Figure 80	: Pouvoir réducteur du fer des saponosides de <i>A. americana</i> L.....	178
Figure 81	: Pouvoir réducteur du fer des tanins de <i>A. americana</i> L.....	178
Figure 82	: Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de <i>A. americana</i> L.....	179
Figure 83	: Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent.....	192
Figure 84	: Protocole de synthèse des nanoparticules d'argent.....	200
Figure 85	: Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	201
Figure 86	: Spectre d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	201
Figure 87	: Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	201
Figure 88	: Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>A. americana</i> L.....	201
Figure 89	: Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des fleurs de <i>A. americana</i> L.....	202
Figure 90	: Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>A. americana</i> L.....	202

Figure 91	: Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>R. acaule</i> L.....	202
Figure 92	: Diffraction des Rayons X (DRX).....	203
Figure 93	: Spectre DRX des AgNPs des feuilles de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	204
Figure 94	: Spectre DRX des AgNPs des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	204
Figure 95	: Spectre DRX des AgNPs des racines de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	204
Figure 96	: Spectre DRX des AgNPs des feuilles de <i>A. americana</i> L.....	204
Figure 97	: Spectre DRX des AgNPs des fleurs de <i>A. americana</i> L.....	205
Figure 98	: Spectre DRX des AgNPs des racines de <i>A. americana</i> L.....	205
Figure 99	: Spectre DRX des AgNPs des racines de <i>R. acaule</i> L.....	205
Figure 100	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	206
Figure 101	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	206
Figure 102	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	207
Figure 103	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de <i>A. americana</i> L.....	207
Figure 104	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des fleurs de <i>A. americana</i> L.....	207
Figure 105	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>A. americana</i> L.....	207
Figure 106	: Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de <i>R. acaule</i> L.....	208

Figure 107	: % d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des nanoparticules d'argent.....	211
Figure 108	: Pouvoir réducteur du fer des nanoparticules d'argent.....	213
Figure 109	: Evolution de l'efficacité inhibitrice (a) et de la vitesse de corrosion (b) en fonction de la concentration d'inhibiteur à T=30°C.....	219
Figure 110	: Evolution de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (a) et de AgNPs (b) à différentes concentrations en fonction de la température après 2h d'immersion.....	222
Figure 111	: Evolution de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans HClO ₄ 1M en fonction de la température en présence de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) à différentes concentration après 2h d'immersion.....	222
Figure 112	: Variations de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) à différentes concentrations en fonction du temps d'immersion à T=30°C	225
Figure 113	: Variation de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans HClO ₄ en fonction du temps d'immersion à différentes concentrations de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) et à T=30°C.....	225
Figure 114	: Micrographie (MEB) de la surface l'acier avant immersion dans HClO ₄	226
Figure 115	: Micrographie (MEB) de la surface l'acier après immersion dans HClO ₄	226
Figure 116	: Micrographie (MEB) de la surface l'acier après immersion dans HClO ₄ + l'extrait aqueux.....	227
Figure 117	: Micrographie (MEB) de la surface l'acier après immersion dans HClO ₄ + AgNPs.....	227

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	: Squelettes structuraux de quelques terpènes.....	14
Tableau 02	: Classification systématique de <i>Rhus pentaphylla</i> Desf.....	45
Tableau 03	: Classification systématique de <i>Ferula communis</i> L.....	51
Tableau 04	: Classification systématique de <i>Rhaponticum acaule</i> L.....	56
Tableau 05	: Classification systématique de <i>Agave americana</i> L.....	59
Tableau 06	: Données géographiques des zones d'études et dates de récolte des espèces étudiées.....	77
Tableau 07	: Rendements des extraits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	105
Tableau 08	: Résultats des tests phytochimiques de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	107
Tableau 09	: Teneurs en composés phénoliques et en sucres de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	109
Tableau 10	: Teneurs en composés phénoliques des travaux antérieurs de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	110
Tableau 11	: Teneurs en eau et en matière sèche de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	110
Tableau 12	: Teneurs en cendres totales de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	111
Tableau 13	: Teneurs en minéraux des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	112
Tableau 14	: Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	113
Tableau 15	: Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	114
Tableau 16	: Rendement des acides gras et insaponifiables des fruits et des racines de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	119

Tableau 17	: Composition en acides gras des racines et des fruits de <i>R. pentaphylla</i> Desf.....	119
Tableau 18	: Valeurs des CI50 de <i>R. pentaphylla</i> Desf. par la méthode DPPH	123
Tableau 19	: Valeurs des CI50 de <i>R. pentaphylla</i> Desf. par la méthode FRAP	126
Tableau 20	: Rendements des extraits de <i>F. communis</i> L.....	128
Tableau 21	: Résultats des tests phytochimiques de <i>F. communis</i> L.....	129
Tableau 22	: Teneurs en composés phénoliques et en sucres de <i>F. communis</i> L.....	131
Tableau 23	: Teneurs en composés phénoliques de la partie aérienne de <i>F. communis</i> L.....	132
Tableau 24	: Teneurs en eau et en matière sèche de <i>F. communis</i> L.....	132
Tableau 25	: Teneurs en cendres totales de <i>F. communis</i> L.....	133
Tableau 26	: Teneurs en minéraux de <i>F. communis</i> L.....	133
Tableau 27	: Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>F. communis</i> L.....	134
Tableau 28	: Teneurs en HE de <i>F. communis</i> L. des différentes régions.....	135
Tableau 29	: Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de <i>F. communis</i> L.....	136
Tableau 30	: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>F. communis</i> L.....	140
Tableau 31	: Valeurs des CI50 de <i>F. communis</i> L. par la méthode DPPH.....	143
Tableau 32	: Valeurs des CI50 de <i>F. communis</i> L. par la méthode FRAP	146
Tableau 33	: Rendements des extraits de <i>R. acaule</i> L.....	147
Tableau 34	: Résultats des tests phytochimiques de <i>R. acaule</i> L.....	148

Tableau 35	: Teneurs en composés phénoliques et en sucres de <i>R. acaule</i> L.....	149
Tableau 36	: Teneurs en composés phénoliques des travaux antérieurs de <i>R. acaule</i> L.....	150
Tableau 37	: Teneurs en eau et en matière sèche de <i>R. acaule</i> L.....	151
Tableau 38	: Teneurs en cendres totales de <i>R. acaule</i> L.....	151
Tableau 39	: Teneurs en minéraux de la partie aérienne de <i>R. acaule</i> L.....	152
Tableau 40	: Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>R. acaule</i> L.....	153
Tableau 41	: Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait hydrolat de la partie aérienne de <i>R. acaule</i> L.....	153
Tableau 42	: Valeurs des CI50 de <i>R. acaule</i> L. par la méthode DPPH	158
Tableau 43	: Valeurs des CI50 de <i>R. acaule</i> L. par la méthode FRAP	159
Tableau 44	: Rendements des extraits de <i>A. americana</i> L.....	160
Tableau 45	: Résultats des tests phytochimiques de <i>A. americana</i> L.....	162
Tableau 46	: Teneurs en composés phénoliques et en sucres de <i>A. americana</i> L.....	164
Tableau 47	: Teneurs en composés phénoliques de <i>A. americana</i> L.....	164
Tableau 48	: Teneurs en eau et en matière sèche de <i>A. americana</i> L.....	165
Tableau 49	: Teneurs en cendres totales de <i>A. americana</i> L.....	165
Tableau 50	: Teneurs en minéraux de <i>A. americana</i> L.....	166
Tableau 51	: Quelque Propriété de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>A.</i> <i>americana</i> L.....	167
Tableau 52	: Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de <i>A. americana</i> L.....	168

Tableau 53	: Rendement des acides gras et des insaponifiables de <i>A americana</i> L...	172
Tableau 54	: Composition en acides gras de <i>A. americana</i> L.....	172
Tableau 55	: Valeurs des CI50 de <i>A. americana</i> L. par la méthode DPPH	176
Tableau 56	: Valeurs des CI50 de <i>A. americana</i> L. par la méthode FRAP	179
Tableau 57	: Groupes fonctionnels des spectres IR des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes.....	209
Tableau 58	: Taille des nanoparticules d'argents synthétisées.....	210
Tableau 59	: Valeurs des CI50. des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes par la méthode DPPH	212
Tableau 60	: Valeurs des CI50 des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes par la méthode FRAP.....	214
Tableau 61	: Composition chimique de l'acier au carbone.....	217
Tableau 62	: Variation de l'efficacité inhibitrice et de la vitesse de corrosion en fonction des concentrations d'inhibiteurs à 30°C	219
Tableau 63	: Variation de l'efficacité inhibitrice et la vitesse de corrosion en fonction de la température à différentes concentrations d'inhibiteurs (extrait aqueux et AgNPs) après 2h d'immersion.....	220
Tableau 64	: Variation de l'efficacité inhibitrice et la vitesse de corrosion en fonction des temps d'immersion à différentes concentrations d'inhibiteurs (extrait aqueux et AgNPs) à 30°C.....	223

INTRODUCTION GENERALE

Depuis quelques années, les plantes médicinales attirent une attention de plus en plus croissante en raison de leurs propriétés biologiques et leurs vertus thérapeutiques dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et dans l'agriculture [1-2].

Au nord d'Algérie, considéré comme une flore riche et diversifiée, beaucoup de plantes ne sont pas encore valorisées d'un point de vue de leurs potentiels chimiques et biologiques. En effet, ces plantes médicinales constituent une grande source d'antioxydants naturels grâce à leurs métabolites secondaires synthétisés dans les différentes parties de la plante formant ainsi un ensemble très vaste de substances à intérêts multiples [3].

Les extraits de plantes tels que les huiles essentielles, les extraits d'hydrolat ou encore les extraits aux solvants, constituent donc une source importante de nouveaux composés à propriétés diverses et qui possèdent un large éventail d'activités biologiques [4]. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante dont le but est de découvrir de nouvelles molécules thérapeutiques efficaces contre des maladies qui n'ont pas été traitées, et de réduire l'utilisation de produits synthétiques reconnus pour être nocifs à l'homme et à son environnement.

Grace à leurs principes actifs très variés, les plantes font l'objet de beaucoup d'études scientifiques qui ne cessent d'augmenter. Par le passé, ces études ont abouti à des résultats phénoménaux et ont permis la découverte de milliers de substances qui sont devenues aujourd'hui indispensables à notre vie.

Ce projet de thèse rentre dans le cadre de la valorisation de quatre plantes algériennes de la région de Tlemcen pour la recherche de nouvelles molécules bioactives. Il s'agit de *Rhus pentaphylla* Desf., *Ferula communis* L., *Rhaponticum acaule* L. et *Agave americana* L.

Nous nous sommes donc intéressés d'une part, à l'investigation phytochimique et l'évaluation des activités antioxydantes des huiles essentielles et des hydrolats ainsi que d'autres extraits de ces plantes. D'autre part, le travail expérimental est poursuivi par l'application des extraits aqueux de ces plantes dans la synthèse de nanoparticules d'argent. En effet, ces dernières ont suscité de tout temps beaucoup d'intérêt où les recherches dans cet axe

se sont considérablement accélérées durant ces dernières années en raison de la diversité de leurs applications dans les différents domaines.

Enfin, c'est l'étude anticorrosive de l'extrait aqueux des racines de *R. acaule* et les nanoparticules correspondantes vis-à-vis d'un acier en milieu acide qui sera investiguée en utilisant la méthode gravimétrique.

À notre connaissance et sur la base des recherches bibliographiques sur les travaux effectués sur ces espèces, il s'avère que les quatre plantes ne sont pas bien valorisées et restent peu étudiées.

Notre travail de thèse est constitué de deux parties :

La première partie est consacrée à l'étude physicochimique des quatre espèces dont les principaux objectifs sont :

- L'étude phytochimique préliminaire, afin de déceler les différentes familles chimiques présentes dans chaque espèce.
- L'obtention des huiles essentielles par hydrodistillation et des extraits d'hydrolat par extraction liquide-liquide et l'identification de leurs constituants chimiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- La détermination de la composition chimique en acides gras ainsi que les teneurs en métaux et en composés phénoliques de ces plantes.
- L'estimation *in vitro* des propriétés antioxydantes des divers extraits en utilisant deux méthodes différentes : DPPH et FRAP.

La deuxième partie porte sur :

- La synthèse des nanoparticules d'argent à partir des extraits aqueux des plantes étudiées.
- La caractérisation de ces nanoparticules par différentes techniques spectroscopiques : UV-Visible, infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), diffraction des rayons X (DRX)...
- L'évaluation des activités antioxydantes (DPPH et FRAP) des extraits aqueux ainsi que celles des nanoparticules d'argent correspondantes.
- L'étude de l'inhibition de corrosion d'un acier de carbone en milieu acide de l'extrait aqueux des racines de *R. acaule* et des nanoparticules correspondantes par la méthode gravimétrique.

Enfin, une conclusion générale résumera l'essentiel du travail réalisé.

Références bibliographiques

1. Balunas, M.J. and A.D. Kinghorn, *Drug discovery from medicinal plants*. Life sciences, 2005. **78**(5): p. 431-441.
2. Fibrich, B.D. and N. Lall, *Maximizing medicinal plants: Steps to realizing their full potential*, in *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being*. 2018, Elsevier. p. 297-300.
3. Jimenez-Garcia, S.N., et al., *Current approaches for enhanced expression of secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic and human health purposes—a review*. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2013. **63**(2): p. 67-78.
4. Himour, S., et al., *Etude phytochimique de feuilles d'Olea europaea L. var Chemlel d'Algérie*. Journal of Bioresources Valorization, 2016. **1**(1): p. 34.

PREMIERE PARTIE

***ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DE
QUELQUES EXTRAITS DE
PLANTES***

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
PLANTES MEDICINALES

I. Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques :

I. 1. Définition d'une plante médicinale :

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses [1]. Elles sont utilisées pour soigner et soulager divers maux dont leur efficacité provient de leurs constituants chimiques [2].

Les végétaux contiennent au niveau de leurs organes des principes actifs utilisables en phytothérapie. En effet, ils sont connus pour leurs pouvoirs bienfaiteurs sur la santé humaine et présentent des avantages dont les médicaments en sont souvent dépourvus [2].

Les plantes médicinales sont impliquées dans différents secteurs sous formes d'huiles, d'extraits et des solutions aqueuses ou organiques [1].

I. 2. Substances actives des plantes médicinales :

Les substances actives sont des molécules chimiques naturellement contenues dans les espèces végétales. Elles représentent les principaux composants dans les médicaments en leur conférant une activité thérapeutique.

Ces molécules qui se trouvent dans tous les organes de la plante, mais de manière inégale et qui n'ont pas les mêmes propriétés, appartiennent majoritairement aux métabolites secondaires. [3]

II. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des produits naturels à structures complexes, composant la fraction la plus active des composés chimiques des végétaux, ils varient dans leurs constituants selon les espèces. Ils sont connus par leurs exécutions des fonctions écologiques différentes notamment dans la défense contre les herbivores pathogènes [4].

Ces métabolites secondaires sont classés en trois principales familles : les alcaloïdes, les terpènes et les polyphénols.

II. 1. Composés phénoliques :

Les polyphénols forment une grande famille de molécules organiques qui sont synthétisées par les végétaux. Ils sont contenus dans tous les organes de la plante et sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant des groupements hydroxyles, libres ou engagés avec un glucide.

Ces molécules actives d'un potentiel substantiel en santé, sont importantes en alimentation humaine où elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Par ailleurs, elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques et thérapeutiques en raison de leurs pouvoirs antioxydants, anti-inflammatoires et antiviraux. Aussi, ces molécules jouent un rôle important dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel [5].

Selon leurs caractéristiques structurales, les polyphénols se répartissent en une dizaine de classes chimiques, dont les principales sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines.

1) Acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des molécules organiques aromatiques d'origine végétale, possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Les acides phénols ont des propriétés antioxydantes, anti-radicalaires, anti-inflammatoires, antiseptiques et antipyrétiques. Ils peuvent contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ainsi que celles liées au vieillissement en neutralisant les radicaux libres de l'organisme.

Il existe une grande variété de phénols qui peuvent être classés en fonction du nombre et de l'arrangement de leurs atomes de carbone. On distingue deux groupes d'acides-phénols : les acides hydroxycinnamiques (structure de base de type C6-C1) et les acides hydroxybenzoïques (C6-C3) [6].

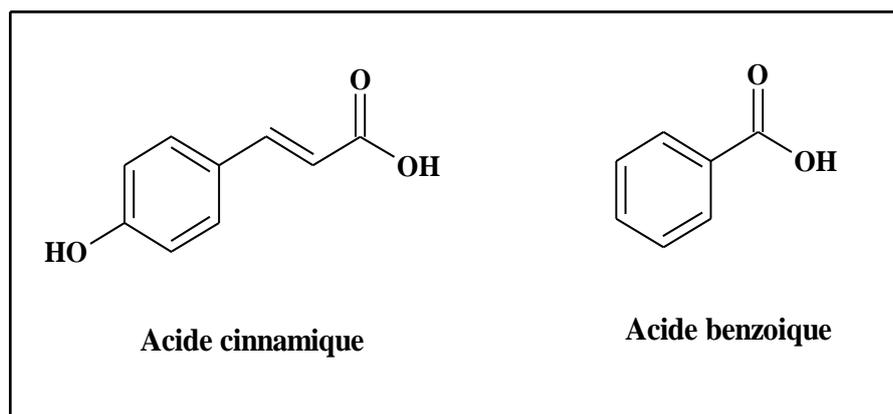


Figure 1 : Structures de base des acides phénoliques. [5]

2) Tanins :

Les tanins sont des molécules organiques contenus dans tous les végétaux, et dans tous leurs organes (écorces, feuilles, fruits, racines et graines). Ils appartiennent au groupe de substances phénoliques polymériques, avec des structures chimiques très variables [5].

L'utilisation principale des tanins est le tannage des peaux. Cette aptitude provient de la création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène. En plus, ils ont la capacité de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les alcaloïdes, les acides nucléiques et les métaux lourds pour former avec eux des complexes stables [7].

En raison de ces capacités, les tanins auraient des propriétés astringentes anti-diarrhéiques, antiseptiques [8], antioxydantes [9], antimicrobiennes [10], antifongiques, anti-mutagéniques et anticancéreuses [11]. Ces molécules possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques comme la régénération et la réparation des tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure ainsi que la régulation de la circulation veineuse. Par ailleurs, les tanins tonifient la peau à rides [8]. Ils sont également utilisés dans l'industrie des encres (par réaction avec des sels ferriques), la teinture d'étoffes, l'encollage du papier ou de la soie et la coagulation du caoutchouc [5].

Selon leurs structures et leurs propriétés, les tanins sont divisés en deux groupes principaux : les tanins hydrolysables (tannoïdes) qui sont des esters de l'acide gallique ou l'acide ellagique et les tanins condensés ou tanins catéchiques (proanthocyanidols) qui sont

des polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines [12].

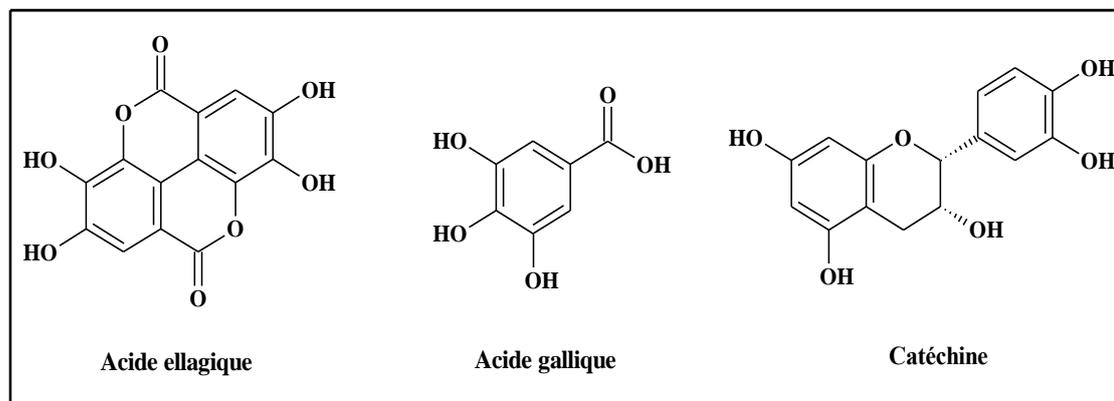


Figure 2 : Structures chimiques des tanins. [5]

3) Flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un grand groupe de composés phénoliques qui sont les plus abondants dans notre alimentation. Ils sont considérés comme des pigments naturels et généralement hydrosolubles. Ils sont responsables des colorations attirantes des fleurs, des fruits et des feuilles. Ces pigments actifs sont distribués dans la plupart des végétaux avec des structures chimiques variées où souvent, ils sont présents sous forme d'hétérosides [13].

La plupart des flavonoïdes qui ont été identifiés (plus de 5000 composés flavoniques) sont constitués de combinaisons aromatiques en anneau, reliés par un hétérocycle oxygéné. Ils se répartissent en plusieurs catégories : les flavones, les flavonols, les isoflavonoïdes, les flavanones, les flavanols, les flavanediols, les anthocyanidines, les chalcones et les aurones [14].

Ces composés sont connus principalement par leurs propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antioxydantes, diurétiques, anti-enzymatique et hépato protectrices. Ils sont également impliqués dans les processus photosynthétiques et dans la régulation des hormones de croissance des plantes [15].

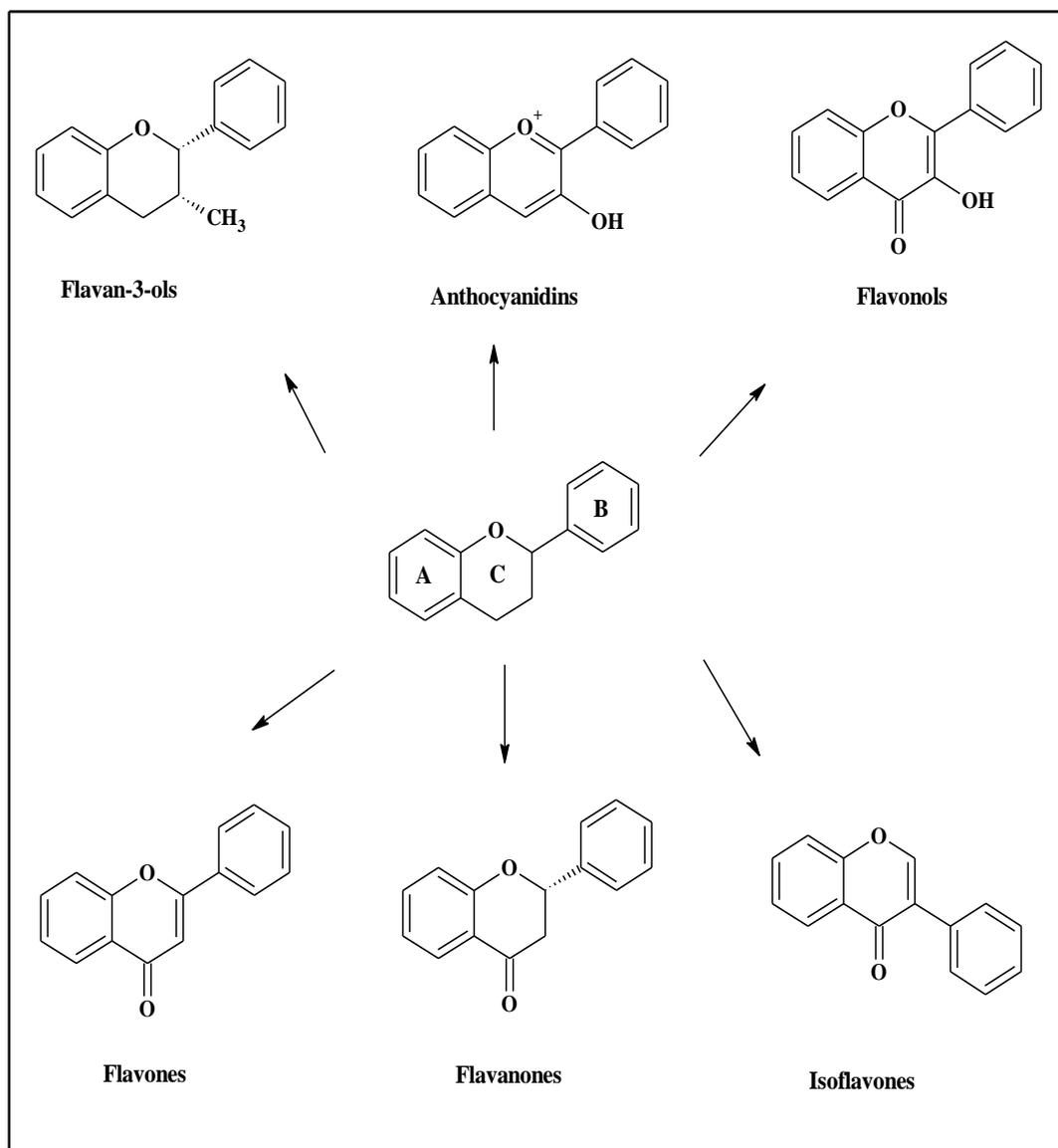


Figure 3 : Structure de base des principales classes des flavonoïdes. [13]

4) Coumarines :

Les coumarines sont des substances organiques aromatiques que l'on trouve dans de nombreuses plantes. Elles portent un noyau benzopyrone dans leurs structures.

Ces composés qui possèdent des propriétés très diverses, ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes [16].

En plus, les coumarines possèdent des effets cytotoxiques et des activités antivirales, antimicrobiennes, antifongiques, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices,

anticoagulantes, hypotensives. Elles sont aussi bénéfiques vis-à-vis des affections cutanées. Généralement, elles sont utilisées en parfumerie et dans les produits cosmétiques [17].

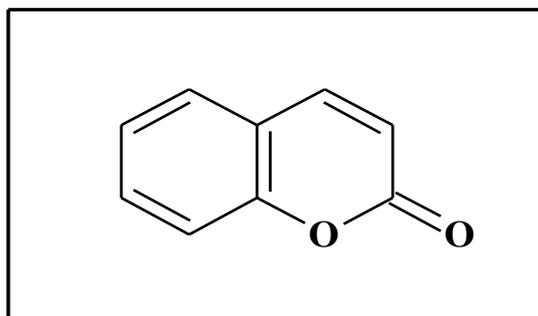


Figure 4 : Structure de base des coumarines. [18]

5) Anthocyanes :

Les anthocyanes sont des pigments naturels allant du rouge au bleu et sont responsables de la coloration des plantes. Ces pigments existent dans de nombreux végétaux sous forme des hétérosides oxygénés, solubles dans l'eau et les alcools, mais insolubles dans les solvants organiques apolaires. Elles sont caractérisées par leurs propriétés antioxydantes, vasoprotectrices et anti-œdémateuses. [19]

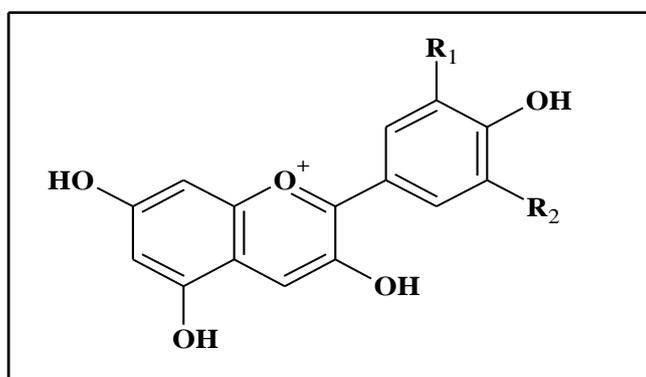


Figure 5 : Structure de base des anthocyanes.

II. 2. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de composés hétérocycliques azotés et basiques issus principalement des plantes, et caractérisés par un goût amer et une structure complexe. Ils sont peu solubles dans l'eau et solubles dans l'alcool.

La plupart des alcaloïdes qui représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ou toxiques sont utilisés dans plusieurs médicaments (morphine, quinine, cocaïne, atropine, codéine, caféine, éphédrine ...). Ils ont aussi une action physiologique remarquable sur le système nerveux (antispasmodique, mydriatique, anesthésique locale). [20]

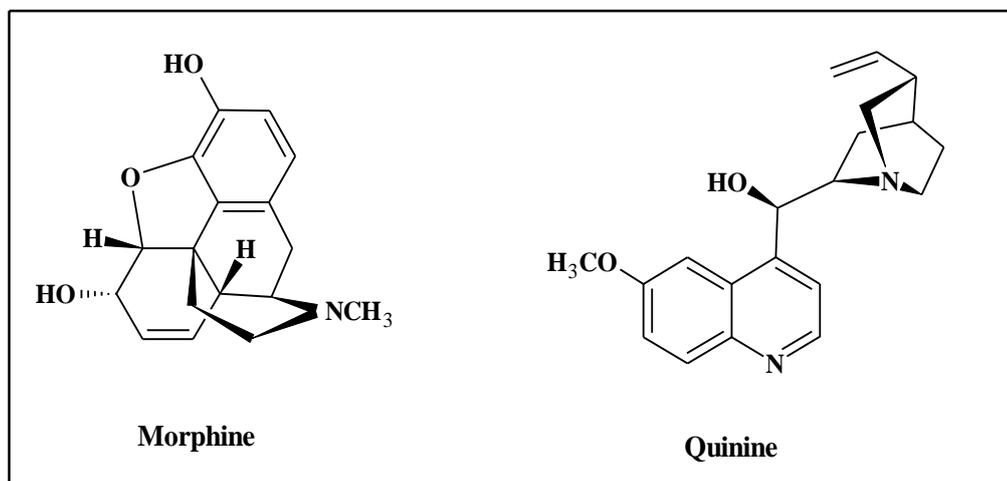


Figure 6 : Structures de quelques alcaloïdes.

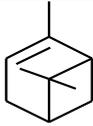
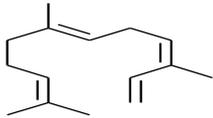
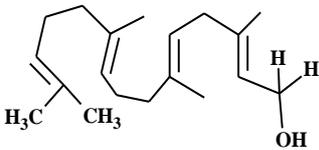
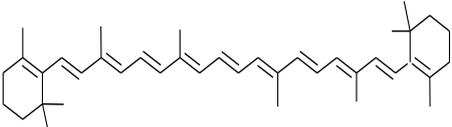
II. 3. Composés terpéniques :

Les terpènes (nommés aussi terpénoïdes ou isoprénoïdes) représentent une classe de composés hydrocarbonés naturels de structure cyclique ou linéaire [21]. Il a été répertorié plus de 30000 composés différents dont la grande majorité est spécifique au règne végétal et qui englobe les arômes et parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales ainsi que les lipides des membranes.[22]

Ces composés sont formés par l'assemblage d'unités isopréniques à 5 atomes de carbone. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes.

Les terpénoïdes prennent de plus en plus d'importance notamment à cause de leurs effets sur la santé. En effet, ils ont des propriétés : antimicrobienne, antifongique, antiparasitaire, antivirale, anti-allergénique, antispasmodique, anti-hyperglycémique, anti-inflammatoire et immunomodulatrice [23].

Tableau 1 : Squelettes structuraux de quelques terpènes. [24]

Classification	Formule brute	Exemple	Structure de base
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	α -pinène	
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	α -Farnesene	
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	Geranyl geraniol	
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	β -carotène	

II. 4. Saponosides :

Ce sont des substances hétérosidiques d'origine végétale qui existent dans de nombreuses plantes. Ils sont solubles dans l'eau et l'alcool, et caractérisés par des propriétés tensioactives, hémolytiques et aphrogènes dans les solutions aqueuses en la rendant moussante [5].

Il s'agit de composés amers à poids moléculaire élevé et de nature glycosidique. Composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, ils libèrent par hydrolyse, un ou plusieurs oses et une génine appelée sapogénine.

Ces hétérosides possèdent des activités antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antihémorroïdaires, antitumorales, antibactériennes, antitissives, anti-oedémateuses, antipyrétiques, antalgiques, immunomodulatrices et anticoagulantes. Ils sont également utilisés dans l'industrie, en pharmacie et en cosmétologie [25].

Selon la nature de la génine, les saponosides se classent en deux groupes : les saponosides à génine stéroïdique et les saponosides à génine triterpénique.

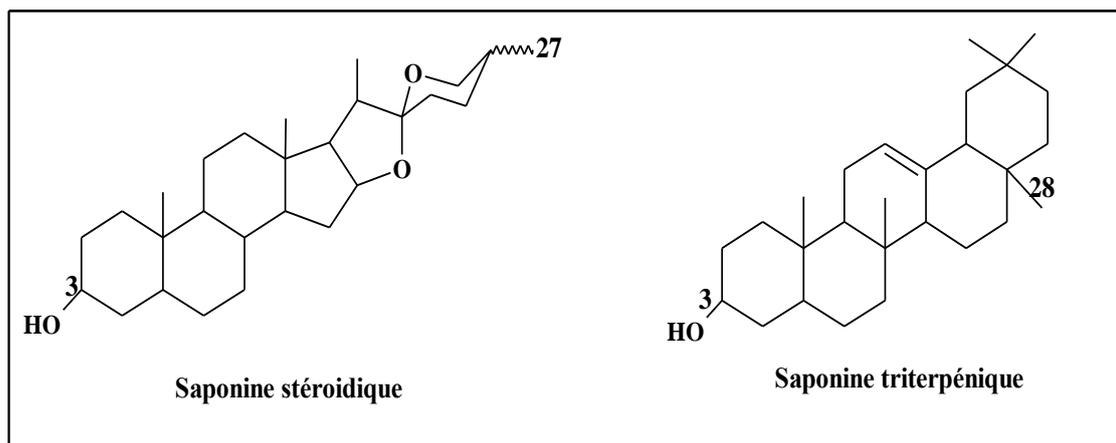


Figure 7 : Structures des saponosides à génine stéroïdique et triterpénique. [25]

II. 5. Mucilages :

Les mucilages sont des substances végétales de structures chimiques variées qui contiennent des molécules de glucose. Ces substances gonflent au contact de l'eau et forme une solution visqueuse (gel), parfois collante.

Les mucilages végétaux sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour leurs propriétés émoullientes à faible coût. En plus, ces mucilages non toxiques et non irritants sont utilisés contre la constipation et pour apaiser les muqueuses enflammées de la bouche et de la gorge. [26]

III. Métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des composés organiques de faible poids moléculaire qui sont synthétisés par les plantes. Ces composés ont un rôle principal dans la croissance et le développement des végétaux. Par ailleurs, ils sont aussi utilisés dans l'industrie alimentaire.

Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides et les glucides [27].

III. 1. Lipides :

Les lipides (corps gras) sont des substances organiques naturels insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires, et caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou une chaîne grasse [28].

Ces molécules ont plusieurs activités pharmacologiques dont les activités anti-inflammatoires et anti-œdémateuses. D'autre part, ces lipides qui constituent la principale réserve d'énergie, sont utilisés en alimentation, en diététique, en cosmétologie et dans l'industrie [29].

➤ **Acides gras :**

Les acides gras composent la partie huileuse lourde de la plante. Ce sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras).

La grande majorité des acides gras naturels sont des monoacides, caractérisés par une chaîne carbonée linéaire à nombre pair de carbone (allant de 4 à 36 atomes de carbone). Ces acides sont soit saturés, soit insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6. Ils constituent également des sources importantes d'énergie métabolique. [28]

1) Acides gras saturés :

De formule générale $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, chaque acide gras est constitué d'une chaîne hydrocarbonée, plus ou moins longue, fortement apolaire et un groupement carboxyle polaire. Les plus abondants sont l'acide palmitique et l'acide stéarique à 16 et 18 atomes de carbone respectivement.

2) Acides gras insaturés :

Ils présentent dans leur molécule une ou plusieurs doubles liaisons qui leur confèrent des propriétés physico-chimiques particulières.

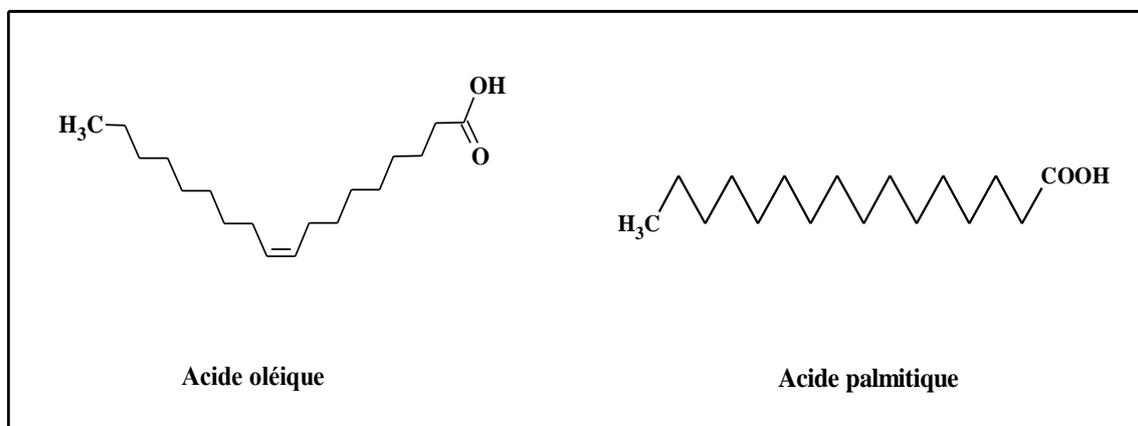


Figure 8 : Structures de quelques acides gras.

III. 2. Glucides : [30]

Les glucides (appelés aussi hydrates de carbone) sont des molécules organiques présentes dans toutes les cellules des organismes vivants, caractérisées par la présence de chaînons carbonés porteurs de groupements hydroxyles, et de fonctions carbonyles (aldéhyde ou cétonique) et parfois de fonctions alcooliques ou de fonctions carboxyle ou aminée. Ils représentent 70% du poids sec des végétaux, et forment une source importante d'énergie.

En fonction de leur volume et de leur solubilité, ils sont classés en monosaccharides (oses) et osides.

IV. Activités biologiques des plantes médicinales :

Les plantes médicinales possèdent de nombreuses activités biologiques, parmi lesquelles on trouve :

IV. 1. Activité antioxydante :

Durant les dernières années, une grande attention a été accordée aux composés naturels issus de plantes possédant des propriétés antioxydantes, grâce à leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, énergétiques... etc. [31] Ces antioxydants naturels suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs en vue de leur utilisation dans la conservation des aliments ou comme médicaments, à la place des antioxydants synthétiques qui présentent des effets secondaires indésirables [32].

Les antioxydants naturels les plus importants sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart de ces composés naturels possèdent des groupes hydroxy phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à leur capacité à piéger les radicaux libres [33].

Par ailleurs, pour évaluer l'activité antioxydante, il existe plusieurs méthodes dont la majorité est basée sur la mesure de la capacité relative des antioxydants à piéger les radicaux libres par rapport à un antioxydant standard [34]. Les tests les plus utilisés sont :

1) Test de réduction du radical stable DPPH :

Le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable de couleur violacée qui présente un maximum d'absorption vers 517 nm dans une solution de méthanol ou d'éthanol. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH se réduit en DPPHH (2,2 diphényl -1- picryl hydrazine) de couleur jaune [35].

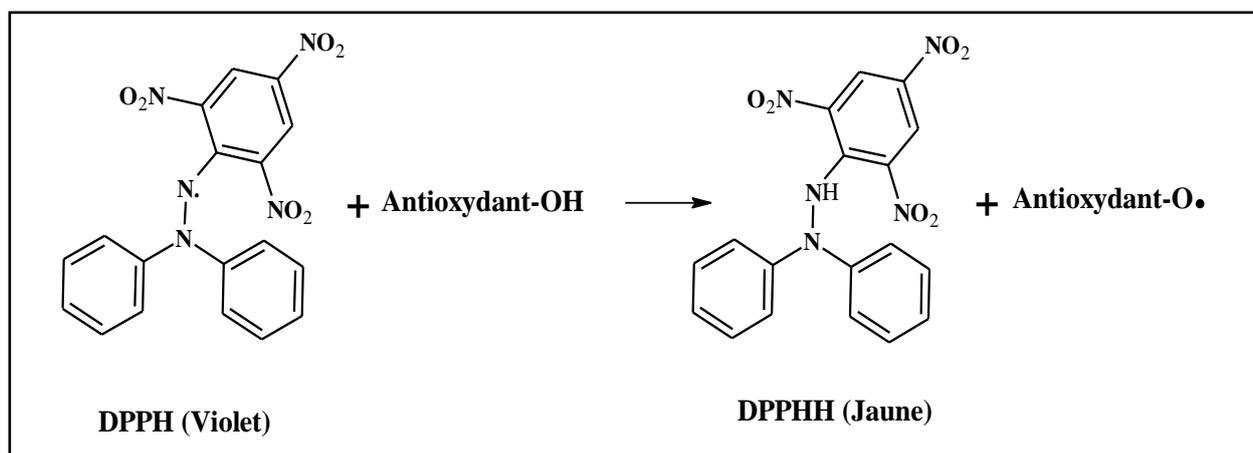


Figure 9 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

2) Test de réduction du fer (FRAP) :

Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur qui détermine la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant [36].

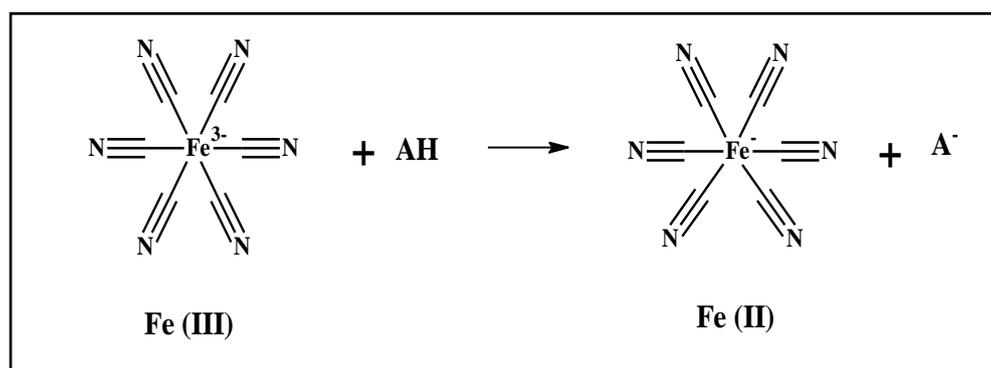


Figure 10 : Réaction du test FRAP.

3) Test de blanchissement ou de décoloration du β -carotène :

Dans ce test, la capacité antioxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par **Koleva [37]**. Cette méthode est basée sur la perte de la couleur jaune du β -carotène et donc de la consommation de celui-ci, due à la réaction avec les radicaux qui sont formés par l'oxydation de l'acide linoléique en émulsion. Le blanchissement du β -carotène, ralenti en présence d'antioxydants, est mesuré par un suivi spectrophotométrique à 470 nm. L'absorbance est ainsi lue au temps 0 puis au bout de deux heures.

4) Activité antioxydante totale (CAT) :

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* [38]**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} au molybdate Mo (V) en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate /Mo(V) à pH acide.

IV. 2. Activité antibactérienne :

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis longtemps. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues essentiellement à la fraction d'huile essentielle et aux composés phénoliques contenus dans ces plantes. Ces effets antimicrobiens sont mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments [39].

Ainsi, les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent la croissance des bactéries. Leur activité antimicrobienne dépend principalement de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [40]. En plus, les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses grâce à leur diversité structurale [41].

Parmi les méthodes applicables dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne : la dilution en milieu liquide (croissance bactérienne appréciée par l'apparition d'un trouble) ; la diffusion sur disque de cellulose (bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique) [42].

IV. 3. Activité antifongique :

Les antifongiques sont des substances qui manifestent un effet fongicide ou fongistatique. Ils sont efficaces sur les levures, les champignons. Ces composés sont efficaces contre les dermatophytes et les moisissures. Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans les composés aromatiques et phénoliques [43].

De plus, les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. Plusieurs travaux ont révélé que le pouvoir inhibiteur était essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire [44].

Références bibliographiques

1. Adenot, I., *Le pharmacien et les plantes : cultivez votre expertise* Date, in *Ordre national des pharmaciens* 2014: 75008 Paris. p. 14.
2. Jean, C. and S.M. Chadouli, *les plantes médicinales et aromatiques. Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich – Tétouan.* 2012. p. 5-7.
3. Pelt, J.M., *Les drogues : leur histoire et leurs effets*, Paris : Doin, Editor. 1980. p. 219
4. Ogbemudia, F.O. and E.O. Thompson, *Variation in Plants Secondary Metabolites and Potential Ecological Roles – A Review.* International Journal of Modern Biology and Medicine, 2014. **5**(3): p. 111-130.
5. Bruneton, J., *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.* 4 ed. Technique et Documentation. 2009. p. 1268.
6. Kim, K.-H., et al., *Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions.* Food Chemistry, 2006. **95**(3): p. 466-473.
7. Gedir, J.V., P. Sporns, and R.J. Hudson, *Extraction of condensed tannins from cervid feed and feces and quantification using a radial diffusion assay.* Journal of Chemical Ecology, 2005. **31**(12): p. 2761–2773.
8. Kansole, M., et al., *Ethnobotany and Ethnopharmacognosy of Lamiaceae Species from Central Burkina Faso: Leucas martinicensis (Jacquin) R. Brown, Hoslundia opposita Vahl and Orthosiphon pallidus Royle Ex Benth.* American Journal of Ethnomedicine, 2015. **2**(4): p. 219-232.
9. Zargham, H. and R. Zargham, *Tannin extracted from Sumac inhibits vascular smooth muscle cell migration.* McGill journal of medicine : MJM : an international forum for the advancement of medical sciences by students, 2008. **11**(2): p. 119-123.

10. Doughari, J.H., et al., *Phytochemicals as chemotherapeutic agents and antioxidants: Possible solution to the control of antibiotic resistant verocytotoxin producing bacteria*. Journal of Medicinal Plant Research, 2009. **3**(11): p. 839-848.
11. Heber, D., *Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins*. Cancer Letters, 2008. **269**(2): p. 262-268.
12. Hopkins, W.G., *Physiologie végétale*. 2 édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris ed. 2013. p. 514.
13. Jedinak, A., et al., *Approaches to flavonoid production in plant tissue cultures*. Biologia Bratislava, 2004. **59**(6): p. 697-710.
14. Leonard, E., Y. Yan, and M.A.G. Koffas, *Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in Escherichia coli*. Metabolic Engineering, 2006. **8**(2): p. 172-181.
15. Subramanian, S., G. Stacey, and O. Yu, *Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation*. Trends in Plant Science, 2007. **12**(7): p. 282-285.
16. Igor, P.L.B., *Etude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam. (Rutaceae)*, in *Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie*. 2003, Bamako. p. 33.
17. Medimagh-Saidana, S., et al., *Synthesis and antimicrobial activity of novel coumarin derivatives from 4-methylumbelliferone*. Medicinal Chemistry Research, 2015. **24**(8): p. 3247–3257.
18. Zhao, H., et al., *Coumarin-Based Inhibitors of HIV Integrase*. Journal of Medicinal Chemistry, 1997. **40**(2): p. 242-249.
19. Wrolstad, R.E., R.W. Durst, and J. Lee, *Tracking color and pigment changes in anthocyanin products*. Trends in Food Science & Technology, 2005. **16**(9): p. 423-428.
20. Zenk, M.H. and M. Juenger, *Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds*. Phytochemistry, 2007. **68**(2007): p. 2757-2772.

21. Elkolli, M., *Cours : structure et activités des substances naturelles : principes et applications* in *Ecologie microbienne*. 2017, Université Ferhat Abbas de Sétif. p. 65.
22. Lemouchi, R., *Valorisation de quelques plantes du Nord (Est et Ouest) Algérien: activités biologiques, caractérisation et spécificité des huiles essentielles.* , in *Biologie Végétale et Environnement*. 2017, Université Badji Mokhtar - Annaba. p. 4-10.
23. Bouratoua, A., *Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces algériennes Athamanta sicula L. et Ferula longipes Coss. ex Bonnier et Maury(Apiaceae)*, in *Chimie pharmaceutique*. 2018, Université des frères mentouri-constantine 1. p. 29.
24. Benabdelkader, T., *Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, Lavandula stoechas Sensu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique*, in *Biologie et Ecophysiologie Végétale*. 2012, l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger, Algérie. p. 6.
25. Rafamantanana, M.H., *Mise au point et validation de méthodes analytiques pour le contrôle de qualité de plantes médicinales malgaches et la mise en place de cultures locales*, in *Sciences Pharmaceutiques et Biomédicales*. 2012, Catholique de Louvain. p. 177.
26. Ray, S., et al., *Characterization of mucilage polysaccharides, arabinogalactan-proteins and cell-wall hemicellulosic polysaccharides isolated from flax seed meal: A wealth of structural moieties*. *Carbohydrate Polymers*, 2013. **93**(2): p. 651-660.
27. Benslama, A., *Substances d'origine végétale*, in *sciences de la nature et de la vie*. 2016, Université Mohamed Khider-Biskra. p. 68.
28. Toutou, Y., *Biochimie : structure des glucides et lipides*. 2005, Université Pierre et Marie Curie. p. 48.
29. Bouhadjra, K., *Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes .Oudneya africana R.Br. et Aristida pungens L.*, in *Chimie Organique Appliquée*. 2005, Université abou bekr belkaid. p. 56.

30. Nachi, M., *Biochimie Structurale et Métabolique*. 2018, Université Ahmed Benbella. p. 25.
31. Di Stefano, V., et al., *Applications of liquid chromatography–mass spectrometry for food analysis*. Journal of Chromatography A, 2012. **1259**: p. 74-85.
32. Velioglu, Y., et al., *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998. **46**: p. 4113-4117.
33. Amorati, R., M.C. Foti, and L. Valgimigli, *Antioxidant Activity of Essential Oils*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013. **61**(46): p. 10835-10847.
34. Zaporozhets, O.A., et al., *A New Test Method for the Evaluation of Total Antioxidant Activity of Herbal Products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004. **52**(1): p. 21-25.
35. Parejo, I., et al., *Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity*. Life Sciences, 2003. **73**(13): p. 1667-1681.
36. Oyaizu, M., *Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine products derived from bees*. J Pharm Biomed Anal, 1986. **41**: p. 1220-34.
37. Koleva, I.I., et al., *Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods*. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, 2002. **13**(1): p. 8-17.
38. Prieto, P., M. Pineda, and M. Aguilar, *Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E*. Analytical biochemistry, 1999. **269**(2): p. 337-341.
39. Selles, C., *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M*. 2012, Université Abou Bekr Belkaid. p. 5-7.

40. Šipailienė, A., et al., *Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils*. Journal of Essential Oil Research, 2006. **18**(6): p. 698-703.
41. Cowan, M.M., *Plant products as antimicrobial agents*. Clinical microbiology reviews, 1999. **12**(4): p. 564-582.
42. Burnichon, N. and A. Texier, *L'antibiogramme: la détermination des sensibilités aux antibiotiques*. Des bactériolo, 2003. p. 35.
43. Ouibrahim, A., *Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (Laurus nobilis L., Ocimum basilicum L. et Rosmarinus officinalis L.) de l'Est Algérien*. 2015, Université Badji Mokhtar - Annaba. p.17.
44. Knobloch, K., et al., *Antibacterial and antifungal properties of essential oil components*. Journal of Essential Oil Research, 1989. **1**(3): p. 119-128.

CHAPITRE II :

GENERALITES SUR LES

HUILES ESSENTIELLES

I. Huiles essentielles :

I. 1. Définition et caractéristiques :

Les huiles essentielles ou huiles volatiles communément appelées essences aromatiques végétales, sont des liquides huileux, volatils et ayant une odeur caractéristique. Elles sont composées d'un mélange naturel complexe de nombreux composés aromatiques de nature hydrophobe et liposoluble. Ces composés sont des molécules organiques comme les terpènes, les phénols, les hydrocarbures saturés et insaturés, les méthyles-éthers, les oxydes, les esters, les cétones, les alcools, les aldéhydes et les acides [1].

Ces substances volatiles sont produites par les plantes aromatiques, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage [2].

Les huiles essentielles sont largement distribuées dans le règne végétal et se localisent dans tous les organes végétaux (les fleurs, les fruits, les graines, les feuilles, les tiges, les écorces, les racines, etc.). En effet, les plantes aromatiques appartiennent à un nombre limité de familles: les lamiacées, les myrtacées, les rutacées, les cupressacées, les pinacées, les apiacées, les astéracées, les lauracées, les pipéracées, les poacées et les zingibéracées [3].

I. 2. Composition chimique et facteurs de variabilité :

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux odorants très concentrés et de compositions chimiques très complexes. Ces dernières peuvent varier en fonction de l'espèce productrice, selon l'organe, les races chimiques, les facteurs climatiques, la nature du sol, la période de récolte, les pratiques culturales, les facteurs de l'environnement ainsi que les modes de conservation et d'extraction [4].

Ces extraits sont constitués de plusieurs molécules aromatiques dans des proportions très variables. En général, les huiles essentielles sont un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Leur structure varie en fonction du nombre d'atomes de carbone qui la constitue, du caractère saturé ou insaturé des liaisons, et de leur agencement (linéaire ou cyclique), de la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...) et de la nature des groupes fonctionnels (terpènes, alcools terpéniques, cétones, phénols.) [5].

On distingue trois catégories caractérisées par des origines biogénétiques spécifiques :

1) Terpènes et terpénoïdes :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques [6]. Les terpénoïdes désignent l'ensemble des substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$ et leur classification est basée sur le nombre d'unités isoprène. Donc, on distingue les monoterpènes (10 atomes de carbone), les sesquiterpènes (15 atomes de carbone), les diterpènes (20 atomes de carbone), triterpènes (30 atomes de carbone), tétraterpènes (40 atomes de carbone) et les polyterpènes [7].

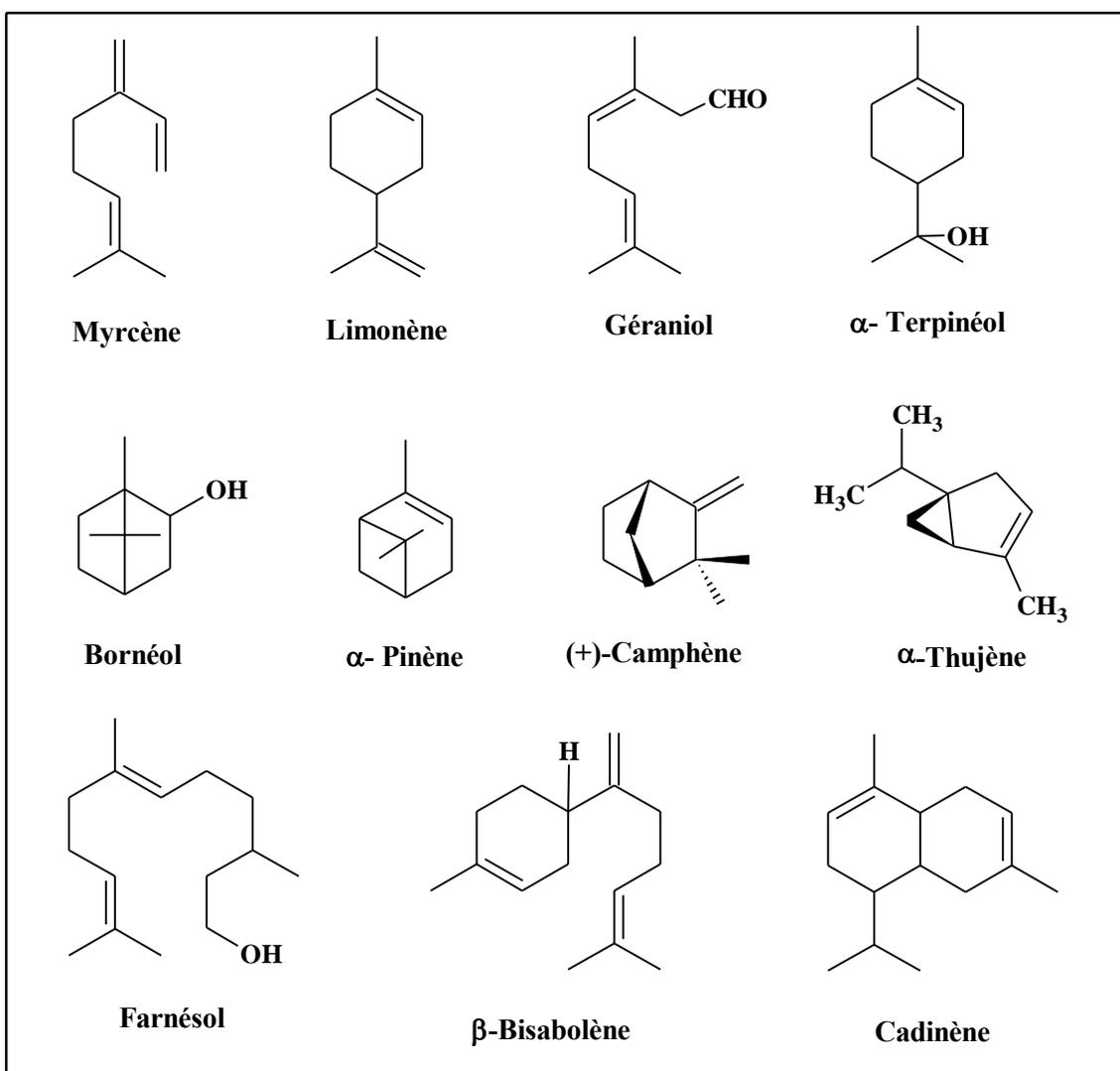


Figure 11 : Structures chimiques de quelques mono- et sesquiterpènes.

Les huiles essentielles ne contiennent que les terpènes de faible poids moléculaire (les monoterpènes, les sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes).

Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques [6].

2) Composés aromatiques :

Les composés aromatiques dérivant du phénylpropane (C₆-C₃), sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénole, l'anéthol, l'éstragol et bien d'autres. Ils sont rencontrés dans les huiles essentielles des apiacées et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'éstragon, etc. Ils se distinguent entre eux par :

- ✚ le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy ;
- ✚ la position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique ;
- ✚ le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone, acide, etc.).

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. [6]

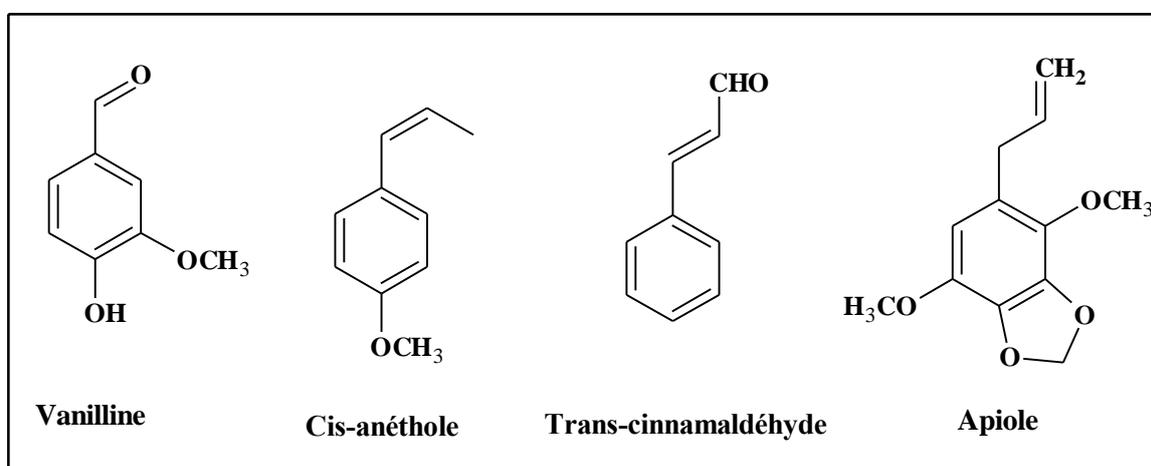


Figure 12 : Structures chimiques de quelques composés aromatiques.

3) Composés d'origines diverses :

Les huiles essentielles peuvent contenir divers composés de faible masse moléculaire. Ces produits sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de

fonctions différentes : acide (de C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes, esters, lactones et produits azotés ou soufrés. [6]

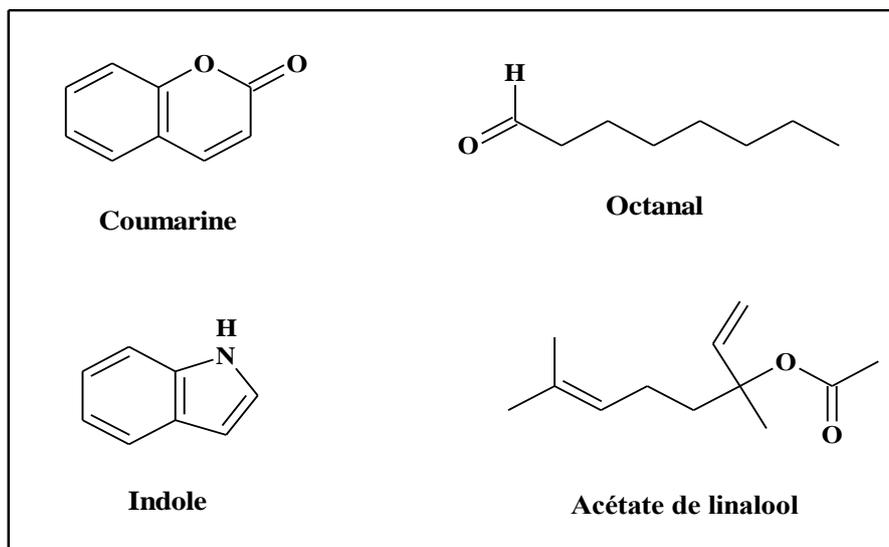


Figure 13 : Structures chimiques de quelques constituants des huiles essentielles.

I. 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs techniques qui permettent d'extraire les huiles essentielles. Les plus utilisées sont la distillation par entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.

I. 3. 1. Hydrodistillation :

C'est la technique la plus simple et la plus employée pour l'extraction des huiles essentielles. Elle consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau qui est ensuite portée à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur due au chauffage, entraîne la formation de vapeurs et permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par courant d'eau. Après condensation et par différence de densité, l'eau et les composés aromatiques se séparent en une phase aqueuse et une phase organique représentant l'huile essentielle. La phase aqueuse contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat).

Lors de l'hydrodistillation, la durée d'extraction et la quantité du matériel végétal influent sur le rendement et la composition de l'extrait. [8]

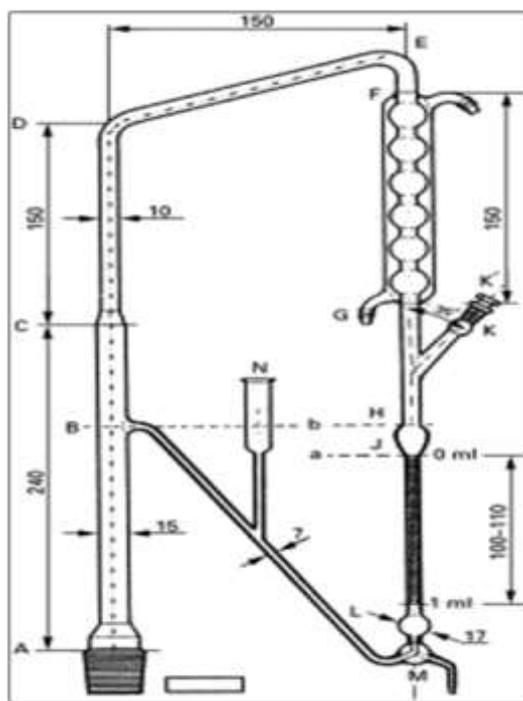


Figure 14 : Appareil Clevenger. [9]

I. 3. 2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau :

Dans ce type de distillation, la matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau. Elle est traversée par un courant de vapeur d'eau qui est produite dans une chaudière séparée. Les substances volatiles hydrophobes sont entraînées dans un dernier ballon où elles vont être condensées au contact d'un réfrigérant à eau. Après condensation, la séparation se fait par décantation. Cette méthode apporte une amélioration à la qualité des huiles essentielles en minimisant les altérations hydrauliques [4].

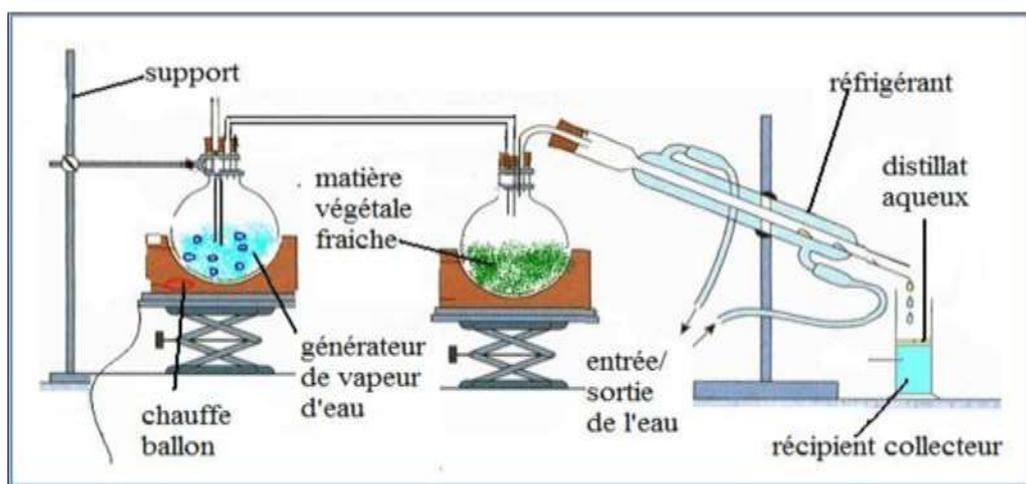


Figure 15 : Montage de distillation par entrainement à la vapeur. [10]

I. 3. 3. Autres techniques :

- **Hydrodiffusion :**

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur, employée par les industriels pour la production d'huiles essentielles et d'hydrolats à grande échelle. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette technique est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils [11].

- **Enfleurage :**

L'enfleurage (macération à saturation) est une technique ancienne assez difficile et est utilisée pour l'extraction des plantes aromatiques destinées surtout à la parfumerie. Elle est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses, et est réservée aux organes dont l'arôme est trop fragile pour supporter la chaleur d'une distillation. [12].

- **Extraction aux solvants volatils :**

Cette technique remplace aujourd'hui celle de l'enfleurage, et est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. Elle consiste à faire macérer la matière végétale dans un solvant organique volatil (l'éther diéthylique, l'hexane, pentane, etc.) afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant. Après filtration, la concrète (mélange de cires inodores et de composés odorants) est alors mélangée à de l'alcool, refroidi et filtré. Le mélange est donc concentré par évaporation du solvant à température ambiante [13].

- **Extraction assistée par micro-ondes :**

L'extraction par micro-ondes est une nouvelle technique d'extraction impliquant une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière végétale. Cette méthode permet de réaliser des extractions du matériel végétal à pression atmosphérique et à un temps de chauffage réduit ce qui évite la perte et la dégradation des composés volatils et thermosensibles. Elle consiste à chauffer l'extractant (eau ou solvant organique) mis en contact avec la plante sous l'énergie de micro-ondes ce qui permet un chauffage homogène. [14]

- **Extraction au CO₂ supercritique :**

L'extraction par le CO₂ supercritique est une technique d'extraction à froid des matières premières végétales où le solvant (CO₂) est un fluide supercritique naturel, inerte chimiquement et non toxique.

Cette méthode consiste à placer la matière végétale bien broyée dans un extracteur puis la mettre en contact avec le CO₂ supercritique qui vient d'être comprimé et chauffé à une température maximale de 40°C. Le CO₂ chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Ensuite, le mélange passe dans un séparateur, où l'huile essentielle est dissoute et le CO₂ est détendu et se vaporise car ici à l'état supercritique, il redevient gazeux et se sépare très facilement de l'huile essentielle obtenue [15].

- **Micro extraction en phase solide (SPME) :**

La micro extraction en phase solide est une nouvelle technique d'extraction des analytes sans solvant à partir d'échantillons solides, liquides ou gazeux par adsorption sur une fibre silice fondue et revêtue d'un polymère puis désorption dans un injecteur de chromatographe, soit en phase gazeuse (CPG), soit en phase liquide (CPL). Elle permet de piéger des composés avec une aiguille rétractable recouverte d'une phase adaptée aux analytes dans un milieu ambiant ou fermé. Cette aiguille est introduite à l'intérieur d'un injecteur et les composés sont désorbés thermiquement.

Cette technique permet de réduire la durée et le coût de l'analyse et de gagner en fiabilité de manière significative en combinant l'extraction, la concentration, et l'injection dans un chromatographe en un processus unique et automatisé [16].

I. 4. Rôle et action biologique des huiles essentielles :

Depuis la plus haute antiquité, les huiles essentielles des plantes sont utilisées à des fins thérapeutiques, alimentaires, chimiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles. La diversité moléculaire des composants qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variées [17].

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle défensif important dans la protection des plantes contre les prédateurs (micro-organismes, champignons, bactéries,

animaux herbivores). Aussi, elles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement en attirant les insectes pollinisateurs grâce à leur odeur. [6]

En effet, les huiles essentielles occupent une place importante, pour leurs nombreuses propriétés biologiques qui sont en relation étroite avec la structure chimique de ses composants. Elles sont utilisées pour leurs propriétés antimicrobienne, antioxydante, antivirale, antifongique, anti-inflammatoire, antiparasitaire et anticancéreuse.

Ces huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Leur spectre d'action est très étendu car elles agissent contre un large éventail de bactéries. En général, les phénols suivis des aldéhydes puis des cétones ensuite les alcools sont d'une efficacité antibactérienne et antifongique remarquable [17].

En outre, les monoterpènes cycliques et les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles présentent des effets anti-inflammatoires et hypotenseurs [18].

Des études ont montré que certaines huiles essentielles possèdent l'étonnante capacité de combattre certaines pathologies virales. Elles ont la capacité de renforcer et de relancer les défenses immunitaires de l'individu et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers [6].

Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Leurs constituants terpéniques possèdent des propriétés digestives ou des propriétés antispasmodiques, sédatives, cicatrisantes [6]. Généralement, elles ont le pouvoir de calmer les spasmes, à lutter contre les différents types de douleurs, de régénérer les tissus qui ont été abimés et de favoriser la cicatrisation des blessures. Elles sont aussi efficaces contre la formation des gaz au niveau abdominal et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion [18].

Par ailleurs, certaines molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles sont efficaces pour protéger des attaques des insectes et sont donc considérées comme une source naturelle de produits insecticides.

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines industriels pour leurs activités antioxydantes en empêchant les réactions néfastes en chaîne provoquées par les radicaux libres. [12].

Généralement, chaque huile essentielle possède des propriétés spécifiques liées aux différents composants qu'elle contient. Ces activités sont par ailleurs variables d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche à l'autre.

II. Hydrolat :

II. 1. Définition :

Les hydrolats plus connus sous le nom « eaux florales », sont des eaux aromatiques qui contiennent des molécules volatiles hydrosolubles de l'huile essentielle ainsi que des composants végétaux hydrosolubles. Ces extraits naturels proviennent de la vapeur d'eau recondensée lors de l'extraction des huiles essentielles [19].

Au cours de la distillation, les molécules aromatiques sont entraînées par la vapeur d'eau qui se condense au contact des parois froides d'un réfrigérant. L'eau se dissocie spontanément de l'huile essentielle du fait de leur non miscibilité tout en conservant une petite portion des composés volatils de l'huile essentielle. Cette eau est plus ou moins aromatisée car elle est chargée en molécules aromatiques [20].

II. 2. Composition chimique :

L'hydrolat contient des composés hydrosolubles et volatils semblables à ceux présents dans l'huile essentielle ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile.

La fraction de l'huile essentielle présente dans l'hydrolat est extrêmement aromatique et sa composition est souvent différente de l'huile primaire, mais les principaux composés de l'hydrolat sont généralement les mêmes que ceux présents dans la fraction oxygénée de l'HE. La composition d'hydrolat est riche en composés oxygénés hydrophiles alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps quasi-absents [21].

II. 3. Utilisations et activités biologiques des hydrolats :

Ces dernières années, les hydrolats ont été largement utilisés dans les préparations thérapeutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs propriétés pharmacologiques et biologiques importantes. L'efficacité de ces extraits est due à leur non toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leur faible proportion en principes actifs [22].

En effet, les hydrolats sont utilisés dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes et astringentes [21].

Les hydrolats ont une grande importance en aromathérapie car elles induisent de nombreux effets curatifs. De plus, ils s'utilisent dans le domaine de l'alimentaire et de la pharmaceutique pour leurs activités antibactérienne et anti-inflammatoire qui sont due à la présence de phénols monoterpéniques [23].

En outre, les hydrolats révèlent une capacité antioxydante où ils pourraient être utilisés comme une alternative aux additifs synthétiques qui convertissent certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogéniques [24].

Récemment, les hydrolats ont été exploités en agro-alimentaire et en cosmétique comme agents antifongiques naturels [25]. Ils trouvent également leur application en agriculture pour fertiliser les sols et contre les champignons, la moisissure et les insectes [26].

III. Méthodes d'analyses des huiles essentielles et des extraits d'hydrolat :

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques parmi lesquelles, les techniques chromatographiques. Ces dernières sont les plus appliquées pour identifier et séparer les structures chimiques des huiles essentielles.

✚ Chromatographie en phase gazeuse CPG :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation d'un mélange de molécules volatiles. Elle s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

Cette méthode repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse où la séparation de ces analytes repose sur la différence d'affinité de ces composés pour la phase mobile et pour la phase stationnaire. Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz vecteur, qui constitue la phase mobile. Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcanes ou à plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante [27].

Pour compléter les analyses et déterminer la composition chimique exacte d'une huile essentielle, les chromatographes sont souvent couplés à d'autres instruments analytiques, notamment avec la spectrométrie de masse (SM).

✚ Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/SM :

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse pour la détection et l'identification de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des composés d'un échantillon à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM. Les spectres de masse obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales, ou construites au laboratoire [8].

Lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature, il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatoires telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en Phase Gazeuse Préparatoire (CGP).

L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN H1) et du carbone 13 (RMN C13), la Spectrométrie de Masse (SM), l'infrarouge à transformée de fourrier, etc. [28]

IV. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

IV. 1. Caractéristiques physiques :

1) Densité relative :

La densité relative à la température ordinaire d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à la température ordinaire à la masse d'un égal volume d'eau distillée à cette température [29].

2) Indice de réfraction :

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante [29].

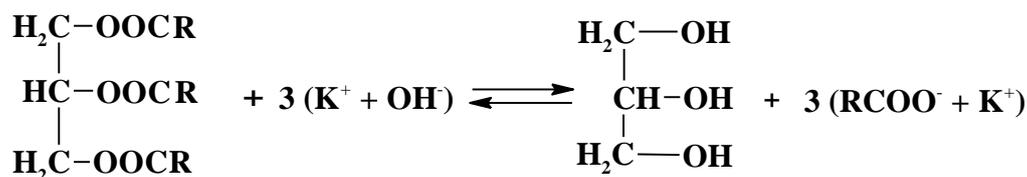
IV. 2. Caractéristiques chimiques :

1) Indice d'acide (I.A) :

L'indice d'acide est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme d'huile essentielle. Cet indice apporte un renseignement précieux sur la qualité de la conservation de l'huile [30].

2) Indice de saponification (I.S) :

Il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la saponification d'un gramme d'huile selon la réaction chimique suivante :



La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides que renferment l'huile [30].

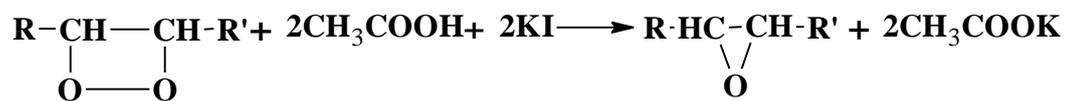
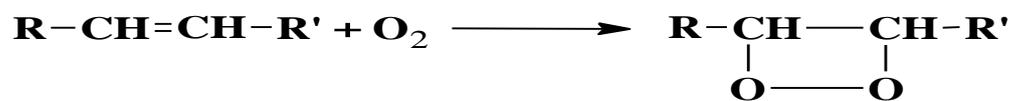
3) Indice d'iode (I.I) :

L'indice d'iode (I.I) d'une huile est le nombre de milligrammes d'halogène exprimé en iode fixé par 100 grammes d'huile. Le principe de sa détermination est basé sur la fixation d'halogènes par les doubles liaisons des acides gras insaturés. Il permet donc d'évaluer le taux d'insaturation moyenne de l'huile. [29]

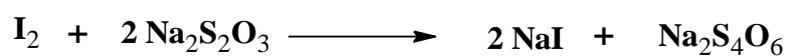
4) Indice de peroxyde (I.P) :

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec

libération d'iode. L'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile [30].



L'iode libéré réagit avec le thiosulfate de sodium selon la réaction suivante :



Références bibliographiques

1. Ali, B., et al., *Essential oils used in aromatherapy: A systemic review*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2015. **5**(8): p. 601-611.
2. *Huiles essentielles Tome 1 Échantillonnage et méthodes d'analyse*. 6 ed. Editions Recueil normes. Association française. 2000, Paris La Défense: AFNOR. p. LV-471.
3. Desramaux, M., *Huiles essentielles en dermocosmétologie*, in *Sciences pharmaceutiques*. 2018, Université de Bordeaux. p. 45.
4. Jouault, S., *La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité*. 2012, Université de Lorraine. p. 37.
5. Mailhebiau, P., *La Nouvelle aromathérapie : caractérologie des essences et tempéraments humains*. 1994, Lausanne: Editions Jakin. p. 127.
6. Ouis, N., *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil*. 2015, Université d'Oran 1. p. 24.
7. Bakkali, F., et al., *Biological effects of essential oils – A review*. Food and Chemical Toxicology, 2008. **46**(2): p. 446-475.
8. Sutour, S., *Study of chemical composition of essential oils and extracts of Corsican mint and kumquats*. 2010, Université de Corse. p. 65.
9. Bicchi, C., *Essential oils / Gas Chromatography*, in *Encyclopedia of Separation Science*, I.D. Wilson, Editor. 2000, Academic Press: Oxford. p. 2744-2755.
10. Dallel, M., *Isolement et élucidation structurale d'une flavanone, d'un acide phénolique et d'un hétéroside stéroïdique des fleurs de la plante Anacyclus cyrtolpidioides (Pomel)*. 2010, Université de monastir. p. 54.
11. Laurent, J., *Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine* in *Sciences pharmaceutiques* 2017, Université Paul Sabatier Toulouse III. p. 25.

12. Lemouchi, R., *Valorisation de quelques plantes du Nord (Est et Ouest) Algerien: activités biologiques, caractérisation et spécificité des huiles essentielles.*, in *Biologie Végétale et Environnement*. 2017, Université Badji Mokhtar - Annaba. p. 22-25.
13. Mnayer, D., *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens*. 2014, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. p. 56.
14. Lucchesi, M.-E., *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. 2005, Université de la Réunion. p. 47.
15. Deschepper, R., *Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie*. 2017, Université d'Aix-Marseille. p. 22.
16. Papet, Y., B. Brunet, and P. Mura, *Headspace (HS) et micro-extraction en phase solide (SPME). Théorie et applications Annales de Toxicologie Analytique*, 2010. **22**(2): p. 75-79.
17. Haddouchi, F. and A. Benmansour, *Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques*. Technologies de Laboratoire, 2008. **8**: p. 20-27.
18. Selles, C., *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M*. 2012, Université Abou Bekr Belkaid. p. 37-43.
19. Joanna, H., *Le Guide des huiles essentielles et leurs applications thérapeutiques*. Le Courrier du livre ed. 2012. p. 256.
20. Price, L. and S. Price, *Understanding hydrolats : the specific hydrosols for aromatherapy : a guide for health professionals* 1ed. Understanding Hydrolats S. 2004: Edinburgh : Churchill Livingstone. p. 312.
21. Zekri, N., *Étude phytochimique et Activités Biologiques des Huiles Essentielles et des Extraits des M. pulegium (L.), M. suaveolens (Ehrh.) et M. spicata (L.) du Moyen-*

- Atlas Marocain*, in *Chimie de l'environnement*. 2017, Université Mohammed V. p. 197.
22. Verma, R., R. Padalia, and A. Chauhan, *Analysis of the Hydrosol Aroma of Indian Oregano*. Medicinal & Aromatic Plants, 2012. **1**(7): p. 1-3.
23. Sagdic, O. and M. Özcan, *Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols*. Food Control, 2003. **14**(3): p. 141-143.
24. El Amine Dib, M., et al., *Chemical Composition of Essential Oils and Hydrosol Extracts of Daucus muricatus and Assessment of Its Antioxidant Activity*. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 2015. **21**(1): p. 23-37.
25. Wojcik-stopczynska, B., P. Jakoweinko, and G. Wysocka, *The estimation of antifungal activity of essential oil and hydrosol obtained from wrinkled-leaf mint (Mentha crispa L.)*. HerbaPolonica, 2012. **58**(1): p. 6-15.
26. Paolini, J., et al., *Comparison of liquid–liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species*. Journal of Chromatography A, 2008. **1193**(1): p. 37-49.
27. Tranchant, J., *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. 1995, Paris: Masson. p. 25.
28. Paolini, J., *Characterization of essential oils of Cistus albidus and two endemic Asteracea from Corsica using GC/Ri, GC/MS(EI and CI) and C13-NMR*. 2005, Université de Corse. p. 22.
29. Bruneton, J., *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. 2 ed. 1993: Technique et documentation-Lavoisier, Paris, France. p. 915.
30. Wolff, J.P., *Manuel d'analyse des corps gras*. 1968, Paris: Azoulay. p. 553.

CHAPITRE III :
PRESENTATION DES PLANTES
ETUDIEES

I. Etude de l'espèce *Rhus pentaphylla* Desf.

I. 1. Famille des Anacardiaceae :

La famille des Anacardiaceae (appelée aussi Térébinthacées), constitue une importante famille des plantes Angiospermes Dicotylédones Sapindales [1]. Cette famille qui regroupe des plantes à fleurs, réparties en 70 genres et 600 espèces tropicales (principalement) et subtropicales, est répandue dans toutes les parties chaudes de la terre et surtout en Asie tropicale, avec quelques représentants sur le pourtour méditerranéen et dans les régions tempérées de l'Amérique du Nord [2].

Les feuilles caduques sont généralement alternes et peuvent être simples (unifoliolées) ou composées imparipennées ou bien trifoliolées [3]. Les fleurs sont petites, régulières, ou souvent unisexuées. Les fruits sont des drupes sèches plus ou moins succulents [3].

I. 2. Genre *Rhus* :

Le *Rhus* est le plus grand genre de la famille des Anacardiaceae qui inclut plus de 250 espèces, communément appelés sumacs. Ce sont des arbustes ou de petits arbres pouvant atteindre une hauteur de 1 à 10 mètres. Les sumacs sont des végétaux monoïques, dioïques ou polygames qui poussent dans les régions subtropicales et tempérées à travers le monde, en particulier en Afrique et en Amérique du Nord [3].

Les espèces de ce genre ont une importance médicinale et attirent l'attention des chercheurs. Elles fournissent des bioproduits qui ont des activités biologiques : antifongique, antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antipaludique, antitumorigène, antivirale et hypoglycémiant. Elles renferment une oléorésine riche en molécules phénoliques à longues chaînes latérales insaturées [4].

En Algérie, on trouve principalement trois types de *Rhus* : *R. coriaria*, *R. tripartitum* et *R. pentaphylla* [5].

I. 3. Espèce *Rhus pentaphylla* Desf. :

1. Classification botanique :

Tableau 2 : Classification systématique de *Rhus pentaphylla* Desf. [5]

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Rhus</i>
Nom scientifique	<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.
Nom vernaculaire	Sumac à cinq feuilles, Tizrha

2. Description botanique :

Rhus pentaphylla communément appelés Tizrha, est un arbrisseau épineux et touffu qui peut atteindre 5 à 6 m, mais il se présente souvent comme un buisson de 2 à 3 m. Son enracinement est puissant. Ses rameaux sont épineux avec de nombreuses ramifications. Ses feuilles de couleur glauque sont fragmentées en 5 folioles et qui ne tombent qu'à la fin de l'été. Ses fleurs de couleur jaune verdâtre, apparaissent en inflorescence en grappes minuscules et dentés. Ses fruits sont des drupes jaunes rougeâtres globuleuses, de 6 à 8 mm de diamètre.

Cette espèce pousse spontanément dans la zone méditerranéenne où elle est très répandue en Afrique du Nord, notamment au Maroc et à l'ouest d'Algérie. Elle supporte tous les sols ; on la retrouve sur des terrains secs et pauvres, surtout sur des calcaires et parfois des argiles et des rocailles. [5]



Figure 16 : *Rhus pentaphylla* Desf.



Figure 17 : Feuilles et fruits de *R. pentaphylla*.



Figure 18 : Racines de *R. pentaphylla*.

3. Utilisations traditionnelles :

R. pentaphylla est une plante médicinale connue par sa grande concentration en tanins, largement utilisée en médecine traditionnelle et moderne pour ses propriétés chimiques et pharmacologiques intéressantes.

Les racines, les feuilles et les écorces de cette plante sont utilisées en décoction contre les troubles gastriques et gastro-intestinaux, tandis que les fruits, frais ou secs, sont employés dans le traitement des diarrhées et les affections digestives. Par ailleurs, les feuilles fraîches écrasées sont utilisées en cataplasme sur les blessures superficielles et les brûlures pour régénérer des tissus [6].

De plus, ses extraits riches en tanins ont des activités biologiques, en tant qu'antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antifongiques et antiviraux [4, 7].

D'autre part, l'extrait aqueux d'écorce a été utilisé pour la teinture des fibres de soie et la laine. Au Maroc, si son écorce est utilisée pour le tannage des cuirs en rouge, ses fruits sont utilisées en cuisine comme condiment [6].

4. Travaux antérieurs réalisés sur *Rhus pentaphylla* Desf. :

Les travaux scientifiques publiés sur cette famille sont largement inférieurs à ceux rapportés sur d'autres familles comme les Astéracées ou les Fabacées. Suite à une recherche bibliographique approfondie, *Rhus pentaphylla* Desf. reste jusque là, très peu étudiée.

Jusqu'à présent, les efforts de recherche effectués sur les extraits du genre *Rhus* révèlent un potentiel prometteur pour cette famille de plantes à fournir des produits naturels renouvelables avec des activités biologiques très diverses. En effet, les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires des extraits de *Rhus* sont bien documentées [8, 9].

Par ailleurs, des études faites sur les effets hypolipémiants de *Rhus* sur des animaux ont donné des résultats prometteurs [10, 11].

D'autre part, des tests *in vitro* et *in vivo* sur des cellules humaines et des rats des tiges de *R. oxyacantha* ont montré des potentiels cardioprotecteurs [12].

D'autres activités ont aussi été investiguées ; il s'agit des effets antitumoral, hypoglycémiant et antidiarrhéique [13, 14].

En dépit des travaux antérieurs qui se sont concentrés surtout sur les activités biologiques et sur, seulement quelques membres de cette grande famille de plantes, l'étude phytochimique des membres du genre *Rhus* a permis quand même d'identifier plusieurs types de composés bioactifs. En effet, les composés phénoliques, les triterpènes ainsi que les flavonoïdes sont quasi présents [15, 16].

Ces études ont permis d'identifier plus de 200 composés dont des acides organiques, des acides phénoliques et des dérivés de flavonoïdes, des tanins hydrolysables avec des anthocyanines et des dérivés terpéniques [17, 18].

Cependant, les données phytochimiques existantes sur *R. pentaphylla* restent limitées. Une étude a montré que les extraits aqueux de graines, de feuilles et de racines de *R.*

pentaphylla sont riches en tanins, en flavonoïdes et en coumarines et par conséquent possèdent une activité antibutyrylcholinestérasique importante qui pourrait être utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [19].

L'analyse phytochimique des différentes parties de la plante et les propriétés antioxydantes ont été l'objet de quelques études récentes. Les potentiels antioxydants des espèces du *Rhus* sont dû en particulier à la présence des tanins et des flavonoïdes [16, 19-21].

Dans une investigation phytochimique de *R. pentaphylla*, **Oukacha et al.** ont évalué les polyphénols et les flavonoïdes présents dans les feuilles et dont les quantités respectives sont de $39,33 \pm 0,66$ et $7,45 \pm 0,53$ $\mu\text{g}/\text{mg}$. D'autre part, l'activité antioxydante par deux méthodes différentes DPPH et FRAP, a donné respectivement les valeurs $80,12 \pm 0,24$ % et $932,41 \pm 5,15$ $\mu\text{mole}/\text{g}$ [20].

Concernant le profil aromatique des membres du genre *Rhus*, la littérature rapporte très peu de travaux sur ce sujet. En effet, les fractions volatiles et les huiles essentielles de fruits de *R. coriaria* d'Italie et de Turquie ont été caractérisées par analyse chromatographique CPG et CPG/SM. Les résultats obtenus montrent que la composition de l'huile essentielle en provenance du *Rhus* d'Italie est caractérisée par une quantité élevée de composés non terpéniques (de 27,5 à 55,1%), suivis par les sesquiterpènes et les diterpènes. Par contre, les volatiles présentent une variabilité chimique où les monoterpènes ont été identifiés comme étant la principale classe de constituants des fruits recueillis dans deux des quatre régions (42,1% à 59,9%), tandis que les composés non terpéniques prédominaient dans les deux autres sites (46,1–52,8%) [22].

Pour les échantillons en provenance des différentes régions de Turquie, les auteurs ont indiqué une grande variabilité observée dans la composition en huile essentielle. Cependant, les hydrocarbures monoterpéniques étaient présents comme principaux constituants dans les échantillons analysés (limonène (9,4%), nonanal (10,7-13,1%) et (Z) -2-décénal (9,9-42,3%), ainsi que le cembrène (6,3%) [23, 24].

Pour la plante *R. pentaphylla*, elle n'est pas aromatique, même si pendant le séchage de plusieurs jours, les tiges coupées donnent une saveur caractéristique.

Quant à ses huiles essentielles et son hydrolat ainsi que ses acides gras, la littérature ne rapporte à ce jour, aucune étude permettant la détermination de leurs compositions chimiques.

II. Etude de l'espèce *Ferula communis* L.

II. 1. Famille des Apiaceae :

La famille des Apiacées anciennement appelées Ombellifères (Umbelliferae) est une famille très vaste avec 3100 espèces cosmopolites réparties en 410 genres. C'est une famille importante de plantes dicotylédones, caractérisées par leur inflorescence typique en ombelles composées[25].

Les espèces de cette famille sont présentes dans le monde entier, mais principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et relativement rare en zone tropicale. Les genres se répartissent entre les divers continents selon l'ordre suivant : l'Asie (265), Amérique (197), Europe (139), Afrique (126), Australie (36) [26]. Dans la flore d'Algérie, c'est une famille très importante qui est représentée par 56 genres et 130 espèces dont 24 endémiques et 26 sous espèces [5].

Les Apiacées sont généralement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, et rarement des ligneuses ou arbustives à racine pivotante. Les tiges sont souvent creuses et portent à l'extérieur des sillons dans le sens de la longueur, dont elles portent des feuilles alternes, sans stipules, pennées ou palmées et le plus souvent composées à folioles finement découpées. Ses fleurs sont généralement blanches ou jaunâtres, mais parfois rougeâtres. Les fruits secs sont un diakène à double méricarpe [26].

Les Apiacées possèdent une place économique importante en raison de leurs utilisations alimentaires et médicinales. Elles comportent de nombreuses plantes intéressantes qui sont utilisées par l'homme soit comme légumes (la carotte, le fenouil et le céleri) soit comme condiments (le persil, la coriandre et l'anis). Ces espèces sont utilisées aussi bien en médecine traditionnelle qu'en médecine moderne.

La plupart des Apiacées sont des plantes aromatiques connues par la présence des canaux sécréteurs qui produisent des huiles essentielles qui leurs confèrent des odeurs et saveurs caractéristiques. Ces propriétés organoleptiques permettent leur utilisation comme épices.

Cette famille est aussi caractérisée par sa richesse en métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les coumarines, les iridoïdes, les stérols, des composés acétyléniques et des lactones, les sesquiterpéniques, les diterpènes et triterpènes [27].

Les plantes appartenant à cette famille possédant des activités biologiques intéressantes, à savoir l'activité antibactérienne, antioxydante, antifongique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antivirale, antispasmodique, anticancéreuse, antihyperglycémiant et l'activité oestrogénique [26].

II. 2. Genre *Ferula* L. :

Le genre *Ferula* comprend environ 180 espèces qui sont des arbrisseaux aromatiques vivaces poussant à travers le monde [28]. Ces arbrisseaux de croissance très rapide, peuvent atteindre une hauteur de deux mètres dont les tiges sont creuses, érigées et cylindriques. Ses feuilles souples et linéaires apparaissant après la floraison dont les fleurs jaunes donnent de grands fruits à peau lisse [5].

Les espèces du genre *Ferula* sont principalement distribuées dans les régions arides. Près de 130 espèces sont présentes dans le bassin méditerranéen et en Asie centrale [28].

Ces espèces font l'objet de multiples usages thérapeutiques traditionnels. Elles sont utilisées comme antispasmodiques, contre les problèmes de fertilité et pour lutter contre les douleurs dorsales et les rhumatismes. Par ailleurs, leurs huiles essentielles renferment des constituants (les disulfures) qui favorisent l'évacuation des mucosités bronchiques. En effet, la fêrule (sous forme de comprimés) est prescrite en cas de bronchite, d'asthme, de coqueluche ou d'autres troubles respiratoires. Par ailleurs, *Ferula* sert à traiter l'hypertension artérielle et les troubles digestifs comme les ballonnements, les indigestions et la constipation. Elle est employée aussi comme onguent pour soigner les plaies. À l'époque de la Rome ancienne, elle était utilisée comme un contraceptif [29].

Les plantes du genre *Ferula* sont riches en métabolites secondaires biologiquement actifs qui regroupent spécifiquement les dérivés sesquiterpéniques de types daucanes et les sesquiterpènes coumariniques. En plus, elles sont connues pour leur richesse en gomme-oléorésines possédant plusieurs activités biologiques, comme l'activité antioxydante, antivirale, antifongique et antidiabétique.

Ce genre se caractérise également par la présence de glandes qui sécrètent des huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie et dans les industries alimentaires [30].

La flore algérienne comprend cinq espèces de *Ferula* (*F. lutea*, *F. cossoniana*, *F. tingitana*, *F. vesceritensis* et *F. communis*) dont 2 sont endémiques : *F. cossoniana* et *F. vesceritensis*. [5]

II. 3. Espèce *Ferula communis* L. :

1. Classification botanique :

Tableau 3 : Classification systématique de *Ferula communis* L. [5]

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Ferula</i>
Nom scientifique	<i>Ferula communis</i> L.
Nom vernaculaire	Fenouil géant, grande Férule, Bûbal, Kalkha, Fassoukh

2. Description botanique :

Plante vivace, robuste, haute de 2 à 3 mètres, à racine épaisse et fusiforme, croît dans la Méditerranée surtout au Maroc et en Algérie. Sa tige est érigée, épaisse et cylindrique, elle porte des feuilles molles, triangulaires, de couleur vert cendré, grande (2 à 4 cm de long et 0,5 à 0,8 mm de large), à segments divisés en lanières étroitement linéaires et filiformes [5]. Ses fleurs jaunes sont petites, odorantes et disposées en grandes ombelles. Les fruits bruns et elliptiques sont formés de deux méricarpes [31].



Figure 19 : *Ferula communis* L.



Figure 20 : Fleurs de *F. communis*.

3. Toxicité :

La férule est moyennement toxique, elle contient au niveau des racines un latex toxique, surtout au début de la période de végétation.

Cette espèce est toxique pour les êtres humains et les animaux, surtout les animaux herbivores, où les intoxications animales se manifestent par des hématuries, des diarrhées hémorragiques, une dyspnée puis la mort survient rapidement. Les principes toxiques majeurs sont des hydroxy coumarines prénylées en C3, le féruléol, l'hydroxy féruléol, la ferpénine qui ont une action anticoagulante.

La composition chimique du latex des férules varie selon les régions où plusieurs travaux expliquent l'absence de toxicité de certains biotypes : les férules dans lesquelles la férutinine sesquiterpène de type daucane - domine, sont considérées comme « atoxiques » alors que celles où le féruléol est le composé majoritaire, ont une toxicité importante. [31]

4. Utilisations traditionnelles :

La férule commune est connue dans tout le monde arabe où elle est utilisée pour traiter les troubles digestifs, l'hystérie, la dysenterie, les infections de la peau, la chute de cheveux ainsi que les problèmes de fertilité et la stérilité féminine.

En médecine traditionnelle, elle sert comme sédatif, antispasmodique, stimulant et diurétique. Elle est aussi utilisée contre les maladies cardio-vasculaires, les douleurs rhumatismales, les angines et la migraine [31].

En plus de son utilisation, les sesquiterpènes synthétisés par cette plante servent à produire des médicaments [32], dont le Tefestrol®, à base de férutinine, est commercialisée en Russie pour traiter différents désordres gynécologiques [31].

En outre, *F. communis* sécrète de grosses larmes de gomme résine sous l'influence de la piqûre des insectes ou d'une blessure quelconque. La gomme résine «alkelakh» ou «fassoukh» est une sécrétion laiteuse et gluante qui brunit en s'épaississant jusqu'à former des concrétions solides d'odeur aromatique agréable. Au Maroc, cette gomme est utilisée comme dépilatoire et pour le traitement des ophtalmies [33].

La férule est une plante aromatique comme la majorité des Apiacées. Ses huiles essentielles sont responsables d'une partie de leurs activités biologiques. Ainsi, une étude a montré que les huiles essentielles extraites des différents organes de *F. communis* ont une activité antimicrobienne [34].

En plus, l'étude de la production de bioéthanol à partir des tiges et des feuilles, signale que cette espèce peut être considérée comme une usine de production d'énergie dans les régions arides.

Par ailleurs, *F. communis* est une plante dotée de propriétés anticoagulantes dont l'ingestion à des fins alimentaires ou médicinales au même moment que les médicaments anticoagulants, peut entraîner un allongement inattendu du temps de coagulation et par conséquent le risque d'hémorragies. [32]

5. Travaux antérieurs réalisés sur *Ferula communis* L. :

Le genre *Ferula* a fait l'objet de plusieurs enquêtes durant ces dernières années. De nombreuses études ont été réalisées sur le fenouil géant qui est caractérisé par la présence des huiles essentielles et des métabolites secondaires.

L'analyse phytochimique de l'extrait d'acétate d'éthyle et de l'extrait au n-butanol de *F. communis* a mis en évidence la présence de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de diterpènes, de glycosides, de glucides, de protéines, de terpénoïdes et de tanins. Par ailleurs, les quantités en phénols totaux dans les extraits précédents ont été évaluées à 44,7 et 55,8 mgEG/g respectivement.

D'autre part, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait au n-butanol de cette espèce ont été testés pour déterminer leurs activités en tant qu'antioxydants et antimicrobiens où les deux extraits étudiés ont présenté des activités antioxydantes et antibactériennes intéressantes [35].

D'autres analyses par RP-HPLC ont montré la présence de l'acide férulique, l'acide syringique, le résorcinol et une coumarine et que le potentiel antioxydant de cette plante est dû à la présence d'une quantité considérable de composés phénoliques [36].

De nombreuses études ont été réalisées sur la toxicité de l'espèce *F. communis*, qui ont montré que la présence des coumarines prénylées est une indication de toxicité [37-39]. L'analyse spectrale de ces composés révèle que le férulénol et ses dérivés sont responsables de la toxicité de cette plante [40-44]. En plus, les hydroxy-coumarines ont une activité anti-vitamine K qui provoquent des hémorragies mortelles chez les bétails [45]

En 2019, **Deniz et al.** ont étudié le potentiel hépatoprotecteur de l'extrait de *F. communis* contre les dommages causés au foie induits par CCl₄ chez les rats. Les résultats obtenus montrent l'efficacité potentielle de *F. communis* pour atténuer l'hépatotoxicité et les dommages oxydatifs induits par le CCl₄ [46].

L'étude chimique de l'extrait hexanique de l'espèce férule commune a permis d'isoler trois sesquiterpènes de daucane qui sont acétoxy-férutinine, oxojaeskeanadiol anisate et fertidine [47, 48].

Une étude biologique a montré que les extraits de la grande férule possèdent une activité antiproliférative des cellules du cancer du côlon due principalement à la présence de certains esters de daucane [49].

Le fenouil géant est bien connu en médecine traditionnelle où des travaux scientifiques ont été effectués pour confirmer certains usages traditionnels de cette plante. Ces études ont révélé que les extraits de *F. communis* possèdent des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antifongiques [47, 50, 51].

À côté des activités citées précédemment, de nombreux travaux indiquent que les sesquiterpènes qui sont extraits de *F. communis* ont un effet antibactérien. Ils ont prouvé l'efficacité de cette plante dans diverses infections telles que la bronchite, la sinusite et l'infection de la peau [52-54].

Plusieurs études ont été faites sur la composition chimique de l'huile essentielle de grande férule. Les huiles essentielles de cette plante sont caractérisées par la présence du myrcène, du α et β -pinène, du β -phellandrène, du (E)- β -farnésène, du α et β -eudesmol, du (E)-caryophyllène et de l'oxyde de caryophyllène comme principaux constituants chimiques [55-60]. Ainsi, d'autres travaux ont mis en évidence l'effet antioxydant et antimicrobien de l'huile essentielle de la férule commune [61, 62].

Une étude sur les polysaccharides hydrosolubles des gommés résines de *F. communis* montre une diversité d'oses où on trouve les oses neutres et des acides (pentoses et hexoses) avec la prédominance des oses neutres. Ils sont constitués principalement d'arabinose et de galactose [63].

III. Etude de l'espèce *Rhaponticum acaule* L.

III. 1. Famille des Asteraceae :

La famille des Astéracées ou Composées est une famille importante de plantes angiospermes dicotylédones qui comprend près de 26000 espèces réparties en 1500 genres et 25000 espèces présentes surtout, dans les régions tempérées du monde. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces.

Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille. Elles peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces, et se caractérisent par de petites fleurs regroupées en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales appelée involucre.

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent. Les feuilles des Astéracées sont généralement alternes, simples, mais chez certaines espèces, elles peuvent être divisées.

La famille des Astéracées est couramment en vedette dans des revues médicales grâce aux lactones sesquiterpéniques qu'elle contient. Ces composés phytochimiques sont une cause importante de la dermatite de contact. Les Astéracées sont largement utilisées en médecine populaire pour guérir un bon nombre de maladies grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes. [64]

III. 2. Genre *Rhaponticum* L. :

Rhaponticum est un genre de plantes herbacées appartenant à la famille des Astéracées et qui comprend environ 2000 espèces largement répandues dans le monde entier.

En effet, plusieurs espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés pharmacologiques. Elles sont utilisées contre l'intoxication et pour le traitement de la fièvre. De plus, ces espèces possèdent une activité anti-athérosclérotique et inhibent la peroxydation des lipides membranaires [65].

III. 3. Espèce *Rhaponticum acaule* L. :

1. Classification botanique :

Tableau 4 : Classification systématique de *Rhaponticum acaule* L. [66]

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotyledoneae, Dicotylédones, Magnoliopsida.
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Rhaponticum</i>
Nom scientifique	<i>Rhaponticum acaule</i> L.
Nom vernaculaire	Tafgha (Arabe), Rhapontique à tige courte.

2. Description botanique :

Plante vivace, à grandes feuilles disposées en rosette sur le sol, vertes en dessus et blanches-tomenteuses en dessous. Les fleurs jaunes, à odeur d'œillet [67].

C'est une plante composée de la région méditerranéenne très répandue qui se développe sur les terrains incultes, les jachères et les pelouses. Elle exige un sol profond riche

en fumure. En plus, elle est commune dans toute l'Algérie septentrionale, notamment dans les lieux sablonneux du littoral [68].



Figure 21 : *Rhaponticum acaule* L.

3. Utilisations traditionnelles :

La plante possède des vertus médicinales. En effet, elle est utilisée contre les affections pulmonaires et des intestins. Elle est bénéfique pour les cellules hépatiques et possède plusieurs autres propriétés parmi lesquelles: les propriétés eupeptiques, vulnéraires apéritives, digestives, toniques...etc. [69]

4. Travaux antérieurs réalisés sur *Rhaponticum acaule* L. :

Rhaponticum a fait l'objet de beaucoup d'études publiées. Elle constitue une source importante des huiles essentielles et des métabolites secondaires.

Des études ont été faites sur la composition chimique de l'huile essentielle de *R. acaule*. En effet, les huiles essentielles de la partie aérienne de cette plante sont caractérisées par la présence du méthyle eugénol, du β -ionone, du α et β -bisabolène, du β -caryophyllène, D-germacrène, du phytol et de l'acétate de farnésyl considérés comme principaux constituants chimiques [70, 71]. Cependant, la composition chimique de l'huile essentielle obtenue à partir des racines de *R. acaule* montre que les alcools aliphatiques constituent la grande classe (69,2%), suivie par les terpènes (5,5%), les alcènes (5,2%) et des alcynes (4,0%). Par ailleurs, il existe des aldéhydes, des cétones et des alcanes [65]. Les activités antioxydante et

antimicrobienne de l'huile essentielle ont été également testées. Les résultats montrent que l'huile essentielle de la partie aérienne de *R. acaule* présente une activité antibactérienne intéressante et une activité modérée à piéger les radicaux libres [70, 71]. D'autre part, l'extrait méthanolique des racines de *R. acaule* ainsi que celui des fruits ont montré une forte capacité à donner l'hydrogène pour réduire le fer et une activité très élevée à piéger le radical DPPH [72, 73].

Une étude biologique a montré que les fractions de l'acétate d'éthyle et au butanol de *R. acaule* possèdent une forte activité antifongique et antibactérienne [74]. D'autre part, l'extrait méthanolique des fruits a présenté une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis* [73].

L'analyse chimique par HPLC des composés phénoliques de *R. acaule* a révélé la présence de cinq acides phénoliques (acide caféique, acide férulique, acide chlorogénique, acide sinapique et acide syringique), une flavanone (naringénine), un flavonol (la rutine) et la vanilline. Par ailleurs, le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes des différentes parties de *R. acaule* montre que l'extrait méthanolique des feuilles a une teneur la plus élevée en phénols totaux et en flavonoïdes [72].

IV. Etude de l'espèce *Agave americana* L.

IV. 1. Famille des Agavaceae :

La famille des Agavacées est une famille des plantes dicotylédones, qui comprend environ 640 espèces séparées en 23 genres. Les espèces de cette famille sont principalement distribuées dans les régions tempérées chaudes et subtropicales, à travers tous les continents [75].

IV. 2. Genre *Agave* L. :

Le genre *Agave* comprend environ 300 espèces qui sont des plantes succulentes originaires des régions désertiques du continent américain, et se répartissent du Sud du Canada jusqu'au Nord de l'Amérique du Sud et les îles Caraïbes, en particulier au Mexique et dans toute l'Amérique centrale. Cependant, de nombreuses espèces d'agave sont cultivées de par le monde dans les zones méditerranéennes et tropicales, pour leur intérêt décoratif, mais également pour leur utilité [76].

Ce genre a été exploité depuis très longtemps pour ses multiples usages (fourrage, nourriture et boissons, médicaments, construction, tissage, papier,...) [75].

IV. 3. Espèce *Agave americana* L. :

1. Classification botanique :

Tableau 5 : Classification systématique de *Agave americana* L. [77]

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Monocotylédones
Ordre	Liliales
Famille	Agavacées ou Amaryllidacées
Genre	<i>Agave</i>
Nom scientifique	<i>Agave americana</i> L.
Nom vernaculaire	<i>Agave</i> d'Amérique

2. Description botanique :

C'est une plante monocotylédone, grasse et vivace qui peut atteindre et dépasser 2,5 m de hauteur dont la partie souterraine à la forme d'un rhizome et la partie aérienne présente de longues hampe florale et de grandes feuilles fibreuses, disposées en rosette de couleur vert bleuté, et sont dures, épaisses, charnues, et épineuses sur les bords et au sommet. Elles atteignent jusqu'à 2 m de long et se terminant par une épine acérée, de 5 cm de long. Les extrémités de ses feuilles sont recourbées vers le bas, et les tissus charnus sont riches en eau, qualifiés du succulents.

Cette plante pousse lentement où une inflorescence unique apparaît au centre de la rosette de feuilles au bout de 6 à 10 ans. Lorsque cette rosette est mature, une tige centrale de 5 à 8 m de hauteur, se dresse de la base et surmontée par une panicule à rameaux flexueux et horizontal. Elle portant au bout des rameaux des groupes denses de fleurs dressées qui sont de couleur jaune-verte jaunâtre, avec un ovaire infère. Ces fleurs sont constituées d'un périanthe verdâtre à un tube cylindrique, et étamines jaune très longues. Ce processus de floraison peut

prendre presque 1 an, puis les fleurs laissent leur place à de petites baies et la plante entière finit par mourir [78, 79].



Figure 22 : *Agave americana* L.

3. Utilisations traditionnelles :

Agave est riche en oxalate de calcium, en fructanes et en vitamines. Les feuilles contiennent des sucres réducteurs, du saccharose, un mucilage, l'acide ascorbique, des saponosides stéroïdiques tandis que le jus issu de la plante de *Agave* contient des isoflavonoïdes, des alcaloïdes, de la coumarine et des vitamines B1, B2, C, D et K et la provitamine A.

A. americana a des propriétés antiseptiques, cicatrisantes et anti-inflammatoires, ce qui explique son utilisation à l'extérieur comme une herbe médicinale pour traiter les brûlures, les ecchymoses, les coupures mineures, les blessures et l'irritation de la peau causée par les piqûres d'insectes. Traditionnellement, il a été utilisé en interne pour traiter les ulcères, l'inflammation de l'estomac, la tuberculose, la jaunisse et d'autres maladies du foie. En outre, il sert à traiter la fièvre. [80]

4. Travaux antérieurs réalisés sur *Agave americana* L. :

Les agaves sont des espèces riches en métabolites secondaires qui ont fait l'objet de plusieurs travaux.

Des travaux consacrés à l'étude des teneurs en polyphénols et aux propriétés antioxydantes des feuilles de *A. americana* ont montré la richesse de cette plante en composés

phénoliques [81-83]. D'autres analyses par HPLC ont montré la présence de nombreux glycosides de flavonoïdes et de saponines [84-86]. D'autre part, la composition chimique de la fraction lipophile de cette plante est caractérisée par des composés non terpéniques 88.16% contenant essentiellement des alcanes et des acides gras (77,77 et 10,39%, respectivement). L'hexacosane (23,38%) et l'heptacosane (21,48%) étaient les constituants majeurs de la fraction lipophile des feuilles [85, 87].

Le criblage phytochimique des feuilles de *A. americana* a révélé la présence en quantité importante, des alcaloïdes, des acides aminés, des acides gras, des phénols, des tanins, des huiles fixes, des glycosides et des saponines [88]. De plus, l'étude de la composition chimique et les propriétés fonctionnelles des feuilles de *A. americana* a montré que le broyat de *agave* possède des teneurs très élevées en fibres alimentaires (38,40%), en sucres totaux (45,83%) et en protéines (35,33%), avec une teneur relativement faible en cendres (5,94%) et lipides (2,03%) . La détermination des éléments minéraux a montré la prédominance du potassium et du calcium, et un faible taux de sodium et de magnésium [89].

D'autres travaux ont porté sur les propriétés biologiques de cette espèce. En effet, les extraits des feuilles de *A. americana* ont montré des activités : antimicrobiennes intéressantes contre certaines bactéries [88, 90], antifongiques et antidiabétiques [91-93].

Lors de l'étude de l'activité anti-inflammatoire de certains extraits aqueux et hydro alcoolique de *A. americana*, il s'est avéré que les feuilles de *Agave* possèdent des propriétés anti-inflammatoires très puissantes [94-96].

Des études sur la cutine isolée de *A. americana* ont révélé que la cutine contient des hydroxyles et des acides carboxyliques [97, 98]. D'autres auteurs ont isolé à partir de la partie aérienne de *A. americana* un nouveau composé : l'ester méthylique de l'acide malique [99].

Une autre étude consiste à déterminer l'efficacité inhibitrice de l'extrait de *A. americana* sur la corrosion de l'acier doux en milieu acide H₂SO₄ 0,5M par des méthodes électrochimiques [100].

Des chercheurs ont focalisé leurs travaux sur la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'argent à partir des feuilles de *A. americana* ainsi que l'investigation de leurs activités biologiques [101, 102].

D'autre part, les fibres de cette plante ont fait l'objet de nombreuses recherches. Des études antérieures sur les propriétés physiques et mécaniques des fibres de *A. americana* ont montré que cette fibre a un potentiel très intéressant dans le domaine du textile [103-106]. D'autres études détaillées sur l'extraction et la caractérisation des fibres de *A. americana* ont montré le potentiel intéressant de cette plante dans des applications techniques telles que les matériaux composites, la fabrication du papier, les textiles et géotextiles, etc. [107-114]. D'autre part, un travail a été réalisé sur l'étude cinétique et thermodynamique de l'adsorption des métaux lourds par les fibres de *A. americana* [115-117].

Références bibliographiques

1. Pitron, P., *Les anacardiées*, in *Cahiers de biothérapie*. Octobre 2016. p. 40-45.
2. Watson, L. and M.J. Dallwitz. *The families of flowering plants : descriptions, illustrations, identification, and information retrieval*. 1992. **14**(5): p. 486.
3. Tianlu, M. and A. Barfod, *Flora of China Illustrations volume 11 (Oxalidaceae through Aceraceae)*. 2009. p. 335.
4. Rayne, S. and G. Mazza, *Biological Activities of Extracts from Sumac (Rhus spp.): A Review*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2007. **62**(4): p. 165-175.
5. Quezel, P and Santa, S. *Nouvel flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre National De La Recherche Scientifique 15, quai Anatole-France - Paris 7' Tome 2. 1963. p. 612.
6. Bellakhdar, J., *La pharmacopée marocaine traditionnelle médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, ed. J.-M. Pelt. 1997, Paris: Ibis press. p. 764.
7. Jasso de Rodríguez, D., et al., *Antifungal activity in vitro of Rhus muelleri against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Industrial Crops and Products*, 2015. **75**: p. 150-158.
8. Lee, J.-C., K.-T. Lim, and Y.-S. Jang, *Identification of Rhus verniciflua Stokes compounds that exhibit free radical scavenging and anti-apoptotic properties*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2002. **1570**(3): p. 181-191.
9. Ali Mahjoub, M., et al., *Anti-inflammatory and antioxidant activities of some extracts and pure natural products isolated from Rhus tripartitum (Ucria)*. *Medicinal Chemistry Research*, 2010. **19**: p. 271-282.
10. Oh, P.-S., S.-J. Lee, and K.-T. Lim, *Hypolipidemic and Antioxidative Effects of the Plant Glycoprotein (36 kDa) from Rhus verniciflua Stokes Fruit in Triton WR-1339-Induced Hyperlipidemic Mice*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006. **70**(2): p. 447-456.

11. Shafiei, M., M. Nobakht, and A.A. Moazzam, *Lipid-lowering effect of Rhus coriaria L. (sumac) fruit extract in hypercholesterolemic rats*. Pharmazie, 2011. **66**(12): p. 988-92.
12. Shahat, A., et al., *Treatment with Rhus tripartita extract curtails isoproterenol-elicited cardiotoxicity and oxidative stress in rats*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016. **16**(1): p. 351.
13. Giancarloş, S., et al., *Hypoglycaemic activity of two spices extracts: Rhus coriaria L. and Bunium persicum Boiss*. Natural Product Research, 2006. **20**(9): p. 882-886.
14. Ben Barka, Z., et al., *Evaluation of the anti-diarrheal activity of the hydromethanolic root extract of Rhus tripartita (Ucria) (Anacardiaceae)*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016. **83**: p. 827-834.
15. Abu-Reidah, I.M., et al., *HPLC–DAD–ESI–MS/MS screening of bioactive components from Rhus coriaria L. (Sumac) fruits*. Food Chemistry, 2015. **166**: p. 179-191.
16. Itidel, C., et al., *Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variation among Tunisian natural populations of Rhus tripartita (Ucria) Grande and Rhus pentaphylla Desf*. Industrial Crops and Products, 2013. **51**: p. 171-177.
17. Kossah, R., et al., *Comparative Study on the Chemical Composition of Syrian Sumac (Rhus coriaria L.) and Chinese Sumac (Rhus typhina L.) Fruits*. Pakistan Journal of Nutrition, 2009. **8**(10): p. 1570-1574.
18. M. Mavlyanov, S., et al., *Anthocyanins and organic acids of the fruits of some species of Sumac*. Chemistry of Natural Compounds, 1997. **33**(2): p. 209.
19. Ben Mansour, H., et al., *Correlation between anticholinesterase and antioxidant activities of three aqueous extracts from Tunisian Rhus pentaphyllum*. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 2011. **10**: p. 32.
20. Amri, O., et al., *Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015. **7**(7): p. 672-678.

21. El Guiche, R., et al., *Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of 30 Medicinal and Aromatic Plants Located in the South of Morocco*. International Journal of New Technology and Research (IJNTR), 2015. **1**(3): p. 07-11.
22. Giovanelli, S., et al., *Aroma profile and essential oil composition of Rhus coriaria fruits from four Sicilian sites of collection*. Industrial Crops and Products, 2017. **97**: p. 166-174.
23. Kurucu, S., et al., *The Essential Oils of Rhus coriaria L. (Sumac)*. Journal of Essential Oil Research, 1993. **5**(5): p. 481-486.
24. Bahar, B. and T. Altug, *Flavour Characterization of Sumach (Rhus Coriaria L.) by Means of GC/MS and Sensory Flavour Profile Analysis Techniques*. International Journal of Food Properties, 2009. **12**(2): p. 379-387.
25. Tabopda, T.K., et al., *Triterpenoid saponins from Hydrocotyle bonariensis Lam.* Phytochemistry, 2012. **73**: p. 142-147.
26. Filliat, P., *Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs*, in *Sciences pharmaceutiques*. 2012, Université Grenoble Alpes - UFR Pharmacie. p. 139.
27. Tabanca, N., et al., *Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey*. Journal of Chromatography A, 2006. **1117**(2): p. 194-205.
28. Hadj Mahammed, M., et al., *Analyse de L'huile Essentielle des Parties Aeriennes de Ferula Vesceritensis Coss. et Dur. de la Localite de Sebseb*. Annales des Sciences et Technologie, 2013. **5**(2) p. 167-173.
29. Chevallier, A., *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larousse des plantes médicinales: Identification, préparation, soins, ed. P. Iserin and P. Vican. Vol. 1. 2001, Paris: Larousse-Bordas. p. 210.
30. Akhlaghi, F., et al., *Antihyperglycemic Effect of Asafoetida (Ferula assafoetida Oleo-Gum-Resin) in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*. World Applied Sciences Journal, 2012. **17**(2): p.157-162.

31. Hammiche, V., R. Merad, and M. Azzouz, *Férule commune*, in *plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen* 2013, 1760-7302. p. 123-127.
32. Chibani, S., *les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs*. 2013, Université Constantine 1. p. 123.
33. Youmbai. A, et al., *Caracterisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des gommés résines de Ferula communis L. (Apiaceae): Activites biologiques* Polysaccharides de plantes de milieux arides (POLYSAC 2017), 2017. p. 2.
34. Maggi, F., et al., *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from Ferula glauca L.(F. communis L. subsp. glauca) growing in Marche (central Italy)*. *Fitoterapia*, 2009. **80**(1): p. 68-72.
35. Gamal. M. A. B and Atraiki. R. A. M, *Phytochemical constituents of Ferula communis plant extracts and their antimicrobial and antioxidant activity*. *Lebda Medical Journal*, 2015. **1**: p. 6-9
36. Rahali, F.Z., et al., *Phytochemical composition and antioxidant activities of different aerial parts extracts of Ferula communis L.* *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 2019. **153**(2): p. 213-221.
37. Valle, M.G., et al., *Prenylated coumarins and sesquiterpenoids from Ferula communis*. *Phytochemistry*, 1986. **26**(1): p. 253-256.
38. Sacchetti, G., et al., *Vitae fluorescence as a tool to differentiate between poisonous and non-poisonous populations of giant fennel (Ferula communis) of the island Sardinia (Italy)*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2003. **31**(5): p. 527-534.
39. Zucca, P., et al., *Isolation and characterization of polyphenol oxidase from Sardinian poisonous and non-poisonous chemotypes of Ferula communis (L.)*. *Phytochemistry*, 2013. **90**: p. 16-24.
40. Lamnaouer, D., et al., *Ferulenol and ω -hydroxyferulenol, toxic coumarins from Ferula communis var. genuina*. *Phytochemistry*, 1987. **26**(6): p. 1613-1615.
41. Appendino, G., et al., *Ferprenin, a prenylated coumarin from Ferula communis*. *Phytochemistry*, 1988. **27**(3): p. 944-946.

42. Miski, M. and J. Jakupovic, *Cyclic farnesyl-coumarin and farnesyl-chromone derivatives from Ferula communis* subsp. *Communis*. *Phytochemistry*, 1990. **29**(6): p. 1995-1998.
43. Appendino, G., et al., *ω -Oxygenated prenylated coumarins from Ferula communis*. *Phytochemistry*, 1988. **27**(11): p. 3619-3624.
44. Aragno, M., et al., *Experimental studies on the toxicity of Ferula communis in the rat*. *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 1988. **59**: p. 399-402.
45. Lahmar, R., et al., *Giant fennel (Ferula communis L.) intoxication in goats in Tunisia*. *Veterinary Record Case Reports*, 2018. **6**: p. 738.
46. Y. Deniz, G., et al., *Hepatoprotective potential of Ferula communis extract for carbon tetrachloride induced hepatotoxicity and oxidative damage in rats*. *Biotechnic & Histochemistry*, 2019. **94**(5): p. 334-340.
47. Mamoci, E., et al., *Chemical Composition and In Vitro Activity of Plant Extracts from Ferula communis and Dittrichia viscosa against Postharvest Fungi*. *Molecules*, 2011. **16**(3): p. 2609-2625.
48. Rubiolo, P., et al., *Analytical Discrimination of Poisonous and Nonpoisonous Chemotypes of Giant Fennel (Ferula communis L.) through Their Biologically Active and Volatile Fractions*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006. **54**: p. 7556-63.
49. Poli, F., *Antiproliferative effects of daucane esters from Ferula communis and F. arrigonii on human colon cancer cell lines*. *Phytotherapy research*, 2005. **19**(2): p. 152-157.
50. Mohammadhosseini, M., et al., *The genus Ferula: Ethnobotany, phytochemistry and bioactivities – A review*. *Industrial Crops and Products*, 2019. **129**: p. 350-394.
51. Akaberi, M., M. Iranshahy, and M. Iranshahi, *Review of the traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of giant fennel (Ferula communis L.*

- subsp. *communis*). Iranian journal of basic medical sciences, 2015. **18**(11): p. 1050-1062.
- 52.** A. Al-Yahya, M., et al., *Antibacterial constituents from rhizomes of Ferula communis*. Phytotherapy Research, 1998. **12**: p. 335-339.
- 53.** Jaber, S., F. S El-Feraly, and M. Ilias, *Antimycobacterial constituents from Juniperus procera, Ferula communis and Plumbago zeylanica and their in vitro synergistic activity with isonicotinic acid hydrazide*. Phytotherapy research : PTR, 2004. **18**(11): p. 934-7.
- 54.** Derso, S., et al., *In-vitro Antibacterial Activity of Root and Stem Extracts of Ferula Communis against Staphylococcus aureus and Escherichia coli*. Ethiopian Journal of Veterinary Science and Animal Production (EJVSAP), 2018. **2**(2): p. 81-89.
- 55.** Chibani, S., et al., *Analysis of the essential oil of Ferula communis L. from Constantine, Algeria*. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2011. **1**(2): p. 41-44.
- 56.** Marongiu, B., A. Piras, and S. Porcedda, *Comparative Analysis of the Oil and Supercritical CO₂ Extract of Ferula communis L.* Journal of Essential Oil Research, 2011. **17**(2): p. 150-152.
- 57.** Ferrari, B., F. Tomi, and J. Casanova, *Composition and chemical variability of Ferula communis essential oil from Corsica*. Flavour and Fragrance Journal, 2004. **20**: p. 180-185.
- 58.** Manolakou, S., O. Tzakou, and A. Yannitsaros, *Volatile Constituents of Ferula communis L. subsp communis Growing Spontaneously in Greece*. Records of Natural Products, 2013. **7**(1): p. 54-58.
- 59.** Rahali, F., et al., *Metabolite profiles of essential oils and molecular markers analysis to explore the biodiversity of Ferula communis: Towards conservation of the endemic giant fennel*. Phytochemistry, 2016. **124**: p. 1-9.
- 60.** Maggi, F., et al., *Chemical analysis of essential oils from different parts of Ferula communis L. growing in central Italy*. Natural Product Research, 2015. **30**(7): p. 1-8.

61. Maggi, F., et al., *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from Ferula glauca L. (F. communis L. subsp. glauca) growing in Marche (central Italy)*. Fitoterapia, 2009. **80**(1): p. 68-72.
62. Nguir, A., et al., *Chemical composition and bioactivities of the essential oil from different organs of Ferula communis L. growing in Tunisia*. Medicinal Chemistry Research, 2016. **25**(3): p. 515–525.
63. Youmbai, A., et al., *Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des gommes résines de Ferula communis L. (Apiaceae): activités biologiques* Polysaccharides de plantes de milieux arides (POLYSAC 2017), 2018: p. 1-10.
64. Barkely, T., L. Brouillet, and J. Strother, *Flora of North America-Asteraceae*. 2006, New York: Oxford University Press. p. 3-70.
65. Benyelles, B., et al., *Essential oil from Rhaponticum acaule L. roots: Comparative study using HS-SPME/GC/GC–MS and hydrodistillation techniques*. Journal of Saudi Chemical Society, 2014. **18**(6): p. 972-976.
66. Benyelles, B., *Composition chimique de quelques extraits de la partie aérienne de la Rhaponticum acaule L.* 2009, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. p. 11.
67. Quezel, P. and Santa, S. *Nouvel flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre National de la Recherche Scientifique 15, quai Anatole-France - Paris 7' Tome 2. 1962. p. 1037.
68. Charles, N. and F.v. Mueller, *Manuel de l'acclimateur: ou Choix de plantes recommandées pour l'agriculture, l'industrie et la médecine et adaptées aux divers climate de l'Europe et des pays tropicaux*. 1887. p. 461.
69. Lahsissene, H. and Kahouadji, A. *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaer (Maroc Occidental)*. Revue de Botanique. Nouvelle série N° 186_2, 2009. p. 156.
70. Boussaada, O., et al., *Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts of Rhaponticum acaule DC growing wild in Tunisia*. Microbiological research, 2008. **163**(1): p. 87-95.

71. Mosbah, H., et al., *Rhaponticum acaule* (L) DC essential oil: chemical composition, in vitro antioxidant and enzyme inhibition properties. BMC complementary and alternative medicine, 2018. **18**(1): p. 79.
72. Bendimerad-Mouttas, F., et al., *Bioactive compounds and antioxidant activity of Rhaponticum acaule* (L.) DC. Natural product research, 2018. **18**(79): p. 1-5.
73. Benabdesselam, S., E.-K. Guechi, and H. Izza, *Antioxidant, Antibacterial and Anticoagulant Activities of the Methanolic Extract of Rhaponticum acaule Fruit Growing Wild in Eastern Algeria*. Scholar Research Library, 2018. **10**(1): p 1-10.
74. Abdelkader, H.B., et al., *Antimicrobial activity of Rhaponticum acaule and Scorzonera undulata growing wild in Tunisia*. African Journal of Microbiology Research, 2010. **4**(19): p. 1954-1958.
75. Seguen, W. and S. Brimess, *Etude comparative phytochimique et biologique de deux plantes médicinales Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.*, in *Biologie et Ecologie Végétale*. 2014, Université Constantine 1. p. 37.
76. García-Mendoza, A. and R. Galván, *Richness of the Agavaceae and Nolinaceae in Mexico*. Botanical Sciences, 1995. **56**: p. 7-24.
77. Alonso Gutierrez, M.d.l.S., *Valorisation de la bagasse de l'agave tequilana W. cv azul: caractérisation, étude de la digestibilité et de la fermentation des sucres*. 2005, Institut National Polytechnique de Toulouse. p. 25.
78. Engel, F. and J. Guillemain, eds. *Plantes irritantes et allergisantes* l'Institut Klorane, fondation d'entreprise pour la protection et la valorisation du patrimoine végétal ed., Florence Guillaume. 2015. p. 26.
79. Quesel, P. and S. Santa, *Nouvel flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre National De La Recherche Scientifique 15, quai Anatole-France-Paris 7' Tome 1. 1963. p 218.
80. Meryem, E.F., *Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc*, 2012, 2012, Université Mohammed V -Rabat- p. 23.

81. Hamissa, A.M.B., et al., *Phenolics extraction from Agave americana (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor*. Food and bioproducts processing, 2012. **90**(1): p. 17-21.
82. Almaraz-Abarca, N., et al., *The phenols of the genus Agave (Agavaceae)*. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, 2013. **4**(03): p. 9.
83. Rahmani, H., et al., *Phenolic quantification and antioxidant activity of agave Americana leaves depending on solvent and geoclimatic area*. Advances in Environmental Biology, 2016. **10**(9): p. 194-200.
84. Ibrahim, N.M. and Z.J. Awad, *Phytochemical Study of Steroidal Saponin "Tigogenin" Present in the Leaves of Yucca aloifolia Cultivated in Iraq*. Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013. **22**(2): p. 1-8.
85. Maazoun, A.M., et al., *Phytochemical profile and insecticidal activity of Agave americana leaf extract towards Sitophilus oryzae (L.)(Coleoptera: Curculionidae)*. Environmental Science and Pollution Research, 2019. **26**(19): p. 1-13.
86. Leal-Díaz, A.M., et al., *Effect of Agave americana and Agave salmiana ripeness on saponin content from aguamiel (agave sap)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015. **63**(15): p. 3924-3930.
87. Hartman, B.E. and P.G. Hatcher, *Hydrothermal liquefaction of isolated cuticle of Agave americana and Capsicum annum: Chemical characterization of petroleum-like products*. Fuel, 2015. **156**: p. 225-233.
88. Babu, M., R. Dang, and K. Das, *Phytochemical investigations and characterization of antimicrobial activity of bioguided fractionated leaves of Agave americana L*. Annals of phytomedicine. International Journal, 2015. **4**(1): p. 61-67.
89. Bouaziz, M.A., R. Rassaoui, and S. Besbes, *Chemical composition, functional properties, and effect of inulin from Tunisian Agave americana L. leaves on textural qualities of pectin gel*. Journal of Chemistry, 2014. **2014**: p.1-11.
90. Khan, M., et al., *Antibacterial and irritant activities of organic solvent extracts of Agave americana Linn., Albizzia lebbek Benth. Achyranthes aspera Linn. and*

- Abutilon indicum* Linn-A. *Preliminary Investigation*. Pakistan Journal of Zoology, 2010. **42**(1): p. 93-97.
91. Sahnoun, M., et al., *Apigenin isolated from A. americana encodes Human and Aspergillus oryzae S2 α -amylase inhibitions: credible approach for antifungal and antidiabetic therapies*. Journal of food science and technology, 2018. **55**(4): p. 1489-1498.
92. Maazoun, A.M., et al., *Saponin content of Agave americana (L.) leaf extract and its antifungal attributes against phytopathogenic fungi*. International Journal of Agriculture and Biosciences, 2019. **8**(2): p. 106-111.
93. Sahnoun, M., et al., *Effect of Agave americana L. on the human, and Aspergillus oryzae S2 α -amylase inhibitions*. Natural product research, 2019. **33**(5): p. 755-758.
94. Peana, A.T., et al., *Anti-inflammatory activity of aqueous extracts and steroidal saponins of Agave americana*. Planta medica, 1997. **63**(03): p. 199-202.
95. Misra, A.K., S.K. Varma, and R. Kumar, *Anti-inflammatory Effect of an Extract of Agave americana on Experimental Animals*. Pharmacognosy research, 2018. **10**(1): p. 104.
96. Misra, A.K. and S.K. Varma, *Effect of an extract of Agave americana on wound healing model in experimental animals*. Journal of Basic and Clinical Pharmacy, 2017. **8**(2): p. 45-48.
97. Matic, M., *The chemistry of plant cuticles: a study of cutin from Agave americana L.* Biochemical Journal, 1956. **63**(1): p. 168.
98. Deshmukh, A.P., et al., *Insights into the structure of cutin and cutan from Agave americana leaf cuticle using HRMAS NMR spectroscopy*. Organic Geochemistry, 2005. **36**(7): p. 1072-1085.
99. Tinto, W., et al., *Constituents of Agave americana and Agave barbadensis*. Fitoterapia, 2005. **76**(6): p. 594-597.

100. Sameh, A., et al., *A study of the effect of Agave americana extract inhibitor on the corrosion of mild steel in 0.5 M H₂SO₄*. Materials Research Express, 2018. **6**(1): p. 1-16.
101. Marciano, A., B. Chefetz, and A. Gedanken, *Differential Adsorption of Silver Nanoparticles to the Inner and Outer Surfaces of the Agave americana Cuticle*. The Journal of Physical Chemistry C, 2008. **112**(46): p. 18082-18086.
102. Ahmad, B., et al., *Green synthesis, characterisation and biological evaluation of AgNPs using Agave americana, Mentha spicata and Mangifera indica aqueous leaves extract*. IET nanobiotechnology, 2016. **10**(5): p. 281-287.
103. Msahli, S., et al., *Study of the Mechanical Properties of Fibers Extracted from Tunisian Agave americana L.* Journal of natural fibers, 2015. **12**(6): p. 552-560.
104. El Oudiani, A., et al., *Physico-chemical and mechanical characterization of alkali-treated Agave americana L. fiber*. The Journal of The Textile Institute, 2012. **103**(4): p. 349-355.
105. El Oudiani, A., et al., *Physico-chemical characterisation and tensile mechanical properties of Agave americana L. fibres*. The Journal of The Textile Institute, 2009. **100**(5): p. 430-439.
106. Msahli, S., F. Sakli, and J.-Y. Drean, *Study of textile potential of fibres extracted from Tunisian Agave Americana L.* AUTEX Research Journal, 2006. **6**(1): p. 9-13.
107. Jin, J.-M., Y.-J. Zhang, and C.-R. Yang, *Four new steroid constituents from the waste residue of fibre separation from Agave americana leaves*. Chemical and pharmaceutical bulletin, 2004. **52**(6): p. 654-658.
108. Mylsamy, K. and I. Rajendran, *Investigation on physio-chemical and mechanical properties of raw and alkali-treated Agave americana fiber*. Journal of Reinforced Plastics and composites, 2010. **29**(19): p. 2925-2935.
109. Thamae, T. and C. Baillie, *Influence of fibre extraction method, alkali and silane treatment on the interface of Agave americana waste HDPE composites as possible roof ceilings in Lesotho*. Composite Interfaces, 2007. **14**(7-9): p. 821-836.

110. Bezazi, A., et al., *Novel extraction techniques, chemical and mechanical characterisation of Agave americana L. natural fibres*. Composites Part B: Engineering, 2014. **66**: p. 194-203.
111. Chaabouni, Y., et al., *Morphological Characterization of Individual Fiber of Agave americana L.* Textile Research Journal, 2006. **76**(5): p. 367-374.
112. Ortega, Z., et al., *Characterization of Agave americana L. plant as potential source of fibres for composites obtaining*. SN Applied Sciences, 2019. **1**(9): p. 987.
113. El Oudiani, A., S. Msahli, and F. Sakli, *In-depth study of agave fiber structure using Fourier transform infrared spectroscopy*. Carbohydrate polymers, 2017. **164**: p. 242-248.
114. El Omari, H., A. Belfkira, and F. Brouillette, *Paper properties of Typha latifolia, Pennisetum alopecuroides, and Agave americana fibers and their effect as a substitute for kraft pulp fibers*. Journal of natural fibers, 2017. **14**(3): p. 426-436.
115. Hamissa, A.M.B., et al., *Sorption of Cd (II) and Pb (II) from aqueous solutions onto Agave americana fibers*. Chemical Engineering Journal, 2010. **159**(1-3): p. 67-74.
116. Hamissa, A.B., et al., *Biosorption of metal dye from aqueous solution onto Agave americana (L.) fibres*. International Journal of Environmental Science & Technology, 2008. **5**(4): p. 501-508.
117. Altinisik, A., et al., *Evaluating of Agave Americana fibers for biosorption of dye from aqueous solution*. Fibers and Polymers, 2015. **16**(2): p. 370-377.

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE I :
MATERIEL ET METHODES

I. Matériel végétal :

I. 1. Origine géographique et période de récolte de la plante :

Les espèces sélectionnées ont été récoltées de quatre endroits différents de la wilaya de Tlemcen. Les paramètres géographiques des différentes stations ainsi que la période de récolte sont représentés dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 : Données géographiques des zones d'études et dates de récolte des espèces étudiées.

Espèce	Stations	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Période de la récolte
<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.	Marsat Ben M'hidi	100	35°03'25.7"N	2°12'40.6" W	Février 2017
<i>Ferula communis</i> L.	Tounane	100	35°01'54.0"N	1°50'25.7"W	Mars 2017
<i>Rhaponticum acaule</i> L.	Djebala 1	200	34°57'56.6"N	1°47'25.0"W	Mars 2016
<i>Agave americana</i> L.	Djebala 2	100	34°58'46.3"N	1°47'41.0"W	Janvier 2016

I. 2. Identification botanique :

Le matériel végétal a été authentifié par des botanistes appartenant aux deux laboratoires : "Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes" et "Laboratoire de Gestion Conservatoire des Eaux, Sols et Forêts et Développement Durable des régions montagneuses de la région de Tlemcen", de l'université de Tlemcen.

I. 3. Préparation du matériel végétal :

Une fois transportés au laboratoire, les racines ont été séparées de la partie aérienne, lavées rapidement sous l'eau du robinet, rincées abondamment à l'eau distillée, puis essuyées avec du papier Joseph. Le matériel végétal a été séché à l'air dans une pièce ventilée et conservé à l'abri de la lumière et de la poussière jusqu'à utilisation. Pour extraire les acides gras et d'autres composés polyphénoliques, les différentes parties séchées de plantes ont été broyées en utilisant

un mixeur de laboratoire pour obtenir des poudres fines puis conservées dans des dessiccateurs fermés à une température basse avant utilisation.

II. Préparation des extraits bruts :

II. 1. Préparation de l'extrait aqueux :

10 g de la poudre de plante dissous dans 100 mL d'eau distillée ont été chauffés à reflux pendant une heure (**Figure 23**). Après filtration, le filtrat est centrifugé pendant 10 minutes à 3900 tours par minute puis filtré pour éliminer d'éventuels résidus. Ce filtrat est ensuite séché à 40°C à l'étuve jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Ce dernier est conservé dans des piluliers en verre ambré dans le dessiccateur jusqu'à utilisation [1].



Figure 23 : Montage à reflux.

II. 2. Extraction par des solvants organiques :

L'épuisement de la matière végétale a été réalisé à chaud par un montage de type Soxhlet (**Figure 24**), où 10 g de la matière végétale est placée dans une cartouche poreuse à l'intérieur du siphon, et cela en présence de 100 mL de solvant. Le mélange est filtré et l'extrait obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif puis conservé dans un flacon stérile [2].



Figure 24 : Montage d'extraction au soxhlet.



Figure 25 : Evaporateur rotatif.

II. 3. Extraction des composés phénoliques :

1) Dégraissage du matériel végétal :

En utilisant un soxhlet, 10 g de la matière végétale est extraite en présence de 100 mL d'hexane tout en chauffant pendant 5h. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu sous forme d'un extrait huileux représente la matière grasse. [3]

2) Extraction des flavonoïdes :

2 g de la matière végétale est soumise à macération pendant 48h à température ambiante, dans un mélange hydro-alcoolique de type méthanol-eau (80:20 v/v). Après filtration, le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant deux solvants : l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

Les deux phases organiques ainsi obtenues sont concentrées à sec sous pression réduite, pesées, puis les extraits sont repris par 3 mL de méthanol.[4]

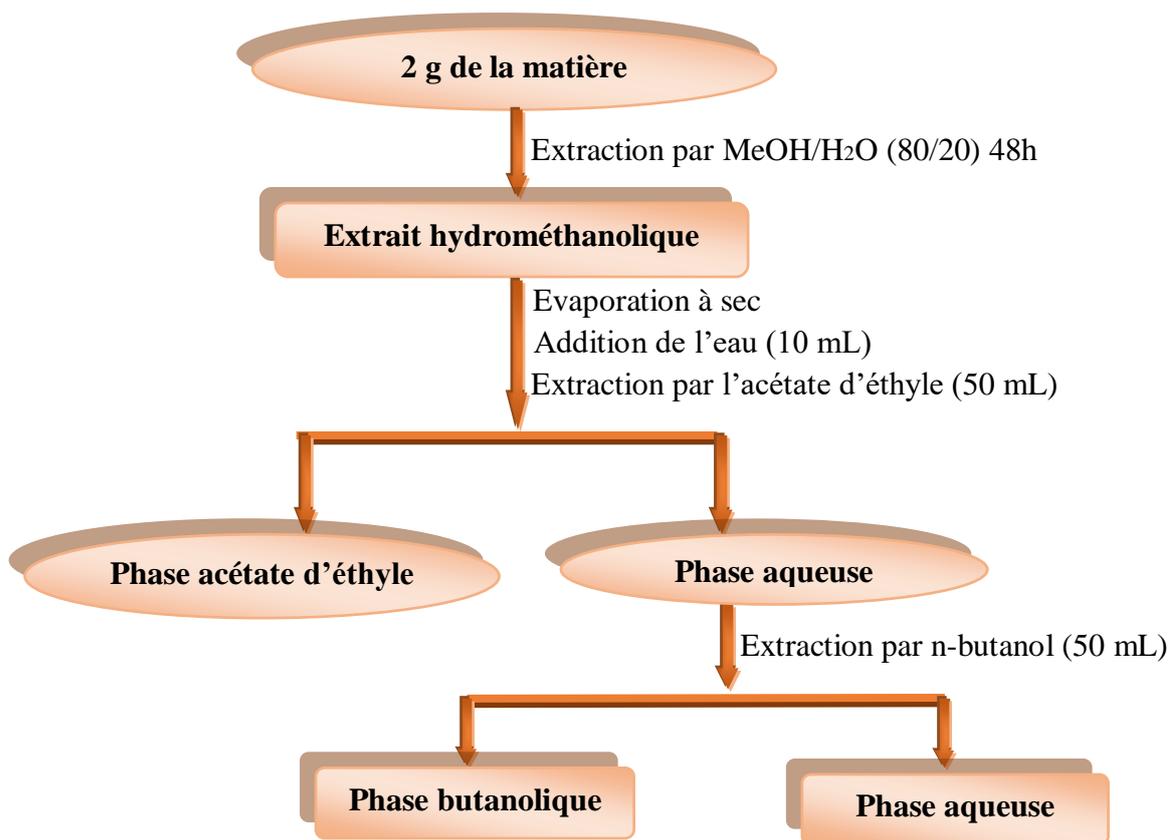


Figure 26 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.

3) Extraction des tanins :

L'extraction des tanins a été effectuée selon la méthode **Zhang *et al.* [5]**. 2,5 g de poudre dégraissée a été extraite par 100 mL du mélange acétone/eau (60/40, v/v) durant 72h à une température ambiante.

La solution est filtrée puis évaporée pour éliminer l'acétone. La phase aqueuse est lavée par 50 mL de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments.

Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite deux fois avec 50 mL d'acétate d'éthyle. Le mélange des deux phases est évaporé à sec puis pesé et repris par 3 mL de méthanol.

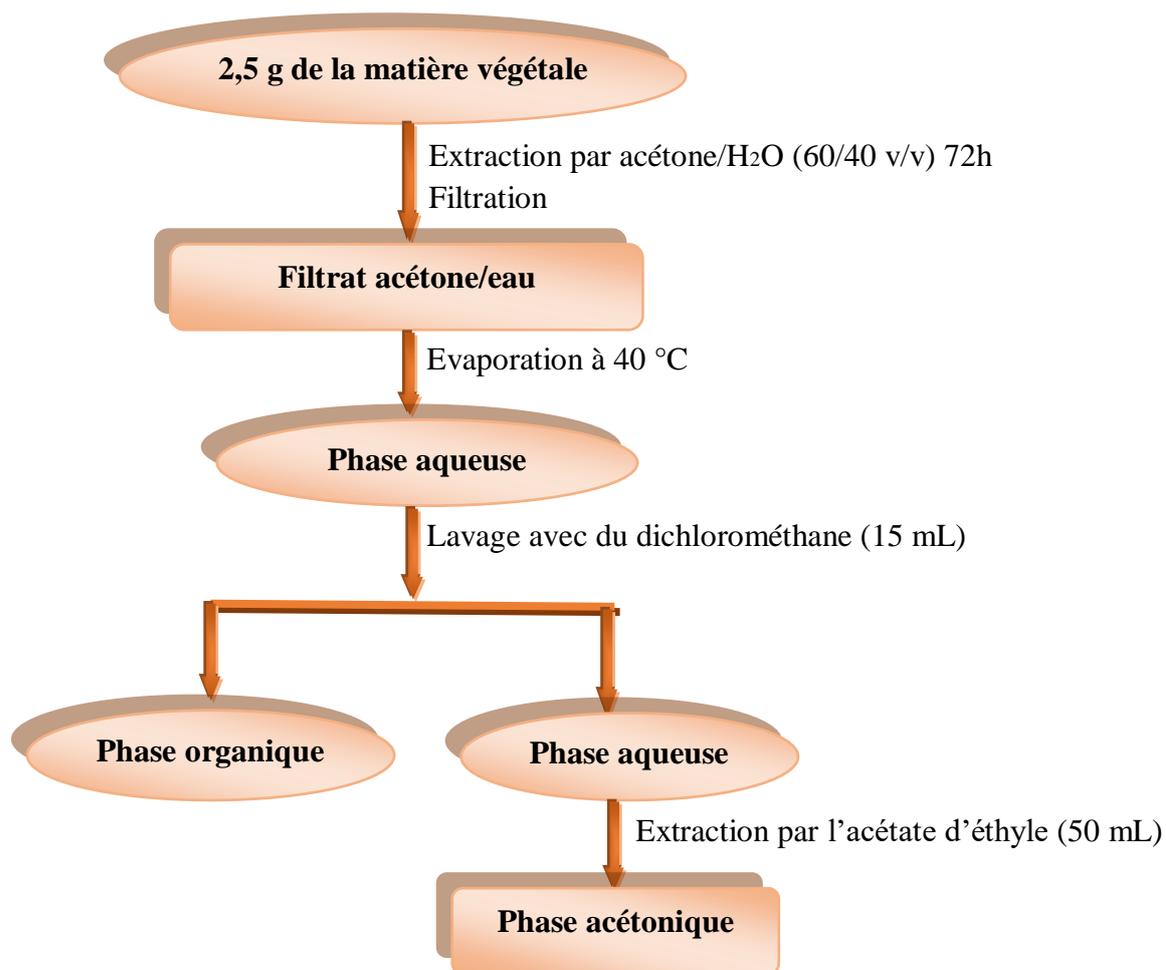


Figure 27 : Protocole d'extraction des tanins.

4) Extraction des saponosides :

10 g de la plante a été mélangée avec 50 mL d'éthanol (96%). L'ensemble est porté à reflux pendant 8h. Après filtration, le filtrat est concentré à sec. L'extrait obtenu a été lavé trois fois avec 50 mL de butanol.

La phase organique est concentrée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif et les saponosides sont précipités par l'ajout de 10 mL de l'éther diéthylique [3].

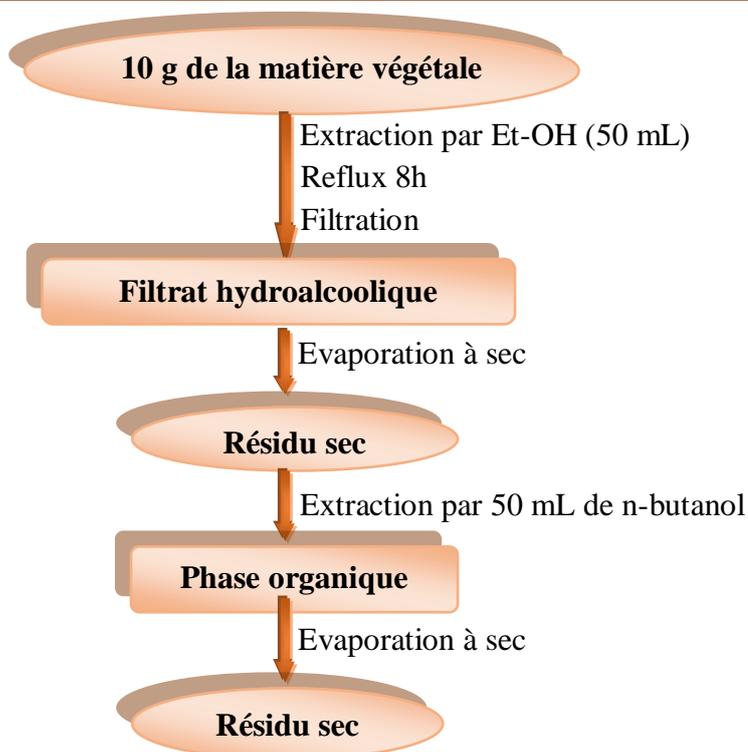


Figure 28 : Protocole d'extraction des saponosides.

5) Extraction des anthocyanes :

L'extraction des anthocyanes a été réalisée selon la méthode décrite par **Longo et al.** [6]. L'extraction a été faite par une macération de 2,5 g de la matière végétale en poudre dans 12,5 mL d'une solution de HCl/méthanol (v/v) à 0,1% pendant 20h à une température ambiante. Après filtration, le résidu ainsi obtenu est lavé avec 12,5 mL de HCl/méthanol (v/v) à 0,1%, puis l'extrait a été évaporé à sec. Le résidu sec est repris par 3 mL du méthanol.

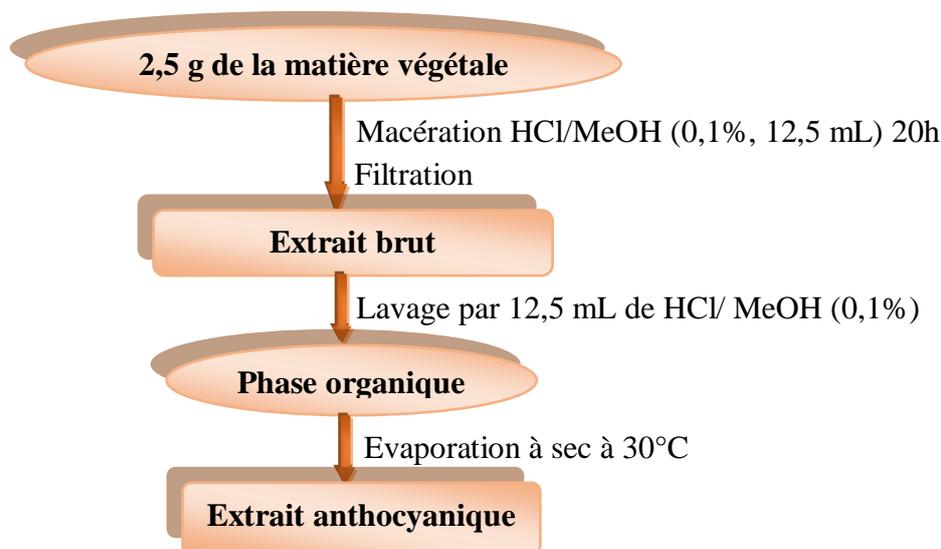


Figure 29 : Protocole d'extraction des anthocyanes.

➤ **Calcul du rendement :**

Le rendement en extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité.

Ce rendement est calculé par la formule :

$$R(\%) = (M / M_0) \times 100$$

R : Rendement en %,

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant,

M₀ : Masse en grammes du matériel végétal.

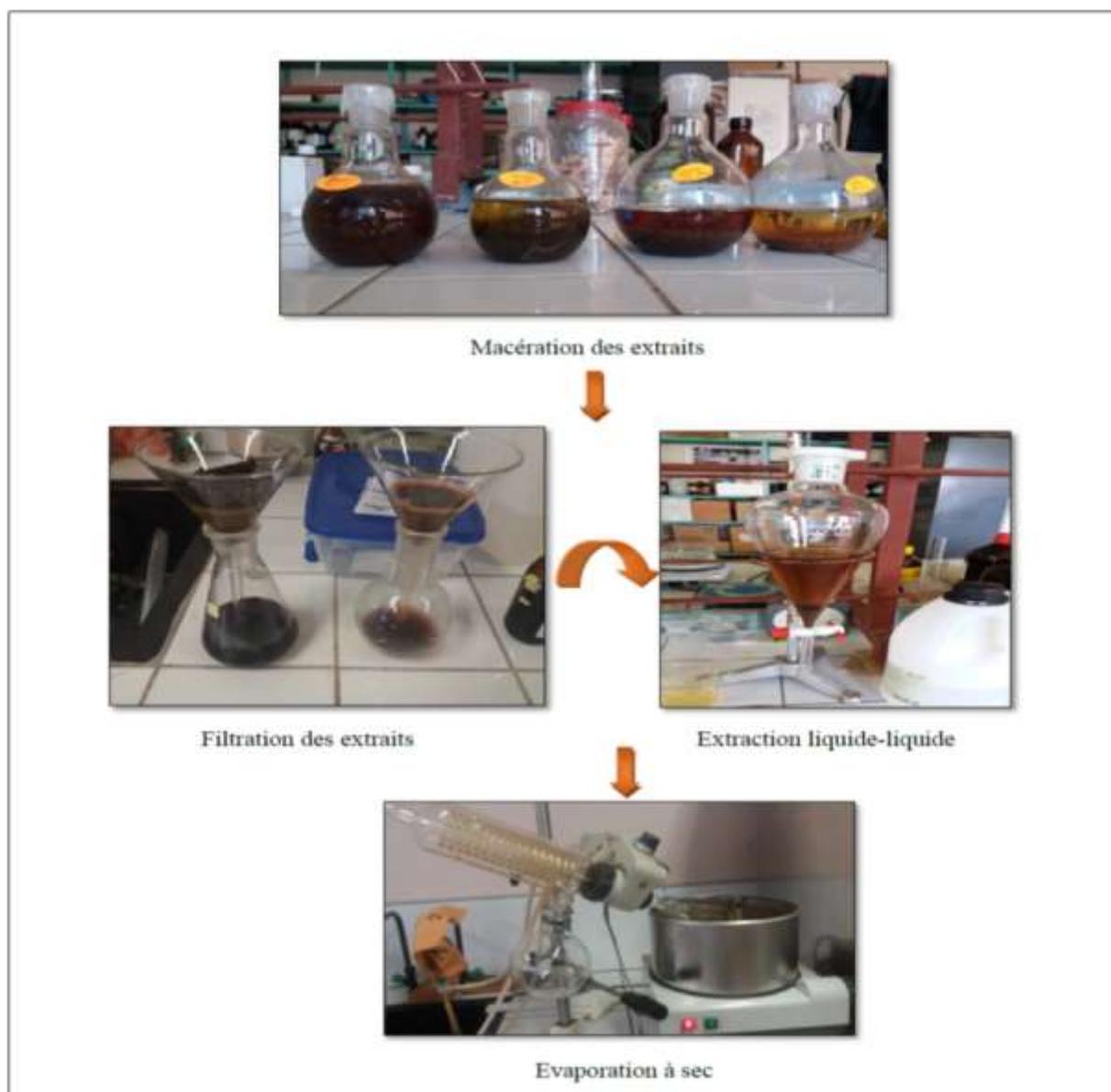


Figure 30 : Extraction des composés phénoliques.

III. Criblage phytochimique :

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Généralement, ces tests sont des réactions physicochimiques basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés, ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

III. 1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :

1) Amidon :

L'amidon se comporte comme une substance de réserve principale des végétaux. Il existe sous forme d'une structure qui correspond à un homopolymère de D-glucose. Il est caractérisé au moyen du réactif à l'eau iodée par apparition d'une couleur bleue. Donc, on fait chauffer 5 mL de l'extrait aqueux avec 10 mL d'une solution saturée de NaCl dans un bain marie jusqu'à l'ébullition et on ajoute le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée [7].

2) Saponosides :

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse. On ajoute 1 mL d'eau distillée à 2 mL de l'extrait aqueux, puis on agite fortement pendant 1 min. Le mélange est ensuite abandonné pendant 20 mn puis la teneur en saponosides est évaluée. La présence des saponosides est confirmée par la mesure de la hauteur de la mousse. [7]

- S'il n'y a pas de mousse, le test est dit négatif (-)
- Si la mousse est de 1 cm d'épaisseur, le test est faiblement positif (+)
- Si la mousse est entre 1 et 2 cm, le test est positif (++)
- Si la mousse est supérieur à 2 cm, le test est fortement positif (+++)

3) Tanins :

Pour détecter les tanins, on ajoute à 1 mL d'extrait aqueux, 1 mL d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée à 1%. La couleur verte foncée ou bleu-verte indique la présence de tanins [8].

4) Anthraquinones :

Bouillir 1 g du matériel végétal pendant quelques minutes en présence de 10 mL de KOH 0,5 M et 1 mL H₂O₂ diluée à 5%; Refroidir le mélange, puis filtrer et acidifier le filtrat avec de l'acide acétique. Extraire la solution acide obtenue avec 10 mL de toluène, puis agiter l'extrait de toluène en présence de 5 mL de NH₄OH. Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline [7].

5) Mucilages :

Mélanger 1 mL d'extrait aqueux et 5 mL d'alcool absolu. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux [7].

III. 2. Epuisement du matériel végétal avec de l'éthanol :

1) Flavonoïdes :

Traiter 5 mL de l'extrait éthanolique avec 1 mL de HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes [9].

2) Alcaloïdes sels :

Leur détection consiste à évaporer à sec 20 mL de l'extrait éthanolique. 5 mL de HCl (10%) sont ajoutés au résidu obtenu, puis chauffés dans un bain marie. Le mélange est filtré et alcalinisé avec quelques gouttes d'une solution de NH₄OH (10%) jusqu'au pH 9. La solution est ensuite extraite avec l'éther diéthylique, ensuite concentrée à sec. Le résidu est dissous dans HCl (2%). La présence des alcaloïdes est testée par les réactifs de Mayer et de Wagner pour obtenir respectivement, un précipité blanc et un précipité brun indiquant leur présence [10].

3) Tanins :

Ajouter à 1 mL de l'extrait éthanolique, 2 mL d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. Un test positif est révélé par :

- L'apparition d'une coloration bleu-vert qui indique la présence des tanins catéchiques.
- L'apparition de la coloration bleu-noir indiquant la présence des tanins galliques [8].

4) Anthracénosides, coumarines et anthocyanosides :

Pour mettre en évidence ces composés, il faudra suivre les étapes suivantes :

- Ajouter 15 mL de HCl (10%) à 25 mL de l'extrait éthanolique et porter l'ensemble à reflux pendant 30 minutes ;
- Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 mL d'éther diéthylique. Ensuite, chacune de ces familles est détectée séparément. [7]

a) Anthracénosides :

La détection des anthracénosides est réalisée par le réactif de Bornträger, en traitant 8 mL de la solution extractive éthanolique par ce dernier. L'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé-rouge au violet-pourpre indique la présence des anthracénosides.

b) Coumarines :

5 mL de la solution extractive étherique est évaporé à sec. Le résidu ainsi obtenu est repris dans 2 mL d'eau chaude, un volume de cette phase aqueuse est additionné avec 0,5 mL d'une solution d'ammoniaque NH_4OH à 10% et un autre volume est gardé comme témoin. L'apparition de fluorescence après observation sous UV indique la présence des coumarines.

c) Anthocyanosides :

Leur détection consiste à doser la solution aqueuse acide avec une solution de NaOH. Elles ont des colorations qui varient en fonction du pH. Le virage de couleur confirme la présence des anthocyanosides de façon que :

- $\text{pH} < 3$, la solution prend une coloration rouge ;
- $4 < \text{pH} < 6$, la solution prend une coloration bleue.

5) Stérols et stéroïdes :

Deux essais ont été effectués : [11]

- **Essai 01** : il consiste à évaporer à sec 10 mL d'extrait éthanolique. Ensuite, le résidu obtenu est solubilisé avec 10 mL de chloroforme anhydre. Puis, on mélange 5 mL de la solution chloroformique avec 5 mL d'anhydride acétique, en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, agiter et après laisser la solution reposer. Un test

positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C).

- **Essai 02** : il consiste à évaporer à sec 10 mL d'extrait éthanolique. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL de chloroforme, puis filtrer, et traiter le filtrat par la réaction de Liebermann-Burchard. Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement.

6) Composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 mL de l'extrait éthanolique avec 2 mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique [8].

III. 3. Epuisement du matériel végétal avec l'éther diéthylique :

1) Huiles volatiles :

Un volume de 20 mL de l'extrait éthéré est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, on dissout le résidu obtenu dans l'alcool. La solution alcoolique obtenue est ensuite concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu aromatique [12].

2) Acides gras :

L'essai effectué consiste à concentrer à sec 20 mL de la solution éthérée et dissoudre le résidu obtenu dans de l'alcool, puis traiter la solution alcoolique avec une solution basique de soude ou de potasse. Ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique et après concentrer à sec la solution éthérée. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras [12].

3) Alcaloïdes bases :

La détection des alcaloïdes consiste à évaporer à sec 10 mL de l'extrait éthéré. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans 1,5 mL de HCl (2%) puis on ajoute 1 à 2 gouttes de réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases [10].

IV. Analyses quantitatives :

IV. 1. Dosages des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu. 200 μ L d'extrait aqueux sont mélangés avec 1 mL du réactif de Folin ciocalteu (dilué dix fois) et 800 μ L de la solution de carbonate de sodium à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé pendant 2h à une température ambiante et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV contre un blanc sans extrait.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. [13]

IV. 2. Dosages des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium. 1 mL de l'extrait méthanolique est ajouté à 1 mL de la solution de $AlCl_3$ (2% dans le méthanol), l'ensemble est vigoureusement agité. Après 15 minutes d'incubation, la lecture est faite à 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche (mg EqQ/g). [14]

IV. 3. Dosage des tanins condensés :

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Le réactif de vanilline a été préparé en mélangeant à volume égal : HCl à 8% (v/v), et 1% de vanilline dans du méthanol (m/v). 500 μ L d'extrait méthanolique ont été ajoutés à 2,5 mL de réactif de vanilline et le mélange a été agité pendant une minute. On additionne 2,5 mL de la solution de HCl à 4% et le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité à 30°C pendant 20 min et l'absorbance est mesurée à 500 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage du catéchine. [15]

IV. 4. Dosage des sucres totaux :

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique. Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses

avec un chromogène qui est le phénol. À ce moment-là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange.

Dans un tube à essais, on introduit 0,5 mL de la solution à doser, puis 0,5 mL de la solution de phénol (5%). Les tubes sont soigneusement agités. 2,5 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à l'aide d'une pipette graduée. Après séjour de 30 mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance sont effectuées à 490 nm. Le glucose a été pris comme référence où une courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant une gamme de concentrations du glucose allant de 1 à 0,02 mg/mL. [16]

IV. 5. Détermination de la teneur en eau :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. La teneur en eau a été déterminée par dessiccation dans l'étuve à 103°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante : [17]

$$H (\%) = (M_1 - M_2) / M \times 100$$

H% : Teneur en eau.

M₁ : Masse de la capsule + échantillon avant dessiccation.

M₂ : Masse de la capsule + échantillon après dessiccation.

M : Masse de la prise d'essai.

La teneur en matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS \% = 100 - H\%$$



Figure 31 : Creusets contenant la matière végétale.

IV. 6. Teneur en cendres totales :

La détermination de la teneur en cendres est basée sur la destruction totale de la matière organique. Elle consiste à minéraliser 2 g d'échantillon broyé dans des capsules qui sont placées dans un four réglé à une température de 550°C pendant 5 heures, jusqu'à obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre.

On exprime la matière organique par la formule suivante : [18]

$$\text{MO \%} = (M_1 - M_2 / M) \times 100$$

MO % : Teneur en matière organique ;

M₁ : Masse de la capsule + prise d'essai ;

M₂ : Masse de la capsule + cendres ;

M : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres est calculée comme suit :

$$\text{Cendres \%} = 100 - \text{MO \%}$$



Figure 32 : Cendres des différents échantillons.

IV. 7. Dosage des minéraux :

2 g des cendres obtenues a été dissoute dans 4 mL d'acide hydrochlorique concentré. La solution est filtrée dans un flacon de 10 mL et le volume a été complété avec de l'eau distillée, avant de servir à l'analyse des minéraux. [19]

À l'aide de la spectrométrie d'absorption atomique, plusieurs minéraux tels que : le plomb, le cobalt, le chrome, le nickel, le zinc, le cadmium et le cuivre ont été déterminés.

Le spectromètre d'absorption atomique utilisé est de type PERKIN ELEMER A ANALYST 300, du laboratoire de chimie inorganique et environnement (LCIE) à l'université de Tlemcen.

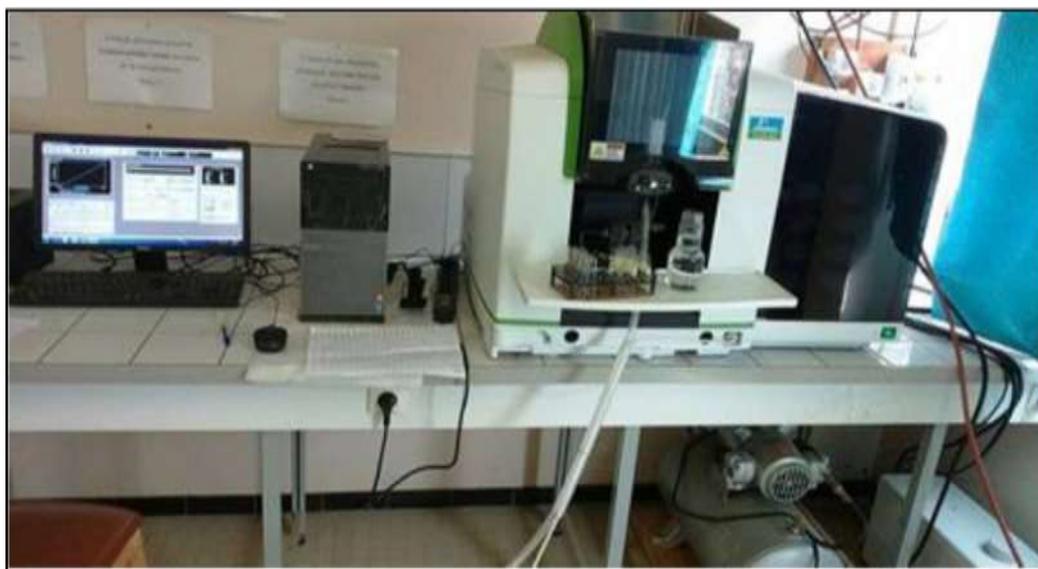


Figure 33 : Spectromètre d'absorption atomique (SAA).

V. Caractérisation de la partie volatile des plantes :

V. 1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

L'extraction des plantes étudiées a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger qui est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des huiles essentielles (**Figure 34**). Avant l'emploi, l'appareil est nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction. Une quantité de la matière végétale sèche est introduite dans un ballon de six litres contenant quatre litres d'eau. Le mélange eau/plante est porté à ébullition par un chauffe-ballon pour générer une vapeur d'eau saturée en composés volatils. Le réfrigérant sert à condenser la vapeur en distillat et l'extraction se poursuit pendant 5 heures. La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'hydrolat (la phase aqueuse) par décantation. La récupération de cette huile essentielle est effectuée du haut de l'essencier à l'aide d'une pipette pasteur, en introduisant de l'éther diéthylique surtout quand le rendement est faible.

Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, nous faisons agir un déshydratant (sulfate de magnésium anhydre) ; c'est l'opération de séchage. L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée à 4°C jusqu'à analyse.

➤ **Calcul du rendement :**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$HE\% = (M_1 / M_0) \times 100$$

HE% : Rendement en huile essentielle ;

M₁ : Masse en gramme d'huile essentielle ;

M₀ : Masse en gramme de la matière végétale sèche.



Figure 34 : Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger.

V. 2. Récupération de l'extrait d'hydrolat :

Pour chaque extraction, 250 mL d'hydrolat a été récupéré dans des bouteilles en verre ambré et conservé à l'abri de la chaleur. La quantité de l'hydrolat récupérée est soumise à une extraction liquide-liquide en utilisant un solvant apolaire. En effet, l'hydrolat a été traité par 3 fois 50 mL d'éther diéthylique. Ensuite, la phase organique récupérée sera concentrée à

l'évaporateur, et le résidu ainsi récupéré a été mis dans des flacons opaques préalablement pesés (**Figure 35** et **Figure 36**).

Le calcul du rendement est défini comme suit :

$$\text{Hy}\% = (V / V_0) \times 100$$

Hy% : Rendement en hydrolat ;

V : Volume d'hydrolat après traitement en millilitre ;

V₀ : Volume total de l'hydrolat en millilitre.



Figure 35 : Récupération de l'hydrolat.



Figure 36 : Extraction liquide-liquide.

V. 3. Analyse chromatographique des huiles essentielles et des hydrolats :

L'analyse et l'identification des constituants de l'huile essentielle obtenue ainsi que la détermination de sa composition centésimale relative ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée et à la spectrométrie de masse (CPG-SM).

V. 3. 1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

Les analyses par CPG-FID ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe de Perkin Elmer Clarus 600 CPG (Walton, MA, USA), équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) permettant la détection des composants, d'un injecteur diviseur et de deux colonnes capillaires en silice (Diamètre intérieur : 60 m × 0,22 mm, épaisseur du film : 0,25 µm) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-

siloxane). La température du four était programmée de 60°C à 230°C à 2°C/min, puis maintenue de manière isotherme à 230°C pendant 35 min. La température de l'injecteur et du détecteur était de 280°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50 et l'hydrogène comme gaz vecteur (0,7 mL/min). La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,2 µL. Pour chacun des composants, les indices de rétention (IR) polaires et apolaires ont été déterminés à partir du logiciel PerkinElmer.



Figure 37 : Chromatographe en phase gazeuse.

V. 3. 2. Couplage CPG/Spectrométrie de masse :

Les analyses en CPG-SM ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe de type Perkin Elmer Autosystem XL doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes capillaires Rtx-Wax et Rtx-1, couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. La température de l'injecteur est de 250 °C. La programmation de la température se fait en une élévation de 60 à 230 °C, à 2°C/min, puis en un palier de 35 min à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80 et l'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur (0,7 mL/min). La quantité d'échantillon injecté est de 0,2 µL. La détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de section cylindrique. La température de la source est de 150°C. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse de 35 à 350 Da (temps de balayage : 1 s).



Figure 38 : Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.

V. 4. Détermination des constantes physico-chimiques :

V. 4. 1. Caractéristiques physiques :

1) Densité relative :

On pèse une certaine quantité de l'huile étudiée à l'aide d'un pilulier taré, puis on calcule la densité par la formule suivante : [20]

$$d\theta = (M_1 - M) / (M_2 - M)$$

M_1 : Masse du pilulier avec l'huile,

M_2 : Masse du pilulier avec l'eau distillée,

M : Masse du pilulier à vide,

$d\theta$: Densité à température ambiante.

$$d_{20} = d\theta + (\theta - 20) \times 0,00068$$

θ : Température ambiante,

d_{20} : Densité à 20°C,

0,00068 : Variation de la densité quand la température varie de 1°C.

2) Indice de réfraction :

Un réfractomètre numérique Abbe (modèle Abbemat 300, Anton Paar (Autriche)), avec une précision de $\pm 0,02$ K pour la température. Les valeurs mesurées des indices de

réfraction utilisant la méthode et l'appareil ont été estimées à $\pm 0,005$ de leurs valeurs réelles (incertitude). [20]

➤ **Mode opératoire :**

- Régler le réfractomètre en mesurant les indices de réfraction des produits étalons (eau distillée a un indice de réfraction de 1,332980 à 20°C), puis vérifier que le réfractomètre est maintenu à la température à laquelle les lectures doivent être effectuées (la température de référence est de 20°C).
- Placer l'échantillon pour essai dans le refractomètre, attendre que la température soit stable, puis effectuer la mesure à deux températures différentes 20 et 25°C.

V. 4. 2. Indices chimiques :

Nous avons déterminé quelques indices chimiques qui caractérisent les huiles essentielles selon les normes AFNOR (Association Française de Normalisation).

1) Indice d'Acide (IA) :

2 g d'huile essentielle sont introduits dans un ballon contenant 5 mL d'éthanol neutralisé et 5 gouttes d'indicateur coloré (phénolphaléine). Nous titrons ensuite le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1N) contenu dans une burette Nous poursuivons l'addition jusqu'à obtention du virage persistant de la solution (rose) pendant 30 secondes. Nous notons ensuite le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé. [21]

L'indice d'acide est calculé par la formule :

$$IA = V \times N \times (56,1 / M)$$

IA : Indice d'acide ;

V : Volume de KOH utilisé (mL) ;

N : Normalité de la solution éthanolique de KOH exprimé en éqg/L ;

M : Masse de la prise d'essai d'huile en gramme ;

56,1 : Masse molaire de KOH.

2) Indice d'iode :

Une quantité de 0,2 g d'huile est solubilisée dans 20 mL de CCl₄. À cette solution on ajoute 20 mL de réactif de Wijis (solution de concentration de 0,1M de monochlorure d'iode).

Le mélange est bouché et mis à l'obscurité pendant 1 heure. On ajoute au mélange précédent 20 mL d'une solution à 10% (m/v) d'iodure de potassium (KI) et 100 mL d'eau distillée puis on dose l'excès d'iode par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,2N) en utilisant l'amidon comme indicateur. [22]

L'indice d'iode est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$I.I = \frac{(V_0 - V) \times C \times 12,69}{M}$$

V_0 : Volume de thiosulfate de sodium dans le test à blanc exprimé en mL.

V : Volume de thiosulfate de sodium nécessaire pour la neutralisation de l'excès d'iode exprimé en mL ;

C : Concentration molaire de la solution de thiosulfate de sodium ;

M : Masse de la prise d'essai d'huile en gramme.

3) Indice de saponification (IS) :

Une quantité d'un gramme d'huile est saponifiée à reflux par 25 mL de KOH éthanolique (0,5N) pendant une heure. L'excès du KOH est neutralisé par de l'acide hydrochlorique (HCl) (0,5N) en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans l'huile. [22]

L'indice de saponification est calculé par la relation suivante :

$$IS = \frac{N \times (V_0 - V) \times 56,1}{M}$$

IS : Indice de saponification ;

V_0 : Volume de HCl en mL dans le test à blanc en mL ;

V : Volume de HCl en mL nécessaire pour neutraliser l'excès de la potasse ;

M : Masse d'huile prise en gramme ;

N : Normalité de la solution potassique ;

$56,1$: Masse molaire de KOH.

4) Indice d'ester :

C'est la quantité en mg de KOH nécessaire pour saponifier 1 g d'huile dépourvue d'acide gras. [20]

$$\mathbf{IE = IS - IA}$$

IE : Indice d'ester ;

IS : Indice de saponification ;

IA : Indice d'acide.

5) Indice de peroxyde :

Dans un ballon, on mélange 2 g d'huile, avec 25 mL de la solution d'acide acétique et du chloroforme. Ensuite, 1 mL de la solution de KI est ajouté. Après 5 min dans l'obscurité, on ajoute rapidement 75 mL d'eau distillée, pour arrêter la réaction, avec quelques gouttes d'indicateur, ce qui donne à la solution une couleur violette. Enfin, le mélange obtenu est titré avec une solution de thiosulfate de sodium 0,01 M jusqu'à la disparition de la couleur violette. Un essai à blanc a été réalisé (en absence d'huile). [23]

L'indice de peroxyde est calculé selon l'équation :

$$\mathbf{\text{Indice de peroxyde} = \frac{(V - V_0) \times N \times 100}{M}}$$

V : Volume de la solution thiosulfate de sodium utilisé en mL ;

V₀ : Volume de thiosulfate de sodium dans le test à blanc exprimé en mL ;

M : Masse de la prise d'essai d'huile en gramme.

VI. Extraction des acides gras et des insaponifiables :

La saponification des extraits est réalisée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium méthanolique 2N. 1 g d'extrait hexanique dissous dans 50 mL de KOH a été chauffé à reflux pendant 1 h 30. Après refroidissement, on ajoute de l'eau déminéralisée et les composants insaponifiables sont extraits trois fois avec 50 mL d'éther diéthylique. Le solvant est ensuite éliminé à 35°C sous pression réduite avec un évaporateur rotatif puis pesé.

La solution savonneuse aqueuse est ensuite acidifiée avec du HCl 1N, jusqu'à précipitation des acides gras (pH 5-6) et les acides gras libérés sont extraits à l'éther (3 x 50 mL) et séchés sur MgSO₄ puis pesés.

Les acides gras sont transformés en leurs esters méthyliques par addition d'une solution méthanolique de BF₃ à 10%, et les esters méthyliques obtenus sont extraits trois fois avec 50 mL d'hexane. La couche organique est séchée sur Na₂SO₄ et évaporée. [24]

➤ **Calcul du rendement :**

Le rendement est le rapport de la quantité de l'extrait recueillie après extraction sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage.

$$R (\%) = (M_1 - M_2) / M_3 \times 100$$

M₁ : Masse du ballon après évaporation ;

M₂ : Masse du ballon avant évaporation (vide) ;

M₃ : Masse de la matière végétale de départ.

VII. **Activité antioxydante :**

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisé deux techniques chimiques à savoir : la réduction du fer (FRAP), le piégeage du radical libre DPPH.

VII. 1. **Test de piégeage du radical libre DPPH :**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Sanchez-Moreno et al.** [25]

50 µL de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1950 µL de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/L). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour

chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I %).

$$I \% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

La CI50 est la concentration d'extrait responsable de l'inhibition de 50% des radicaux DPPH. Elle est déterminée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés donnant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations.

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance antiradicalaire (ARP). [26]

$$ARP = 1 / CI50$$

VII. 2. Test de la réduction du fer FRAP :

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) par les extraits est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu**. [27]. 1 mL de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5 mL d'acide trichloroacétique à 10% est additionné pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 tours pendant 10 min. À la fin, 2,5 mL de surnageant est combiné avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution de $FeCl_3$ à 0,1%. L'absorbance est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

VI. Analyse statistique :

Les valeurs expérimentales obtenues des différents dosages et celles des activités antioxydantes ont été exprimées sous forme d'une moyenne \pm l'écart type. Le coefficient de corrélation des propriétés antioxydante a été déterminé en utilisant le programme Excel 2013. Pour chaque expérience, trois essais ont été effectués.

Références bibliographiques

1. Selles, C., *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M*. Université Abou Bekr Belkaid. p. 72.
2. Weller, L.W.a.C.L., *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*. Trends in Food Science & Technology, 2006. **17**: p. 300–312.
3. Benmehdi, H., *valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte*. 2000, Université de Tlemcen. Algérie. p. 56.
4. Merghem, R., et al., *Five 8-C-benzylated flavonoids from Thymus hirtus (Labiatae)*. Phytochemistry, 1995. **38**(3): p. 637-640.
5. Shu-Yan Zhang, C.-G.Z., Xi-Yun Yan and Wei-Xi Tian, *Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008. **371**: p. 654–658.
6. LuigiaL, O., A.S., Giuseppe Vasapollo, *Identification and quantification of anthocyanins in the berries of Pistacia lentiscus L., Phillyrea latifolia L. and Rubia peregrina L*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2007. **8**(3): p. 360-364.
7. Bruneton, J., *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. 3 ed. 1999: Technique et documentation-Lavoisier, Paris, France. p. 1120.
8. Trease, E. and W.C. Evans, *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 13 ed. 1987: Balliere Tindall, London,. p. 61-62.
9. Bruneton, J., *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. 2 ed. 1993: Technique et documentation-Lavoisier, Paris, France. p. 915.
10. Memelink, J., R. Verpoorte, and J.W. Kijne, *ORCAnization of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism*. Trends in Plant Science, 2001. **6**(5): p. 212-219.

11. Linden, G. and D. Lorient, *Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole*. Paris ; Milan ; Barcelone : Masson ed. 1994.
12. Harborne, J.B., *Comparative biochemistry of the flavonoids-VI.: Flavonoid patterns in the bignoniaceae and the gesneriaceae*. *Phytochemistry*, 1967. **6**(12): p. 1643-1651.
13. Vernon, L., Singleton, O.R., Rosa M., *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent Methods*. *Enzymology*, 1999. **299**: p. 152-178.
14. Djeridane, A., et al., *Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds*. *Food Chemistry*, 2006. **97**: p. 654–660.
15. E.Hagerman, A., *Tannin Handbook*. Chemistry and biochemistry, 2002. miami: oxford OH 45056 USA. p. 87.
16. DuBois, M., et al., *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances*. *Anal. Chem*, 1956. **28**(3): p. 350–356.
17. Audigié, C., J.F.a.F.Z., *Manipulations d'analyse biochimique*. Paris ed. Doin. 1978. p. 27-74.
18. AFNOR, *Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes Jus de fruits*. Paris 1 ed. 1982.
19. Bouba, A.A., *Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle*. Alimentation et Nutrition. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2009. p. 62.
20. Noudogbessi, J.-P., D. Kossou, and D.C. Sohounhloué, *Composition Chimique et Propriétés Physico-Chimiques des Huiles Essentielles de Pimenta racemosa (Miller) et de Chromolaena odorata (L. Robinson) Acclimatées au Bénin*. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 2008. **26**: p. 11-19.
21. AFNOR, *Huiles essentielles Tome 2 Monographies relatives aux huiles essentielles*. 6 ed. Recueil normes. Association française de normalisation. 2000, Paris La Défense. **2**: p. 663-XLVI.

22. Association française de normalisation, *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés recueil de normes françaises*. 4 ed. 1988, Paris-La-Défense: AFNOR. p. XXIV-531.
23. Wolff, J.P., *Manuel d'analyse des corps gras*. 1968, Paris: Azoulay. p. 553.
24. Dib, M. A., et al., *Partial chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus crinitus* Desf. extracts*. *Grasas y aceites*, 2010. **61**(3): p. 271-278.
25. Sánchez-Moreno, C., J. A. Larrauri, and F. Saura-Calixto, *Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents*. *Food Research International*, 1999. **32**(6): p. 407-412.
26. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. *LWT - Food Science and Technology*, 1995. **28**(1): p. 25-30.
27. Oyaizu, M., *Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine*. *Japan Journal of Nutrition*, 1986. **44**: p. 307-315.

CHAPITRE II :
RESULTATS ET DISCUSSION

I. *Rhus pentaphylla* Desf. :

I. 1. Rendements des extraits bruts :

L'obtention des différents extraits de *R. pentaphylla* Desf. nous a permis de calculer le rendement pour chaque extrait des trois parties de la plante (feuilles, fruits et racines). Les rendements des extraits bruts secs sont exprimés en pourcentage et les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau 7** et la **Figure 39**.

Tableau 7 : Rendements des extraits de *R. pentaphylla* Desf.

Extrait	Rendement (%)		
	Fruits	Feuilles	Racines
Méthanolique	15	22	21,8
Aqueux	12,4	12	6
Saponosides	19,5	/	/
Anthocyanes	40	/	/
Tanins	2	9	12
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	4	7	3
Flavonoïdes (fraction Ac-Et)	3	9	7

Les résultats obtenus pour les extraits bruts méthanolique et aqueux, montrent que l'extrait méthanolique des trois parties de la plante donne le meilleur rendement d'extraction où les rendements les plus élevés ont été enregistrés dans les feuilles (22%) et les racines (21,8%). Pour les extraits bruts aqueux, nous constatons que les fruits possèdent le rendement le plus élevé avec 12,4% suivi par celui des feuilles 12%. Cependant, nous avons remarqué que le rendement en extrait sec des anthocyanes des fruits (40%) est le plus élevé par rapport aux autres composés phénoliques. De même, l'extrait des saponosides de la même partie a donné un taux élevé avec 19,5%.

Nous avons observé aussi que les rendements trouvés dans l'extraction des tanins sont plus importants dans les racines (12%) et les feuilles (9%) que dans les fruits (2%). De plus, les rendements les plus élevés en flavonoïdes ont été trouvés dans la fraction à l'acétate d'éthyle (9%) et la fraction au n-butanol (7%) des feuilles.

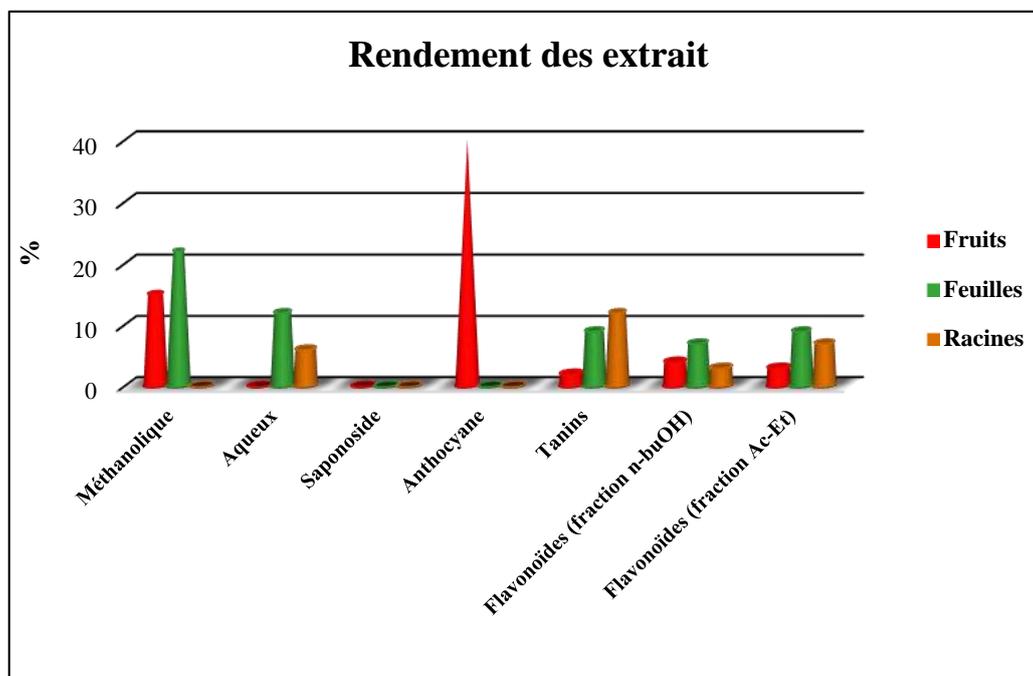


Figure 39 : Rendements des extraits de *R. pentaphylla* Desf.

I. 2. Criblage phytochimique :

Les résultats de l'examen phytochimique préliminaire des différentes parties de *R. pentaphylla* obtenus par screening chimique sont représentés dans le **Tableau 8** :

Tableau 8 : Résultats des tests phytochimiques de *R. pentaphylla* Desf.

Substances recherchées	<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.		
	Racines	Fruits	Feuilles
Flavonoïdes	+	+	+
Tanins	+	+	+
Anthocyanosides	-	+	-
Anthracénosides	-	+	-
Anthraquinones	-	-	-
Coumarines	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-
Saponosides	-	+	+
Stérols et stéroïdes	+	+	+
Acides gras	+	+	+
Huiles volatiles	-	+	+
Composés réducteurs	+	+	+
Amidon	-	-	-
Mucilage	+	+	+

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

Le screening phytochimique de *R. pentaphylla* a été effectué sur différents extraits préparés à partir des feuilles, des fruits et des racines, en utilisant des solvants à polarités différentes (l'eau, l'éthanol et l'éther diéthylique) et des réactifs spécifiques de révélation.

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des différentes familles de composés chimiques au niveau des tissus végétaux de notre plante par des simples réactions de coloration et de précipitation.

Selon les résultats mentionnés dans le **Tableau 8**, nous remarquons que les composés réducteurs, les stérols et les stéroïdes sont fortement présents dans les différentes parties de la plante. Nous notons aussi que les tanins et les flavonoïdes sont présents beaucoup plus dans les feuilles que dans les fruits et les racines.

Par ailleurs, les saponosides sont présents avec une intensité importante dans les fruits mais faiblement caractérisés dans les feuilles alors que les anthocyanosides et les anthracénosides ne sont présents que dans les fruits.

Une présence moyenne des acides gras est marquée au niveau des feuilles, des fruits et des racines alors que les huiles volatiles étaient présentes uniquement dans les parties aériennes.

De plus, les feuilles et les fruits sont caractérisés par leur richesse en mucilage. En fin, nous remarquons une absence totale d'amidon, des coumarines, des alcaloïdes et les anthraquinones.

Au vu de ces résultats, la plante *R. pentaphylla* est riche en divers métabolites secondaires tels que les polyphénols, les saponosides et les anthocyanines. Ces substances sont reconnues pour leur propriété antioxydante importante.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *R. pentaphylla* ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines, un résultat comparable au notre, à l'exception des coumarines qui se sont révélées négatives dans les extraits des trois parties de la plante [1].

I. 3. Analyses quantitatives :

I. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres :

L'analyse quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tannins condensés et des sucres totaux de *R. pentaphylla* a été réalisé selon les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium, de vanilline et la méthode de phénol/acide sulfurique respectivement. Les teneurs en ces composés sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage et sont exprimées respectivement en mg équivalent d'acide gallique, de quercétine, de catéchine et du glucose par g de la matière sèche.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits des feuilles, des fruits et des racines de la plante étudiée sont représentés dans le **Tableau 9** et les courbes d'étalonnage de l'acide gallique, la quercétine, la catéchine et le glucose sont représentés dans les figures **118, 119, 120** et **121** (**Annexe 2**).

Tableau 9 : Teneurs en composés phénoliques et en sucres de *R. pentaphylla* Desf.

	Polyphénols (mg EqG/g)	Tanins (mg EqC/g)	Flavonoïdes (mg EqQ/g)	Sucres (mg Eq Glucose/g)
Feuilles	26,93 ± 0,02	13,52 ± 0,04	8,52 ± 0,03	46,82 ± 0,06
Fruits	9,30 ± 0,09	3,86 ± 0,03	6,17 ± 0,01	23,32 ± 0,01
Racines	44,00 ± 0,09	39,74 ± 0,08	2,61 ± 0,18	45,91 ± 0,10

Les résultats représentés dans le **Tableau 9**, montrent que les extraits de différentes parties de la plante renferment des concentrations variables en composés phénoliques et en sucres. Nous remarquons que les trois parties de la plante sont riches en sucre où les teneurs les plus élevées sont constatées dans les feuilles et les racines où elles sont respectivement, de 46,82 mg EqGlucose/g et 45,91 mg EqGlucose/g. Concernant les polyphénols et les tanins condensés, les extraits des racines et des feuilles possèdent les teneurs les plus élevées par rapport aux fruits.

D'autre part, les teneurs en flavonoïdes dans les feuilles (8,52 mg EqQ/g) et dans les fruits (6,17 mg EqQ/g) sont plus importantes par rapport à celles des racines (2,61 mg EqQ/g).

Ces résultats obtenus sont représentés sur la **Figure 39** qui montre la richesse en tanins des racines de *R. pentaphylla* Desf.

La comparaison de nos résultats avec ceux du **Tableau 10** montre que *R. pentaphylla* Desf. tunisien et marocain possèdent des teneurs plus élevées en composés phénoliques.

Tableau 10 : Teneurs en composés phénoliques des travaux antérieurs de *R. pentaphylla* Desf.

	Polyphénols (mg Eq/g)	Tanins (mg Eq/g)	Flavonoïdes (mg Eq/g)
Feuilles	83,17 ± 5,66 [2]		71,11 ± 1,60 [2]
	48,26 ± 5,72 [2]		56,08 ± 1,42 [2]
	39,33 ± 0,66 [3]		7,45 ± 0,53 [3]
		10,31 [1]	12,3 [1]
	26,93 ± 0,02	13,52	8,52 ± 0,03 (Benmansour <i>et al.</i>)
Fruits	143,82 ± 5,72 [2]		14,28 ± 0,80 [2]
	31,47 ± 5,65 [2]		7,93 ± 0,82 [2]
		17,45 [1]	21,12 [1]
	9,30 ± 0,09	3,86	6,17 ± 0,01 (Benmansour <i>et al.</i>)
Racines	/	35,51 [1]	0 [1]
		39,74	2,61 ± 0,18 (Benmansour <i>et al.</i>)

I. 3. 2. Teneur en eau :

Les taux d'humidité (H%) et de la matière sèche (MS) calculés sont rapportés dans le tableau ci-dessous **Tableau 11** :

Tableau 11 : Teneurs en eau et en matière sèche de *R. pentaphylla* Desf.

	H (%)	MS (%)
Feuilles	5 ± 0,24	95 ± 0,24
Fruits	2 ± 0,31	98 ± 0,31
Racines	15 ± 0,46	85 ± 0,46

Au regard des résultats obtenus, les feuilles et les fruits possèdent des teneurs faibles en eau (5 et 2% respectivement) et par conséquent un pourcentage élevé en matière sèche (95 et 98% respectivement) alors que les racines présentent un taux d'humidité de 15% supérieur

à celui des feuilles et des fruits. Ces teneurs en eau relativement faibles assurent à la plante une plus grande stabilité et par conséquent un stockage assez long.

I. 3. 3. Teneur en cendres totales :

Les résultats de la teneur en cendres effectués sur les poudres végétales des feuilles, des fruits et des racines de *R. pentaphylla* sont représentés dans le **Tableau 12** :

Tableau 12 : Teneurs en cendres totales de *R. pentaphylla* Desf.

	MO (%)	Cendre (%)
Feuilles	96,0 ± 0,54	4,0 ± 0,54
Fruits	95,7 ± 0,41	4,3 ± 0,41
Racines	98,0 ± 0,35	2,0 ± 0,35

La teneur en cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans la l'échantillon à analyser. Les résultats des analyses montrent que les trois parties de la plante étudiée présentent des teneurs faibles en sel minéraux dont les valeurs sont comprises entre 2 et 4%. Par conséquent, la plante sous investigation se caractérise par une richesse en matières organiques.

I. 3. 4. Dosage des minéraux :

Les résultats du dosage des minéraux effectué sur les fruits de *R. pentaphylla* sont représentés sur le **Tableau 13** :

Tableau 13 : Teneurs en minéraux des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

Métal	Concentration (ppm)
Zinc	3,151
Nickel	1,310
Cadmium	0,283
Plomb	5,108
Cobalt	0,864
Chrome	5,993
Cuivre	3,624

Les teneurs en minéraux exprimées en ppm sont calculées par rapport à la matière sèche (MS). Nous remarquons que les fruits de *R. pentaphylla* présentent des teneurs élevées en chrome et en plomb (5,993 et 5,108 ppm respectivement). De plus, Le taux de cuivre est estimé à 3,624 ppm suivi du zinc avec 3,151 ppm. Par contre, la plante est caractérisée par des taux faibles en cadmium, cobalt et nickel avec des valeurs respectives de 0,283, 0,864 et 1,31 ppm.

I. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile :

I. 4. 1. Propriétés organoleptiques :

L'obtention des huiles essentielles par hydrodistillation au moyen d'un Clevenger (extraction solide-liquide) et de l'hydrolat par extraction liquide-liquide en utilisant l'éther diéthylique a donné un rendement faible de 0,02%.

L'huile essentielle obtenue est plus légère que l'eau. Elle est liquide à température ambiante, d'une odeur caractéristique forte et de couleur jaune verdâtre. Concernant l'hydrolat obtenu par l'extraction liquide-liquide, il est liquide à température ambiante de même couleur que l'huile et se caractérise par une odeur plus au moins forte.

Tableau 14 : Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. pentaphylla* Desf.

	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement
HE	Liquide	Jaune verdâtre	Piquante	0,02%
Hy	Liquide	Jaune verdâtre	Piquante	0,02%



Figure 40 : Huile essentielle de *R. pentaphylla* Desf.

I. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat :

Après l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et de l'extrait d'hydrolat par extraction liquide-liquide, les deux extraits ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Les résultats sont consignés dans le **Tableau 15 :**

Tableau 15 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *R. pentaphylla* Desf.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	HE ^e (%)	Hy ^e (%)
1	Hexanal	770	765	1060	–	0,2
2	(E)-2-Hexenal	820	821	1206	–	0,5
3	(E)-3-Hexanol	832	828	1324	–	0,3
4	(Z)-3-Hexenol	838	841	1337	–	0,5
5	Hexanol	854	865	1368	–	0,6
6	Benzaldéhyde	929	926	1502	–	0,4
7	α -Pinène	931	929	1016	0,6	–
8	Camphène	943	942	1061	0,3	–
9	Heptanol	950	949	1455	0,1	0,6
10	Octèn-3-ol	959	957	1439	–	1,1
11	β -Pinène	970	969	1106	0,8	–
12	Phénylacétaldéhyde	1013	1006	1617	tr	0,6
13	Benzyle alcohol	1011	1009	1823	0,1	1,2
14	Limonène	1020	1020	1194	0,5	–
15	Acétophénone	1044	1032	1601	tr	0,5
16	trans-Sabinène hydrate	1051	1055	1428	tr	1,2
17	Octanol	1058	1058	1541	0,1	0,8
18	trans-Linalool oxide	1073	1074	1434	–	0,6
19	β-Phényle éthanol	1080	1082	1919	0,2	2,5
20	Linalool	1081	1087	1531	0,4	4,6
21	Camphor	1123	1123	1514	tr	0,8
22	Isophorone	1124	1129	1578	0,2	1,6
23	Isobornéol	1148	1146	1671	–	0,8
24	Bornéol	1150	1150	1681	0,5	2,6
25	Cryptone	1157	1159	1665	tr	1,2
26	Terpinèn-4-ol	1161	1161	1584	0,6	2,8
27	Nonanol	1166	1167	1657	–	0,9
28	α-Terpinéol	1179	1172	1677	0,5	5,2
29	Myrtéol	1177	1182	1769	0,3	2,4
30	α -Campholéol	1186	1186	1781	–	0,8
31	β -Cyclocitral	1200	1198	1614	–	1,5
32	Nérol	1214	1211	1679	0,9	1,1
33	Carvone	1222	1224	1745	–	0,7
34	Géraniol	1232	1235	1844	0,2	1,6
35	trans-Myrtanol	1241	1242	1859	–	0,5
36	(E)-2-Décanal	1248	1247	1650	–	0,2

37	Lyratyl acétate	1256	1256	–	0,3	2,1
38	Indole	1269	1267	2359	0,4	–
39	Bornyl acétate	1270	1271	1566	tr	0,8
40	2-Undécanone	1273	1277	1580	tr	0,3
41	Carvacrol	1278	1284	2234	tr	1,2
42	Eugénol	1330	1330	2164	0,4	0,6
43	Décan-2-ol	1340	1356	1624	0,1	0,5
44	Undécanol	1359	1359	1827	0,2	0,2
45	α -copaène	1379	1372	1520	0,2	–
46	Acide décanoïque	1380	1384	2287	0,1	0,9
47	Petasitène	1392	1396	1427	0,1	–
48	Dodécanal	1395	1405	1707	0,2	–
49	α -Ionone	1414	1413	1835	0,3	0,8
50	α -Gurjunène	1419	1420	1530	0,3	–
51	β -Cedrène	1424	1425	1590	0,4	–
52	Thujopsène	1425	1429	–	0,5	–
53	β -Copaène	1428	1433	1583	1,4	–
54	Néryl acétone	1430	1436	1827	tr	0,5
55	Aromadendrène	1441	1447	1602	0,3	–
56	α -Humulène	1454	1450	1664	0,2	–
57	Damascone	1456	1459	1809	0,3	1,2
58	Allo-Aromadendrène	1462	1460	1631	0,5	–
59	β -Ionone	1466	1466	1931	0,1	0,9
60	α -Curcumène	1471	1478	1772	0,3	–
61	γ -Curcumène	1474	1481	1685	0,4	–
62	β-Selinène	1483	1487	1715	2,5	–
63	2-Tridécanone	1491	1492	1815	0,1	4,1
64	Ledène	1494	1496	1691	0,8	–
65	β -Bisabolène	1500	1502	1711	0,5	–
66	α -Bisabolène	1518	1510	1740	0,7	–
67	Élémicine	1520	1517	2224	0,1	0,3
68	δ -Cadinène	1524	1531	1748	0,2	–
69	α -Cadinène	1535	1540	1755	0,5	–
70	Nérolidol	1546	1548	2044	1,2	0,5
71	α -Copaène-11-ol	1547	1552	2109	1,3	1,2
72	Epiglobulol	1558	1556	2024	0,8	0,5
73	Spathuléol	1568	1564	2093	14,9	14,2
74	Palustrol	1571	1567	1920	1,1	1,4
75	Acide dodécanoïque	1572	1572	2443	3,2	1,1
76	Caryophellène oxide	1576	1579	1983	1,9	0,8

77	Globulol	1580	1581	2074	1,5	1,2
78	Guaiol	1591	1588	2083	1,4	–
79	Copabornéol	1592	1592	2152	0,3	0,8
80	Viridiflorol	1593	1594	2085	–	0,3
81	Tétradécanal	1595	1596	2159	tr	0,2
82	Humulène époxyde II	1597	1601	2034	–	0,3
83	Lédol	1600	1607	2024	1,1	0,4
84	Benzophénone	1610	1611	2460	0,3	–
85	Cubénoïl	1611	1615	2074	–	0,4
86	Aromadendrène oxide II	1617	1620	1997	1,1	2,1
87	Epicubénoïl	1624	1622	2060	0,3	0,8
88	τ -Cadinol	1632	1632	2169	0,4	0,6
89	Hinénoïl	1636	1636	2195	1,2	1,5
90	β -Turmérone	1639	1638	–	–	0,5
91	β -Eudésnoïl	1644	1642	2234	0,5	0,4
92	α -Cadinol	1645	1649	2235	–	0,8
93	α -Eudésnoïl	1653	1654	2224	0,2	0,5
94	Bulnénoïl	1659	1659	2213	0,5	–
95	2-Oplopenol	1670	1670	2293	0,3	0,4
96	(Z, E)Farnésol	1687	1693	2307	0,3	0,5
97	Acide tétradécanoïque	1748	1750	2651	3,1	0,6
98	Hexadécanal	1795	1793	2122	0,2	0,1
99	Phytone	1817	1824	2137	1,1	–
100	(Z, Z)-Farnésyl acétone	1844	1840	2295	0,3	0,4
101	Acide pentadécanoïque	1848	1852	2783	0,2	0,2
102	Isophytol	1899	1902	2335	0,2	0,3
103	Cumbrène	1932	1937	–	2,1	–
104	Acide hexadécanoïque	1968	1963	2867	31,5	4,2
105	Octadécanal	1995	1992	2359	0,2	–
106	Octadécanol	2070	2065	2582	0,3	tr
107	Phytol	2104	2092	2646	0,4	–
108	Acide linolénoïque	2115	2116	2587	3,5	–
109	Docosane	2200	2191	2185	0,3	–
110	Oleamide	2380	2389	–	0,3	–
111	Pentacosane	2500	2496	2485	0,4	–
112	Octacosane	2600	2609	–	0,3	–
Total d'identification %					96,9	92,5
Diterpènes oxygénés					0,6	0,3
Composés sesquiterpéniques					40,1	30,1

- Sesquiterpènes oxygénés	30,3	30,1
- Sesquiterpènes hydrocarbonés	9,8	–
Composés monoterpéniques	6,0	29,8
- Monoterpènes oxygénés	3,8	29,8
- Monoterpènes hydrocarbonés	2,2	–
Composés non-terpéniques	50,2	32,3
- Composés oxygénés non-terpéniques	46,7	32,3
- Composés hydrocarbonés non-terpéniques	3,5	–
Alcools	32,8	60,0

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

tr, trace (< 0,05%), IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants.

L'analyse chromatographique par CPG et CPG/SM de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat obtenue à partir de la partie aérienne de *R. pentaphylla* a permis d'identifier 83 composés dans l'huile essentielle et 75 composés dans l'extrait d'hydrolat qui représentent respectivement 96,9% et 92,5% de la composition totale de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat avec une prédominance des composés oxygénés. L'huile essentielle est caractérisée par un pourcentage élevé en composés non terpéniques (50,2%), suivi de sesquiterpènes (40,1%), alors que les monoterpènes se trouvent à de faibles teneurs (6,0%). D'autre part, l'extrait d'hydrolat est caractérisé par trois classes de composés oxygénés : les composés non terpéniques (32,3%), les sesquiterpènes (30,1%) et les monoterpènes (29,8%).

Les principaux composés de l'huile essentielle de la partie aérienne de *R. pentaphylla* sont l'acide hexadécanoïque, le spathuléol, l'acide linoléique et l'acide dodécanoïque dont l'acide hexadécanoïque et le spathuléol apparaissent comme les constituants majoritaires avec des valeurs respectives de 31,5% et 14,9%. Pour l'extrait d'hydrolat, les principaux composés sont le spathuléol, l' α -terpinéol, le linalool et l'acide hexadécanoïque. Tandis que le spathuléol forme le composé majoritaire avec un pourcentage de 14,2%.

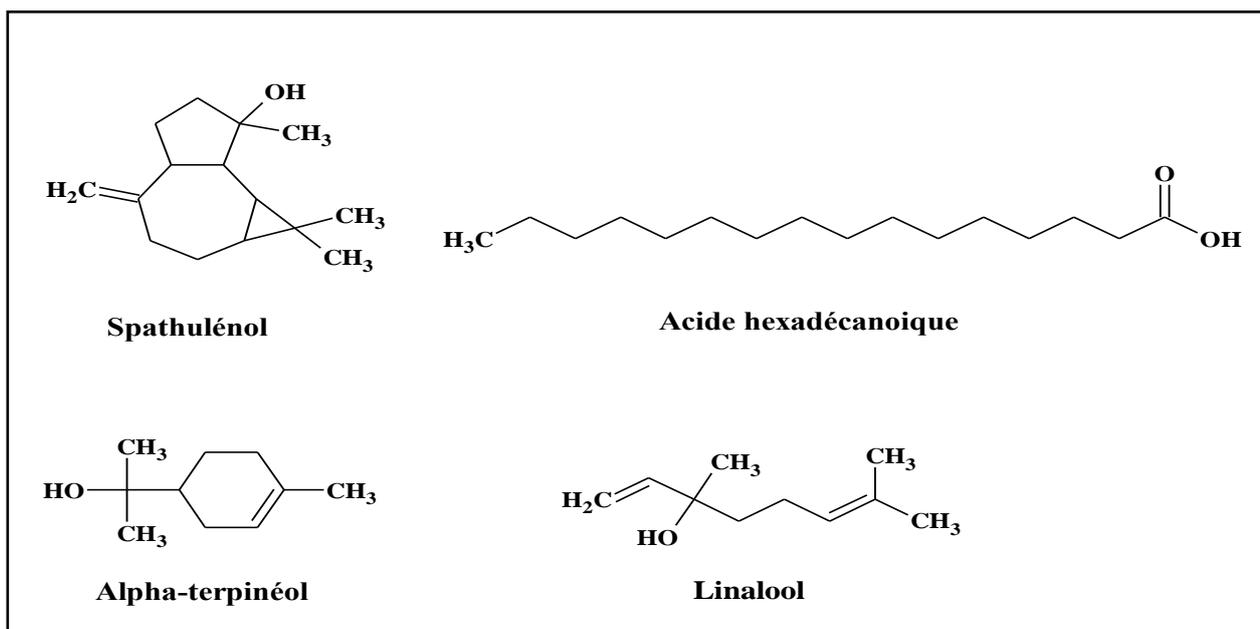


Figure 41 : Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. pentaphylla*. Desf.

Par comparaison aux travaux réalisés sur *R. coriaria*, une plante du même genre, il s'avère que cette dernière est caractérisée par une quantité élevée en composés non terpéniques (de 27,5 à 55,1%), suivis par les sesquiterpènes et les diterpènes [5] où les hydrocarbures monoterpéniques étaient présents comme principaux constituants dans les échantillons analysés (limonène (9,4%), nonanal (10,7-13,1%) et (Z) -2-décenal (9,9-42,3%), ainsi que le cembrène (6,3%) [6-7].

I. 5. Composition en acides gras :

I. 5. 1. Rendements d'extraction :

Les rendements d'extraction calculés par rapport à la matière sèche du végétal varient entre les deux organes étudiés. Les résultats obtenus montrent que les fractions insaponifiables des fruits et des racines représentent respectivement : 1,7% et 15% de l'extrait hexanique. Cependant, les fractions d'acides gras des fruits et des racines représentent respectivement : 7,5% et 25% de l'extrait hexanique. Nous constatons que les racines de notre plante présentent une teneur élevée en acides gras par rapport aux fruits.

Tableau 16 : Rendement des acides gras et insaponifiables des fruits et des racines de *R. pentaphylla* Desf.

	Rendement (%)		
	Extrait hexanique	Acide gras	Insaponifiables
Fruits	10,4	7,5	1,7
Racines	7,7	25	7,6

I. 5. 2. Composition chimique des acides gras :

L'analyse de la composition en acides gras a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Les acides gras des fruits et des racines, ainsi que leurs indices de rétention et leur abondance relative sont donnés dans le **Tableau 17** :

Tableau 17 : Composition en acides gras des racines et des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	Fruits ^e %	Racines ^e %
1	Acide nonanoïque (C9:0)	1210	1214	1497	4,1	10,1
2	Acide décanoïque (C10:0)	1282	1279	1581	2,9	9,7
3	Acide undécanoïque (C11:0)	1410	1413	1706	0,9	2,3
4	Acide laurique (C12:0)	1509	1510	1798	0,3	1,8
5	Acide tridécanoïque (C14:0)	1572	1561	1921	1,8	4,3
6	Acide tétradécanoïque (C14:0)	1713	1703	1986	0,1	0,8
7	Acide pentadécanoïque (C15:0)	1817	1823	2146	0,5	1,6
8	Acide palmitoléique (C16:1)	1886	1904	2369	7,5	9,1
9	Acide palmitique (C16:0)	1928	1939	2087	24,7	43,2
10	Acide linolélaïdique (C18:2)	1989	2003	2127	0,2	tr
11	Acide linoléique (C18:2)	2077	2067	2378	4,5	1,7
12	Acide oléique (C18:1)	2081	2070	2413	1,1	2,1
13	Acide élaïdique (C18:1)	2085	2075	2420	2,2	2,2
14	Acide stéarique (C18:0)	2111	2102	2394	1,3	2,3
15	Acide arachidique (C20:0)	2294	2302	2750	0,9	–

16	Acide hénicosanoïque (C21:0)	2395	2408	2460	17,3	–
17	Acide béhénique (C22:0)	2502	2503	2511	1,9	–
18	Acide tricosanoïque (C23:0)	2631	2624	2858	25,4	–
Total d'identification %					97,6	91,2
Les acides gras saturés					82,1	76,1
Les acides gras mono-insaturés					10,8	13,4
Les acides gras poly-insaturés					4,7	1,7

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

tr, trace (< 0,05%), IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants.

L'analyse de la composition des extraits d'acides gras de *R. pentaphylla* révèle la présence de 18 constituants dans les fruits et 14 constituants dans les racines avec des pourcentages respectifs de 97,6% et 91,2%. Les fruits et les racines sont caractérisés par des teneurs élevées en acides gras saturés dont l'acide palmitique est le composé principal (24,7% pour les fruits et 43,2% pour les racines). Par ailleurs, l'acide tricosanoïque est présent en quantité importante uniquement dans les fruits (25,4%).

I. 6. Activité antioxydante de l'huile essentielle, de l'extrait d'hydrolat et des différents extraits par solvants de *R. pentaphylla* Desf. :

I. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de *R. pentaphylla* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Afin de déterminer les concentrations qui réduisent 50% des radicaux libres, les valeurs des CI50 ont été calculées. Plus la valeur de CI50 est faible plus l'activité antioxydante est forte.

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne ainsi que les extraits des différents organes de *R. pentaphylla* par la méthode du DPPH afin de déterminer la fraction la plus active. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes représentées sur les figures (42, 43, 44, 45, 46 et 47).

À partir de ces dernières, nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibitions obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur de CI50 de chaque extrait (Tableau 18).

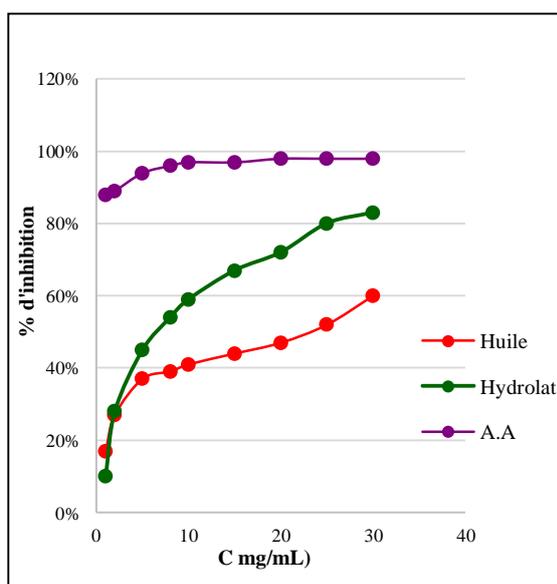


Figure 42 : % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *R. pentaphylla* Desf.

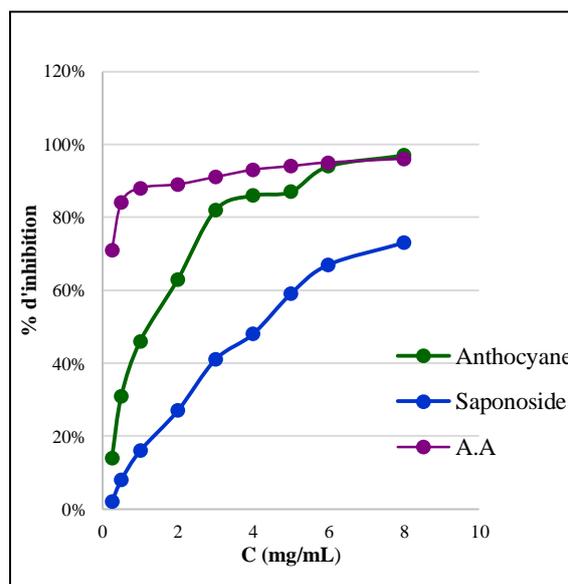


Figure 43 : % d'inhibition du DPPH des anthocyanes et des saponosides des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

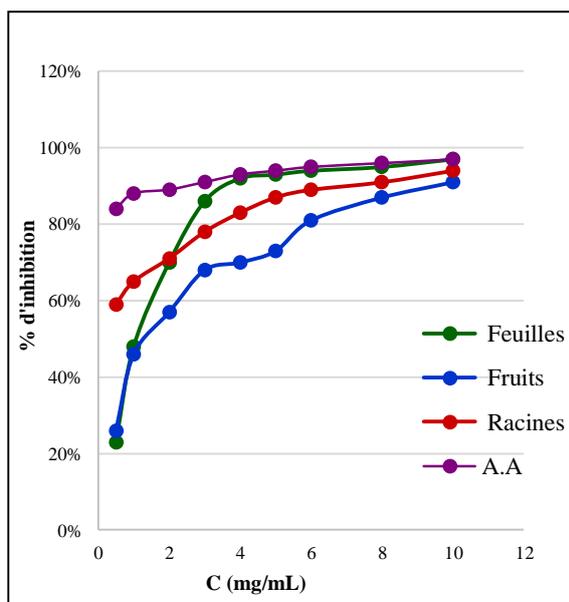


Figure 44 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique *R. pentaphylla* Desf.

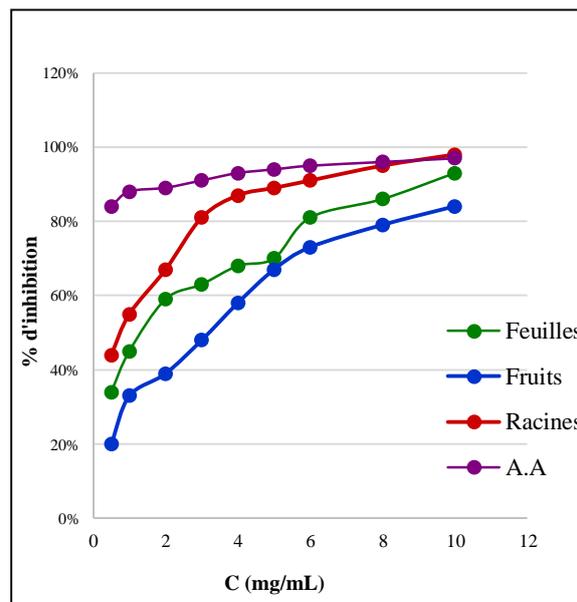


Figure 45 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de *R. pentaphylla* Desf.

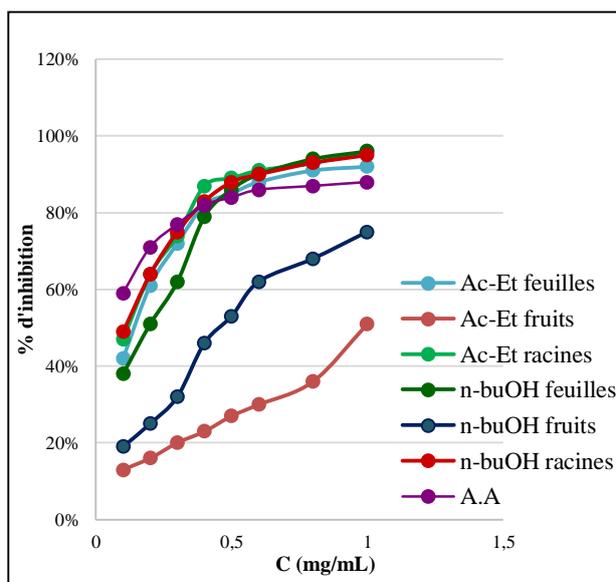


Figure 46 : % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de *R. pentaphylla* Desf.

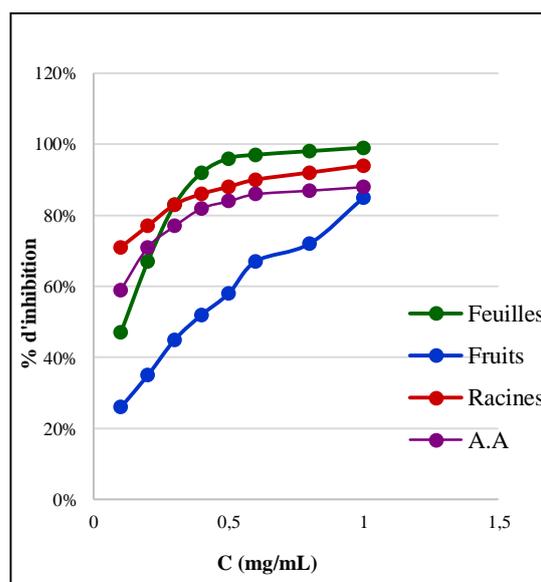


Figure 47 : % d'inhibition du DPPH des tanins de *R. pentaphylla* Desf.

Tableau 18 : Valeurs des CI50 de *R. pentaphylla* Desf. par la méthode DPPH.

Extrait	Partie étudiée	DPPH (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	Partie aérienne	21,90 ± 0,41
Extrait d'hydrolat	Partie aérienne	6,40 ± 0,16
Anthocyanes	Fruits	1,07 ± 0,31
Saponosides	Fruits	4,47 ± 0,05
Extrait méthanolique	Feuilles	1,06 ± 0,03
	Fruits	1,41 ± 0,15
	Racines	0,11 ± 0,01
Extrait aqueux	Feuilles	1,32 ± 0,03
	Fruits	2,44 ± 0,45
	Racines	0,71 ± 0,04
Tanins	Feuilles	0,09 ± 0,01
	Fruits	0,41 ± 0,03
	Racines	0,01 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Feuilles	0,12 ± 0,02
	Fruits	1,07 ± 0,01
	Racines	0,10 ± 0,02
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Feuilles	0,16 ± 0,02
	Fruits	0,53 ± 0,04
	Racines	0,10 ± 0,03
Acide ascorbique	/	0,04 ± 0,01

Les courbes de l'activité antioxydante sont exprimées en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait utilisé. L'acide ascorbique est pris comme antioxydant de référence. L'interprétation des courbes montre que l'activité antioxydante des extraits augmente avec l'augmentation de leurs concentrations pour se stabiliser à la fin.

Le test au DPPH révèle que l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *R. pentaphylla* sont les deux extraits les moins actifs comme piègeurs du radical DPPH. L'extrait d'hydrolat possède une activité antiradicalaire plus élevée que celle de l'huile essentielle avec une CI50 de 6,40 mg/mL. Cette supériorité est probablement liée à son profil chimique, en particulier au pourcentage élevé des composés oxygénés.

En ce qui concerne les polyphénols, qu'il s'agisse de tanins ou de flavonoïdes, des anthocyanes et des saponosides, les trois parties de la plante manifestent une activité antiradicalaire très intéressante. En comparant les CI50 des différents extraits testés des trois parties de la plante par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité antioxydante élevée de l'extrait en tanins des racines qui est supérieur à la capacité du piégeage du radical DPPH de l'acide ascorbique. Il en est de même pour l'extrait des tanins des feuilles et l'extrait des flavonoïdes des racines et des feuilles qui présentent une activité antioxydante intéressante et presque similaire à celle du contrôle positif.

De plus, l'extrait des anthocyanes des fruits a montré une activité de piégeage du radical DPPH intéressante mais inférieure à celle de l'acide ascorbique. Nous remarquons une réduction presque totale du DPPH à partir d'une concentration de 6 mg/mL qui présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 94%.

Par ailleurs, l'extrait méthanolique des différents organes de *R. pentaphylla* a montré un pouvoir réducteur plus important par rapport à l'extrait aqueux.

I. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP) :

L'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée a été évaluée en utilisant la méthode FRAP. Cette dernière est simple, rapide et reproductible. La présence des réductants dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme du fer ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm.

Dans notre travail, nous avons testé les différents extraits de la plante étudiée. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés dans les figures (48, 49, 50, 51, 52 et 53) nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

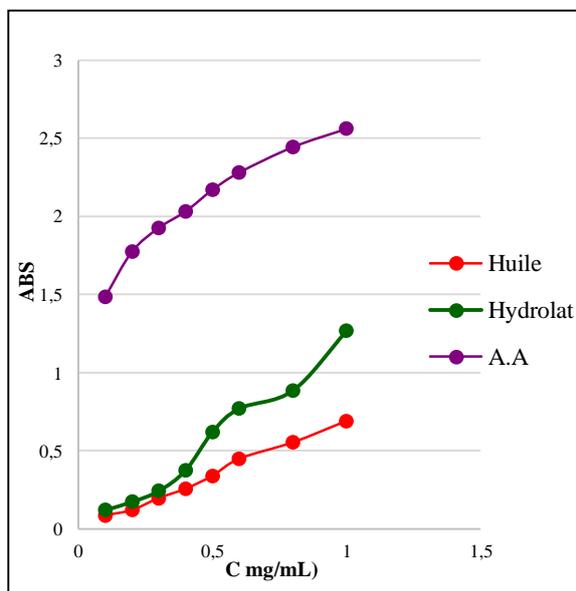


Figure 48 : Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *R. pentaphylla* Desf.

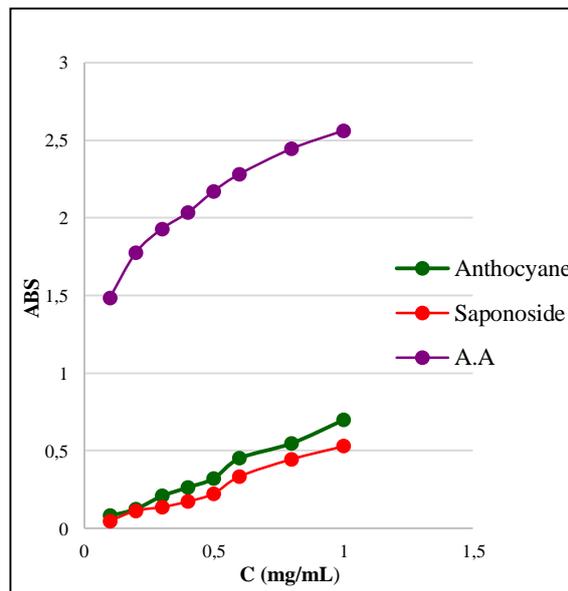


Figure 49 : Pouvoir réducteur du fer des anthocyanes et des saponosides des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

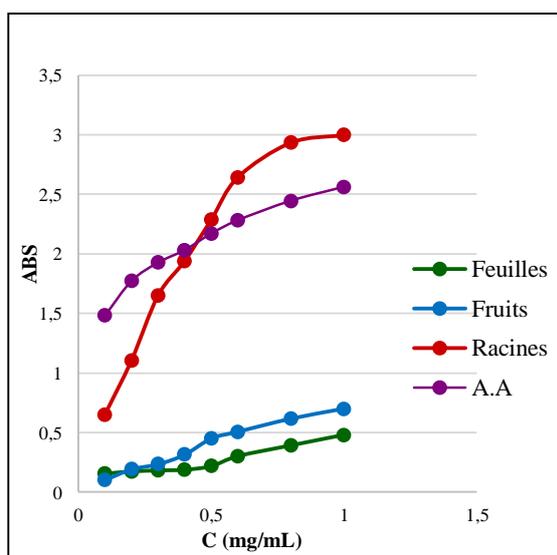


Figure 50 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de *R. pentaphylla* Desf.

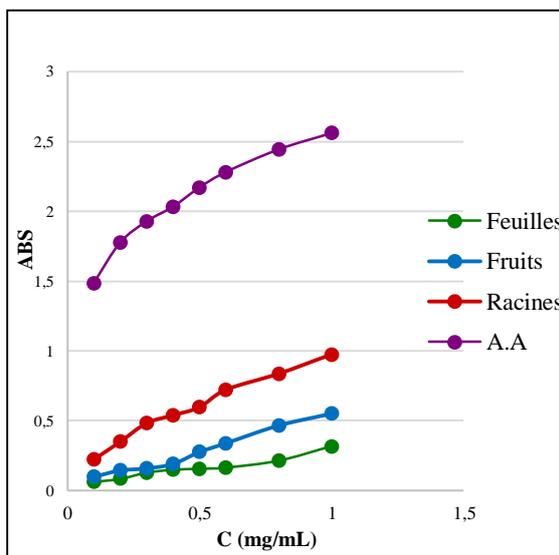


Figure 51 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de *R. pentaphylla* Desf.

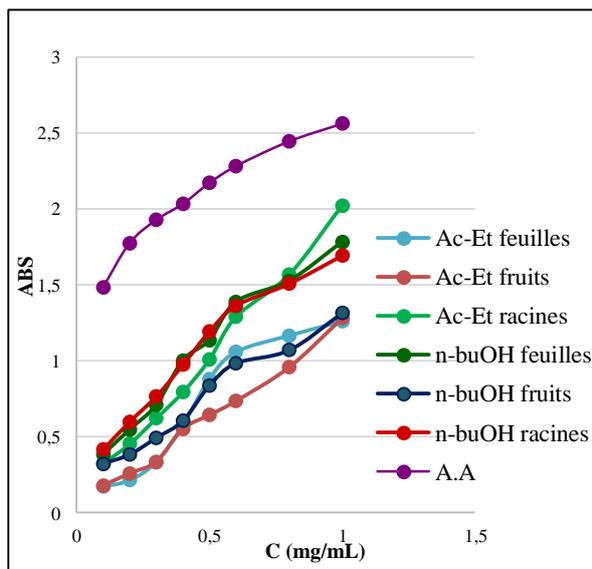


Figure 52 : Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de *R. pentaphylla* Desf.

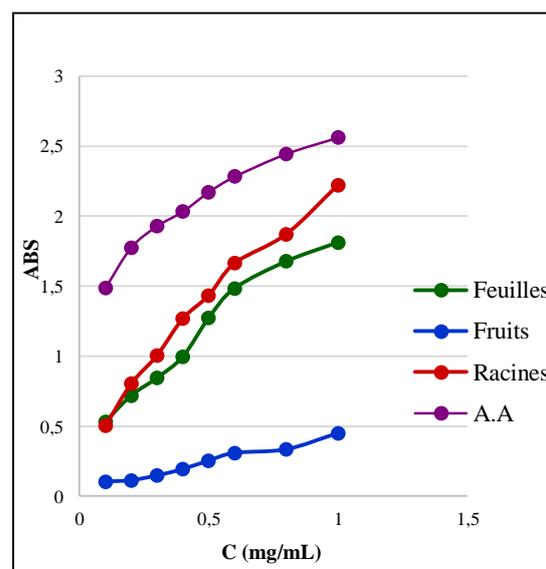


Figure 53 : Pouvoir réducteur du fer des tanins de *R. pentaphylla* Desf.

Par ailleurs, pour pouvoir classer l'efficacité des extraits à céder un électron dans cette méthode, nous avons calculé la concentration CI50 qui est définie comme étant la concentration nécessaire pour réduire 50% du ferricyanure de potassium. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau 19**.

Tableau 19 : Valeurs des CI50 de *R. pentaphylla* Desf. par la méthode FRAP.

Extrait	Partie étudiée	FRAP (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	Partie aérienne	0,72 ± 0,04
Extrait d'hydrolat	Partie aérienne	0,44 ± 0,01
Anthocyanes	Fruits	0,69 ± 0,01
Saponosides	Fruits	0,94 ± 0,05
Extrait méthanolique	Feuilles	1,12 ± 0,11
	Fruits	0,65 ± 0,01
	Racines	0,10 ± 0,02
Extrait aqueux	Feuilles	1,85 ± 0,28

	Fruits	0,91 ± 0,01
	Racines	0,38 ± 0,05
Tanins	Feuilles	0,04 ± 0,01
	Fruits	1,15 ± 0,01
	Racines	0,03 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Feuilles	0,34 ± 0,01
	Fruits	0,39 ± 0,01
	Racines	0,22 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Feuilles	0,14 ± 0,01
	Fruits	0,27 ± 0,01
	Racines	0,10 ± 0,02
Acide ascorbique	/	0,01 ± 0,01

À partir des résultats du pouvoir antioxydant de la méthode FRAP appliquée aux extraits volatils de la plante, l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat montrent des effets réducteurs, qui augmentent avec l'augmentation de la concentration, mais qui restent faibles par rapport à l'acide ascorbique. Il ressort aussi de ces résultats, que les extraits en tanins des feuilles et des racines ont révélé une capacité à réduire le fer proche de celle de l'acide ascorbique et plus importante que celles des autres extraits.

Parmi les autres extraits, les flavonoïdes pour les trois organes étudiés présentent les meilleurs pouvoirs antioxydants alors que les extraits aqueux et méthanolique des trois parties ainsi que les extraits en anthocyanes et en saponosides des fruits possèdent une activité réductrice intéressante mais relativement faible par rapport à celle l'acide ascorbique.

D'autre part, les racines de *R. pentaphylla* ont montré quand-même une très bonne activité antioxydante.

II. *Ferula communis* L. :

II. 1. Rendements des extraits bruts :

Les rendements des extraits bruts secs, des deux parties (racines et partie aérienne) de *F. communis* L., obtenus sont exprimés en pourcentage, et présentés dans le **Tableau 20** et illustrés sur la **Figure 54** :

Tableau 20 : Rendements des extraits de *F. communis* L.

Extrait	Rendement (%)	
	Partie aérienne	Racine
Méthanolique	23,5	20,4
Aqueux	11,5	3,7
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	18,5	15
Flavonoïdes (fraction Ac-Et)	22	30
Tanins	38,2	38,2

Les résultats obtenus montrent que les rendements les plus élevés en flavonoïdes ont été trouvés dans la fraction d'acétate d'éthyle pour les deux parties de la plante suivi de la fraction butanolique de la partie aérienne (18,5%) où la fraction acétate d'éthyle des racines a donné un rendement plus élevé que celui de la partie aérienne (30% et 22% respectivement). Nous avons observé aussi que l'extraction des tanins a donné un taux élevé 38,2% pour les deux parties.

En ce qui concerne les deux autres extraits, l'extrait méthanolique des deux parties de la plante présente le rendement le plus élevé (23,5% pour la partie aérienne et 20,4% pour la partie racine). Cependant, l'extrait aqueux a présenté des rendements relativement faibles par rapport aux autres extraits (11,5% pour la partie aérienne et 3,7% pour les racines).

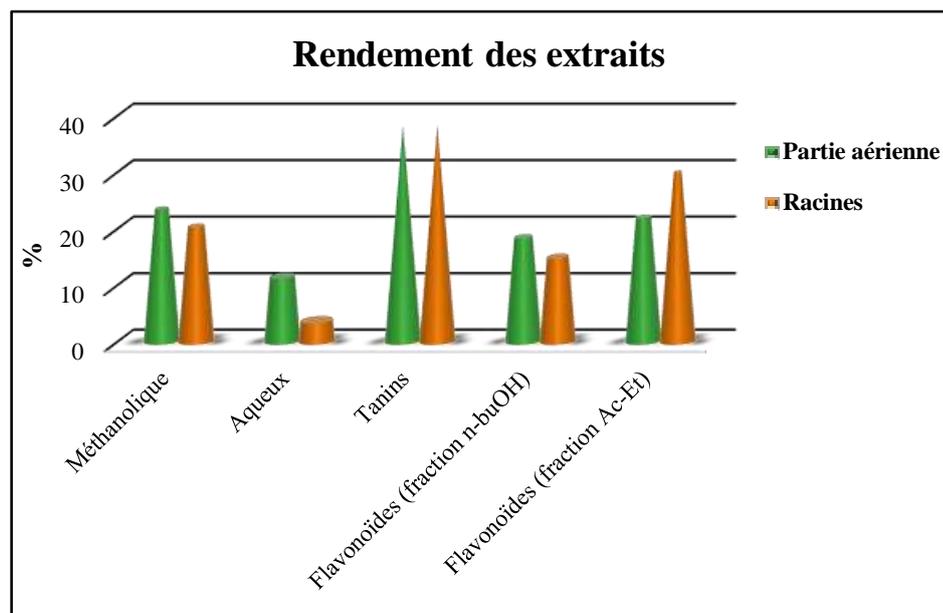


Figure 54 : Rendements des extraits de *F. communis* L.

II. 2. Criblage phytochimique :

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne et les racines de *F. communis* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 21 : Résultats des tests phytochimiques de *F. communis* L.

Substances recherchées	Résultats	
	Partie aérienne	Racine
Flavonoïdes	+	+
Tanins	+	+
Anthocyanosides	-	-
Anthracénosides	-	-
Anthraquinones	-	-
Coumarines	-	-
Alcaloïdes	-	-

Saponosides	-	-
Stérols et stéroïdes	+	+
Acides gras	-	-
Huiles volatiles	+	+
Composés réducteurs	+	+
Amidon	-	-
Mucilage	+	+

Les résultats sont classés selon :

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir de la partie aérienne et de la racine de *F. communis*, en utilisant des solvants de polarités différentes : eau, éthanol, et éther diéthylique, ainsi que des réactifs spécifiques de révélation.

Ces tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés chimiques existantes dans les parties étudiées de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration.

Les résultats obtenus montrent une forte présence des tanins, des stérols et des stéroïdes, des composés réducteurs et des mucilages. Par contre, les tests d'amidon, des acides gras, des alcaloïdes, des coumarines ainsi que les osides ont été négatifs dans les deux parties.

Par ailleurs, les flavonoïdes sont présents avec une intensité importante dans la partie aérienne, alors qu'ils sont faiblement présents dans les racines.

D'autre part, les huiles volatiles sont une classe de famille chimique fortement caractérisée dans *F. communis*. Elle est présente en quantité beaucoup plus importante dans la partie aérienne que dans les racines.

De ces résultats, nous pouvons affirmer que cette plante est riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins et les terpènes dont les propriétés antioxydantes sont importantes.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *F. communis* ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins et des alcaloïdes ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des alcaloïdes qui se sont montrés négatives dans les extraits des deux parties de notre plante [8].

II. 3. Analyses quantitatives :

II. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres :

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tanins et en sucres de *F. communis* ont été déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et sont exprimées respectivement en mg équivalent d'acide gallique, de quercétine, de catéchine et du glucose par g de la matière sèche.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits de la partie aérienne et de la racine de cette plante sont représentés dans le **Tableau 22**. Les courbes d'étalonnage de : l'acide gallique, la quercétine, la catéchine et le glucose sont représentées respectivement dans les figures **118, 119, 120 et 121 (Annexe 2)**.

Tableau 22 : Teneurs en composés phénoliques et en sucres de *F. communis* L.

	Polyphénols (mg EqG/g)	Tanins (mg EqC/g)	Flavonoïdes (mg EqQ/g)	Sucres (mg Eq Glucose/g)
Partie aérienne	14,22 ± 0,06	21,06 ± 0,01	1,92 ± 0,04	46,29 ± 0,08
Racines	4,17 ± 0,04	10,23 ± 0,02	0,47 ± 0,03	33,89 ± 0,05

Les résultats présentés dans le **Tableau 22**, montrent que les teneurs en polyphénols et en sucres varient considérablement entre les extraits des deux parties étudiées. À la lecture des résultats trouvés, les sucres sont les plus présents dans cette plante (46,29 mg Eq Glucose/g pour la partie aérienne et 33,89 mg Eq Glucose/g pour les racines) donnant à *F. communis* une saveur sucrée, idéale pour remplacer le sucre de façon naturelle et sans calories, *F. communis* justifie ainsi son utilisation comme aliment de bétail.

Par ailleurs, la quantité des tanins est plus au moins importante où elle est de l'ordre de 21,06 mg EqC /g pour la partie aérienne et de 10,23 mg EqC /g pour les racines.

Les polyphénols sont d'une quantité acceptable dans la partie aérienne (14,22 mg EqG/g) mais faible dans les racines (4,17 mg EqG/g). Par contre, les flavonoïdes ont une très faible quantité estimée à 1,92 mg EqQ/g dans la partie aérienne et 0,47 mg EqQ/g pour les racines.

D'après ces résultats, nous constatons que notre plante possède des teneurs élevées en tanins par rapport aux flavonoïdes.

Il ressort du **Tableau 23** que les teneurs en composés phénoliques obtenues par **Gamal [8]** et **Rahali [9]** sont plus élevées que les notre.

Tableau 23 : Teneurs en composés phénoliques de la partie aérienne de *F. communis* L.

Polyphénols (mg Eq/g)	Flavonoïdes (mg Eq/g)
44,7 [8]	
55,8 [8]	
207,21 [9]	48,77 [9]
14,22	1,92 (Benmansour et al.)

II. 3. 2. Teneur en eau :

Les taux d'humidité (H%) et de la matière sèche (MS) sont rapportés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 24**) :

Tableau 24 : Teneurs en eau et en matière sèche de *F. communis* L.

	H (%)	MS (%)
Partie aérienne	15 ± 0,41	85 ± 0,41
Racines	16 ± 0,23	84 ± 0,23

Les teneurs en eau des deux parties de *F. communis* sont du même ordre (16% pour les racines et 15% pour la partie aérienne). Ces teneurs en eau sont relativement faibles et assurent à la plante une plus grande stabilité et par conséquent un stockage assez long.

II. 3. 3. Teneur en cendres totales :

Les teneurs en cendres de la partie aérienne et les racines de *F. communis* sont représentées dans le **Tableau 25** :

Tableau 25 : Teneurs en cendres totales de *F. communis* L.

	MO (%)	Cendres (%)
Partie aérienne	88,5 ± 0,35	11,50 ± 0,35
Racines	89,75 ± 0,28	10,25 ± 0,28

Le pourcentage en cendres totales permet d'informer sur la teneur en minéraux qui ne peuvent se transformer en substances volatiles à haute température, contrairement aux matières organiques. La teneur en cendres totales a été évaluée à 11,5% pour la partie aérienne et 10,25% pour les racines.

II. 3. 4. Dosage des minéraux :

Les résultats du dosage des minéraux effectués sur la partie aérienne et les racines de *F. communis* sont représentés sur le **Tableau 26** :

Tableau 26 : Teneurs en minéraux de *F. communis* L.

Métal	Concentration (ppm)	
	Partie aérienne	Racines
Zinc	3,193	5,634
Nickel	1,080	1,560
Cadmium	0,225	0,299
Plomb	5,331	5,304
Cobalt	0,866	0,946
Chrome	7,054	8,028
Cuivre	8,365	9,472

À la lecture des résultats du **Tableau 26**, les teneurs en cuivre, en chrome et en plomb sont élevées par rapport à celles des autres éléments qui se sont révélées faibles. À faible dose, la plupart des oligo-éléments sont plus que nécessaires. Cependant, en quantités trop importantes, ils pourraient être très nocifs ; c'est le cas du cuivre et du chrome. D'autres minéraux ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas, comme le cadmium et le plomb.

II. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile :

II. 4. 1. Propriétés organoleptiques :

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation au moyen d'un Clevenger (Extraction solide-liquide) et de l'extrait d'hydrolat par extraction liquide-liquide en utilisant l'éther diéthylique a donné respectivement, des rendements très faibles de 0,05% et 0,01%.

L'huile essentielle obtenue de couleur jaune est plus légère que l'eau. Elle est liquide à température ambiante et elle possède une odeur caractéristique piquante.

Les caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, goût) qui étaient utilisées autrefois pour évaluer la qualité d'une huile essentielle, ne donnent en réalité que des informations très limitées sur ces essences. En effet, d'autres techniques de caractérisation plus précises sont plus que nécessaires. Des normes adoptées concernant les indices physicochimiques définissent la qualité d'une huile essentielle et par conséquent sa valeur commerciale.

Tableau 27 : Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *F. communis* L.

	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement
HE	Liquide	Jaune pâle	Piquante	0,05%
Hy	Liquide	Jaune pâle	Piquante	0,01%

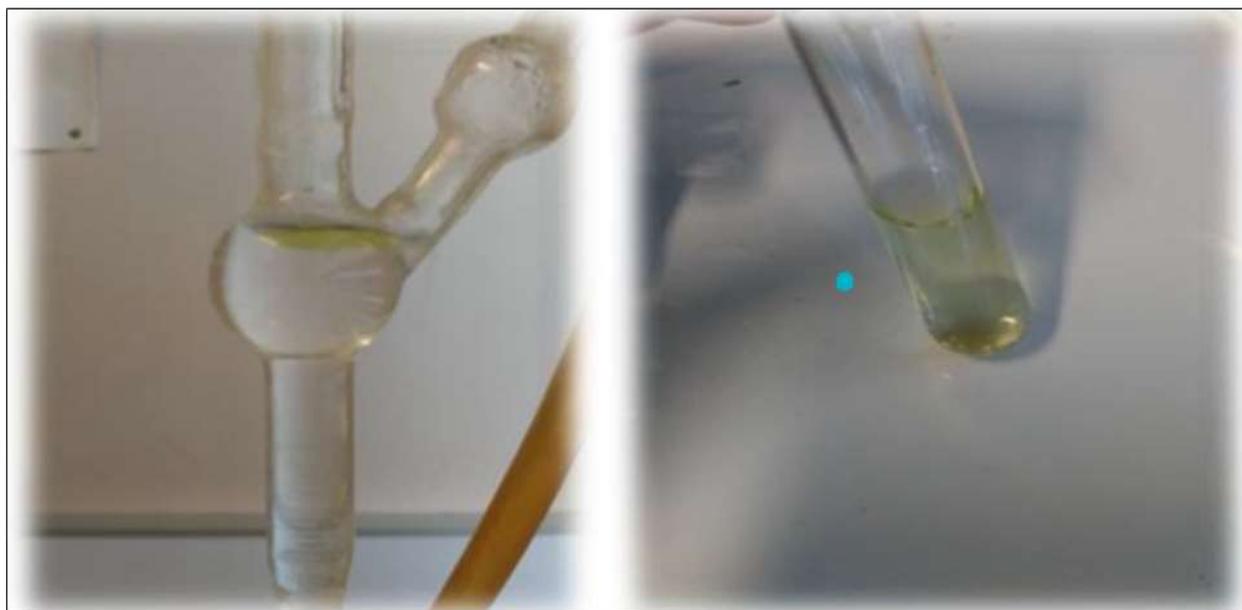


Figure 55 : Huile essentielle de *F. communis* L.

Une étude comparative des rendements en huile essentielle de l'espèce en question avec ceux obtenus des différentes régions de la Tunisie (**Tableau 28**) montre que le taux de l'huile varie d'une région à une autre. En effet, la nature du sol, les conditions climatiques et géographiques constituent des facteurs non négligeables.

Tableau 28 : Teneurs en HE de *F. communis* L. des différentes régions.

Notre travail	0,05%
Constantine [10]	0,8%
Rades [11]	0,38%
Bizerte [11]	0,022%
Soliman [11]	0,11%
Gammarth [11]	0,22%

Suite à notre recherche bibliographique, aucun travail n'a été fait sur la composition chimique de l'extrait d'hydrolat de *F. communis*.

II. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat :

Après l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et l'extraction liquide-liquide de l'extrait d'hydrolat, les compositions chimiques des deux extraits ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Les résultats sont consignés dans le **Tableau 29** :

Tableau 29 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *F. communis* L.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	HE ^e %	Hy %
1	Hexanal	770	769	1516	0,2	0,2
2	Furfural	820	823	1454	0,2	0,4
3	(E)-3-Hexanol	832	831	1324	0,1	0,3
4	Hexanol	854	844	1337	0,2	0,9
5	Benzaldéhyde	929	928	1501	0,1	1,1
6	α -Pinène	931	930	1018	1,3	–
7	Octèn-3-ol	959	958	1443	–	0,6
8	6-Méthyle-hept-5-èn-2-one	966	968	1324	tr	0,2
9	β -Pinène	970	972	1105	0,4	–
10	Myrcène	976	978	1153	1,1	–
11	α -Phellandrène	1002	1004	1142	0,2	–
12	Phénylacétaldéhyde	1011	1009	1616	–	1,5
13	Limonène	1020	1019	1193	0,5	–
14	(E)-Sabinène hydrate	1051	1051	1458	tr	0,9
15	Octanol	1058	1556	1540	0,2	0,5
16	(E)-Linalool oxide	1058	1559	1427	tr	0,2
17	(Z)-Linalool oxide	1073	1070	1434	–	0,3
18	Linalool	1083	1084	1531	2,3	6,5
19	Camphor	1123	1129	1511	0,7	1,4
20	(E)-2-Nonenal	1135	1132	1554	0,3	0,4
21	Bornéol	1150	1155	1683	0,2	0,2
22	Terpinèn-4-ol	1164	1160	1579	0,1	0,5
23	α-Terpinéol	1176	1172	1675	2,7	3,6
24	Myrténol	1178	1178	1760	0,9	0,6
25	Verbenone	1184	1182	1681	0,2	0,3
26	β -cyclocitral	1195	1192	1606	0,3	0,4
27	Nérol	1210	1208	1769	0,5	2,1
28	Carvone	1214	1213	1731	0,8	0,6

29	Géranol	1232	1233	1829	1,2	2,9
30	(E)-Myrtanol	1234	1241	1869	0,1	0,3
31	Bornyl acétate	1269	1266	1569	tr	0,5
32	Carvacrol	1278	1282	2212	0,1	1,4
33	Eugénol	1331	1326	2158	tr	0,1
34	Nérylé acétate	1342	1333	1697	tr	0,2
35	Géranyle acétate	1362	1358	1756	0,6	1,5
36	Méthyle eugénol	1369	1367	2110	0,5	1,6
37	α -Copaène	1379	1371	1483	1,2	–
38	Néryl acétone	1410	1407	1830	0,4	3,5
39	(E)-β-Caryophyllène	1424	1417	1588	22,1	–
40	Géranyl acétone	1430	1425	1846	1,4	2,3
41	β -Copaène	1431	1435	1591	0,8	–
42	(E)- β -Farnésène	1446	1446	1664	1,1	–
43	α -Himachalène	1450	1449	1629	0,6	–
44	α -Humulène	1456	1458	1652	1,7	–
45	Alloaromadendrène	1462	1459	1944	0,3	–
46	β-Ionone	1466	1467	1934	3,2	4,1
47	B-Acoradiène	1468	1468	1678	2,5	–
48	α -Curcumène	1471	1474	1738	2,3	–
49	γ -Curcumène	1474	1478	1660	1,9	–
50	β -Selinène	1483	1489	1705	2,1	–
51	2-Tridécanone	1491	1491	1808	0,6	1,9
52	(E,E)- α -Farnésène	1498	1501	1745	1,2	–
53	(E)- β -Bisabolène	1503	1505	1775	0,7	–
54	γ -Cadinène	1507	1510	1771	1,6	–
55	δ -Cadinène	1515	1519	1757	1,2	–
56	(E)- α -Bisabolène	1531	1529	1748	0,4	–
57	α -Cadinène	1535	1534	1815	0,2	–
58	(E)-Nérolidol	1553	1554	2059	4,9	7,5
59	epi-Globulol	1558	1559	2003	0,3	0,8
60	Spathuléol	1572	1565	2132	2,5	3,7
61	Caryophyllène oxide	1578	1582	1951	5,1	8,1
62	Globulol	1589	1589	2074	0,4	0,6
63	Guaiol	1591	1591	2081	0,3	–
64	Viridiflorol	1591	1599	2086	0,5	0,5
65	Humulène époxyde II	1602	1609	2032	1,3	1,9
66	γ- Eudésmol	1610	1613	2192	2,9	5,8
67	Cubénol	1630	1625	2069	1,2	2,6
68	τ-Cadinol	1632	1632	2135	2,4	3,9

69	Hinésol	1636	1637	2182	2,8	4,5
70	β -Eudésmol	1644	1639	2249	0,3	0,5
71	α-Cadinol	1645	1649	2225	4,1	6,1
72	α -Eudésmol	1653	1654	2201	tr	0,2
73	Bulnésol	1659	1658	2206	0,1	0,3
74	α -Bisabolol	1673	1673	2221	0,3	0,4
75	(Z,E)-Farnésol	1694	1695	2332	0,2	0,5
76	Acide tétradécanoïque	1761	1751	2648	0,2	0,1
77	Phytone	1817	1822	2113	0,7	–
78	(E,Z)-Farnésyl acétone	1871	1875	2344	0,1	0,2
79	Acide hexadécanoïque	1951	1948	2859	2,1	4,6
80	Géranyl linalool	2019	2013	2530	0,2	0,3
81	(Z)-Phytol	2080	2090	2575	0,6	–
82	(E)-Phytol	2114	2112	2622	0,3	–
83	Pentacosane	2500	2494	2498	1,2	–
Total d'identification %					98,5	97,1
Diterpènes oxygénés					1,1	0,3
Composés sesquiterpéniques					71,5	47,9
- Sesquiterpènes oxygénés					29,6	47,9
- Sesquiterpènes hydrocarbonés					41,9	–
Composés monoterpéniques					13,6	22,3
- Monoterpènes oxygénés					10,1	22,3
- Monoterpènes hydrocarbonés					3,5	–
Composés non-terpéniques					12,3	26,6
- Composés oxygénés non-terpéniques					11,1	26,6
- Composés hydrocarbonés non-terpéniques					1,2	–
Alcools					32,7	58,9

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

tr, trace (< 0,05%), IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants

L'analyse chromatographique par CPG et CPG/SM nous a permis d'identifier 73 composés dans l'huile essentielle et 57 composés dans l'extrait d'hydrolat qui représentent respectivement 98,5% et 97,1% de la composition totale de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat avec une prédominance des composés oxygénés. L'huile essentielle a été caractérisée par un pourcentage élevé en sesquiterpènes (71,5%), suivi des monoterpènes (13,6%), alors que les composés non terpéniques sont représentés par de faibles teneurs (12,3%). D'autre part, l'extrait d'hydrolat était caractérisé par trois classes de composés oxygénés : les composés non terpéniques (26,6%), les sesquiterpènes (47,9%) et les monoterpènes (22,3%).

Les principaux composés de l'huile essentielle de la partie aérienne de *F. communis* sont : le caryophyllène oxide, l' α -cadinol, le trans-nérolidol et le trans- β -caryophyllène où ce dernier forme le composé majoritaire avec un pourcentage de 22,9%. Pour l'hydrolat, les principaux composés sont : le caryophyllène oxide, l' γ - eudésmol, l'hinésol, l' α -cadinol, le trans-nérolidol, le linalool et l'acide hexadécanoïque dont le caryophyllène oxide et le trans-nérolidol apparaissent comme les constituants les plus présents avec des valeurs respectives de 8,1% et 7,5%.

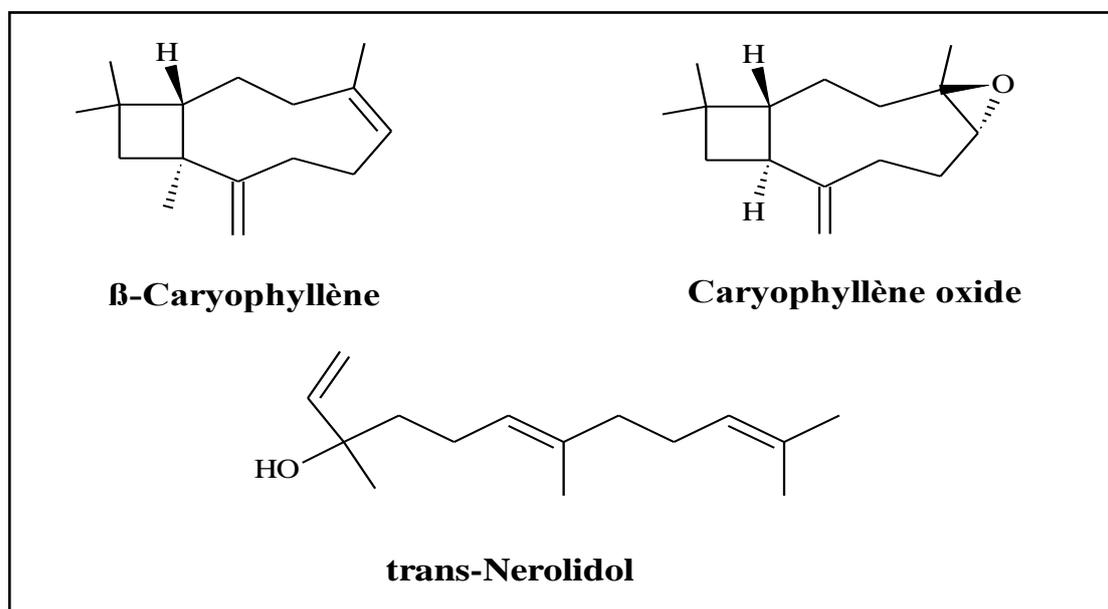


Figure 56 : Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *F. communis* L.

Les travaux antérieurs réalisés sur la composition chimique de l'huile essentielle montrent que l'huile essentielle est caractérisée par la présence du myrcène, du α et β -pinène, du β -phellandrène, du (E)- β -farnésène, du α et β -eudésmol, du (E)-caryophyllène et de l'oxyde de caryophyllène comme principaux constituants chimiques [10-15].

II. 5. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle :

Les indices physicochimiques de l'huile essentielle de *F. communis* sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 30 : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *F. communis* L.

Densité relative	0,84	(25°C)
Indice de réfraction	1,460880	(20°C)
	1,467330	(25°C)
Miscibilité à l'éthanol	4V/V	
Indice d'acide	17,06	
Indice de saponification	72,93	
Indice d'ester	55,87	
Indice de peroxyde	5,00	
Indice d'iode	121,82	

La valeur de la densité relative de l'huile essentielle est inférieure à l'unité confirmant ainsi sa légèreté par rapport à l'eau.

La mesure de l'indice de réfraction a été faite à deux températures différentes (20 et 25°C) à l'aide d'un réfractomètre par lecture directe. Sa détermination présente donc un grand intérêt. En effet, un indice de réfraction varie surtout avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés où une forte teneur en ces composés donnera un indice plus au moins élevé. Pour certains auteurs [16], un faible indice de réfraction de l'huile correspond à sa faible réfraction de la lumière, ce qui favoriserait son utilisation dans les produits cosmétiques.

L'indice de réfraction, comme critère de pureté, est utilisé pour l'identification des huiles essentielles. Chacune d'elles a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction est proche de la valeur attendue, plus la pureté de l'huile est grande. Nous constatons que l'indice d'acide est anormalement élevé, cela veut dire qu'il y a une quantité importante d'acides gras libres dans l'huile essentielle de *F. communis*.

L'indice de saponification présente une valeur faible qui indique que la masse moléculaire des acides gras de cette huile n'est pas élevée.

L'indice d'ester est un indicateur très fort de la qualité de l'huile étudiée. En effet, une huile essentielle de très bonne qualité renferme une très grande quantité d'esters. La valeur obtenue est relativement basse et témoigne donc de la faible teneur en esters de cette huile. En effet, la qualité d'une huile est proportionnelle à la quantité d'esters qu'elle renferme. Cet indice peut aussi être influencé par d'autres facteurs, tels que les conditions dans lesquelles s'effectue l'hydrolyse.

Pour l'indice de peroxyde, sa valeur montre que notre huile est relativement stable vis-à-vis de l'oxydation et elle peut être conservée longtemps.

L'indice d'iode est lié à l'état d'insaturation des chaînes carbonées des acides libres présents dans l'huile essentielle. D'après la valeur trouvée, l'huile essentielle présente un indice d'iode de l'ordre de 122 montrant qu'elle contient des acides gras insaturés.

II. 6. Activité antioxydante de l'huile essentielle, de l'extrait d'hydrolat et des différents extraits par solvants de *F. communis* L. :

II. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de *F. communis* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Afin de déterminer les concentrations qui réduisent 50% des radicaux libres, les valeurs des CI50 ont été calculées. Plus la valeur de CI50 est faible plus l'activité antioxydante est forte.

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne ainsi que les extraits des différentes parties de *F. communis* par la méthode de DPPH afin de déterminer la fraction la plus active. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes représentées sur les figures (57, 58, 59, 60 et 61) illustrant la variation du pourcentage de l'inhibition du radical en fonction des concentrations des extraits. À partir de ces dernières, la valeur des CI50 de chaque extrait a été calculée (Tableau 31).

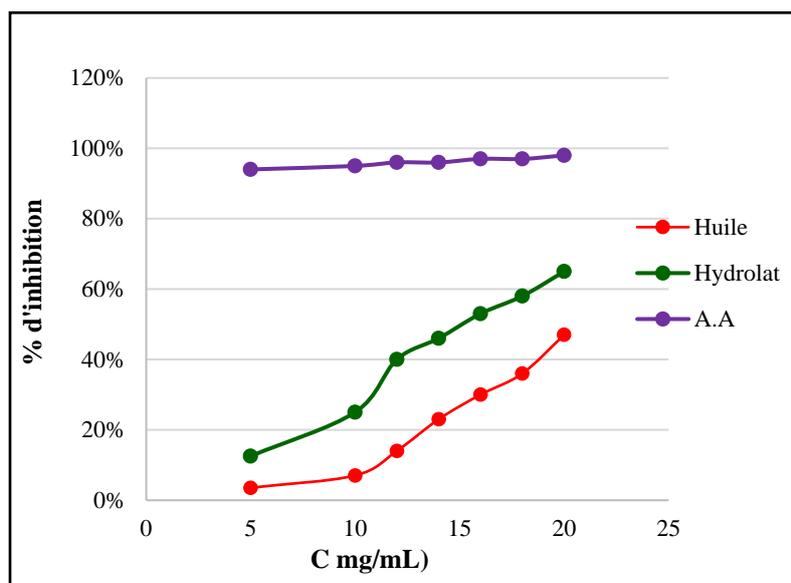


Figure 57 : % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *F. communis* L.

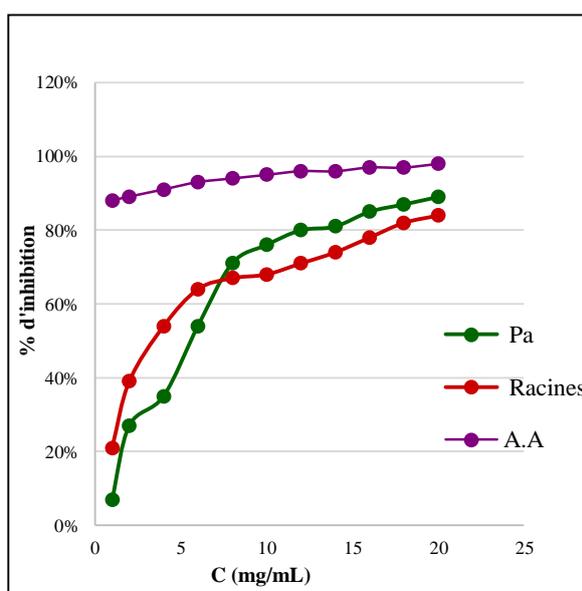


Figure 58 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique de *F. communis* L.

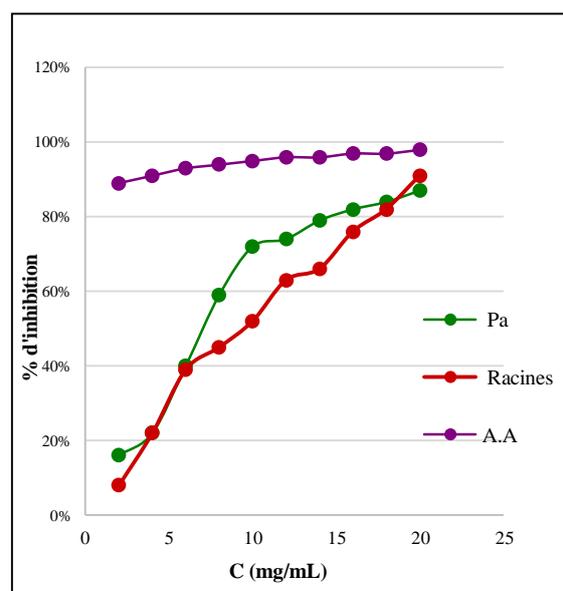


Figure 59 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de *F. communis* L.

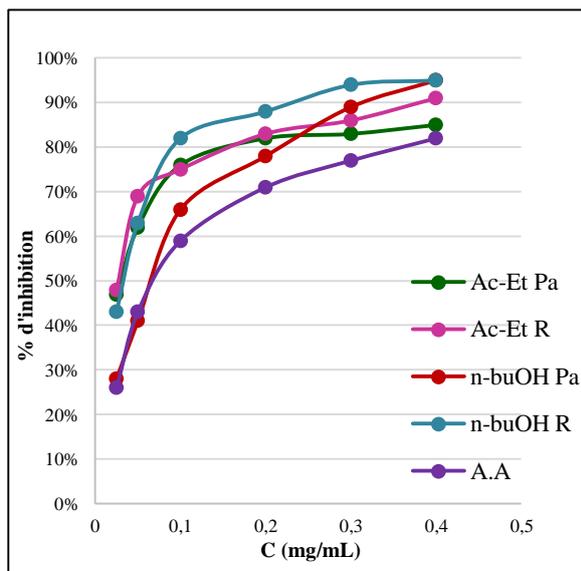


Figure 60 : % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de *F. communis* L.

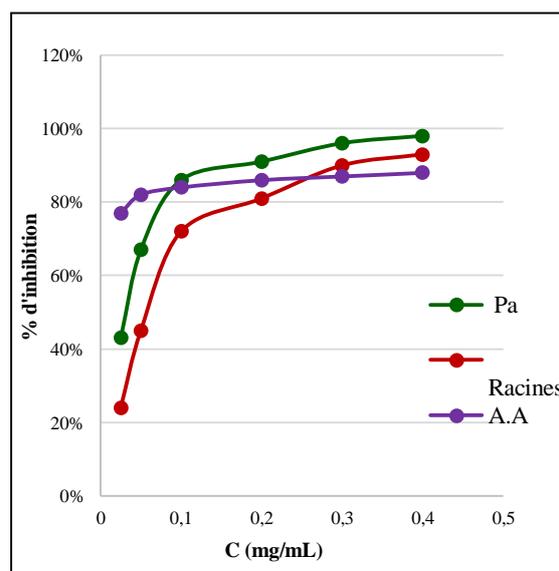


Figure 61 : % d'inhibition du DPPH des tanins de *F. communis* L.

Tableau 31 : Valeurs des CI50 de *F. communis* L. par la méthode DPPH.

Extrait	Partie étudiée	DPPH (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	Partie aérienne	21,11 ± 0,39
Extrait d'hydrolat	Partie aérienne	15,19 ± 0,22
Extrait méthanolique	Partie aérienne	4,50 ± 0,18
	Racines	3,72 ± 0,05
Extrait aqueux	Partie aérienne	6,53 ± 0,40
	Racines	9,98 ± 0,39
Tanins	Partie aérienne	0,02 ± 0,01
	Racines	0,06 ± 0,13
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Partie aérienne	0,02 ± 0,01
	Racines	0,02 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Partie aérienne	0,06 ± 0,01
	Racines	0,03 ± 0,01
Acide ascorbique	/	0,04 ± 0,01

Les courbes d'activité antioxydante sont exprimées en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents extraits utilisés où l'acide ascorbique est pris comme antioxydant de référence.

L'interprétation des courbes montre que l'activité antioxydante des extraits augmente avec l'augmentation de leurs concentrations pour se stabiliser à la fin.

Le test au DPPH révèle que l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat sont les deux extraits les moins actifs comme piègeurs du radical DPPH.

En ce qui concerne les polyphénols, qu'il s'agisse de tanins, d'extraits à l'acétate d'éthyle ou de la fraction butanolique, les deux parties de la plante manifestent une activité antioxydante très intéressante avec des valeurs des CI50 inférieures même à celle de l'antioxydant de référence. En effet, les composés phénoliques qui y sont présents constituent une famille très diversifiée connue comme une source potentielle d'antioxydants.

Par ailleurs, l'extrait méthanolique présente un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui de l'extrait aqueux.

II. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP) :

Les réducteurs présents dans les extraits des plantes provoquent la réduction du fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . L'évolution de la couleur bleue a été évaluée en mesurant sa densité dans le milieu réactionnel à 700 nm.

Les valeurs des CI50 obtenues sont reportées dans le **Tableau 32** et illustrées par les figures **62, 63, 64, 65** et **66**.

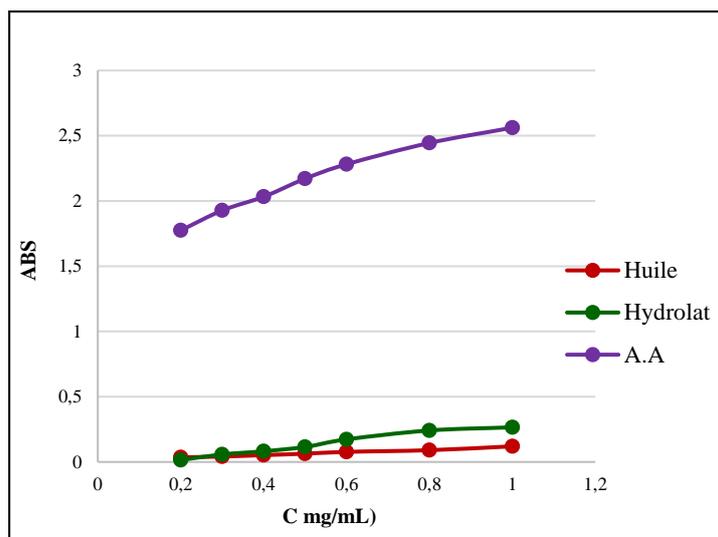


Figure 62 : Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *F. communis* L.

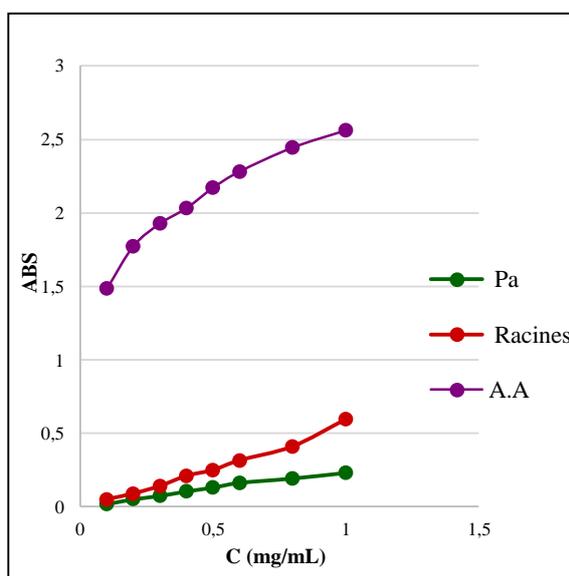


Figure 63 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de *F. communis* L.

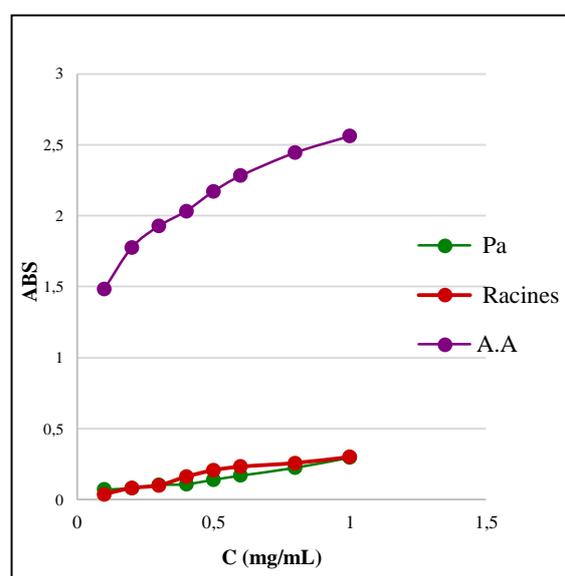


Figure 64 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de *F. communis* L.

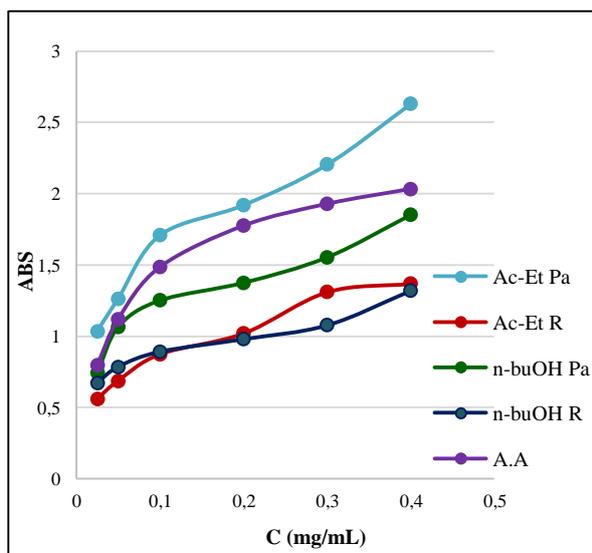


Figure 65 : Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de *F. communis* L.

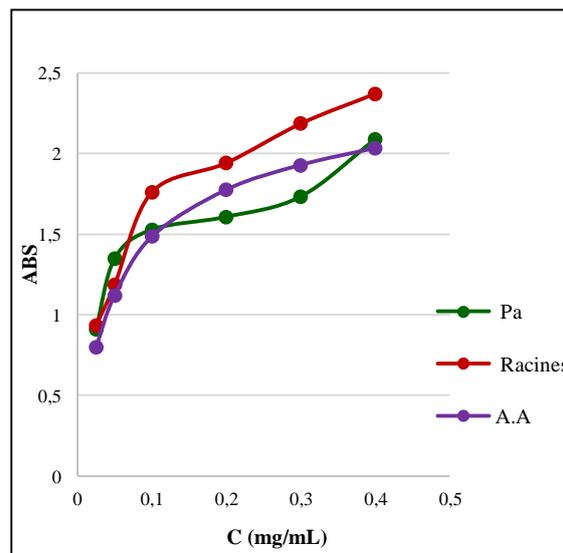


Figure 66 : Pouvoir réducteur du fer des tanins de *F. communis* L.

Tableau 32 : Valeurs des CI50 de *F. communis* L. par la méthode FRAP.

Extrait	Partie étudiée	FRAP (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	Partie aérienne	4,64 ± 0,49
Extrait d'hydrolat	Partie aérienne	1,65 ± 0,01
Extrait méthanolique	Partie aérienne	2,08 ± 0,04
	Racines	0,90 ± 0,04
Extrait aqueux	Partie aérienne	1,88 ± 0,30
	Racines	1,59 ± 0,11
Tanins	Partie aérienne	0,01 ± 0,01
	Racines	0,01 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Partie aérienne	0,01 ± 0,01
	Racines	0,02 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Partie aérienne	0,01 ± 0,04
	Racines	0,02 ± 0,01
Acide ascorbique	/	0,01 ± 0,01

La lecture des courbes montre que la capacité de réduire le fer des extraits augmente avec l'augmentation de leurs concentrations.

Il ressort des résultats obtenus que les tanins et les flavonoïdes (fractions à l'acétate d'éthyle et au n-butanol) des deux parties de la plante ont révélé une capacité à réduire le fer égale ou très proche de celle de l'acide ascorbique et plus importante que celles des autres extraits.

En revanche, l'huile essentielle de la plante accuse le plus faible pouvoir réducteur vis-à-vis du fer avec une CI50 de 4,64 mg/mL. Par ailleurs, pour les extraits bruts (méthanolique et aqueux) dont la capacité réductrice est nettement inférieure par rapport à celles des polyphénols, ce sont les racines de la plante qui manifestent une activité antioxydante légèrement supérieure à celle de la partie aérienne.

III. *Rhaponticum acaule* L. :

III. 1. Rendements des extraits bruts :

Les rendements des extraits bruts secs méthanolique et aqueux des deux parties (racines et partie aérienne) de *R. acaule* L. sont exprimés en pourcentage et présentés dans le **Tableau 33**.

Tableau 33 : Rendements des extraits de *R. acaule* L.

Extrait	Rendement (%)	
	Partie aérienne	Racines
Méthanolique	9,1	19,7
Aqueux	7,2	15,7

Les rendements d'extraction observés dépendent à la fois de l'organe de la plante et aussi du solvant d'extraction. En effet, nous constatons que l'extraction au méthanol donne le meilleur rendement pour les deux parties de la plante : 9,1% pour la partie aérienne et 19,7% pour les racines. Par ailleurs, la quantité des molécules extraites des racines (19,7%) est supérieure à celles de la partie aérienne (9,1%).

III. 2. Criblage phytochimique :

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne et les racines de *R. acaule* sont regroupés dans le **Tableau 34** :

Tableau 34 : Résultats des tests phytochimiques de *R. acaule* L.

Substances recherchées	Résultats	
	<i>Rhaponticum acaule</i> L.	
	Partie aérienne	Racine
Flavonoïdes	+	+
Tanins	+	+
Anthocyanosides	-	-
Anthracénosides	-	-
Anthraquinones	-	-
Coumarines	-	-
Alcaloïdes	-	-
Saponosides	-	-
Stérols et stéroïdes	+	+
Acides gras	+	+
Huiles volatiles	+	+
Composés réducteurs	+	+
Amidon	-	-
Mucilage	+	+

Les résultats sont classés selon :

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir de la partie aérienne et de la partie racine de *R. acaule*, en utilisant des solvants de polarités différentes : eau, éthanol, et éther diéthylique, ainsi que des réactifs spécifiques de révélation.

Les résultats obtenus des tests phytochimiques montrent une forte présence des tanins, des flavonoïdes, des stérols et des stéroïdes, des composés réducteurs et des mucilages. Par contre, les tests d'amidon, des alcaloïdes, des coumarines ainsi que des osides sont marqués négatifs dans les deux parties de la plante.

D'autre part, les huiles volatiles et les acides gras sont présents en quantité plus importante dans la partie aérienne que dans les racines.

De ces résultats, nous pouvons affirmer que cette plante est riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins et les terpènes dont les propriétés antioxydantes sont importantes.

III. 3. Analyses quantitatives de *R. acaule* :

III. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres :

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tanins et en sucres de *R. acaule* ont été déterminées à partir des équations de régression linéaire des courbes d'étalonnage (figures 118, 119, 120 et 121 en Annexe 2) et sont exprimées respectivement en mg équivalent d'acide gallique, de quercétine, de catéchine et du glucose par g de la matière sèche.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits de la partie aérienne et des racines de *R. acaule* sont représentés dans le **Tableau 35**.

Tableau 35 : Teneurs en composés phénoliques et en sucres de *R. acaule* L.

	Polyphénols (mg EqG/g)	Tanins (mg EqC/g)	Flavonoïdes (mg EqQ/g)	Sucres (mg Eq Glucose/g)
Partie aérienne	33,81 ± 0,10	13,94 ± 0,02	10,62 ± 0,29	20,32 ± 0,04
Racines	21,92 ± 0,08	1,34 ± 0,01	3,01 ± 0,08	48,37 ± 0,23

L'analyse des résultats montre que les teneurs en polyphénols et en sucres varient considérablement entre les extraits des deux parties étudiées. La partie aérienne de la plante est caractérisée par les teneurs les plus élevées en composés phénoliques dont les teneurs en tanins et en flavonoïdes sont respectivement de 13,94 mg EqC/g et 10,62 mg EqQ/g. Par contre, les racines enregistrent des teneurs faibles en tanins (1,34 mg EqC/g) et en flavonoïdes (3,01 mg EqQ/g).

Les quantités des phénols totaux sont importantes et sont de 33,81 mg EqG/g dans la partie aérienne et de 21,92 mg EqG/g dans les racines.

En ce qui concerne les teneurs en sucres totaux, la teneur la plus élevée a été trouvée dans les racines avec 48,37 mg Eq Glucose/g.

D'après ces résultats, nous constatons que *R. acaule* possède des teneurs élevées en tanins par rapport aux flavonoïdes.

La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par **Bendimerad *et al.* [17]** sont illustrés dans le **Tableau 36**.

Tableau 36 : Teneurs en composés phénoliques des travaux antérieurs de *R. acaule* L.

	Polyphénols (mg EqG/g)	Flavonoïdes (mg EqC/g)
Partie aérienne	135,33 ± 0,01 [17]	69,74 ± 0,02 [17]
	33,81 ± 0,10	10,62 ± 0,29 (Benmansour <i>et al.</i>)
Racines	97,89 ± 0,01 [17]	45,05 ± 0,01 [17]
	21,92 ± 0,08	3,01 ± 0,08 (Benmansour <i>et al.</i>)

III. 3. 2. Teneur en eau :

Les taux d'humidité (H%) et de la matière sèche (MS) sont calculés et rapportés dans le **Tableau 37** :

Tableau 37 : Teneurs en eau et en matière sèche de *R. acaule* L.

	H (%)	MS (%)
Partie aérienne	5 ± 0,14	95 ± 0,14
Racines	7 ± 0,20	93 ± 0,20

Les teneurs en eau des deux parties de *R. acaule* L. sont du même ordre (7% pour les racines et 5% pour la partie aérienne). Ces teneurs en eau relativement faibles assurent à la plante une grande stabilité et par conséquent un stockage assez long.

III. 3. 3. Teneur en cendres totales :

Les résultats de la teneur en cendres de la partie aérienne et les racines de *R. acaule* sont présentés dans le **Tableau 38** :

Tableau 38 : Teneurs en cendres totales de *R. acaule* L.

	MO (%)	Cendre (%)
Partie aérienne	90 ± 0,35	10 ± 0,35
Racines	93 ± 0,35	7 ± 0,35

La teneur en cendres totales a été évaluée à 10% pour la partie aérienne et 7% pour les racines.

III. 3. 4. Dosage des minéraux :

Le dosage des minéraux de la partie aérienne de *R. acaule* a donné les résultats représentés dans le **Tableau 39** :

Tableau 39 : Teneurs en minéraux de la partie aérienne de *R. acaule* L.

Métal	Concentration (ppm)
	Partie aérienne
Zinc	4,476
Nickel	1,450
Cadmium	0,257
Plomb	4,625
Cobalt	0,890
Chrome	7,515
Cuivre	16,040

Il ressort du **Tableau 39** que les teneurs en cuivre, en chrome, en plomb et en zinc sont élevées par rapport aux teneurs des autres éléments qui se sont révélées faibles. À faible dose, la plupart de ces oligo-éléments sont nécessaires à la vie. Ils peuvent cependant se révéler très nocifs en quantités trop importantes ; c'est le cas du cuivre et du chrome. D'autres éléments ne sont pas nécessaires à la vie et sont même préjudiciables comme le plomb et le cadmium.

III. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile :

III. 4. 1. Propriétés organoleptiques :

L'obtention des huiles essentielles par hydrodistillation au moyen d'un Clevenger (Extraction solide-liquide) et de l'extrait d'hydrolat par extraction liquide-liquide en utilisant l'éther diéthylique a donné des rendements très faibles de 0,02% et 0,01% respectivement.

L'huile essentielle obtenue de couleur jaune est plus légère que l'eau. Elle est liquide à température ambiante et elle possède une odeur caractéristique piquante.

Les caractéristiques organoleptiques sont rapportées dans le **Tableau 40**.

Tableau 40 : Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* L.

	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement
HE	Liquide	Jaune	Piquante	0,02%
Hy	Liquide	Jaune	Piquante	0,01%

Selon **Boussaada *et al.***, le rendement en huiles essentielles de la partie aérienne de *R. acaule* de la Tunisie est de 0,024% [18].

Par ailleurs et suite à notre recherche bibliographique, il n'y a pas eu de travaux sur la composition chimique de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule*.

III. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat :

L'analyse par CPG et CPG/SM de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat a permis de déterminer leurs compositions chimiques. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau 41** :

Tableau 41 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *R. acaule* L.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	HE ^e %	Hy %
1	Butanol	662	627	1126	1,2	tr
2	Pentanol	735	738	1170	–	0,4
3	Hexanal	770	766	1068	tr	1,6
4	Furfural	820	821	1455	–	1,4
5	Hexanol	854	857	1336	–	0,8
6	Heptanal	876	873	1193	–	0,5
7	Heptan-2-one	891	901	1174	–	0,6
8	Benzaldéhyde	929	928	1529	–	2,7
9	Octèn-3-ol	959	965	1428	–	0,7
10	β-Pinène	970	976	1104	0,3	–
11	Octanal	980	978	1295	0,2	0,8
12	2-Pentylfurane	981	987	1222	0,2	12,6
13	Phénylacétaldéhyde	1013	1009	1615	–	5,7
14	Limonène	1020	1025	1194	0,2	–

15	(E)-Sabinène hydrate	1051	1052	1467	–	1,1
16	Octanol	1058	1556	1538	–	0,9
17	(E)-Linalool oxide	1058	1063	1433	–	0,6
18	(Z)-Linalool oxide	1073	1080	1427	–	1,3
19	Nonanal	1081	1081	1395	0,1	0,5
20	Linalool	1083	1083	1531	1,1	5,4
21	β -Phényl éthanol	1086	1091	1890	–	1,6
22	Bornéol	1150	1142	1674	–	1,2
23	α -Terpinéol	1179	1181	1668	–	1,7
24	Décanal	1185	1183	1509	0,4	0,3
25	Carvone	1214	1215	1739	0,5	–
26	Géraniol	1232	1235	1826	–	1,2
27	(E)-2-Décenal	1240	1244	1641	–	0,6
28	Bornyl acétate	1269	1259	1578	–	0,7
29	Carvacrol	1278	1285	2209	1,6	0,9
30	Tridécane	1300	1297	1302	0,1	–
31	Eugénol	1331	1328	2162	0,1	1,9
32	Géranyle acétate	1362	1365	1754	0,1	0,9
33	Méthyle eugénol	1369	1370	2106	–	1,4
34	α -Copaène	1379	1373	1485	1,5	–
35	α -Funebrène	1386	1384	1518	0,4	–
36	β -Elemène	1389	1391	1551	1,1	–
37	Petasitène	1392	1397	1435	0,3	–
38	Isocaryophyllène	1407	1408	1574	0,5	–
39	(E)- β -Caryophyllène	1424	1414	1584	1,4	–
40	B-Cedrène	1426	1426	1847	0,4	–
41	β -Copaène	1431	1429	1591	0,6	–
42	Aromadendrène	1443	1441	1612	0,7	–
43	(E)- β -Farnésène	1446	1446	1653	0,9	–
44	β -epi-Santalène	1446	1452	1631	1,3	–
45	β-Ionone	1466	1467	1953	4,2	1,9
46	α -Curcumène	1471	1472	1701	0,5	–
47	γ -Curcumène	1474	1476	1672	2,5	–
48	β -Selinène	1483	1487	1699	0,6	–
49	2-Tridécane	1491	1490	1794	0,6	0,7
50	(E)- β -Bisabolène	1503	1502	1788	0,3	–
51	γ -Cadinène	1507	1506	1782	0,2	–
52	δ -Cadinène	1515	1511	1760	0,8	–
53	α -Cadinène	1535	1537	1810	1,1	–
54	(E)-Nérolidol	1553	1545	2059	0,3	0,4

55	epi-Globulol	1558	1551	2003	0,7	2,5
56	Spathuléol	1572	1562	2119	6,1	3,4
57	Caryophyllène oxide	1576	1567	1977	4,5	2,1
58	Globulol	1589	1580	2075	1,2	0,9
59	Guaiol	1591	1584	2081	1,1	–
60	Viridiflorol	1591	1591	2089	3,8	1,7
61	Copabornéol	1592	1594	2153	0,8	0,5
62	Tétradécanal	1595	1596	2147	0,3	–
63	Humulène époxyde II	1601	1607	2046	1,4	0,9
64	Aromadendrène oxide II	1617	1611	2006	2,1	1,4
65	Cubéol	1630	1624	2070	0,5	0,8
66	τ -Cadinol	1632	1633	2137	1,5	0,9
67	Hinéol	1636	1636	2192	1,6	0,3
68	β -Eudésmol	1644	1645	2248	1,7	0,4
69	α -Cadinol	1645	1651	2239	1,9	1,2
70	α -Eudésmol	1653	1654	2198	2,1	0,9
71	Bulnésol	1659	1660	2204	1,5	0,6
72	Eudésma-4(15),7-dièn-1- β -ol	1672	1672	2341	0,8	1,2
73	α -Bisabolol	1673	1678	2211	1,1	0,5
74	(Z,E)-Farnésol	1694	1691	2335	1,5	0,9
75	Acide tétradécanoïque	1748	1743	2650	4,1	1,9
76	Hexadécanal	1795	1791	2123	0,4	0,5
77	Phytone	1817	1826	2103	7,2	–
78	(E,Z)-Farnésyl acétone	1869	1872	2344	0,5	1,6
79	Isophytol	1946	1944	2315	1,2	1,1
80	Acide hexadécanoïque	1951	1952	2862	12,6	5,6
81	Eicosane	2000	2007	2013	1,8	–
82	Géranyl linalool	2019	2011	2541	0,2	1,8
83	Octadécanol	2070	2065	2558	0,4	0,2
84	(Z)-Phytol	2080	2083	2565	0,3	–
85	Henéicosane	2100	2106	2116	0,2	–
86	(E)-Phytol	2114	2113	2614	0,6	–
87	Acide oléique	2116	2117	2811	0,2	–
88	Phytol acétate	2132	2138	2431	0,6	–
89	Docosane	2200	2191	2195	0,1	–
90	Acide nonadécanoïque	2286	2286	2577	0,6	–
91	Tricosane	2300	2308	2308	0,3	–
92	Tétracosane	2400	2388	2406	0,3	–
93	Pentacosane	2500	2502	2503	4,6	–

Total d'identification %	98,7	86,8
Diterpènes oxygénés	2,3	2,9
Composés sesquiterpéniques	51,3	21,5
- Sesquiterpènes oxygénés	36,2	21,5
- Sesquiterpènes hydrocarbonés	15,1	–
Composés monoterpéniques	3,8	15,3
- Monoterpènes oxygénés	3,3	15,3
- Monoterpènes hydrocarbonés	0,5	–
Composés non-terpéniques	41,3	47,1
- Composés oxygénés non-terpéniques	33,9	47,1
- Composés hydrocarbonés non-terpéniques	7,4	–
Alcools	34,9	38,8

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

tr, trace (< 0,05%), IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants.

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *R. acaule* a permis d'identifier 73 composés dans l'huile essentielle et 56 composés dans l'extrait d'hydrolat qui représentent respectivement 98,7% et 86,8% de la composition totale avec une prédominance des composés oxygénés.

Le profile chromatographique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *R. acaule* est caractérisé par une prédominance des sesquiterpènes avec un pourcentage de 51,3% dont 36,2% sont des sesquiterpènes oxygénés et 15,1% sont des hydrocarbures sesquiterpéniques. Les composants majeurs de cette huile sont : l'acide hexadécanoïque (12,6%), la phytone (7,2%), le spathuléol (6,1%), le pentacosane (4,6%), le caryophyllène oxide (4,5%), la β -Ionone (4,2%) et l'acide tétradécanoïque (4,1%).

D'autre part, l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* a été caractérisé par trois classes de composés oxygénés : les composés non terpéniques (47,1%) suivis de sesquiterpènes (21,5%)

et des monoterpènes (15,3%). Les composants majeurs d'hydrolat sont : le 2-pentylfurane (12,6%), le phénylacétaldéhyde (5,7%), l'acide hexadécanoïque (5,6%) et le linalool (5,4%).

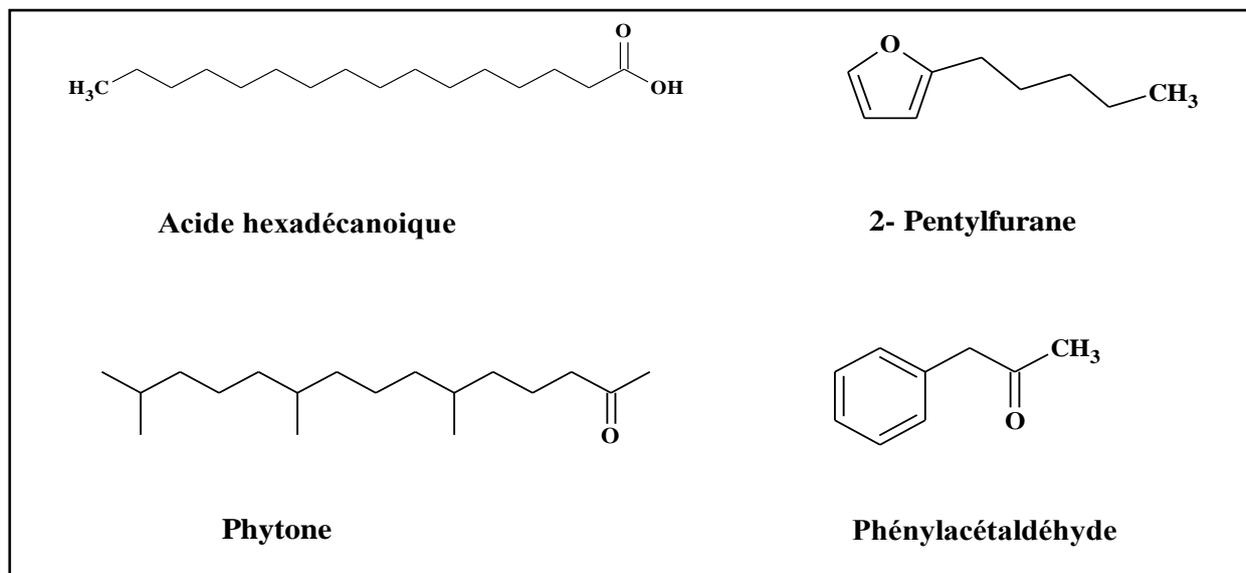


Figure 67 : Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* L.

D'après les résultats obtenus par **Boussaada et al.**, l'huile essentielle de *R acaule* de la Tunisie est caractérisée par la présence de : l'epi-13-manool (13,1%), le méthyle eugénol (10,6%), la β -ionone (5,2%), l'octadécanol (5,1%), le β -bisabolol (4,8%) et l'eugénol (3,4%). [18]

III. 5. Activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* L. :

III. 5. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de *R acaule* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie. Ce pouvoir de réduction est déterminé par une diminution de l'absorbance due aux substances anti radicalaires.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et celle de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *R. acaule* ont été déterminées par la méthode DPPH. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes représentées sur les figures 68 et 69. À partir de ces dernières, les pourcentages d'inhibitions obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur de CI50 de chaque extrait ont été déterminés (Tableau 42).

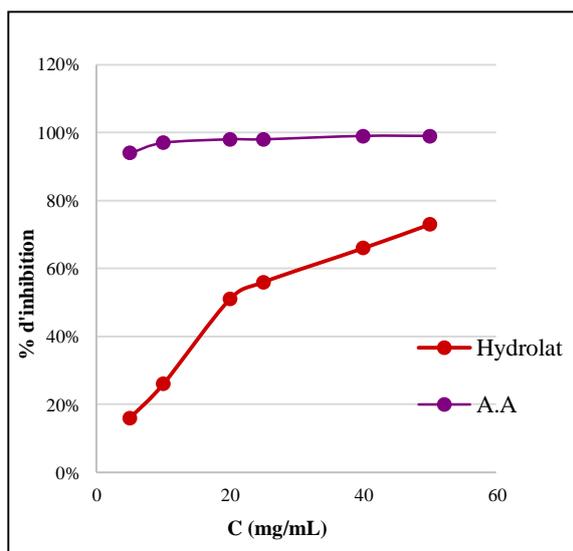


Figure 68 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* L.

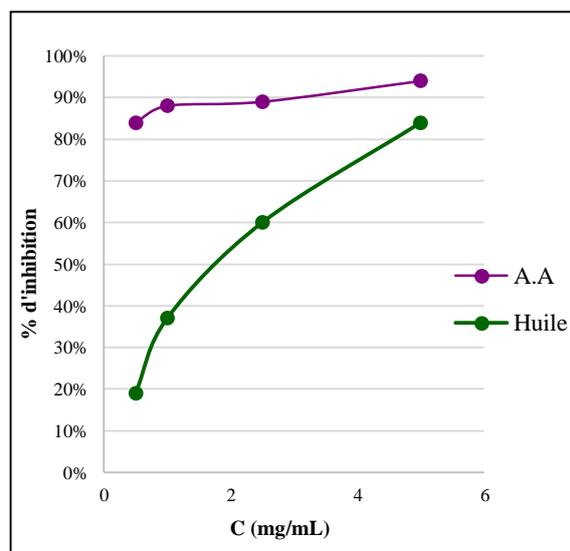


Figure 69 : % d'inhibition du DPPH de l'huile essentielle de *R. acaule* L.

Tableau 42 : Valeurs des CI50 de *R. acaule* L. par la méthode DPPH.

Extrait	DPPH (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	1,58 ± 0,19
Extrait d'hydrolat	20,76 ± 0,12
Acide ascorbique	0,04 ± 0,01

Nous observons que le pourcentage d'inhibition du DPPH est proportionnel à la concentration des différents extraits (**Figures 68 et 69**). De plus, à la lecture du **Tableau 42**, l'huile essentielle de la partie aérienne de *R. acaule* s'est révélée plus active que l'extrait d'hydrolat en accusant une CI50 de l'ordre de 1,58 mg/mL. Cette supériorité est probablement liée à son profil chimique, en particulier au pourcentage relativement élevé de sesquiterpènes oxygénés. Cependant, l'huile essentielle reste moins active que l'acide ascorbique dont la valeur du CI50 est de l'ordre de 20,76 mg/mL.

III. 5. 2. Test de réduction du fer (FRAP) :

Les extraits de plantes contiennent des réducteurs qui transforment le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . L'évolution de la couleur bleue a été évaluée, en mesurant par spectrophotométrie à 700 nm, sa densité dans le milieu réactionnel.

L'évolution de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits est illustrée par les courbes de la **Figure 70**. Les valeurs des CI50 obtenues sont reportées dans le **Tableau 43**.

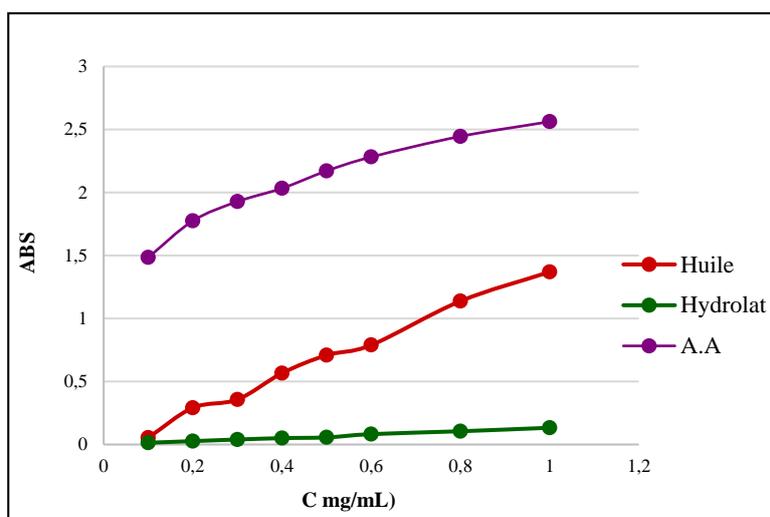


Figure 70 : Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *R. acaule* L.

Tableau 43 : Valeurs des CI50 de *R. acaule* L. par la méthode FRAP.

Extrait	DPPH (CI50 mg/mL)
Huile essentielle	0,38 ± 0,11
Extrait d'hydrolat	3,75 ± 0,12
Acide ascorbique	0,07 ± 0,01

Il ressort des résultats obtenus que l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat montrent des effets réducteurs, qui augmentent avec l'augmentation de la concentration (**Figure 70**) mais qui restent quand même faibles par rapport à l'acide ascorbique.

En effet, l'huile essentielle de la plante étudiée enregistre le pouvoir réducteur le plus élevé (CI50 = 0,38 mg/mL) alors que l'extrait d'hydrolat présente un pouvoir antioxydant faible (CI50 = 3,75 mg/mL). Le pouvoir antioxydant que possède l'huile essentielle, serait due aux composés oxygénés qui y sont présents en proportions importantes.

IV. *Agave americana* L. :

IV. 1. Rendements des extraits bruts :

Lors des extractions des différentes parties de *A. americana* L., les rendements obtenus, exprimés en pourcentage sont présentés dans le **Tableau 44** et illustrés dans la **Figure 71**.

Tableau 44 : Rendements des extraits de *A. americana* L.

Extrait	Rendement (%)		
	Feuilles	Fleurs	Racines
Méthanolique	20	17	20
Aqueux	12	10	11
Saponosides	8	9	10
Tanins	10,2	12,9	7,5
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	34	30	33
Flavonoïdes (fraction Ac-Et)	30	28	22

Les résultats obtenus montrent que les rendements d'extraction des flavonoïdes sont les plus élevés par rapport à ceux des autres composés phénoliques de *A. americana* L.. D'autre part, pour les trois parties de la plante, les quantités en flavonoïdes sont assez voisines sauf pour les racines où la teneur en flavonoïdes de la fraction à l'acétate d'éthyle (22 %) est inférieure à celle des feuilles (30%) et des fleurs (28%). Cependant, nous avons remarqué que le rendement en tanins des racines (7,5%) est plus faible que ceux des autres parties de la plante (10,2% pour les feuilles et 12,9% pour les fleurs).

Par ailleurs, nous remarquons que les extraits méthanoliques des feuilles, des fleurs et des racines de *A. americana* enregistrent des rendements nettement élevés par rapport aux extraits aqueux.

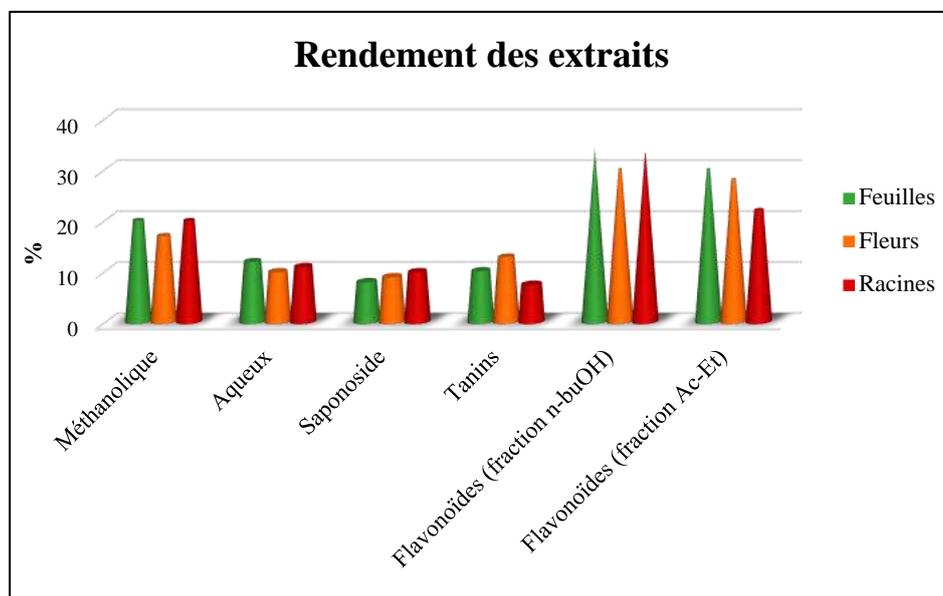


Figure 71 : Rendements des extraits de *A. americana* L

IV. 2. Criblage phytochimique :

Les résultats du screening phytochimique qualitatif de *A. americana* sont présentés dans le **Tableau 45** :

Tableau 45 : Résultats des tests phytochimiques de *A. americana* L.

Substances recherchées	Agave americana L.		
	Feuilles	Fleurs	Racines
Flavonoïdes	+	+	+
Tanins	+	+	+
Anthocyanosides	-	-	-
Anthracénosides	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-
Coumarines	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-
Saponosides	+	+	+
Stérols et stéroïdes	+	+	+
Acides gras	+	+	+
Huiles volatiles	+	+	-
Composés réducteurs	+	+	+
Amidon	-	-	-
Mucilage	+	+	+

Les résultats sont classés selon :

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

Selon les résultats mentionnés dans le **Tableau 45**, les différentes parties de *A. americana* sont caractérisés par la présence des tanins, des flavonoïdes, des stérols et des stéroïdes, des composés réducteurs et du mucilage, tandis que les coumarines, l'amidon, les anthraquinones et les alcaloïdes sont absents dans ces extraits.

Par ailleurs, les feuilles, les fleurs et les racines de *A. americana* contiennent des saponosides et des acides gras. Cependant, les huiles volatiles dans la partie aérienne de la plante se trouvent en quantité très faible.

Ces tests phytochimiques montrent aussi que les feuilles, les fleurs et les racines de *A. americana* sont riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins.

En outre, les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *A. americana* L. ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des acides gras et des alcaloïdes, ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des alcaloïdes qui sont absents dans les trois parties de la plante [19].

IV. 3. Analyses quantitatives :

IV. 3. 1. Teneurs en composés phénoliques et en sucres :

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tannins condensés et des sucres totaux de *A. americana* ont été réalisées respectivement selon les méthodes de Folin-Ciocalteu, au trichlorure d'aluminium, à la vanilline et par la méthode au phénol/acide sulfurique. En se servant des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage, les teneurs en ces composés sont déterminées et exprimées respectivement en mg équivalent d'acide gallique, de quercétine, de catéchine et du glucose par g de la matière sèche.

Les résultats de ces analyses effectuées par spectrophotométrie UV-visible sont reportés dans le **Tableau 46** et les courbes d'étalonnage de l'acide gallique, la quercétine, la catéchine et le glucose sont présentées dans les figures **118, 119, 120** et **121 (Annexe 2)**.

Tableau 46 : Teneurs en composés phénoliques et en sucres de *A. americana* L.

	Polyphénols (mg EqG/g)	Tanins (mg EqC/g)	Flavonoïdes (mg EqQ/g)	Sucres (mg Eq Glucose/g)
Feuilles	19,94 ± 0,05	10,81 ± 0,93	10,71± 0,06	44,72 ± 0,10
Fleurs	45,41 ± 0,03	4,73 ± 0,02	15,61± 0,35	65,67 ± 0,23
Racines	36,52 ± 0,03	14,63 ± 0,01	18,01± 0,02	53,95 ± 0,14

Les résultats montrent que les teneurs pour chaque famille de composés varient considérablement d'un extrait à l'autre et ce, pour les différentes parties de la plante. Il ressort du tableau que tous les organes de *A. americana* sont riches en sucres où les fleurs enregistrent la teneur le plus élevée (65,67 mg Eq glucose/g MS). D'autre part, le taux le plus élevé en polyphénols est constaté chez les fleurs (45,41 mg Eq acide gallique/g MS), suivi respectivement des racines et des feuilles. En ce qui concerne les tanins, les quantités les plus faibles ont été trouvées chez les fleurs (4,73 mg EqC/g) dans les feuilles et les racines égalent à 10,81 et 14,63 mg Eq catéchine/g MS respectivement.

Les travaux effectués en 2014 par **Bouaziz.et al.**, indiquent la présence de sucres totaux dans les feuilles de *A. americana* avec un pourcentage de 42,67% [20].

La comparaison de nos résultats avec ceux du **Tableau 47** montre des teneurs plus élevées en composés phénoliques dans les travaux de **Hamissa** [21] et **Rahmani** [22].

Tableau 47 : Teneurs en composés phénoliques de *A. americana* L.

	Polyphénols (mg Eq/g)		Flavonoïdes (mg Eq/g)	
Feuilles	23,8	[21]	15,5	[21]
	14,70	[22]	5,15	[22]
	24,54-172,92	[23]	1,24-34,32	[23]
	19,94		10,71	(Benmansour et al.)

IV. 3. 2. Teneur en eau :

Les taux d'humidité (H%) et de matière sèche (MS) sont calculés et rapportés dans le **Tableau 48** :

Tableau 48 : Teneurs en eau et en matière sèche de *A. americana* L.

	H (%)	MS (%)
Feuilles	8 ± 0,14	92 ± 0,14
Fleurs	8 ± 0,11	92 ± 0,11
Racines	7 ± 0,16	93 ± 0,16

Il ressort des résultats du **Tableau 48**, que le taux d'humidité des différents organes est de l'ordre de 7 à 8%. Ces teneurs en eau sont relativement faibles et assurent à la plante une plus grande stabilité et par conséquent un stockage assez long.

IV. 3. 3. Teneur en cendres totales :

Les résultats des teneurs en cendres de *A. americana* sont présentés sur le **Tableau 49** :

Tableau 49 : Teneurs en cendres totales de *A. americana* L.

	MO (%)	Cendres (%)
Feuilles	86 ± 0,35	14 ± 0,35
Fleurs	92 ± 0,35	9 ± 0,35
Racines	89 ± 0,35	11 ± 0,35

Les teneurs en cendres oscillent entre 9 et 14% dont les feuilles présentent la teneur la plus élevée (14%) suivi des racines (11%) et puis les fleurs (9%). Ces valeurs montrent que les feuilles de *A. americana* sont plus riches en minéraux et pourraient être une source alimentaire.

Les valeurs obtenues (**Tableau 49**) sont supérieures à celles rapportées par **Bouaziz et al.** qui ont trouvé dans les feuilles une quantité de l'ordre de 5,94%. [20]

IV. 3. 4. Dosage des minéraux :

Les résultats du dosage des minéraux de *A. americana* sont présentés dans le **Tableau 50** :

Tableau 50 : Teneurs en minéraux de *A. americana* L.

Métal	Concentration (ppm)		
	Feuilles	Fleurs	Racines
Zinc	1,626	6,364	1,824
Nickel	1,12	1,19	1,10
Cadmium	0,221	0,134	0,171
Plomb	5,120	5,138	5,278
Cobalt	0,810	0,854	0,866
Chrome	4,379	9,301	5,802
Cuivre	4,855	7,050	4,063

Les teneurs en plomb, en chrome, en zinc, en cuivre et en chrome sont élevées par rapport à celles des autres éléments qui se sont révélées faibles. Les résultats d'analyse montrent aussi que les trois parties de *A. americana* ont une teneur importante en plomb (de l'ordre de 5 ppm). D'autre part, les fleurs de *A. americana* ont une teneur en cuivre plus élevée que celle des feuilles et des racines. De même, La teneur en chrome la plus élevée est constatée chez les fleurs où elle est de l'ordre de 9,301 ppm suivi des racines avec une teneur de 5,802, puis les feuilles avec une teneur de 4,379 ppm. Par ailleurs, la concentration en zinc est plus élevée dans les fleurs que dans les feuilles et les racines. En fin, les trois parties de *A. americana* présentent des teneurs faibles en cadmium et en cobalt.

En fin, les fleurs de *A. americana* se sont montrées plus riches en minéraux que les feuilles et les racines. De plus, les teneurs obtenues sont inférieures aux normes et ne constituent aucun danger pour le consommateur [24].

IV. 4. Caractérisation chimique de la partie volatile :

IV. 4. 1. Propriétés organoleptiques :

Les huiles essentielles et l'extrait d'hydrolat obtenus respectivement par hydrodistillation au moyen d'un Clevenger et par extraction liquide-liquide en utilisant l'éther diéthylique à des rendements respectifs très faibles de 0,003% et 0,006%.

Les propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat obtenus sont reportées sur le **Tableau 51**.

Tableau 51 : Quelques propriétés de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *A. americana* L.

	Aspect	Couleur	Odeur
HE	Liquide	Jaune	Piquante
Hy	Liquide	Jaune	Piquante

IV. 4. 2. Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat :

Les compositions chimiques des deux extraits ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et sont consignées dans le **Tableau 52** :

Tableau 52 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne de *A. americana* L.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	HE ^e (%)	Hy ^e (%)
1	Hexanal	770	765	1060	0,6	5,4
2	Octène	800	807	859	0,2	–
3	Heptanal	876	879	1185	0,1	–
4	Benzaldéhyde	929	927	1520	0,1	3,3
5	Oct-1-èn-3-ol	962	958	1437	0,1	–
6	Acide hexanoïque	1008	1005	1876	tr	5,7
7	Phénylacétaldéhyde	1013	1007	1641	0,1	1,8
8	Limonene	1020	1018	1193	0,1	–
9	(E)-Sabinène hydrate	1051	1052	1458	0,2	–
10	Octanol	1058	1556	1538	0,2	2,2
11	(Z)-Linalool oxide	1073	1080	1435	0,2	–
12	Linalool	1083	1082	1514	0,3	24,1
13	Terpinèn-4-ol	1164	1161	1570	0,2	–
14	α-Terpinéol	1176	1183	1675	0,4	7,3
15	β -cyclocitral	1195	1197	1623	0,1	–
16	Nérol	1210	1202	1752	0,1	–
17	Géranol	1232	1236	1822	0,1	4,9
18	Décanol	1263	1267	1722	0,2	–
19	Bornyl acétate	1269	1272	1582	0,1	–
20	Undécan-2-ol	1284	1285	1728	0,3	2,6
21	Tridécane	1300	1297	1295	0,6	–
22	Néryl acétate	1342	1338	1694	0,3	–
23	Undécanol	1359	1360	1830	0,7	–
24	Acide décanoïque	1375	1376	2257	0,1	–
25	α -copaène	1379	1386	1494	0,5	–
26	β -Elémène	1389	1393	1594	0,2	–
27	Dodécanal	1389	1396	1707	0,2	–
28	Néryl acétone	1410	1418	1835	0,1	5,7
29	(E)- β -Caryophyllène	1424	1427	1588	0,4	–
30	Géranyl acétone	1430	1435	1841	0,3	–
31	α -Humulène	1456	1454	1638	1,5	–
32	Alloaromadendrène	1462	1461	1943	0,5	–
33	β-Ionone	1466	1474	1952	1,1	15,1
34	β -Sélinène	1483	1486	1691	0,8	–
35	2-Tridécane	1491	1489	1796	1,6	–

36	Tridécanal	1502	1496	1815	0,2	–
37	γ -Cadinène	1507	1506	1782	0,3	–
38	δ -Cadinène	1515	1516	1740	0,4	–
39	α -Cadinène	1535	1542	1792	0,5	–
40	(E)-Nérolidol	1553	1559	2045	4,8	–
41	Spathuléol	1572	1566	2129	0,8	–
42	Acide dodécanoïque	1572	1571	2420	0,4	–
43	Caryophyllène oxide	1578	1575	1958	0,5	–
44	Tridécanal	1580	1580	2025	0,7	–
45	Globulol	1589	1586	2069	0,4	–
46	Tétradécanal	1592	1594	1904	10,8	–
47	Méthyl Tridécanoate	1600	1596	1631	0,3	–
48	epi-Cubénol	1621	1624	2052	0,2	–
49	Hinésol	1636	1636	2183	0,3	–
50	α -Cadinol	1645	1646	2230	0,4	–
51	α -Eudésmol	1653	1652	2204	1,7	–
52	Bulnésol	1659	1659	2213	0,9	–
53	α -Bisabolol	1673	1676	2234	0,8	–
54	(Z,E)-Farnésol	1694	1693	2348	2,5	–
55	Acide tétradécanoïque	1761	1761	2654	7,2	–
56	Hexadécanal	1795	1794	2121	1,3	–
57	Phytone	1817	1827	2102	4,1	–
58	Acide pentadécanoïque	1848	1851	2754	2,1	–
59	(E,Z)-Farnésyl acétone	1871	1873	2338	0,9	–
60	1-Octadécanol	1880	1889	2515	0,9	–
61	Isophytol	1946	1938	2316	1,5	–
62	Acide hexadécanoïque	1968	1974	2873	30,1	18,6
63	Eicosane	2000	1997	1989	0,5	–
64	Méthyl heptadécanoate	2008	2007	2019	0,8	–
65	Isopropyl palmitate	2012	2016	2536	0,4	–
66	(Z)-Phytol	2080	2090	2575	0,9	–
67	(E)-Phytol	2114	2098	2607	1,1	–
68	Acide oléique	2116	2119	2846	1,9	–
69	Acide octadécanoïque	2188	2184	2900	0,4	–
70	Docosane	2200	2193	2194	0,5	–
71	Acide nonadécanoïque	2286	2292	2587	0,6	–
72	Tricosane	2300	2300	2306	0,5	–
73	Tétracosane	2400	2391	2390	0,6	–
74	Pentacosane	2500	2500	2505	1,5	–
75	Octacosane	2600	2607	2639	1,1	–

Total d'identification %	98,4	96,7
Diterpènes oxygénés	3,5	–
Composés sesquiterpéniques	18,4	–
- Sesquiterpènes oxygénés	13,3	–
- Sesquiterpènes hydrocarbonés	5,1	–
Composés monoterpéniques	1,7	36,3
- Monoterpène oxygénés	1,6	36,3
- Monoterpènes hydrocarbonés	0,1	–
Composés non-terpéniques	74,8	60,4
- Composés oxygénés non-terpéniques	69,3	60,4
- Composés hydrocarbonés non-terpénique	5,5	–
Alcools	20,7	41,1

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

tr, trace (< 0,05%), IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants.

L'analyse chromatographique par CPG et CPG/SM de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat obtenus à partir de la partie aérienne de *A. americana* a permis d'identifier 74 composés dans l'huile essentielle et 12 composés dans l'extrait d'hydrolat qui représentent respectivement 98,4% et 96,7% de la composition totale de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat avec une prédominance des composés oxygénés.

D'après ces résultats, l'huile essentielle est caractérisée par un pourcentage très élevé en composés non terpéniques (74,8%), suivi de sesquiterpènes (18,4%) alors que les monoterpènes sont d'une teneur très faible (1,7%). Il semble que les composants de l'huile essentielle de *A. americana* sont des composés non terpéniques oxygénés. Les composants majeurs de cette huile sont l'acide hexadécanoïque (30,1%), le tétradécanal (10,8%), l'acide tétradécanoïque (7,2%), le (E)-nérolidol (4,8%) et le phytone (4,1%).

Par ailleurs, l'extrait d'hydrolat est caractérisé par deux classes de composés oxygénés : les composés non terpéniques (60,4%) et les monoterpènes (36,3%). Les

principaux composés de l'extrait d'hydrolat, sont le linalool (24,1%), l'acide hexadécanoïque (18,6%), la β -ionone (15,1%) et le α -terpinéol (7,1%).

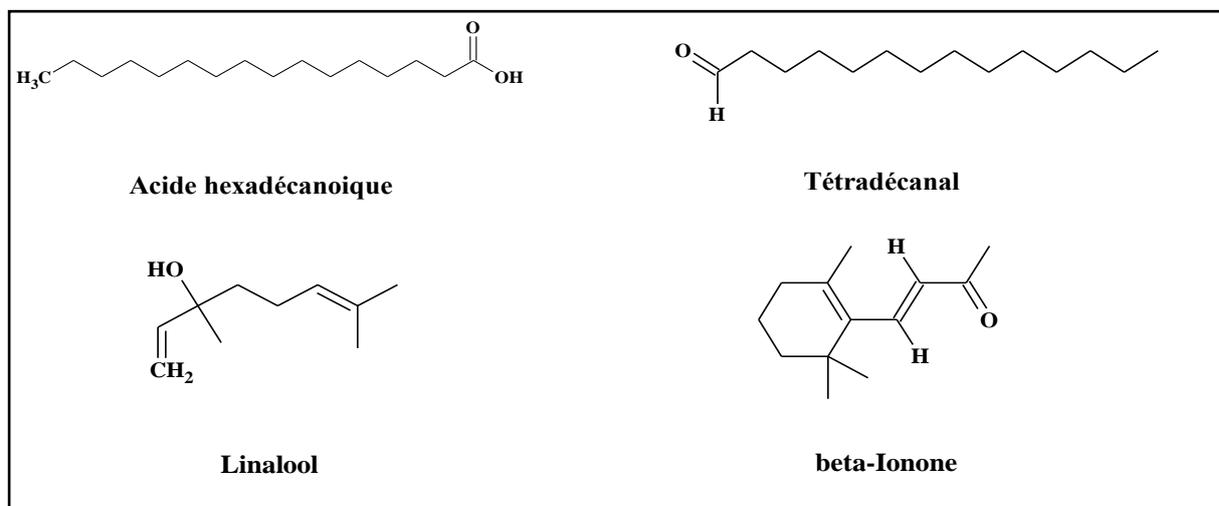


Figure 72 : Structures chimiques des principaux constituants de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *A. americana* L.

Maazoun et al., ont analysé la composition des feuilles de *Agave americana* L. cultivées en Tunisie et ont pu identifier 14 composés non terpéniques qui représentent 88,16% : les composés principaux sont : l'hexacosane (23,38%), l'heptacosane (21,48%), le pentacosane (16,66%) et le tétracosane (8,68%) [22].

IV. 5. Composition en acides gras :

IV. 5. 1. Rendements d'extraction :

Les rendements d'extraction calculés par rapport à la matière sèche du végétal varient entre les trois organes étudiés. Les résultats obtenus montrent que les fractions insaponifiables des feuilles, des fleurs et des racines représentent respectivement : 1%, 3,7% et 2,7% de l'extrait hexanique. Cependant, les fractions d'acides gras des feuilles, des fleurs et des racines représentent respectivement : 13,2%, 18,7% et 15,9% de l'extrait hexanique. Par ailleurs, les fleurs de *A. americana* L. présentent une teneur élevée en acides gras par rapport aux autres organes (**Tableau 53**).

Tableau 53 : Rendement des acides gras et des insaponifiables de *A. americana* L.

	Rendement (%)		
	Extrait hexanique	Acide gras	Insaponifiables
Feuilles	8	13,2	1
Fleurs	11	18,7	3,7
Racines	9	15,9	2,7

IV. 5. 2. Composition chimique des acides gras :

Le profil chimique des acides gras présents dans *A. americana* L. a été investigué par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Les acides gras des feuilles, des fleurs et des racines, ainsi que leurs indices de rétention et leur abondance relative sont donnés dans le **Tableau 54** :

Tableau 54 : Composition en acides gras de *A. americana* L.

N°	Composés ^a	IR _a ^b	IR _a ^c	IR _p ^d	Feuilles ^e %	Fleurs ^e %	Racines ^e %
1	Acide nonanoïque (C9:0)	1210	1213	1576	4,6	0,6	1,4
2	Acide décanoïque (C10:0)	1309	1303	1581	2,1	0,2	0,5
3	Acide undécanoïque (C11:0)	1410	1408	1707	2,6	0,4	0,3
4	Acide laurique (C12:0)	1509	1503	1783	5,2	0,3	0,8
5	Acide tétradécanoïque (C14:0)	1713	1702	1987	6,4	0,5	1,1
6	Acide pentadécanoïque (C15:0)	1817	1802	2147	–	0,7	0,4
7	Acide palmitoléique (C16:1)	1886	1896	2392	2,7	6,8	4,1
8	Acide palmitique (C16:0)	1908	1903	2192	27,9	15,7	21,5
9	Acide linolélaïdique (C18:2)	1989	1989	2410	4,2	3,8	1,6
10	Acide linoléique (C18:2)	2077	2064	2460	18,9	20,1	17,8
11	Acide oléique (C18:1)	2081	2073	2414	7,1	6,1	4,9
12	Acide élaïdique (C18:1)	2085	2079	2422	–	1,5	18,4
13	Acide stéarique (C18:0)	2111	2102	2395	7,1	3,3	8,3
14	Acide arachidique (C20:0)	2311	2302	2599	4,9	5,7	5,4
15	Acide hénicosanoïque (C21:0)	2395	2393	2550	–	1,9	1,3

16	Acide béhénique (C22:0)	2502	2503	2525	–	2,9	5,6	
17	Acide tricosanoïque (C23:0)	2631	2624	2860	–	28,9	4,3	
Total d'identification %						94,1	98,4	97,7
Les acides gras saturés						60,8	60,1	50,9
Les acides gras mono-insaturés						10,2	14,4	27,4
Les acides gras poly-insaturés						23,1	23,9	19,4

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1).

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature [4].

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1 (IRa).

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-Wax (IRp).

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire.

IR, indices de rétention.

Les valeurs en gras indiquent les principaux composants.

L'analyse par CPG et CPG/SM de la composition chimique en acides gras des feuilles, des fleurs et des racines de *A. americana* a permis d'identifier 12 composés dans les feuilles, 17 composés dans les fleurs et les racines avec des pourcentages respectifs de 94,1%, 98,4% et 97,7% de la fraction totale en acide.

D'après les résultats du **Tableau 54**, les acides se sont répartis en trois classes qui se différencient par leur degré d'insaturation : les acides gras saturés, mono insaturés et polyinsaturés avec une dominance des acides gras saturés.

Les acides gras prédominants dans les feuilles, les fleurs et les racines sont : l'acide palmitique (27,9%, 15,7% et 21,5%, respectivement), l'acide linoléique (18,9%, 20,1% et 17,8%, respectivement), l'acide oléique (7,1%, 6,1% et 4,9%, respectivement) et l'acide stéarique (7,1%, 3,3% et 8,3%, respectivement). Par ailleurs, le profil chromatographique des fleurs et des racines est caractérisé par la présence de l'acide élaïdique (1,5% et 18,4% respectivement) et l'acide tricosanoïque (28,9% et 4,3% respectivement).

IV. 6. Activité antioxydante des différents extraits par solvants de *A. americana* L. :

IV. 6. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de *A americana* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne ainsi que les extraits des différents organes de la plante étudiée a été étudiée afin de déterminer la fraction la plus active. Les courbes montrant l'évolution de l'inhibition du radical en fonction des concentrations des extraits sont représentées sur les figures (73, 74, 75, 76 et 77) où l'acide ascorbique est pris comme antioxydant de référence. À partir de ces dernières, la valeur de CI50 de chaque extrait a été déterminée (Tableau 55).

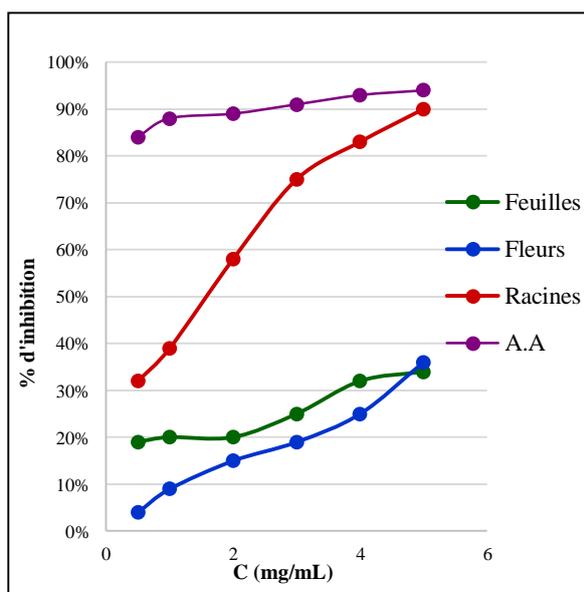


Figure 73 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait méthanolique de *A. americana* L.

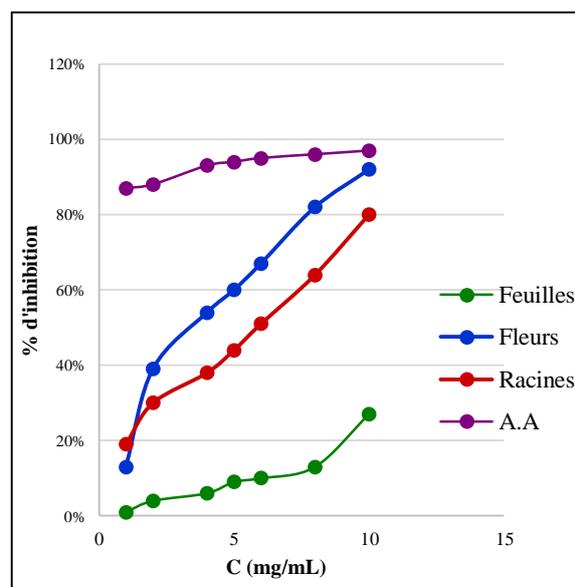


Figure 74 : % d'inhibition du DPPH de l'extrait aqueux de *A. americana* L.

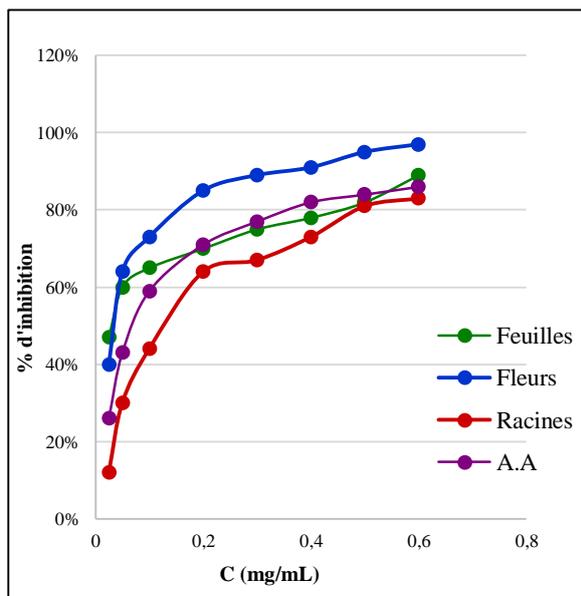


Figure 75 : % d'inhibition du DPPH des saponosides de *A. americana* L.

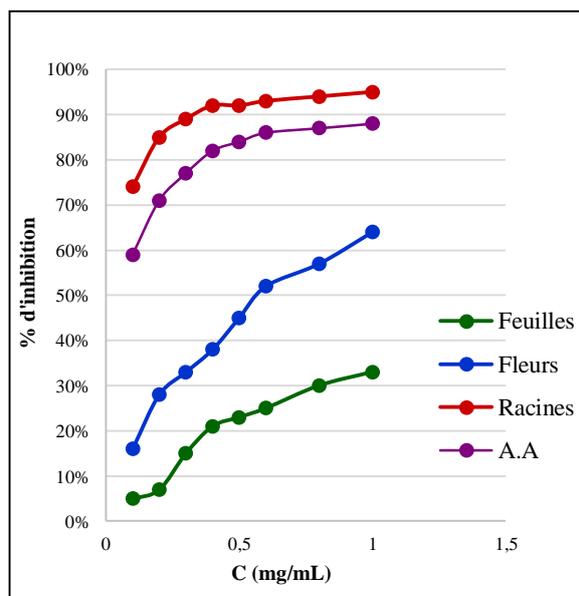


Figure 76 : % d'inhibition du DPPH des tanins de *A. americana* L.

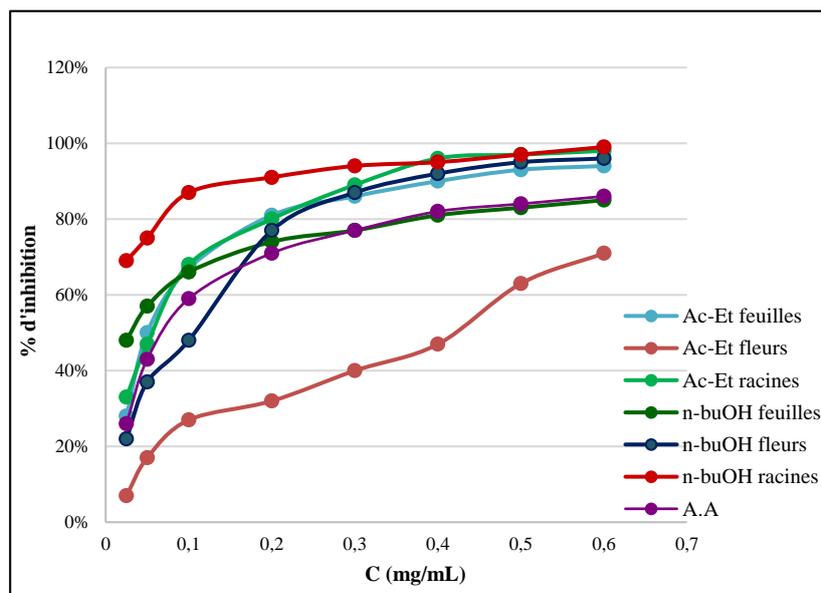


Figure 77 : % d'inhibition du DPPH des flavonoïdes de *A. americana* L.

Tableau 55 : Valeurs des CI50 de *A. americana* L. par la méthode DPPH.

Extrait	Partie étudiée	DPPH (CI50 mg/mL)
Extrait méthanolique	Feuilles	9,37 ± 0,38
	Fleurs	7,52 ± 0,09
	Racines	1,23 ± 0,01
Extrait aqueux	Feuilles	21,53 ± 0,42
	Fleurs	4,14 ± 0,07
	Racines	5,68 ± 0,11
Tanins	Feuilles	6,23 ± 0,36
	Fleurs	0,70 ± 0,04
	Racines	0,01 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Feuilles	0,06 ± 0,01
	Fleurs	0,4 ± 0,02
	Racines	0,05 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Feuilles	0,03 ± 0,01
	Fleurs	0,08 ± 0,01
	Racines	0,003 ± 0,001
Saponosides	Feuilles	0,03 ± 0,01
	Fleurs	0,03 ± 0,01
	Racines	0,13 ± 0,01
Acide ascorbique	/	0,04 ± 0,01

L'interprétation des courbes montre que pour tous les extraits, l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de leurs concentrations pour se stabiliser à la fin.

Le test au DPPH révèle que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de *A. americana* sont les deux extraits les moins actifs comme piègeurs du radical DPPH. Pour une concentration de l'ordre 10 mg/mL, l'extrait aqueux des fleurs présente un pourcentage d'inhibition (90%) supérieur à celui des racines (80%) et des feuilles (24%). D'autre part, l'extrait méthanolique des racines possède une capacité à piéger le radical DPPH supérieure à celle des fleurs et des feuilles avec des valeurs respectives de CI50 de l'ordre de 1,23, 7,52 et 9,37 mg/mL.

Par ailleurs, les flavonoïdes de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles et des racines sont plus actifs que ceux des fleurs alors que dans l'extrait butanolique, la capacité antiradicalaire des flavonoïdes des racines est plus élevée que celle des feuilles et des fleurs en accusant une valeur de CI50 (0,003 mg/mL) nettement supérieure à celle de l'acide ascorbique (0,04 mg/mL).

D'autre part, les saponosides présentent eux aussi une très bonne activité où les feuilles et les fleurs dont le CI50 est de 0,03 mg/mL sont légèrement plus actives que l'acide ascorbique avec un CI50 de 0,03 mg/mL.

De plus, les tanins des racines, contrairement à ceux des feuilles et des fleurs, ont montré une activité de piégeage du radical DPPH très importante (CI50 = 0,01 mg/mL) et qui est même supérieure à celle de l'acide ascorbique (CI50 = 0,04 mg/mL).

En comparant les divers extraits testés de *A. americana*, c'est l'extrait n-butanolique des racines qui présente la meilleure activité du piégeage du radical DPPH.

IV. 6. 2. Test de réduction du fer (FRAP) :

Pour chaque extrait testé, la valeur de CI50 obtenue est reportée sur le **Tableau 56** et les résultats enregistrés sont illustrés par des courbes représentées sur les figures **78, 79, 80, 81** et **82**. Il s'avère que la capacité de réduction du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des échantillons.

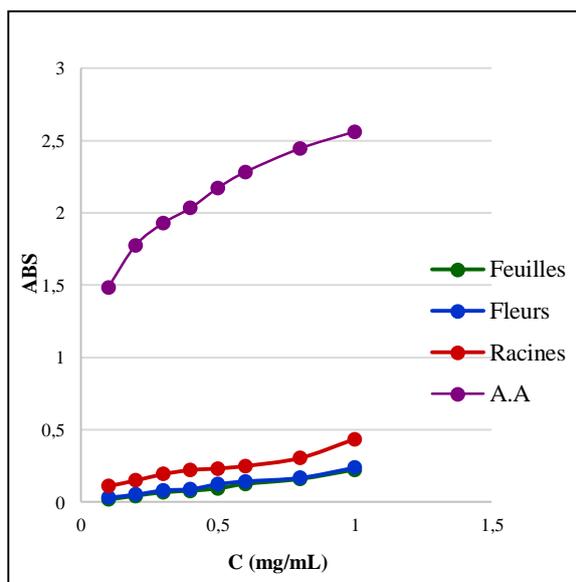


Figure 78 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique de *A. americana* L.

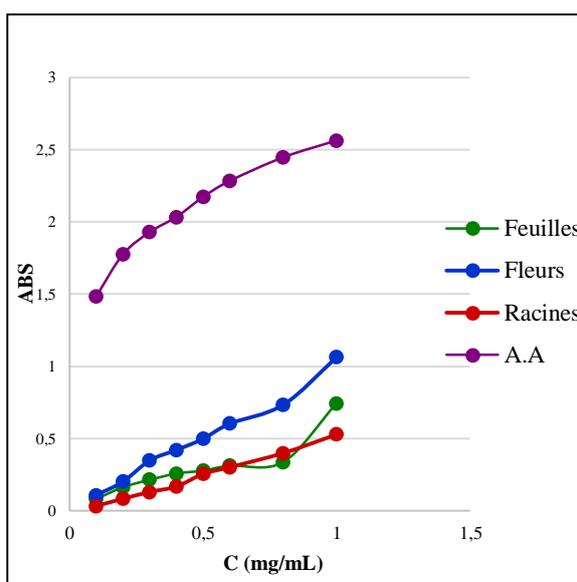


Figure 79 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux de *A. americana* L.

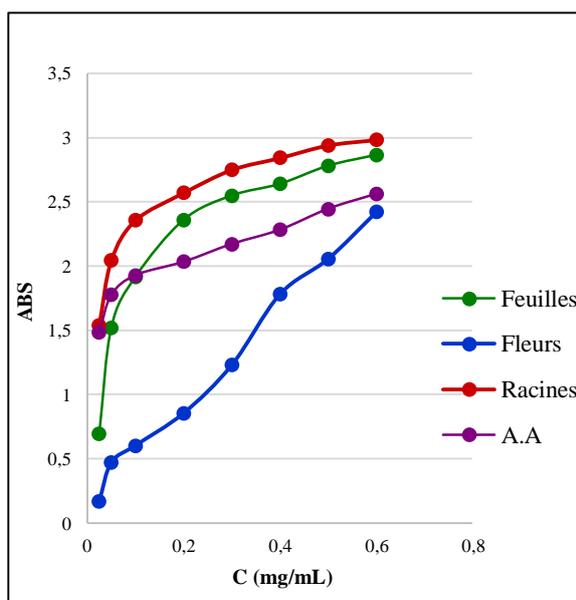


Figure 80 : Pouvoir réducteur du fer des saponosides de *A. americana* L.

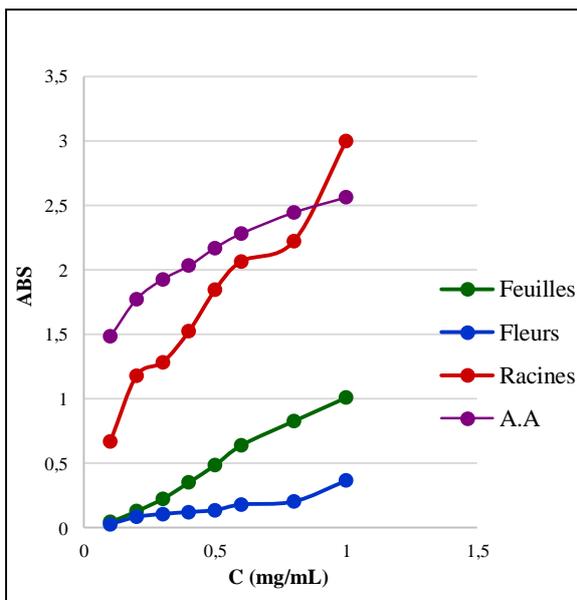


Figure 81 : Pouvoir réducteur du fer des tanins de *A. americana* L.

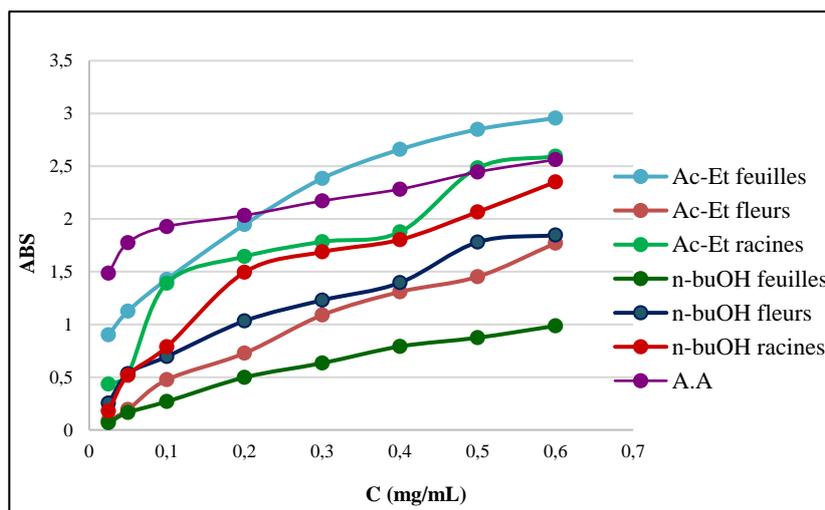


Figure 82 : Pouvoir réducteur du fer des flavonoïdes de *A. americana* L.

Tableau 56 : Valeurs des CI50 de *A. americana* L. par la méthode FRAP.

Extrait	Partie étudiée	FRAP (CI50 mg/mL)
Extrait méthanolique	Feuilles	2,34 ± 0,16
	Fleurs	2,23 ± 0,03
	Racines	1,3 ± 0,06
Extrait aqueux	Feuilles	0,94 ± 0,09
	Fleurs	0,49 ± 0,01
	Racines	0,97 ± 0,09
Tanins	Feuilles	0,46 ± 0,07
	Fleurs	2,39 ± 0,05
	Racines	0,13 ± 0,09
Flavonoïdes (fraction d'acétate d'éthyle)	Feuilles	0,02 ± 0,01
	Fleurs	0,14 ± 0,02
	Racines	0,03 ± 0,01
Flavonoïdes (fraction n-buOH)	Feuilles	0,25 ± 0,05

	Fleurs	0,05 ± 0,01
	Racines	0,05 ± 0,01
Saponosides	Feuilles	0,01 ± 0,01
	Fleurs	0,09 ± 0,01
	Racines	0,001 ± 0,001
Acide ascorbique	/	0,01 ± 0,01

À la lecture des résultats du **Tableau 56**, tous les extraits montrent une forte capacité à réduire le fer où l'activité la plus élevée est observée chez les flavonoïdes et les saponosides. En effet, les saponosides des racines de *A. americana* accusent une valeur de CI50 très faible de 0,001 mg/mL montrant ainsi un pouvoir réducteur largement supérieur à celui des autres extraits y compris l'antioxydant de référence dont le CI50 est de 0,01 mg/mL.

Pour les tanins, les racines présentent une bonne activité antioxydante qui est plus importante que celle des fleurs et des feuilles. Néanmoins, elle reste inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Par ailleurs, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des différentes parties de *A. americana* présentent les plus faibles capacités à réduire le fer.

Références bibliographiques

1. Hedi Ben Mansour, S.Y., Sihem Mbarek, Ikram Houas, Afef Delai and Dorra Dridi, *Correlation between anticholinesterase and antioxidant activities of three aqueous extracts from Tunisian Rhus pentaphyllum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2011. **10**: p. 32.
2. Itidel, C., et al., *Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variation among Tunisian natural populations of Rhus tripartita (Ucria) Grande and Rhus pentaphylla Desf*. *Industrial Crops and Products*, 2013. **51**: p. 171-177.
3. Amri, O., et al., *Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015. **7**(7): p. 672-8.
4. König, W., D. Hochmuth, and D. Joulain. *Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. Library of MassFinder 2.1*. University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany. 2001. p. 134.
5. Giovanelli, S., et al., *Aroma profile and essential oil composition of Rhus coriaria fruits from four Sicilian sites of collection*. *Industrial Crops and Products*, 2017. **97**: p. 166-174.
6. Kurucu, S., et al., *The Essential Oils of Rhus coriaria L. (Sumac)*. *Journal of Essential Oil Research*, 1993. **5**(5): p. 481-486.
7. Bahar, B. and T. Altug, *Flavour Characterization of Sumach (Rhus Coriaria L.) by Means of GC/MS and Sensory Flavour Profile Analysis Techniques*. *International Journal of Food Properties*, 2009. **12**(2): p. 379-387.
8. Gamal. M. A. B and Atraiki. R. A. M, *Phytochemical constituents of Ferula communis plant extracts and their antimicrobial and antioxidant activity*. *Lebda Medical Journal*, 2015. **1**: p. 6-9
9. Rahali, F.Z., et al., *Phytochemical composition and antioxidant activities of different aerial parts extracts of Ferula communis L*. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 2019. **153**(2): p. 213-221.

10. Chibani, S., et al., *Analysis of the essential oil of Ferula communis L. from Constantine, Algeria*. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2011. **1**(2): p. 41-44.
11. Rahali, F., et al., *Metabolite profiles of essential oils and molecular markers analysis to explore the biodiversity of Ferula communis: Towards conservation of the endemic giant fennel*. Phytochemistry, 2016. **124**: p. 1-9.
12. Marongiu, B., A. Piras, and S. Porcedda, *Comparative Analysis of the Oil and Supercritical CO₂ Extract of Ferula communis L.* Journal of Essential Oil Research, 2011. **17**(2): p. 150-152.
13. Ferrari, B., F. Tomi, and J. Casanova, *Composition and chemical variability of Ferula communis essential oil from Corsica*. Flavour and Fragrance Journal, 2004. **20**: p. 180-185.
14. Manolakou, S., O. Tzakou, and A. Yannitsaros, *Volatile Constituents of Ferula communis L. subsp communis Growing Spontaneously in Greece*. Records of Natural Products, 2013. **7**(1): p. 54-58.
15. Maggi, F., et al., *Chemical analysis of essential oils from different parts of Ferula communis L. growing in central Italy*. Natural Product Research, 2015. **30**(7): p. 1-8.
16. Kanko, C., et al., *Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus*. Comptes Rendus Chimie, 2004. **7**(10): p. 1039-1042.
17. Bendimerad-Mouttas, F., et al., *Bioactive compounds and antioxidant activity of Rhaponticum acaule (L.) DC*. Natural product research, 2018. **18**(79): p. 1-5.
18. Boussaada, O., et al., *Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts of Rhaponticum acaule DC growing wild in Tunisia*. Microbiological research, 2008. **163**(1): p. 87-95.
19. Babu, M., R. Dang, and K. Das, *Phytochemical investigations and characterization of antimicrobial activity of bioguided fractionated leaves of Agave americana L.* Annals of phytomedicine-an International Journal, 2015. **4**(1): p. 61-67.

20. Bouaziz, M.A., R. Rassaoui, and S. Besbes, *Chemical composition, functional properties, and effect of inulin from Tunisian Agave americana L. leaves on textural qualities of pectin gel*. Journal of Chemistry, 2014. **2014**: p. 1-11.
21. Hamissa, A.M.B., et al., *Phenolics extraction from Agave americana (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor*. Food and bioproducts processing, 2012. **90**(1): p. 17-21.
22. Maazoun, A.M., et al., *Phytochemical profile and insecticidal activity of Agave americana leaf extract towards Sitophilus oryzae (L.)(Coleoptera: Curculionidae)*. Environmental Science and Pollution Research, 2019. **26**(19): p. 1-13.
23. Rahmani, H., et al., *Phenolic quantification and antioxidant activity of agave Americana leaves depending on solvent and geoclimatic area*. Advances in Environmental Biology, 2016. **10**(9): p. 194-200.
24. Vara Prasad, M.N. and H.M. de Oliveira Freitas, *Metal hyperaccumulation in plants: Biodiversity prospecting for phytoremediation technology*. Electronic Journal of Biotechnology, 2003. **6**(3): p. 285-321.

DEUXIEME PARTIE

APPLICATIONS AUX

NANOPARTICULES D'ARGENT

INTRODUCTION

Récemment, beaucoup de recherches ont été consacrées à l'élaboration et au développement de nouveaux matériaux sous forme de nanostructures pour des utilisations biomédicales ou environnementales à cause de leurs propriétés biocompatibles complètement différentes de celles de l'état massif. [1]

De par leurs propriétés chimiques, physiques et biologiques, les nanoparticules trouvent des applications dans plusieurs domaines tels que la biologie, la chimie, l'industrie agro-alimentaire, le domaine biomédical et les sciences des matériaux. En particulier, les nanoparticules d'argent sont d'un intérêt majeur, dû à leurs effets antibactériens et antioxydants [2].

Pour leur synthèse, il existe plusieurs méthodes physiques, chimiques et biologiques. Les méthodes chimiques sont les techniques les plus populaires et les plus utilisées pour produire les nanoparticules métalliques. Ces approches chimiques ont des avantages mais présentent quand même des inconvénients tels que ; la contamination qui résulte des précurseurs chimiques, la toxicité des solvants utilisés et la production de sous-produits dangereux. Pour remédier à ça, plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'utilisation des produits naturels comme réducteurs dans la synthèse des nanoparticules métalliques. Ces produits non toxiques sont utilisés sous forme d'extraits bruts solubles dans les milieux de synthèse.

La synthèse verte des nanoparticules métalliques à partir d'extraits de plantes présente plusieurs avantages par rapport aux synthèses chimiques et physiques. En effet, ces composés naturels sont faciles à utiliser, pas chers et non toxiques pour le manipulateur et l'environnement. [3]

Références bibliographiques

1. Soshnikova, V., et al., *Cardamom fruits as a green resource for facile synthesis of gold and silver nanoparticles and their biological applications*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2018. **46**(1): p. 108-117.
2. Baghayeri, M., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using water extract of *Salvia leriifolia* : Antibacterial studies and applications as catalysts in the electrochemical detection of nitrite*. *Applied Organometallic Chemistry*, 2017. **32**(2): p. 4057.
3. John, J., C. Aravindakumar, and S. Thomas, *Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Phyto-Constituents of *Ficus Auriculata* Lour. Leaf Extract: Mechanistic Approach*. *SAJ Biotechnology*, 2017. **4**(1): p. 1.

CHAPITRE I :

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les nanoparticules métalliques :

I. 1. Définition des nanoparticules :

Les nanoparticules constituées de plusieurs atomes métalliques, sont des particules ultrafines ayant une taille nanométrique, dont le diamètre varie entre 1 et 100 nanomètres. Ces nanoparticules existent dans la nature mais elles sont aussi fabriquées. Elles présentent des surfaces d'échanges très importantes, estimées à plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule car la majorité des atomes qui les constitue se trouvent en surface. Cette surface d'échange très importante, confère aux nanoparticules des propriétés physiques et chimiques particulières [1].

I. 2. Propriétés des nanoparticules :

Le passage de l'état massif vers le nano-objet conduit à l'apparition de nouvelles caractéristiques spécifiques et de nouvelles propriétés.

1. Propriétés catalytiques :

La diminution de la taille des nanoparticules entraîne un rapport important surface/volume qui joue un rôle prédominant dans les propriétés mettant en jeu des échanges à l'interface entre l'objet considéré et son environnement. Ce pourcentage élevé d'atomes de surface rend les matériaux plus réactifs d'un point de vue chimique d'où leurs applications prometteuses en catalyse hétérogène [2].

2. Propriétés antibactériennes :

Il existe différentes théories sur l'action des nanoparticules d'argent sur les microbicides. Les AgNPs ont la capacité de s'accumuler, s'ancrer à la paroi cellulaire bactérienne et de pénétrer par la suite, provoquant ainsi des changements dans la structure de la membrane cellulaire et par conséquent la mort de la cellule [3].

3. Autres propriétés :

Les nanoparticules présentent d'autres propriétés à savoir : des propriétés magnétiques, optiques, vibrationnelles...

I. 3. Nanoparticules d'argent :

L'argent est un métal précieux, de couleur blanc et brillant ; il cristallise à l'état volumique en une structure cristalline CFC.

C'est l'un des métaux les plus utilisés pour la synthèse des nanoparticules. Les nanoparticules d'argent pouvant rassembler environ 20-15000 atomes d'argent, ont montré les mêmes propriétés physico-chimiques et activités biologiques que l'argent, en plus des propriétés uniques des nanoparticules [4].

I. 3. 1. Propriétés physiques et chimiques de l'argent :

L'argent est un métal noble plus réactif que l'or. Sa résistance mécanique peut être améliorée par addition du cuivre. Il a une excellente conductivité, une propriété qui est utilisée en électronique. L'argent métallique se déforme facilement à froid, par martelage ou par étirement et il se cisèle facilement. Les sels d'argent sont photosensibles et sont utilisés en photographie [5].

I. 3. 2. Propriétés biologiques de l'argent :

L'utilisation des nanoparticules d'argent connaît un essor extrêmement important en raison de leur réactivité élevée, et leur pouvoir à limiter la propagation des infections, ainsi que l'amélioration de l'hygiène quotidienne. Elles ont également une capacité à libérer progressivement, et de manière contrôlée et durable, les ions Ag^+ .

Les nanoparticules d'argent sont couramment utilisées pour leurs propriétés bactéricides dont leur état d'oxydation joue un grand rôle. En effet, seules les nanoparticules d'argent contenant la forme oxydée sont toxiques contrairement aux nanoparticules métalliques à degré d'oxydation nul. La toxicité augmente lorsque la taille des nanoparticules diminue ce qui est directement corrélé avec une augmentation de la fraction d'ions Ag^+ adsorbée en surface des particules. [6]

I. 3. 3. Applications des nanoparticules d'argent :

Les nanoparticules d'argent qui ont attiré l'attention de nombreuses industries, possèdent des propriétés physiques, chimiques et biologiques très diverses avec beaucoup d'applications.

✚ Application dans l'industrie pharmaceutique et médicale : [5]

Les nanoparticules d'argent sont utilisées dans de nombreuses applications médicales telles que les cathéters, les prothèses osseuses, les pansements et les instruments chirurgicaux. La plupart des applications sont directement liées aux propriétés antibactériennes de ces nanoparticules dont leur surface accroît la réactivité chimique et améliore les propriétés thérapeutiques.

L'utilisation la plus répandue des nanoparticules d'argent correspond aux pansements, et aux différents soins employés dans le domaine médical comme les bandages et les crèmes pour le traitement des brûlures et des plaies chroniques.

Les nanoparticules d'argent ont été utilisées aussi en tant qu'additif antimicrobien dans le ciment osseux poly (méthacrylate de méthyle) utilisé pour réduire l'incidence de la résistance à travers son mécanisme d'action multiple.

De plus, les dispositifs médicaux imprégnés des nanoparticules d'argent comme les masques chirurgicaux et les dispositifs implantables montrent une efficacité antimicrobienne significative.

Les cathéters urinaires, vasculaires et péritonéaux ont également été fabriqués à partir des nanoparticules d'argent. En effet, ces cathéters ont prouvé leur efficacité à réduire les infections. Par ailleurs, les nanoparticules d'argent présentent une efficacité antimicrobienne contre les particules virales et même une activité anticancéreuse contre les cellules cancéreuses.

✚ Applications dans le domaine agro-alimentaire et dans le traitement de l'eau : [5]

L'argent est employé dans l'industrie alimentaire pour éviter les contaminations microbiennes et prévenir l'apparition d'un goût métallique. Des emballages antibactériens à base de nanoparticules d'argent comme le papier filtre sont utilisés pour empêcher la contamination bactérienne dans les produits alimentaires. En outre, de nombreux matériaux biodégradables, tels que l'amidon et l'alginate ont été utilisés pour fabriquer des films composites à base de nanoparticules d'argent.

Par ailleurs, les nanoparticules d'argent ont été utilisées dans les stations d'épuration pour le traitement des eaux usées et réduire le risque de maladies liées à la consommation

d'eau. Différents travaux démontrent l'efficacité antimicrobienne de filtres de polyuréthane, de céramique ou de charbon actif contenant ces nanoparticules.

Autres applications : hygiène et désinfection :

Les nanoparticules d'argent ont été également utilisées dans les produits de consommation tels que les cosmétiques, les peintures, les dentifrices, les détergents ou les appareils ménagers [7].

Du plus, ces nanoparticules sont utilisées dans le domaine du textile pour retarder le développement de bactéries et de champignons ainsi que pour éviter les mauvaises odeurs et empêcher l'adhésion des pollens responsables d'allergies [8].

I. 4. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent :

1. Méthodes physiques :

Dans les procédés physiques récents, l'évaporation-condensation et l'ablation au laser sont les approches physiques les plus importantes. [9, 10].

2. Méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques de préparation de nanoparticules d'argent incluent la réduction chimique en solution aqueuse [11] ou organique [12], la réduction électrochimique [13], la voie micellaire inverse [14], la réduction biochimique [15]...etc.

De par sa simplicité, la synthèse de nanoparticules par réduction chimique est la technique la plus utilisée pour former des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques [16, 17]. De plus, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre probablement le meilleur contrôle de la taille et de la forme [18, 19]. Elle repose principalement sur l'utilisation de trois composants, soit un précurseur métallique, un agent réducteur ou un agent stabilisant [9].

3. Méthodes biologiques :

La réduction biologique est développée comme une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que la bonne dispersion des nanoparticules ainsi que l'absence d'additifs chimiques et de sous-produits chimiques [20].

Il a été donc nécessaire de recourir aux méthodes biologiques pour développer une approche respectueuse de l'environnement pour la synthèse des nanoparticules d'argent en utilisant des microorganismes [21], des enzymes [22] ou des extraits de plantes [20].

I. 5. Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent : [23]

Les extraits aqueux lorsqu'ils interagissent avec la solution de nitrate d'argent (AgNO_3) forment une solution brun foncé due à la réduction de l'ion argent en AgNPs suivie d'un changement de couleur indiquant la transformation de l'argent ionique en argent réduit et la formation ultérieure de AgNPs dans un milieu aqueux.

Le mécanisme de formation des nanoparticules est tiré de la littérature en tenant compte du fait que les extraits des plantes sont riches en polyphénols.

La présence de Ag^+ provoque l'oxydation des groupement hydroxyles pour former un complexe d'argent intermédiaire puis une quinone et des ions Ag^+ , ces derniers ont réduit en Ag métallique en présence d'électrons libres.

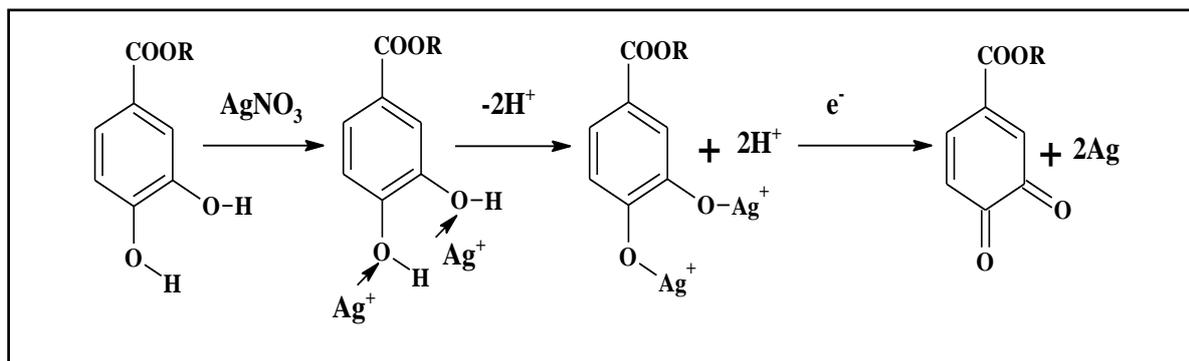


Figure 83 : Mécanisme de formation des nanoparticules d'argent.

I. 6. Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent :

La caractérisation des nanoparticules est importante pour évaluer les caractéristiques des nanoparticules. La caractérisation est effectuée en utilisant plusieurs techniques différentes.

I. 6. 1. Spectroscopie UV-visible :

L'analyse spectrométrique est une technique d'observation de formation des nanoparticules en solution. Elle mesure l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde. Cette technique repose sur la transition d'électrons

de valence qui passent de l'état fondamental à l'état excité grâce à une onde électromagnétique.

De par leur grande surface spécifique, les nanoparticules disposent d'un plus grand nombre d'atomes et donc d'électrons libres en surface. L'excitation de la surface métallique par de la lumière provoque la vibration collective des électrons en surface. L'excitation des électrons provoque une vibration, une résonance à une certaine longueur d'onde. Les électrons résonnent et la longueur d'onde concernée est ainsi absorbée : c'est ce que l'on observe en spectroscopie UV-visible [24].

I. 6. 2. Diffraction des rayons X (DRX) :

La diffraction des rayons X (DRX) est une technique analytique utilisée pour l'analyse de structures cristallographiques dans le cadre d'identification de composés. Cette technique permet la caractérisation structurale des matériaux cristallisés massifs ou sous forme de poudre. Elle permet d'identifier les composés cristallins par comparaison avec des spectres de composés référencés dans une base de données [25].

I. 6. 3. Spectroscopie d'absorption IR :

Le spectre infrarouge à transformée de fourrier (FTIR) représente les pics moléculaires d'absorption et de transmission qui correspondent à la fréquence des vibrations entre les atomes du matériel. Cette technique est utilisée pour confirmer l'interaction entre l'argent et les bio-réducteurs. La réaction entre les nanoparticules d'argent et les biomolécules peut être identifiée par le déplacement des bandes caractéristiques attribuées aux différents groupes fonctionnels présents dans les biomolécules, comme, les groupements carbonyles, hydroxyles et amines [26].

I. 6. 4. Microscope électronique à balayage (MEB) :

Cette technique consiste en la détection des signaux provenant de l'interaction d'un faisceau d'électrons d'énergie E_0 sur la surface d'un échantillon. Ce phénomène produit plusieurs particules. Les plus utilisées en microscopie électronique à balayage sont : les électrons secondaires (topographie de l'échantillon), les électrons rétrodiffusés (image de l'échantillon) et les rayons X (analyse élémentaire de l'échantillon EDS).

Dans l'analyse des nanoparticules, le MEB a été principalement utilisé afin d'obtenir la taille et la morphologie des particules synthétisées [27].

I. 6. 5. Spectroscopie de diffusion Raman :

Cette technique consiste à focaliser un laser sur un échantillon puis à analyser la lumière diffusée en retour. Le but de l'utilisation de la spectroscopie Raman est d'identifier la structure cristalline du matériau [28].

Références bibliographiques

1. Lanone, S. and J. Boczkowski, *Les sources de nanoparticules*. Revue Française d'Allergologie, 2010. **50**(3): p. 211-213.
2. Haruta, M., *Size-and support-dependency in the catalysis of gold*. Catalysis today, 1997. **36**(1): p. 153-166.
3. Sondi, I. and B. Salopek-Sondi, *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. Journal of colloid and interface science, 2004. **275**(1): p. 177-182.
4. Wijnhoven, S.W.P., et al., *Nano-silver—a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment*. Nanotoxicology, 2009. **3**(2): p. 109-138.
5. Bousalem, N., *Synthèse verte, caractérisation et activité antibactérienne de films composite alginate-nanoparticules d'argent-chitosane.*, in *Chimie Macromoléculaire*. 2017, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. p. 14-24.
6. Lok, C.-N., et al., *Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities*. Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry, 2007. **12**: p. 527-34.
7. Lebleu, N., et al., *Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides de films nanocomposites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par procédé plasma*. 2010. p. 35.
8. Yeo, S.Y., H.J. Lee, and S.H. Jeong, *Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect*. Journal of Materials Science, 2003. **38**(10): p. 2143-2147.
9. Simchi, A., et al., *Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process*. Materials & design, 2007. **28**(3): p. 850-856.
10. Phuoc, T.X., Y. Soong, and M.K. Chyu, *Synthesis of Ag-deionized water nanofluids using multi-beam laser ablation in liquids*. Optics and Lasers in Engineering, 2007. **45**(12): p. 1099-1106.

11. Wang, D., et al., *Synthesis, Characterization and Application of Silver-Based Antimicrobial Nanocomposites*, in *Nano-Antimicrobials*. 2012, Springer. p. 47-84.
12. Gibbons, V.L. and F. Getman. *The Potential of Silver in Non Aqueous Solutions of Silver Nitrat*. *Journal of the American Chemical Society*, 1914. **36**(10): p. 2091-2091.
13. Cheng, W., S. Dong, and E. Wang, *Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles*. *Electrochemistry communications*, 2002. **4**(5): p. 412-416.
14. Zhang, W., X. Qiao, and J. Chen, *Synthesis of silver nanoparticles—effects of concerned parameters in water/oil microemulsion*. *Materials Science and Engineering: B*, 2007. **142**(1): p. 1-15.
15. Narayanan, K.B. and N. Sakthivel, *Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes*. *Advances in colloid and interface science*, 2010. **156**(1-2): p. 1-13.
16. Bulgakova, N. and A. Bulgakov, *Pulsed laser ablation of solids: transition from normal vaporization to phase explosion*. *Applied Physics A*, 2001. **73**(2): p. 199-208.
17. Shannon, M.A., et al., *Laser ablation mass removal versus incident power density during solid sampling for inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*. *Analytical Chemistry*, 1995. **67**(24): p. 4522-4529.
18. Dupont, A., et al., *Enhancement of material ablation using 248, 308, 532, 1064 nm laser pulse with a water film on the treated surface*. *Journal of Applied Physics*, 1995. **78**(3): p. 2022-2028.
19. Vogel, A., et al., *Energy balance of optical breakdown in water at nanosecond to femtosecond time scales*. *Applied Physics B: Lasers and Optics*, 1999. **68**(2): p. 271-280.
20. Shankar, S.S., et al., *Biological synthesis of triangular gold nanoprisms*. *Nature materials*, 2004. **3**(7): p. 482.
21. Nair, S., et al., *Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2009. **20**(1): p. 235.

22. Willner, I., R. Baron, and B. Willner, *Growing metal nanoparticles by enzymes*. *Advanced Materials*, 2006. **18**(9): p. 1109-1120.
23. Zou, M., et al., *Synthesis of silver nanoparticles in electrospun polyacrylonitrile nanofibers using tea polyphenols as the reductant*. *Polymer Engineering & Science*, 2013. **53**(5): p. 1099-1108.
24. Alam, M.N., et al., *Murraya koenigii Spreng. leaf extract: an efficient green multifunctional agent for the controlled synthesis of Au nanoparticles*. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014. **2**(4): p. 652-664.
25. Nune, S.K., et al., *Green nanotechnology from tea: phytochemicals in tea as building blocks for production of biocompatible gold nanoparticles*. *Journal of materials chemistry*, 2009. **19**(19): p. 2912-2920.
26. Rai, M. and C. Posten, *Green biosynthesis of nanoparticles: mechanisms and applications*. 2013: CABI. p.21.
27. Fong, C., et al., *New role for urea as a surfactant headgroup promoting self-assembly in water*. *Chemistry of materials*, 2006. **18**(3): p. 594-597.
28. Andrieux-Ledier, A., *Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques: contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques*. 2012, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI. p. 12.

CHAPITRE II :

PARTIE EXPERIMENTALE

II. Synthèse verte des nanoparticules d'argent :

II. 1. Protocole expérimentale :

Pour la synthèse verte des nanoparticules d'argent, nous avons utilisé des extraits aqueux de :

- *Rhus pentaphylla* (feuilles, fruits et racines).
- *Agave americana* (feuilles, fleurs et racines).
- *Rhaponticum acaule* (racines).

II. 1. 1. Préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux des plantes étudiées est obtenu dans un montage à reflux. 10 g de matériel végétal sont mis en contact avec 100 mL d'eau distillée dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à 60°C pendant 30 min. Le mélange est filtré puis centrifugé pendant 10 minutes à 3900 tours par minute. [1]

II. 1. 2. Synthèse des nanoparticules d'argent :

10 mL de l'extrait aqueux obtenu précédemment est ajouté à 100 mL d'une solution aqueuse de nitrate d'argent AgNO_3 10^{-3} M. Le mélange a été incubé à la température ambiante pendant 24 heures. Au cours du processus, la couleur de la solution a changé du jaune au marron foncé, ce qui indique la formation de nanoparticules d'argent AgNPs.

La solution de nanoparticules d'argent ainsi obtenue est soumise plusieurs fois à centrifugation à 3000 tr/min. Après lavage à l'eau, les particules obtenues sont séchées par lyophilisation. [1]

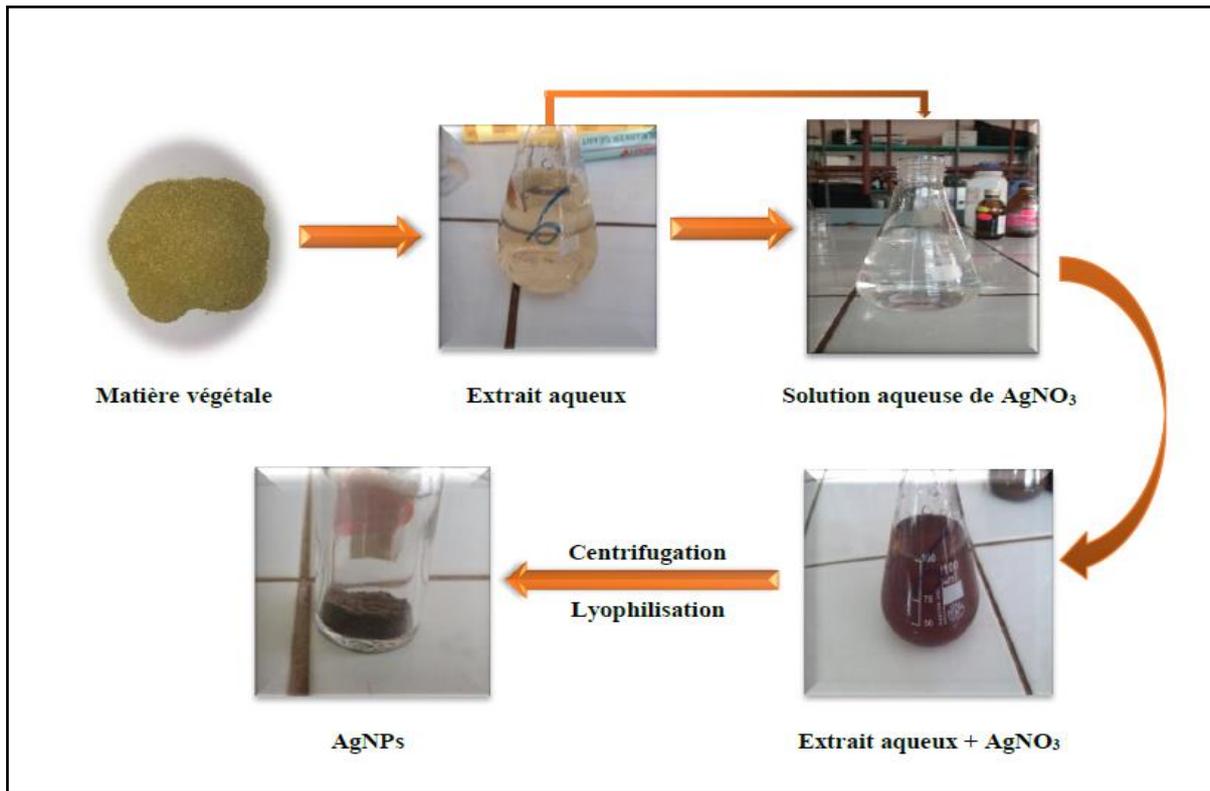


Figure 84 : Protocole de synthèse des nanoparticules d'argent.

II. 2. Caractérisation des nanoparticules d'argent :

Diverses techniques sont utilisées pour la caractérisation physico-chimique des nanoparticules d'argent synthétisées.

II. 2. 1. Caractérisation par spectroscopie UV-visible :

L'absorption de rayonnement UV-visible par les nanoparticules d'argent dans les extraits aqueux des plantes se traduit généralement par une bande d'absorption électronique caractéristique de ces nanoparticules. La formation de nanoparticules d'argent (AgNPs) a été suivie en mesurant le spectre d'absorption UV-visible du milieu réactionnel dans la gamme des longueurs d'onde allant de 200 à 600 nm. À titre de comparaison, nous avons également analysé par UV-visible les extraits aqueux utilisés dans la synthèse de ces nanoparticules d'argent.

Les figures **85, 86, 87, 88, 89, 90** et **91** présentent les spectres d'absorption UV-visible des nanoparticules d'argent et ceux des extraits aqueux utilisés.

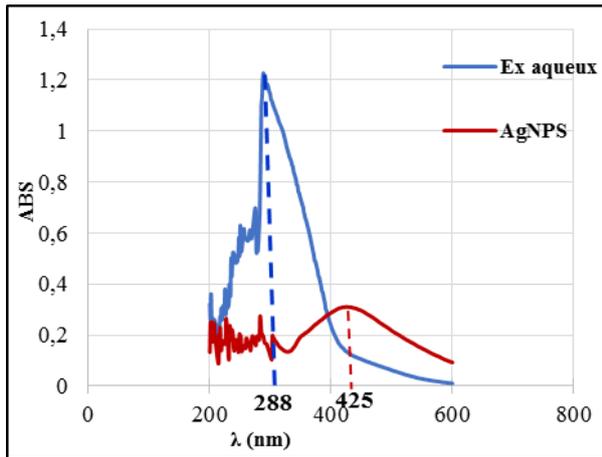


Figure 85 : Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de *R. pentaphylla* Desf.

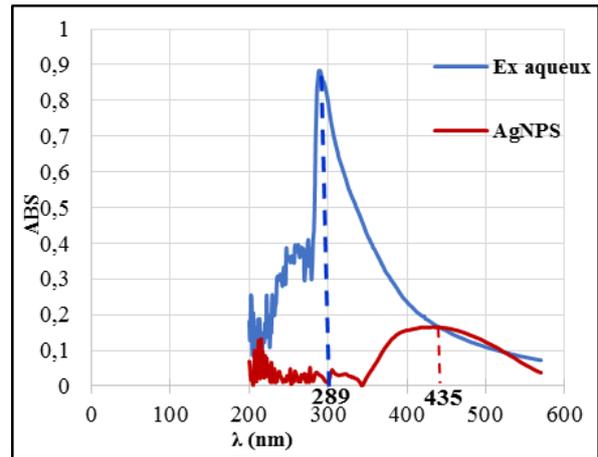


Figure 86 : Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

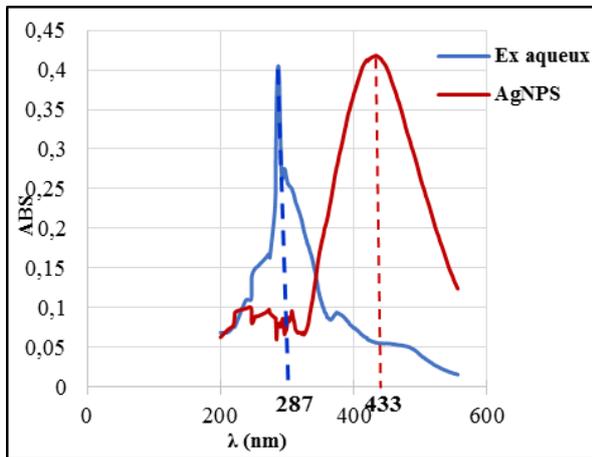


Figure 87 : Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *R. pentaphylla* Desf.

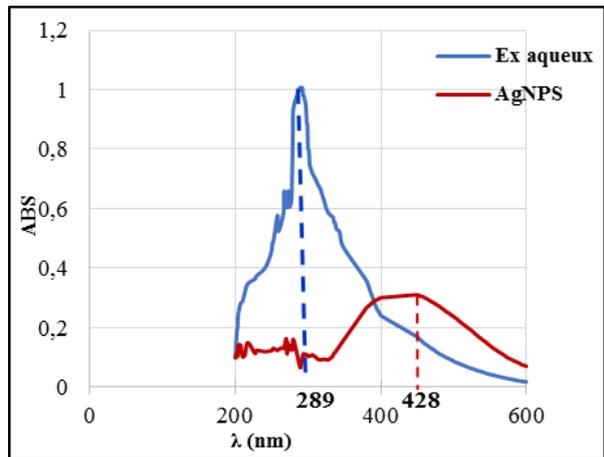


Figure 88 : Spectres d'absorbances des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de *A. americana* L.

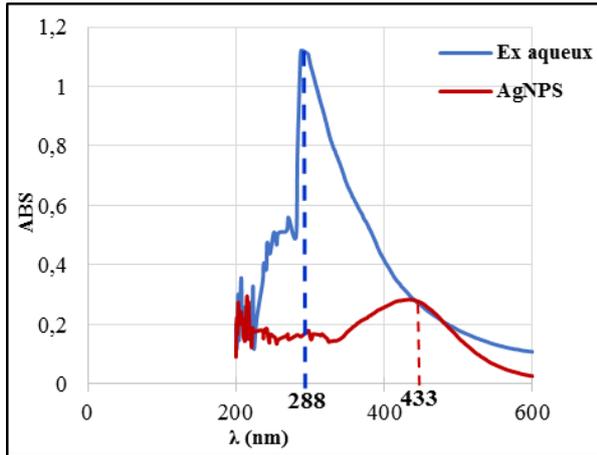


Figure 89 : Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des fleurs de *A. americana* L.

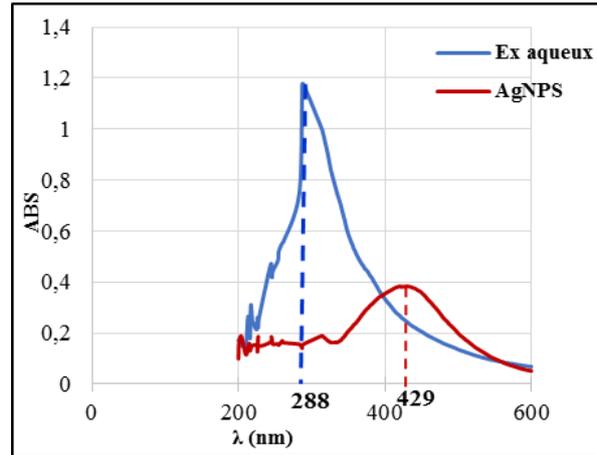


Figure 90 : Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *A. americana* L.

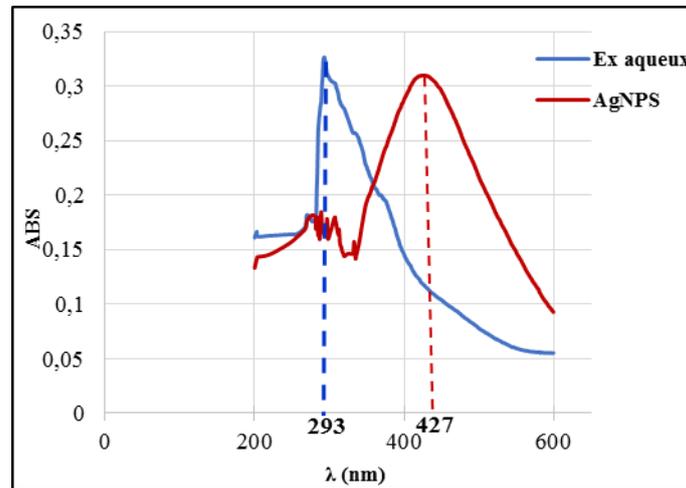


Figure 91 : Spectres d'absorbance des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *R. acaule* L.

Les spectres UV-visible des extraits aqueux des différentes parties des plantes utilisées dans la synthèse des nanoparticules d'argent montrent des bandes d'absorption autour de 287 et 293 nm. En outre, les spectres UV-visible des nanoparticules d'argent ont montré des bandes d'absorption autour de 425 et 435 nm confirmant ainsi la formation de nanoparticules d'argent.

De manière générale, les nanoparticules sphériques d'argent sont caractérisées par une bande d'absorbance autour de 400 nm [2]. La largeur et la symétrie de la bande sont caractéristiques de la distribution de la taille des nanoparticules. En effet, une large

distribution de tailles des nanoparticules induit un élargissement de la bande d'absorbance vers les grandes longueurs d'onde.

Selon **Luo *et al.***, pour un maximum d'absorption observé entre 425 et 435 nm, les nanoparticules d'argent sont de géométrie sphérique ou proche d'une sphère. Cependant, la présence d'un maximum d'absorption au-delà de 450 nm indique la formation de particules de taille supérieure à 100 nm [3].

II. 2. 2. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX) :

La caractérisation des AgNPs par diffraction des rayons X a été effectuée à l'aide d'un diffractomètre du type « Rigaku MiniFlex600 » (**Figure 92**) dont les rayons X proviennent de la raie $K\alpha$ du cuivre. La tension utilisée est de 40 kV et le courant est de 15 mA.



Figure 92 : Diffraction des Rayons X (DRX).

Les structures des nanoparticules d'argent ont été caractérisées par diffraction des rayons X (DRX) afin de déterminer plus précisément de quelle phase cristalline les nanoparticules sont constituées. La DRX permet en effet de caractériser l'argent métallique et ses plans de diffraction. Les diffractogrammes des rayons X des nanoparticules d'argent synthétisées sont présentés sur les figures **93, 94, 95, 96, 97, 98** et **99** :

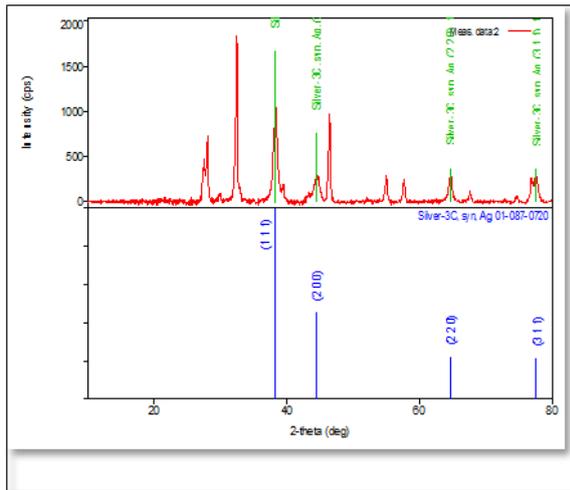


Figure 93 : Spectre DRX des AgNPs des feuilles de *R. pentaphylla* Desf.

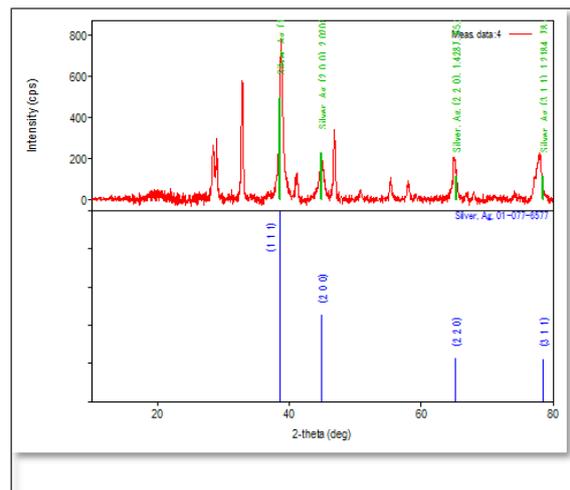


Figure 94 : Spectre DRX des AgNPs des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

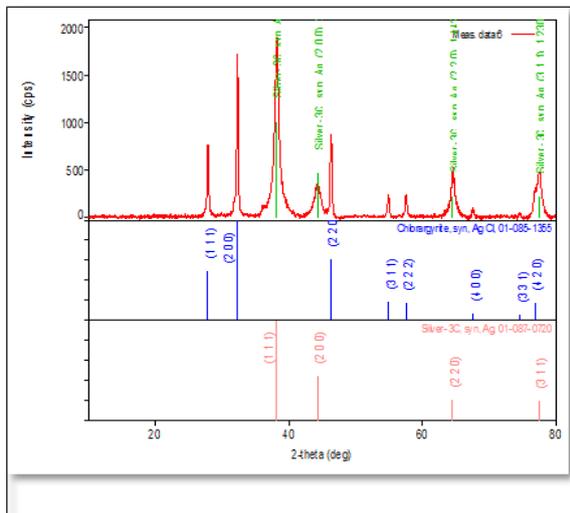


Figure 95 : Spectre DRX des AgNPs des racines de *R. pentaphylla* Desf.

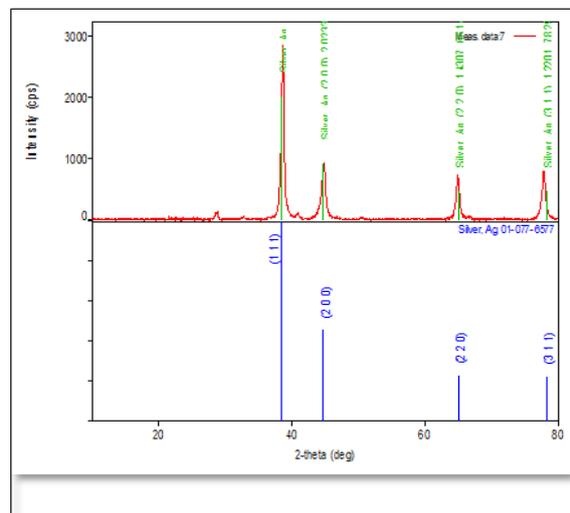


Figure 96 : Spectre DRX des AgNPs des feuilles de *A. americana* L.

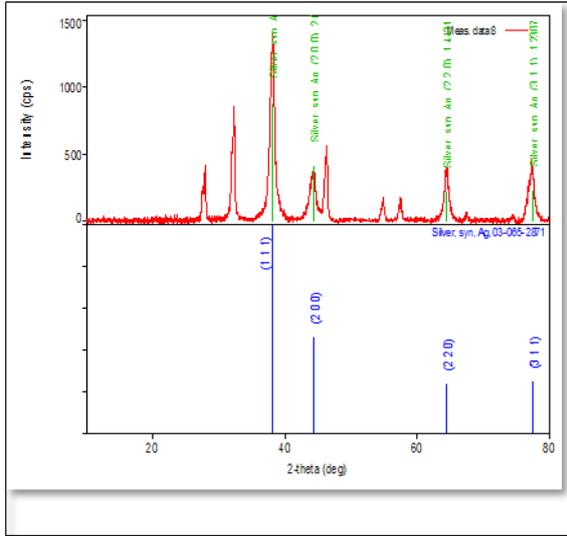


Figure 97 : Spectre DRX des AgNPs des fleurs de *A. americana* L.

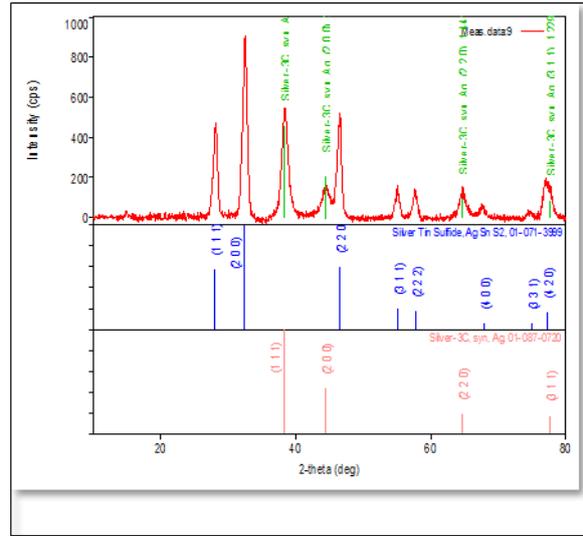


Figure 98 : Spectre DRX des AgNPs des racines de *A. americana* L.

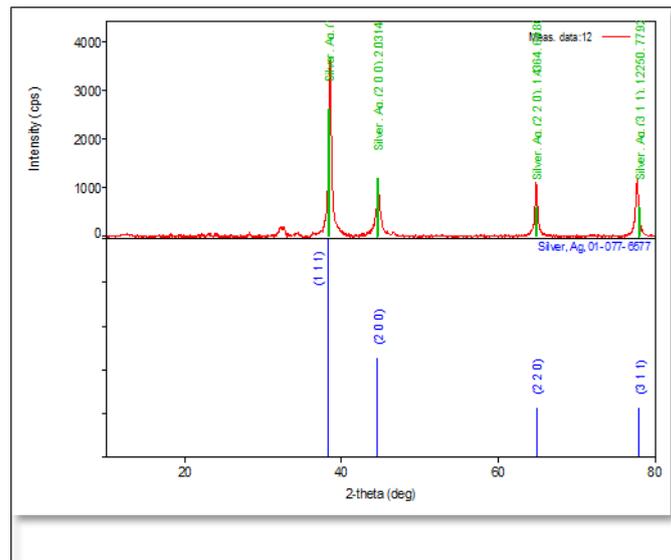


Figure 99 : Spectre DRX des AgNPs des racines de *R. acaule* L.

Les spectres enregistrés par les nanoparticules d'argent présentent quatre pics d'argent métallique Ag, situés respectivement à $2\theta = 38^\circ$, 44° , 64° et 77° indiquant la formation des nanoparticules d'argent. Ces pics sont attribués respectivement aux plans (111), (200), (220) et (311) d'une structure cubique à face centrée (CFC) [4]. Cependant, le pic intense observé à $2\theta = 38^\circ$ correspond à une orientation (111). La largeur des pics caractéristiques de AgNPs indique la formation de particules de taille nanométrique.

Les pics de diffraction peuvent également fournir des indications sur la morphologie des nanoparticules. Un pic plus large et moins intense est signe d'une plus petite taille de nanoparticules et parfois également d'une distribution de taille plus large [5].

II. 2. 3. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) permet d'obtenir des informations sur la structure des nanoparticules à partir des modes de vibration des liaisons.

La spectrométrie infrarouge est utilisée pour confirmer l'interaction entre Ag^+ et les composés phytochimiques des plantes étudiées. La formation des nanoparticules d'argent dans les solutions aqueuses peut être confirmée par le déplacement des bandes caractéristiques attribuées aux différents groupes fonctionnels présents dans nos échantillons [6].

Nous avons utilisé un spectromètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) de type « Perkin Elmer Spectrum » piloté par un micro-ordinateur. Les spectres sont enregistrés dans l'intervalle allant de 400 à 4000 cm^{-1} à température ambiante.

Les spectres IR des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes sont présentés sur les figures 100, 101, 102, 103, 104, 105 et 106.

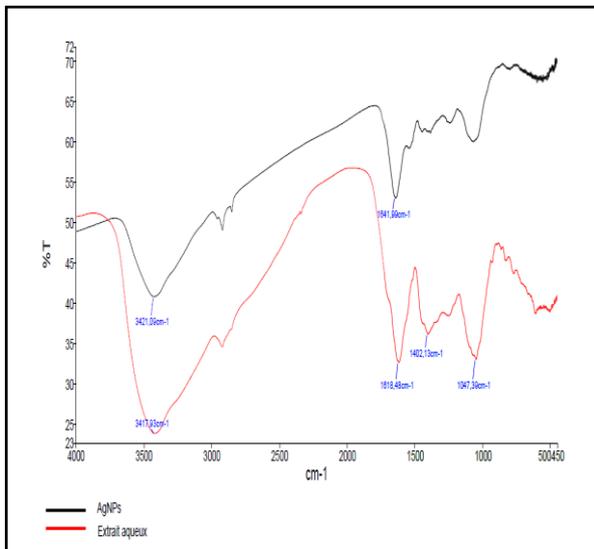


Figure 100 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de *R. pentaphylla* Desf.

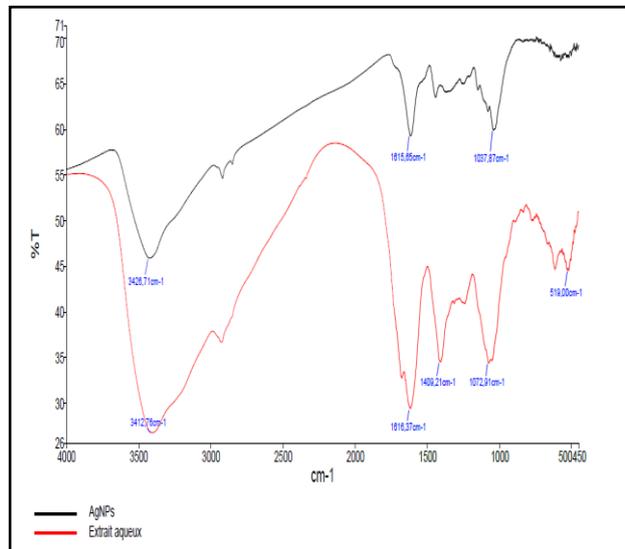


Figure 101 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

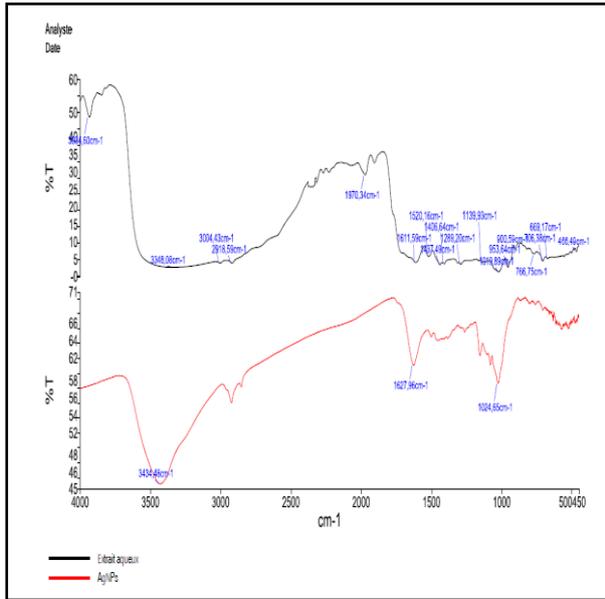


Figure 102 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *R. pentaphylla* Desf.

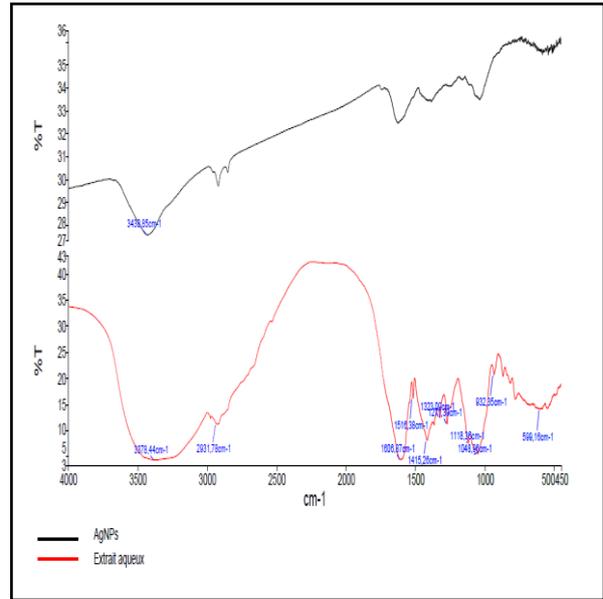


Figure 103 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des feuilles de *A. americana* L.

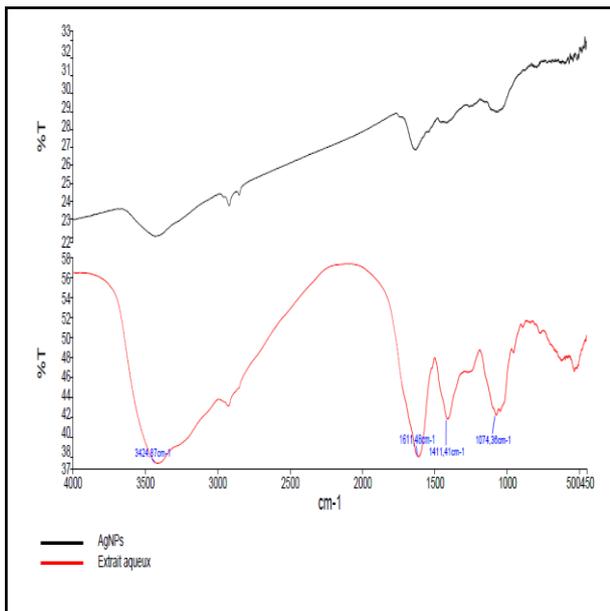


Figure 104 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des fleurs de *A. americana* L.

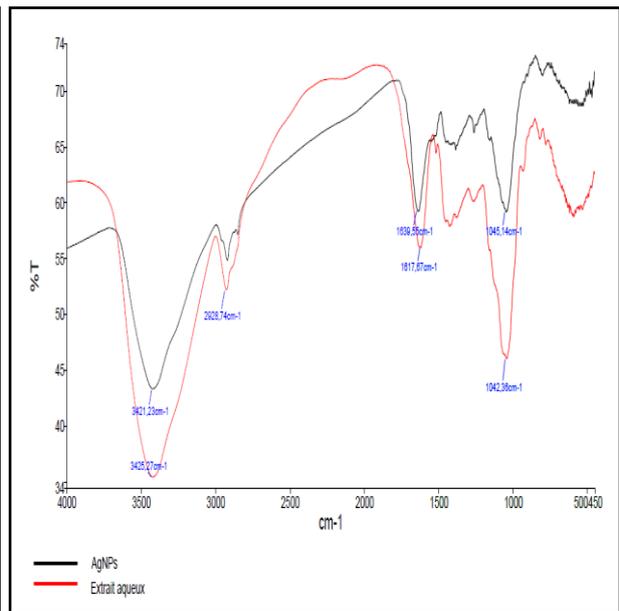


Figure 105 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *A. americana* L.

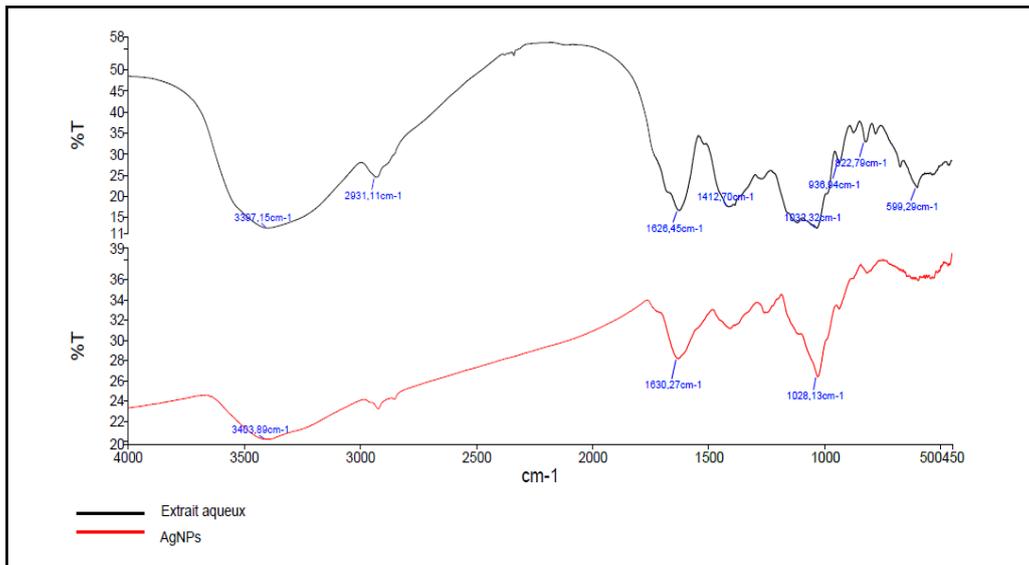


Figure 106 : Spectres IR des AgNPs et de l'extrait aqueux des racines de *R. acaule* L.

Nous avons utilisé la spectrométrie Infra Rouge à Transformée de Fourier afin de mieux connaître les liaisons en surface de nos échantillons. À partir des spectres obtenus, nous remarquons cinq bandes d'absorption : (a) 3441-3378, (b) 2943-2920, (c) 1641-1606, (d) 1442-1402, et (e) 1074-1020 cm^{-1} . Cependant, l'intensité des pics varie d'un spectre à un autre.

En général, une bande située dans l'intervalle 3441-3378 cm^{-1} est attribuée à une fonction hydroxyle (OH) des groupes phénoliques [7]. Une bande faible située vers 2900 cm^{-1} est due aux vibrations de valence des groupements méthylènes. Par ailleurs, une bande autour de 1600 cm^{-1} correspond au groupement (C=C) [8]. La bande vers 1442-1402 cm^{-1} est attribuée au groupement aromatique (C-C). De plus, les pics situés vers 1074-1020 cm^{-1} sont attribués à l'élongation de la liaison C-O indiquant la présence des carbonyles et des alcools [9].

Les spectres des nanoparticules d'argent des trois plantes étudiées partagent plusieurs bandes d'absorption communes où la présence de composés phénoliques et de terpènes jouent un rôle actif dans la bio-réduction des AgNPs synthétisées.

Tableau 57 : Groupes fonctionnels des spectres IR des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes.

Échantillons	Nombre d'onde (cm ⁻¹)		Groupes fonctionnels
	Extrait aqueux	AgNPs	
<i>Rhus pentaphylla</i> (fruits)	3412,76	3420,13	Groupe –OH
	2930	2920	Groupe C-H
	1616,37	1615,53	Groupe C=C
	1409,21	1442	Groupe C-C
	1072,91	1037,78	Groupe C-O
<i>Rhus pentaphylla</i> (feuilles)	3417,93	3419,68	Groupe –OH
	2926	2921	Groupe C-H
	1618,48	1641,47	Groupe C=C
	1402,13	1423	Groupe C-C
	1047,39	1046	Groupe C-O
<i>Rhus pentaphylla</i> (racines)	3441	3426,15	Groupe –OH
	2943	2925	Groupe C-H
	1613	1627,96	Groupe C=C
	1409	1437	Groupe C-C
	1020	1024,65	Groupe C-O
<i>Agave americana</i> (feuilles)	3378,44	3427,17	Groupe –OH
	2931,78	2923	Groupe C-H
	1606,87	1625	Groupe C=C
	1415,26	1417	Groupe C-C
	1048,96	1038	Groupe C-O
<i>Agave americana</i> (fleurs)	3424,87	3407,09	Groupe –OH
	2927	2921	Groupe C-H

	1611,48	1630,33	Groupe C=C
	1411,41	1417	Groupe C-C
	1074,36	1070	Groupe C-O
<i>Agave americana</i> (racines)	3425,27	3420,39	Groupe –OH
	2928,74	2923	Groupe C-H
	1617,67	1637,04	Groupe C=C
	1427	1419	Groupe C-C
	1042,36	1045,14	Groupe C-O
<i>Rhaponticum acaule</i> (racines)	3397,15	3403,89	Groupe –OH
	2931,11	2925	Groupe C-H
	1626,45	1630,27	Groupe C=C
	1412,70	1414	Groupe C-C
	1032,32	1028,13	Groupe C-O

II. 2. 4. Détermination de la taille moyenne des nanoparticules d'argent :

La mesure a été effectuée avec un analyseur Zetasizer Nano ZS Malvern.

Tableau 58 : Tailles des nanoparticules d'argent synthétisées.

	Partie étudiée	Taille (nm)
<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.	Feuilles	29,39
	Fruits	222,9
	Racines	9,083
<i>Agave americana</i> L.	Feuilles	111,9
	Fleurs	14,07
	Racines	106,9/14,18
<i>Rhaponticum acaule</i> L.	Racines	148,6

L'évolution de la taille des nanoparticules d'argent préparée est représentée sur le Tableau 57. Nous remarquons pour l'ensemble des AgNPs que, la distribution de la taille est assez large. Nous retrouvons que la taille moyenne est plus élevée dans les AgNPs des fruits de *R. pentaphylla* (222 nm), alors que les nanoparticules préparées par l'extrait aqueux des racines présentent la taille la plus faible (9,083 nm). En outre, une distribution bimodale de taille moyenne (de 106,9 nm à 14,18 nm) est observée chez les AgNPs préparées par les racines de *A. americana*.

II. 3. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydant des nanoparticules synthétisées à base des extraits aqueux a été évaluée par deux méthodes : le test au DPPH et le test FRAP.

II. 3. 1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différentes nanoparticules d'argent synthétisées vis- à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

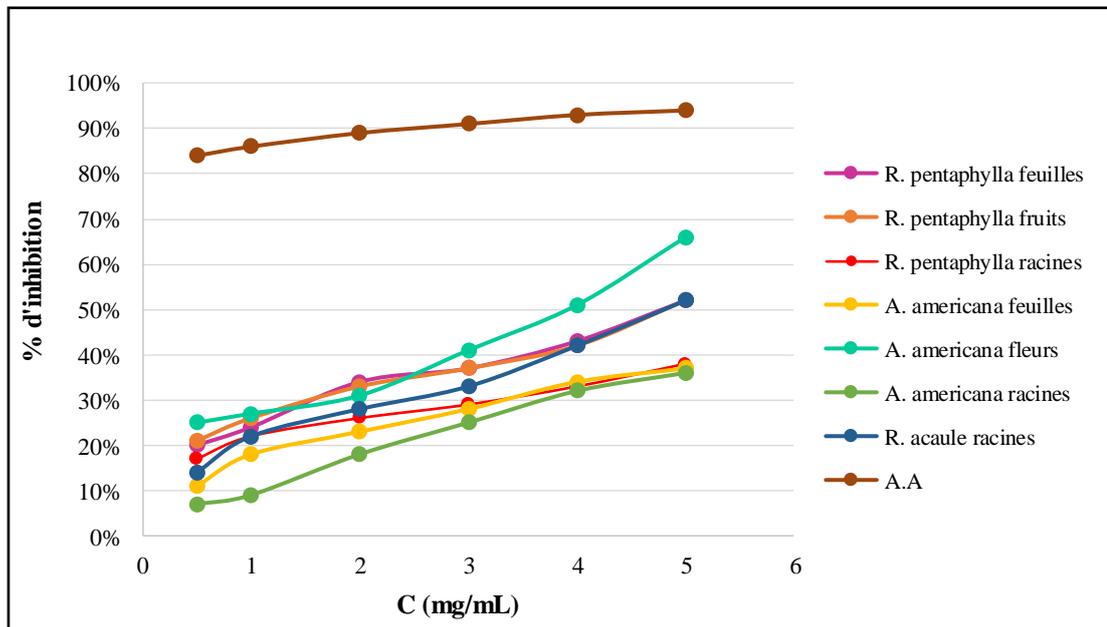


Figure 107 : % d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des nanoparticules d'argent.

Les courbes de l'activité antioxydante sont exprimées en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait utilisé (**Figure 107**). L'acide ascorbique est pris

comme antioxydant de référence. L'interprétation des courbes montre que l'activité antioxydante des extraits augmente avec l'augmentation de leurs concentrations pour se stabiliser à la fin.

Les valeurs des CI50 des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes sont reportées sur le **Tableau 59**.

Tableau 59 : Valeurs des CI50 des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes par la méthode DPPH.

	Partie étudiée	Extrait aqueux CI50 (mg/mL)	AgNPs CI50 (mg/mL)
<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.	Feuilles	1,32 ± 0,03	4,86 ± 0,09
	Fruits	2,44 ± 0,45	4,41 ± 0,01
	Racines	0,71 ± 0,04	7,98 ± 0,12
<i>Agave americana</i> L.	Feuilles	21,53 ± 0,42	6,27 ± 0,17
	Fleurs	4,14 ± 0,07	3,74 ± 0,14
	Racines	5,68 ± 0,11	6,93 ± 0,13
<i>Rhaponticum acaule</i> L.	Racines	5,45 ± 0,16	4,99 ± 0,06
Acide ascorbique	/	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01

Le test au DPPH révèle que les extraits des AgNPs des racines de *R. pentaphylla* et des feuilles ainsi que des racines de *A. americana* sont les extraits les moins actifs comme piègeurs du radical DPPH. Les AgNPs à partir de l'extrait aqueux des fleurs de *A. americana* présente un pourcentage d'inhibition supérieur à 60% alors que ceux des feuilles et des racines présentent des valeurs respectives de 41% et 36% et ce, pour une concentration de l'ordre de 5 mg/mL. D'autre part, dans les feuilles de *A. americana*, la capacité des nanoparticules à piéger le DPPH est supérieure à celle de son extrait aqueux avec des CI50 respectifs de 6,27 et 21,53 mg/mL.

Par contre, l'extrait aqueux de *R. pentaphylla* a présenté une activité antioxydante plus élevée que celle des nanoparticules d'argent correspondantes. En outre, les nanoparticules d'argent synthétisées à partir des feuilles et des fruits sont de capacités antiradicalaires plus

élevées que celle des racines avec des valeurs de CI50 respectives de l'ordre de 4,86, 4,41 et 7,98 mg/mL.

De plus, pour les racines de *R. acaule*, l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent correspondantes ont presque la même capacité à piéger le radical DPPH et dont les valeurs respectives sont de l'ordre de 5,45 et 4,99 mg/mL.

En fin, tous les résultats obtenus montrent que les nanoparticules d'argent présentent une activité de piégeage du radical DPPH intéressante mais qui reste quand même inférieure à celle de l'acide ascorbique (0,04 mg/mL).

II. 3. 2. Test de réduction du fer (FRAP) :

Les résultats représentés dans la **Figure 108** confirment la proportionnalité de la capacité de réduction du fer à la concentration des échantillons.

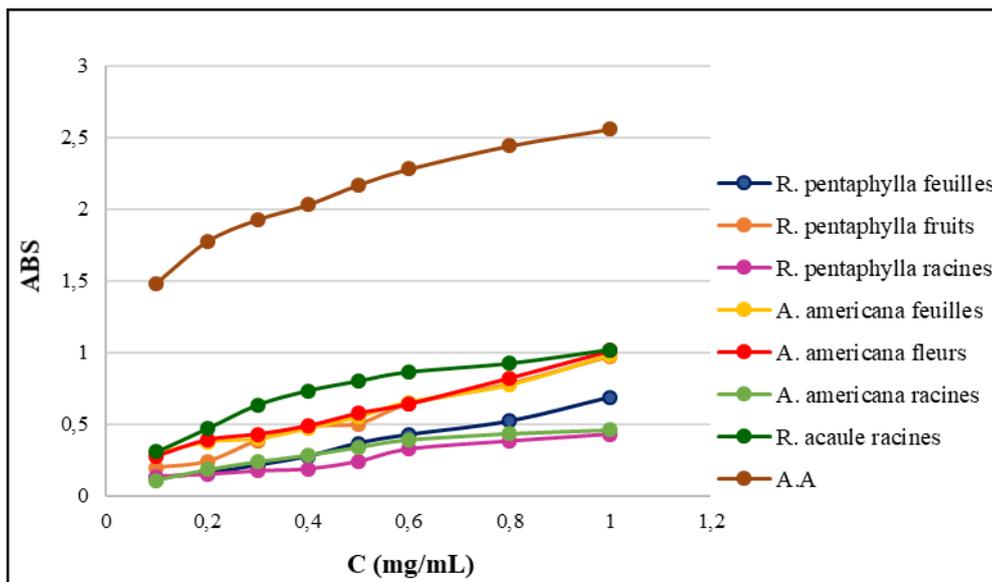


Figure 108 : Pouvoir réducteur du fer des nanoparticules d'argent.

Par ailleurs, pour pouvoir classer l'efficacité des divers extraits à céder un électron dans cette méthode, la concentration CI50 a été calculée. Les résultats obtenus sont dans le **Tableau 60**.

Tableau 60 : Valeurs des CI50 des extraits aqueux et des nanoparticules d'argent correspondantes par la méthode FRAP.

	Partie étudiée	Extrait aqueux CI50 (mg/mL)	AgNPS CI50 (mg/mL)
<i>Rhus pentaphylla</i> Desf.	Feuilles	1,85 ± 0,28	0,73 ± 0,03
	Fruits	0,91 ± 0,01	0,46 ± 0,01
	Racines	0,38 ± 0,05	1,17 ± 0,03
<i>Agave americana</i> L.	Feuilles	0,94 ± 0,09	0,40 ± 0,01
	Fleurs	0,49 ± 0,01	0,39 ± 0,02
	Racines	0,97 ± 0,09	1,28 ± 0,13
<i>Rhaponticum acaule</i> L.	Racines	0,35 ± 0,01	0,20 ± 0,01
Acide ascorbique	/	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01

Les résultats du test FRAP montrent que toutes les nanoparticules d'argent synthétisées possèdent une bonne aptitude à réduire le fer où le pouvoir réducteur des racines de *R. acaule* (CI50=0,20 mg/mL) est largement supérieur à celui des autres extraits. Cependant, les racines de *R. pentaphylla* et de *A. americana* présentent les capacités la plus faibles avec des valeurs respectives des CI50 de 1,17 et 1,28 mg/mL.

Il ressort du **Tableau 60**, que les nanoparticules synthétisées à partir de la partie aérienne de *A. americana* (feuilles et fleurs) et de *R. pentaphylla* (feuilles et fruits) possèdent une capacité réductrice du fer plus élevée que celle des extraits aqueux correspondants.

Par comparaison à l'acide ascorbique et pour toutes les nanoparticules d'argent synthétisées, la capacité à réduire le fer est toujours plus faible que celle de l'antioxydant de référence.

II. 4. Evaluation de l'activité anticorrosive :

II. 4. 1. Corrosion des métaux :

La corrosion est une destruction non voulue des métaux (détérioration de leurs propriétés) sous l'action d'agents atmosphériques ou réactifs chimiques. Après attaque, les métaux ont tendance à retourner à leur état primitif qui est plus stable par rapport au milieu considéré.

La corrosion des métaux est due à une réaction d'oxydoréduction interfaciale irréversible entre le métal et un agent oxydant de l'environnement : [10]



II. 4. 2. Inhibiteurs de corrosion dans des milieux acides :

Un inhibiteur de corrosion est un composé chimique qui, ajouté à faible concentration au milieu corrosif, ralentit ou stoppe le processus de corrosion d'un métal placé au contact de ce milieu [11].

D'une manière générale, un inhibiteur doit être stable en présence des autres constituants du milieu et aux températures d'utilisation. Il doit être efficace à faible concentration et compatible avec les normes de non-toxicité [12].

Il existe plusieurs classes d'inhibiteurs. En effet, de très nombreux composés organiques contenant un centre actif susceptible d'échanger des électrons avec le métal comme l'azote (N), l'oxygène (O), le soufre (S) et le phosphore (P) sont susceptibles d'être utilisés comme inhibiteurs appelés inhibiteurs organiques. D'autres molécules inorganiques contenant de l'oxygène dans leur formule, agissent comme inhibiteurs inorganiques dans les milieux alcalins ou voisins de la neutralité en formant une couche protectrice et isolante.

II. 4. 3. Produits naturels comme inhibiteurs de corrosion des métaux :

L'utilisation des inhibiteurs synthétiques dans un environnement agressif a montré une bonne activité anticorrosive mais la plupart d'entre eux sont hautement toxiques pour l'être humain et l'environnement. En effet, les recherches actuelles s'orientent de plus en plus vers la préparation d'inhibiteurs non toxiques et biodégradables. Les produits naturels tels que les composés extraits de plantes semblent être une alternative écologique idéale pour remplacer

les traditionnels inhibiteurs de corrosion. Les différents inhibiteurs de corrosion ainsi obtenus et appelés inhibiteurs verts, ont été largement développés [10].

II. 4. 4. Méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion :

Les méthodes d'étude des inhibiteurs de corrosion sont celles de la corrosion d'une manière générale, qu'elles soient électrochimiques ou gravimétriques.

1) Méthode gravimétrique :

Cette méthode présente l'avantage d'être une mise en œuvre simple, de ne pas nécessiter un appareillage important. Son principe repose sur la mesure de la perte de poids subie par un échantillon de surface déterminée, pendant un temps précis d'immersion dans une solution corrosive maintenue à température constante. Une différence de masse des échantillons est mesurée avant et après chaque essai. [13]

2) Méthodes électrochimiques :

Les techniques électrochimiques constituent une méthode plus complète puisqu'elles étudient la base même du phénomène de corrosion ainsi que le processus électrochimique.

Les techniques électrochimiques sont utilisées pour étudier l'interface électrode/électrolyte. Ces méthodes, largement décrites dans la littérature, peuvent être classées en deux groupes distincts : [10]

- Les méthodes stationnaires : courbes de polarisation.
- Les méthodes transitoires : la spectroscopie d'impédance électrochimique.

II. 4. 5. Conditions expérimentales :

L'évaluation du pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux ainsi que l'extrait contenant les nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* L. a été réalisée par la méthode gravimétrique.

➤ Inhibiteurs testés :

Les inhibiteurs utilisés sont l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* L.

➤ **Matériau utilisé :**

Les études sont effectuées sur un échantillon en acier de carbone dont la composition chimique est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 61 : Composition chimique de l'acier au carbone.

Éléments	C	Mn	Cu	Cr	Ni	Si	S	Ti	Co	Fe
(%) massique	0,37	0,68	0,16	0,077	0,059	0,023	0,016	0,011	0,009	Balance

➤ **Préparation des solutions :**

La solution corrosive est une solution d'acide perchlorique (HClO₄) 1M obtenue par dilution à partir de l'acide commercial concentré.

Après étude de la solubilité de l'inhibiteur dans le milieu corrosif, la gamme de concentrations utilisée pour les deux inhibiteurs varie de 10 à 50 mg/L.

➤ **Protocole de la mesure gravimétrique :**

Avant chaque mesure, l'échantillon en acier est manuellement poli sous courant d'eau, au papier abrasif de granulométrie décroissante et allant jusqu'à 1200. Il est rincé à l'eau distillée, dégraissé dans l'acétone et séché avant utilisation.

La pièce pesée initialement (masse m_1) est mise en solution corrosive dans un bécher fermé hermétiquement. Le bécher est ainsi introduit dans un bain thermostaté à température donnée.

Après un temps d'immersion, la pièce est retirée de la solution, rincée à l'eau distillée puis séchée. La pièce est ensuite pesée (masse m_2).

La vitesse de corrosion (W_{corr}) déterminée après immersion et à température constante égale à 30° C est calculée par la formule suivante : [14]

$$W_{\text{corr}} = \Delta m / S.t$$

Δm : Perte de masse en mg ;

S : Surface exposée en cm^2 ;

t : Temps d'exposition dans la solution en heure ;

W_{corr} peut être exprimé en $\text{mg.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$; où, $\Delta m = m_1 - m_2$ représente la différence entre la masse initiale m_1 et la masse finale m_2 .

L'efficacité inhibitrice (EI%) de l'inhibiteur étudié est calculée en utilisant la relation suivante :

$$EI(\%) = ((W_{\text{corr}} - W_{\text{inh}}) / W_{\text{corr}}) \times 100$$

W_{corr} et W_{inh} représentent respectivement les vitesses de corrosion sans inhibiteur et en présence d'inhibiteur.

Dans notre travail nous avons utilisé la méthode gravimétrique (par perte de poids) pour étudier les différents paramètres qui influent sur l'inhibition de la corrosion de l'acier au carbone en présence des inhibiteurs, notamment la concentration, la température et le temps d'immersion.

II. 4. 6. Résultats et discussion :

1) Effet de la concentration de l'inhibiteur :

Pour étudier l'effet de la concentration sur le pouvoir inhibiteur des échantillons testés, nous avons effectué des mesures gravimétriques de l'acier au carbone en milieu HClO_4 1M pour différentes concentrations en inhibiteur allant de 10 à 50 mg/L après 2 heures d'immersion à une température de 30°C .

L'évolution des vitesses de corrosion et efficacités inhibitrices en fonction des concentrations en inhibiteur est illustrée dans le **Tableau 62** :

Tableau 62 : Variation de l'efficacité inhibitrice et de la vitesse de corrosion en fonction des concentrations d'inhibiteurs à 30°C.

C (mg/L)	Extrait aqueux		AgNPs	
	W_{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)	W_{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)
10	0,00226	37,23	0,00275	23,57
20	0,00184	48,93	0,00203	43,54
30	9,774E-4	72,85	0,00133	62,95
40	1,6092E-4	95,53	9,6948E-4	73,07
50	1,4328E-4	96,02	9,2196E-4	74,39

Les résultats obtenus montrent que pour les deux inhibiteurs, l'efficacité inhibitrice augmente en fonction de la concentration en inhibiteur, et atteint une valeur maximale de 96,02% en présence de l'extrait aqueux des racines de *R. acaule* pour une concentration de 50 mg/L, à une température égale à 30°C ; tandis que l'efficacité inhibitrice de l'extrait des nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* atteint une valeur de 74,39% à la même concentration (50 mg/L).

L'effet de la concentration des inhibiteurs à 30°C sur l'efficacité inhibitrice et la vitesse de corrosion est illustré par la figure suivante :

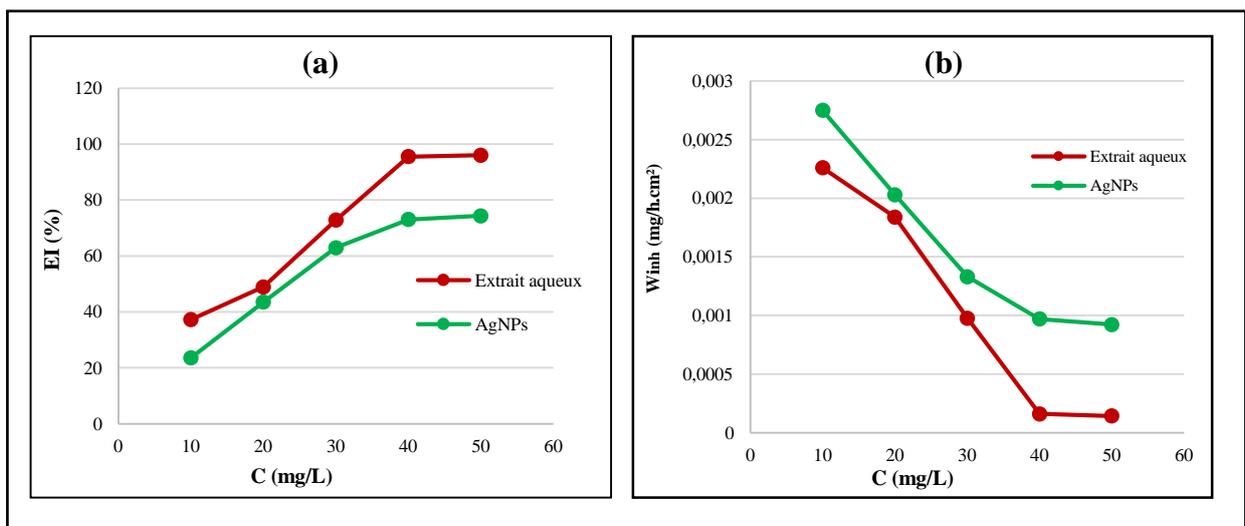


Figure 109 : Evolution de l'efficacité inhibitrice (a) et de la vitesse de corrosion (b) en fonction de la concentration d'inhibiteur à T=30°C.

La **Figure 109** montre que la vitesse de corrosion diminue progressivement en fonction des concentrations de l'inhibiteur jusqu'à atteindre une valeur de concentration optimale qui est 40 mg/L. La valeur maximale de l'efficacité inhibitrice a été évaluée respectivement à 95% et 73% pour l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule*. Cependant, l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux reste légèrement supérieure à celle des nanoparticules d'argent.

Nous constatons que la concentration de l'inhibiteur joue un rôle primordial dans l'évolution de l'efficacité inhibitrice. Cela indique que l'inhibiteur s'adsorbe beaucoup mieux où une grande quantité se fixe sur la surface de l'acier.

2) Effet de la température :

L'effet de la température du milieu sur l'efficacité inhibitrice des extraits et la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans HClO₄ 1M est étudié dans un intervalle de 293 à 333 K pour des concentrations allant de 10 à 50 mg/L après 2h d'immersion. Les résultats obtenus sont reportés sur le **Tableau 63** et illustrés par les figures **110** et **111**.

Tableau 63 : Variation de l'efficacité inhibitrice et la vitesse de corrosion en fonction de la température à différentes concentrations d'inhibiteurs (extrait aqueux et AgNPs) après 2h d'immersion.

T (K)	C (mg/L)	Extrait aqueux		AgNPs	
		W _{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)	W _{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)
293	10	8,4E-4	58	0,0011	45
	20	6,17E-4	69,15	7,156E-4	64,22
	30	3,4E-4	83	4,578E-4	77,11
	40	4,22E-5	97,89	2,496E-4	87,52
	50	4,04E-5	97,98	2,39E-4	88,05
303	10	0,00226	37,23	0,00275	23,57
	20	0,00184	48,93	0,00203	43,54
	30	9,774E-4	72,85	0,00133	62,95

	40	1,6092E-4	95,53	9,6948E-4	73,07
	50	1,4328E-4	96,02	9,2196E-4	74,39
313	10	0,00609	22,92	0,00671	15,11
	20	0,00486	38,50	0,00549	30,45
	30	0,0044	44,30	0,00439	44,45
	40	0,00132	33,83	0,0025	68,32
	50	0,00131	83,45	0,0025	68,39
323	10	0,01559	13,86	0,01657	8,46
	20	0,014	22,65	0,01546	14,60
	30	0,1228	17,32	0,0132	27,08
	40	0,00386	78,67	0,00814	55,05
	50	0,00382	78,88	0,0081	55,25
333	10	0,03083	23,8	0,03193	4,96
	20	0,02811	16,34	0,0311	7,44
	30	0,0251	31,25	0,02817	16,17
	40	0,01288	61,66	0,01866	44,45
	50	0,01273	62,12	0,01855	44,78

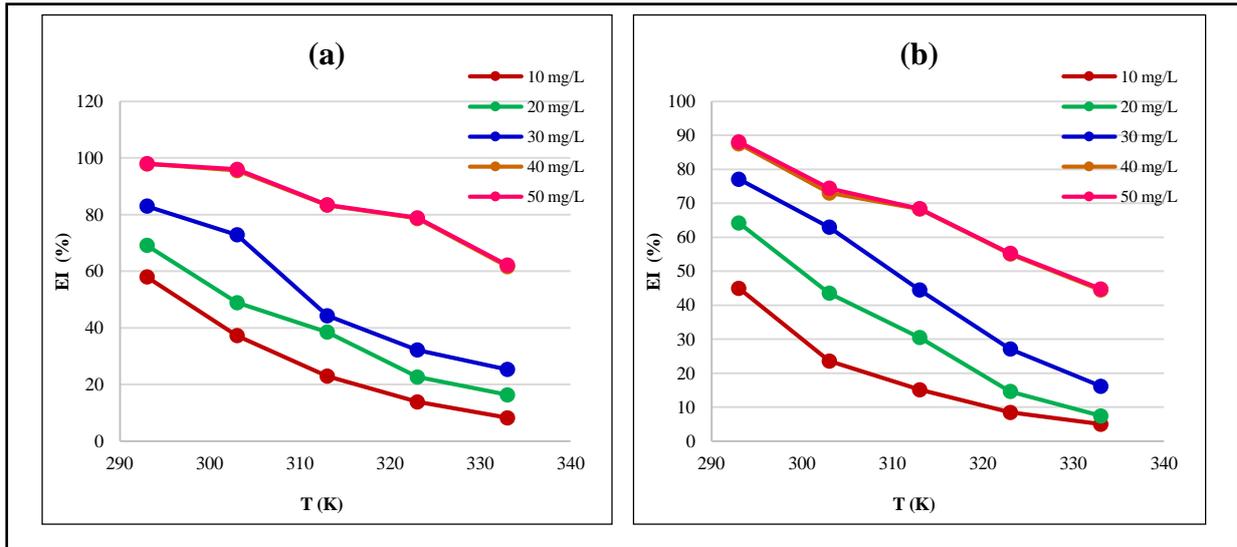


Figure 110 : Evolution de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (a) et de AgNPs (b) à différentes concentrations en fonction de la température après 2h d'immersion.

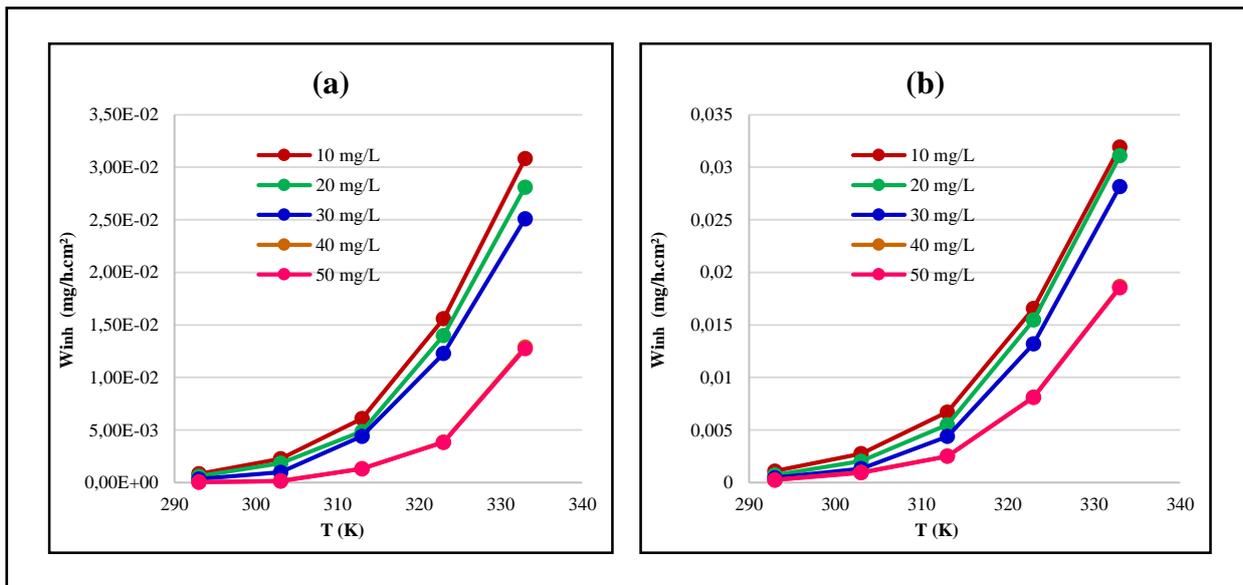


Figure 111 : Evolution de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans HClO₄ 1M en fonction de la température en présence de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) à différentes concentration après 2h d'immersion.

D'après ces résultats, nous remarquons que l'efficacité inhibitrice croît avec l'augmentation de la concentration. Cependant, cette efficacité diminue avec l'augmentation de la température.

L'augmentation de la température du milieu provoque une augmentation de la vitesse de corrosion et diminue le taux de recouvrement de la surface métallique malgré la présence

d'une concentration optimale de l'inhibiteur, ce qui explique que la couche formée sur la surface de l'acier par l'adsorption de l'inhibiteur est détruite de plus en plus par l'augmentation de la température.

3) Effet du temps d'immersion :

Afin de déterminer le temps d'immersion optimal, les mesures gravimétriques de l'acier au carbone en milieu HClO_4 1M ont été effectuées à différents temps d'immersion (0,5h, 1h, 2h, 4h, 6h et 24h).

Les valeurs de la variation de l'efficacité inhibitrice et de la vitesse de corrosion de l'acier à différentes concentrations de l'inhibiteur (extrait aqueux ou AgNPs des racines de *R. acaule*) en fonction du temps d'immersion à une température de 30°C sont données dans le **Tableau 64** et illustrées par les figures **112** et **113**.

Tableau 64 : Variation de l'efficacité inhibitrice et la vitesse de corrosion en fonction des temps d'immersion à différentes concentrations d'inhibiteurs (extrait aqueux et AgNPs) à 30°C.

t (h)	C (mg/L)	Extrait aqueux		AgNPs	
		W_{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)	W_{inh} (mg/h.cm ²)	EI (%)
0,5	10	9,165E-4	8,35	9,502E-4	4,98
	20	8,738E-4	12,62	9,347E-4	6,53
	30	8,151E-4	18,49	9,134E-4	8,66
	40	7,987E-4	20,13	8,995E-4	10,05
	50	7,967E-4	20,33	8,975E-4	10,25
1	10	0,00169	15,75	0,0017	15,03
	20	0,00124	38,02	0,00135	32,46
	30	9,004E-4	54,98	0,00102	49,01
	40	4,914E-4	75,43	9,174E-4	54,13
	50	4,874E-4	75,63	9,134E-4	54,33

2	10	0,00226	37,23	0,00275	23,57
	20	0,00184	48,93	0,00203	43,54
	30	9,774E-4	72,85	0,00133	62,95
	40	1,6092E-4	95,53	9,6948E-4	73,07
	50	1,4328E-4	96,02	9,2196E-4	74,39
4	10	0,00302	31,25	0,0038	13,66
	20	0,0028	36,47	0,00308	30,07
	30	0,00217	50,67	0,00229	47,96
	40	0,00132	69,98	0,00226	48,56
	50	0,00131	70,24	0,00226	48,74
6	10	0,00391	28,88	0,00486	11,58
	20	0,00368	33,17	0,00393	28,46
	30	0,00282	48,77	0,00312	43,21
	40	0,00192	65,14	0,00307	44,21
	50	0,00191	65,24	0,00305	44,52
24	10	0,00492	24,33	0,00592	8,99
	20	0,00455	30,05	0,00481	25,99
	30	0,00353	45,68	0,00391	39,78
	40	0,00252	61,23	0,00386	40,59
	50	0,00251	61,43	0,00382	41,23

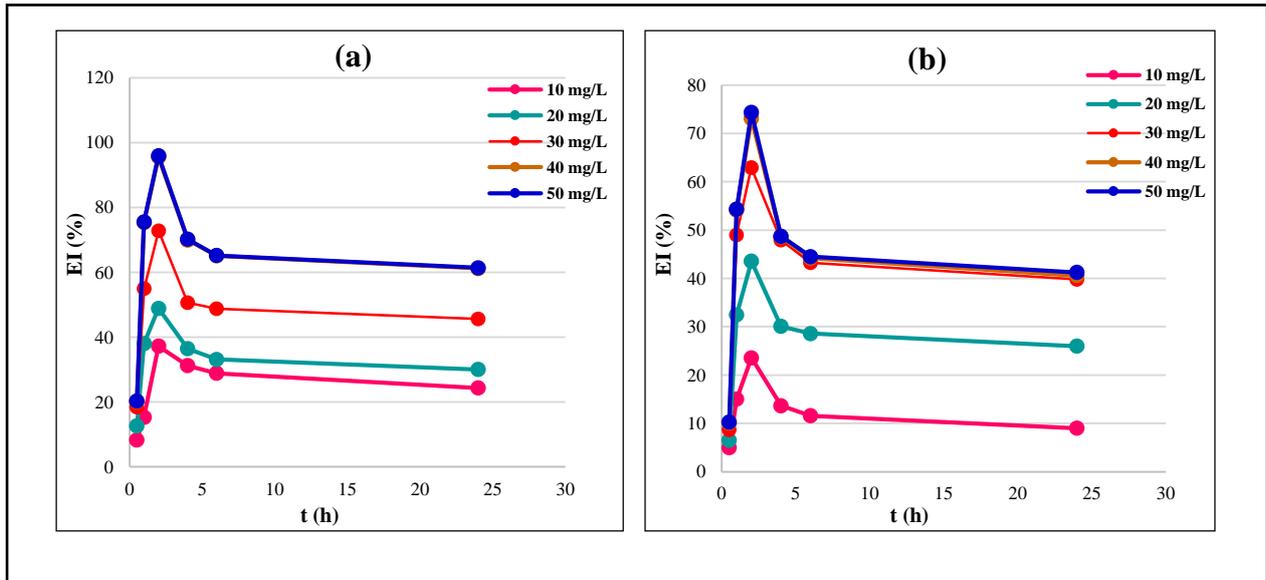


Figure 112 : Variations de l'efficacité inhibitrice de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) à différentes concentrations en fonction du temps d'immersion à T=30°C.

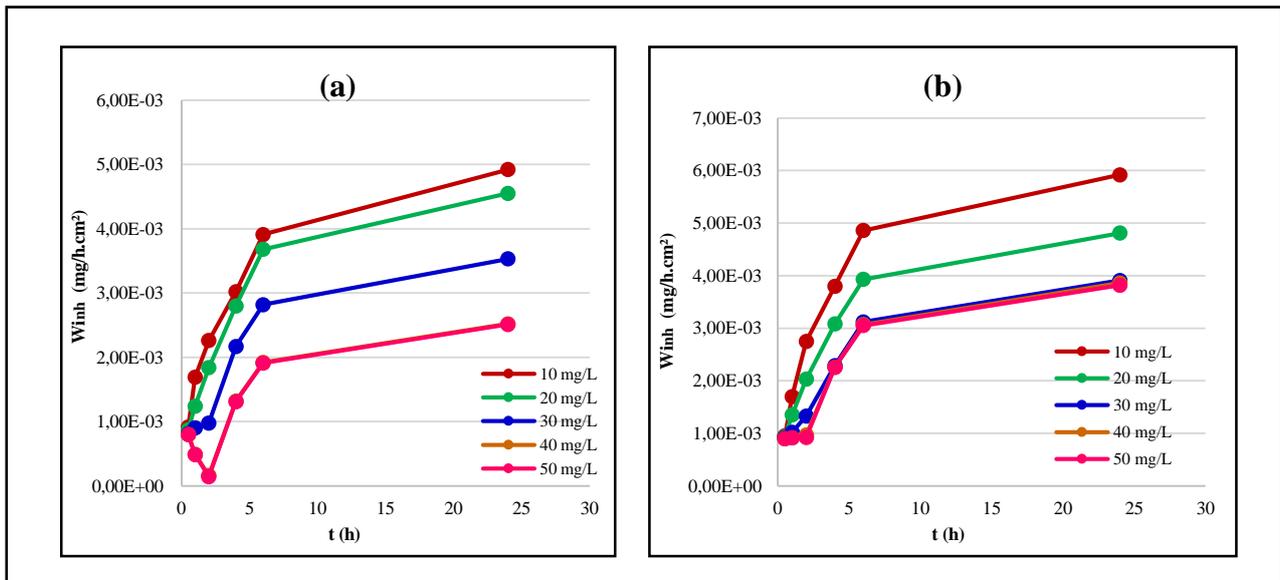


Figure 113 : Variation de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans HClO₄ en fonction du temps d'immersion à différentes concentrations de l'extrait aqueux (a) et AgNPs (b) à T=30°C.

D'après les résultats obtenus, l'efficacité de l'inhibition maximale pour les deux inhibiteurs (96,02% pour l'extrait aqueux et 74,39% pour les nanoparticules d'argent) est atteinte après 2 heures d'immersion. Par ailleurs, l'efficacité inhibitrice diminue légèrement et reste relativement stable durant toute la période d'étude de 24h. Ceci indique que la couche protectrice formée sur la surface de l'acier est stable et adhérente.

En outre, la vitesse de corrosion augmente progressivement avec l'augmentation de la durée d'immersion pour les deux inhibiteurs.

4) Analyse de surface par microscopie électronique à balayage (MEB) :

Afin d'évaluer la morphologie de la surface de l'acier au carbone et prouver si l'inhibition de corrosion est due à la formation d'un film de molécules organiques à sa surface, nous avons étudié la morphologie de cette dernière par microscopie électronique à balayage (M.E.B). Les micrographies de l'acier ont été enregistrées en utilisant un microscope analytique de marque HITACHI TM 1000.

Les observations au MEB ont porté sur des échantillons d'acier au carbone (**Figure 114**) après 24 h d'immersion à 30°C dans HClO_4 1M seul (**Figure 115**) et avec addition de 40 mg/L de l'extrait aqueux (**Figure 116**) et les nanoparticules d'argent dans l'électrolyte (**Figure 117**).

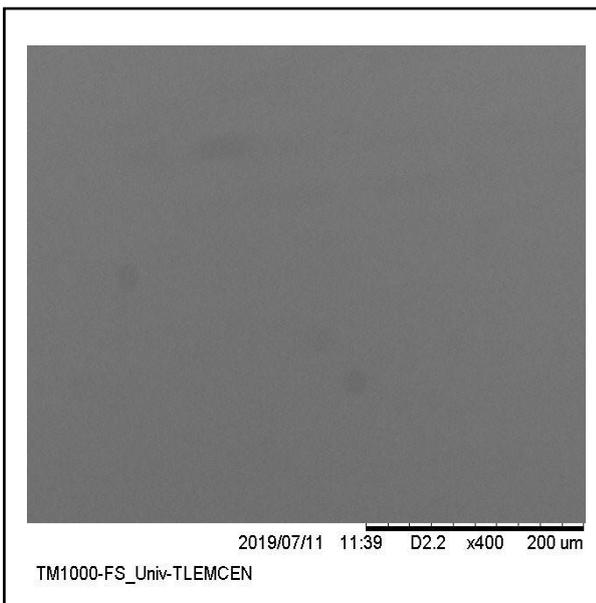


Figure 114 : Micrographie (MEB) de la surface l'acier avant immersion dans HClO_4

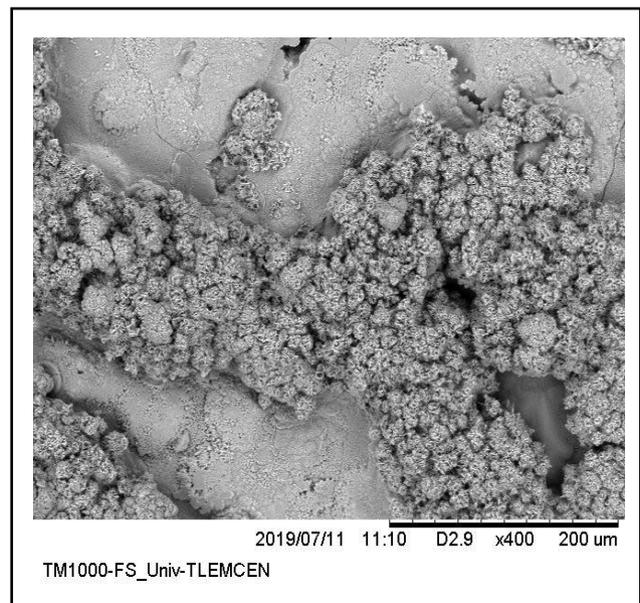


Figure 115 : Micrographie (MEB) de la surface de l'acier après immersion dans HClO_4

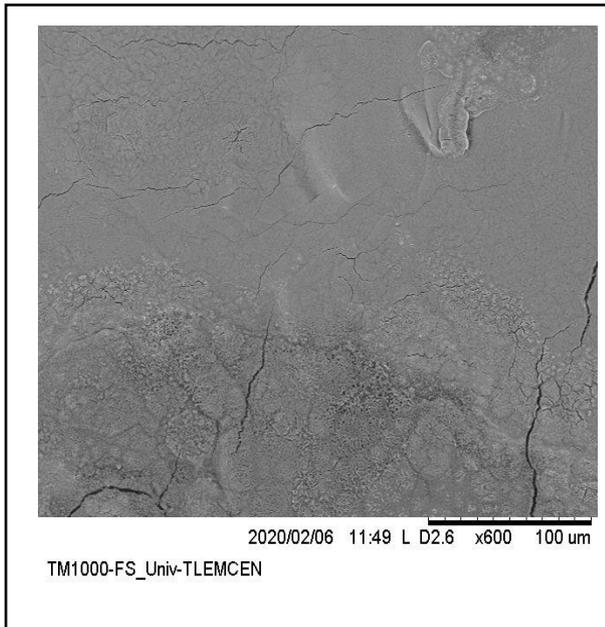


Figure 116 : Micrographie (MEB) de la surface de l'acier après immersion dans HClO₄ + l'extrait aqueux

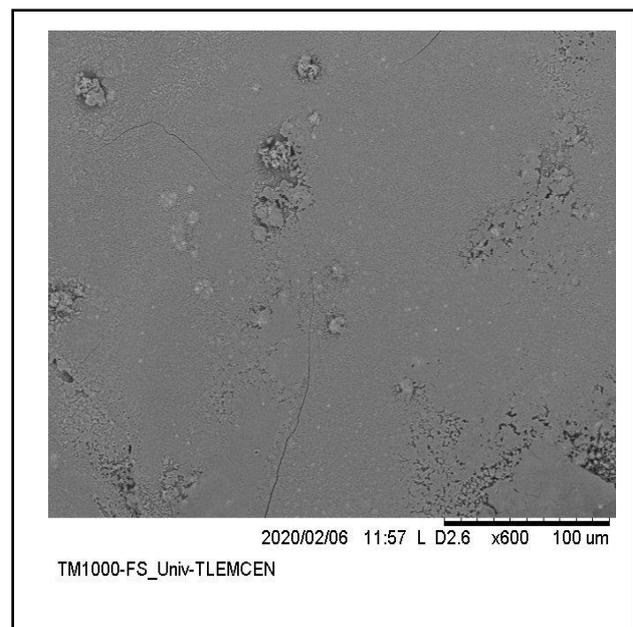


Figure 117 : Micrographie (MEB) de la surface de l'acier après immersion dans HClO₄ + AgNPs

L'image de la surface de l'acier après 24 h d'immersion à 30°C dans HClO₄ 1M seul (**Figure 115**) montre clairement que cette dernière est fortement endommagée. En effet, l'acier subit une corrosion quasi généralisée sur toute la surface en absence de l'inhibiteur.

Par contre, en présence de l'extrait aqueux ou des AgNPs correspondantes dans la solution HClO₄ 1M, nous constatons que la surface de l'acier est presque exempte de corrosion en présence de ces inhibiteurs. (Figures **116** et **117**). En effet, elle est recouverte de couches formées de composés de l'extrait aqueux ou des nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* empêchant ainsi la corrosion de l'acier au carbone en limitant l'accès de l'électrolyte à la surface.

Références bibliographiques

1. G, L., et al., *Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using fruit extract of Cleome viscosa L.: Assessment of their antibacterial and anticancer activity*. Karbala International Journal of Modern Science, 2018. **4**(1): p. 61-68.
2. Huang, H. and X. Yang, *Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method*. Carbohydrate research, 2004. **339**(15): p. 2627-2631.
3. Luo, C., et al., *The role of poly (ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles*. Journal of colloid and interface science, 2005. **288**(2): p. 444-448.
4. Liu, T.-M., et al., *One-step shell polymerization of inorganic nanoparticles and their applications in SERS/nonlinear optical imaging, drug delivery, and catalysis*. Scientific Reports, 2014. **4**(5593): p. 1-10.
5. Boussalem, N., *Synthèse verte, caractérisation et activité antibactérienne de films composite alginate-nanoparticules d'argent-chitosane.*, in *Chimie Macromoléculaire*. 2017, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. p. 57.
6. Bin Ahmad, M., et al., *Synthesis of silver nanoparticles in chitosan, gelatin and chitosan/gelatin bionanocomposites by a chemical reducing agent and their characterization*. Molecules, 2011. **16**(9): p. 7237-7248.
7. Kong, J. and S. Yu, *Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures*. Acta biochimica et biophysica Sinica, 2007. **39**(8): p. 549-559.
8. Chahardoli, A., N. Karimi, and A. Fattahi, *Biosynthesis, characterization, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using Nigella arvensis seed extract*. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR, 2017. **16**(3): p. 1167.
9. Sudha, A., J. Jeyakanthan, and P. Srinivasan, *Green synthesis of silver nanoparticles using Lippia nodiflora aerial extract and evaluation of their antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects*. Resource-Efficient Technologies, 2017. **3**(4): p. 506-515.
10. Selles, C., *Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: Anacyclus pyrethrum L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de*

- corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M.* 2012, Université Abou Bekr Belkaid. p. 116.
11. Norman, E., *NACE Glossary of Corrosion Terms.* Materials Protection, 1965. **4**(1): p. 79.
 12. Rahmouni, K., *Corrosion et protection des bronzes recouverts de patine: étude électrochimique et spectroscopique de la surface d'objets archéologiques et synthèse d'une patine équivalente sur un bronze du commerce.* 2005, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6). p. 16
 13. Hamani, H., *Synthèse, caractérisation et étude du pouvoir inhibiteur de nouvelles molécules bases de sch.* 2018, Université Ferhat Abbas Sétif. p. 52.
 14. Ouadi, Y., et al., *Effect of Athamanta sicula oil on inhibition of mild steel corrosion in 1M HCl.* Der Pharma Chemica, 2015. **7**(2): p. 103-111.
 15. Laamari, R., et al., *Etude de l'inhibition de la corrosion du fer en milieu sulfurique 1 M par l'acide hexa méthylène diamine tétra méthyle phosphonique.* Les Technologies de Laboratoire, 2010. **5**(20): p. 18-22.
 16. Hamani, H., *Synthèse, caractérisation et étude du pouvoir inhibiteur de nouvelles molécules bases de sch,* in *Génie électrochimique.* 2018, Université Ferhat Abbas Sétif. p. 91-93.
 17. Saïl, L., et al., *Inhibition de la corrosion: évaluation gravimétrique.* 2011, Université Abou Bekr Belkaid. p. 11-20.
 18. Quraishi, M.A., et al., *Green approach to corrosion inhibition of mild steel in hydrochloric acid and sulphuric acid solutions by the extract of Murraya koenigii leaves.* Materials Chemistry and Physics, 2010. **122**(1): p. 114-122.
 19. Behpour, M., et al., *Green approach to corrosion inhibition of mild steel in two acidic solutions by the extract of Punica granatum peel and main constituents.* Materials Chemistry and Physics, 2012. **131**(3): p. 621-633.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Notre travail de thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) dont l'un des objectifs est de valoriser les espèces végétales du nord algérien dans un but de découvrir d'éventuelles nouvelles molécules bioactives. Pour ce faire, quatre espèces appartenant à des familles différentes ont été sélectionnées : *Rhus pentaphylla* Desf. (Anacardiaceae), *Ferula communis* L. (Apiaceae), *Rhaponticum acaule* L. (Asteraceae) et *Agave americana* L. (Agavaceae).

L'ensemble des travaux présentés dans cette thèse s'articule autour de deux parties :

La première, constitue une contribution à l'étude phytochimique de ces quatre espèces, la détermination de leurs compositions chimiques en huiles essentielles et en extraits d'hydrolat, ainsi que celles des acides gras et l'évaluation de leurs activités antioxydantes.

La deuxième partie, concerne la synthèse de nanoparticules d'argent à partir des extraits aqueux et leurs caractérisations par différentes techniques spectroscopiques (UV-Vis, FTIR, DRX..), ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité anticorrosive vis-à-vis d'un acier en milieu acide des nanoparticules synthétisées et leurs extraits aqueux correspondants.

En premier lieu, un criblage phytochimique des quatre plantes a été effectué ; il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Ce criblage a permis la mise en évidence de composés appartenant aux différents groupes chimiques dans chaque espèce. Les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, et les stéroïdes sont présents dans *R. pentaphylla* et *A. americana*. D'autre part, *F. communis* et *R. acaule* contiennent des flavonoïdes, des tanins, des composés réducteurs et des stéroïdes alors qu'elles sont dépourvues d'alcaloïdes, de coumarines et de saponosides. Par ailleurs, la quantification en polyphénols totaux, en tanins et en flavonoïdes des différentes parties nous a permis de déduire que les plantes testées constituent une source prometteuse des composés phénoliques.

L'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de la partie aérienne des quatre espèces ont été obtenus respectivement par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger et par extraction liquide-liquide. La quantité d'huile essentielle et par conséquent le rendement a

été exprimé par rapport à la matière sèche. Les quatre espèces *R. pentaphylla*, *F. communis*, *R. acaule* et *A. americana* ont des rendements faibles en huile essentielle dont les valeurs sont respectivement de 0,02%, 0,05%, 0,02% et 0,003%. Par ailleurs, leurs rendements en extrait d'hydrolat sont de l'ordre de 0,02%, 0,01%, 0,01% et 0,006%, respectivement.

L'identification des constituants chimiques des huiles essentielles et des extraits d'hydrolat a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *R. pentaphylla* a révélé la présence d'un mélange complexe de 83 composants qui représentent 96,9% de la quantité totale de l'huile essentielle. Les principales classes de composants ont été les composés non terpéniques (50,2%), suivis des sesquiterpènes (40,1%). Cette huile est caractérisée par deux composés majoritaires qui sont l'acide hexadécanoïque (31,5%) et le spathuléol (14,9%). D'autre part, l'interprétation du chromatogramme de l'extrait d'hydrolat a permis l'identification de 75 composés représentant 92,5% de la composition totale de l'extrait. Ce dernier est constitué principalement de trois classes de composés oxygénés : les composés non terpéniques (32,3%), les sesquiterpènes (30,1%) et les monoterpènes (29,8%). Le spathuléol forme le composé majoritaire avec un pourcentage de 14,2 %.

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *F. communis* et de *R. acaule* nous a permis d'identifier 73 composés volatiles représentant respectivement, 98,5% et 98,7% de la composition totale. Les sesquiterpènes ont montré une prédominance avec un pourcentage de 71,5% dans *F. communis* et 51,3% dans *R. acaule*. D'autre part, l'analyse des extraits d'hydrolat a permis d'identifier 57 composés dans *F. communis* et 56 composés dans *R. acaule* qui représentent respectivement 97,1% et 86,8% de la composition totale.

De plus, l'analyse chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *A. americana* a permis d'identifier 74 composés dans l'huile essentielle et 12 composés dans l'extrait d'hydrolat représentant respectivement 98,4% et 96,7% de la composition totale, avec une prédominance des composés non terpéniques oxygénés.

Par ailleurs, les compositions chimiques en acides gras de *R. pentaphylla* et *A. americana* déterminées par CPG et CPG/SM ont montré des teneurs élevées en acides gras saturés dont l'acide palmitique et d'autres acides gras à longue chaîne carbonée sont prédominants.

Pour l'évaluation du pouvoir antioxydant de ces plantes, les extraits par des solvants de polarités différentes ainsi que les volatiles sont soumis à deux méthodes différentes, à savoir : l'activité de piégeage du radical DPPH et la capacité de réduction du fer (FRAP). Contrairement à ce qui était prévu, l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat se sont montrés comme étant les deux extraits les moins actifs comme piègeurs des radicaux. Cependant, les polyphénols extraits des différentes parties des plantes révèlent un pouvoir antioxydant égal ou très proche de celui de l'acide ascorbique et plus important que celui des autres extraits.

Les résultats de la première partie ont permis de mieux connaître la phytochimie des quatre plantes choisies et contribueront certainement à l'enrichissement de la banque de données des huiles essentielles et des extraits d'hydrolat du monde végétal.

La deuxième partie est consacrée à l'élaboration de nanoparticules d'argent, à partir d'extraits aqueux en se basant sur la bioréduction des ions Ag^+ de la solution aqueuse de AgNO_3 . La caractérisation des nanoparticules d'argent synthétisées a été réalisée en utilisant les techniques de caractérisation telles que l'UV-visible, l'infrarouge (IR) et la diffraction aux rayons X (DRX). Il ressort de cette étude, que les composés phytochimiques des plantes sont responsables de la réduction immédiate de l'ion argent. L'avantage de l'utilisation d'extraits de plantes pour la synthèse de nanoparticules d'argent, c'est qu'ils sont faciles à obtenir, peu coûteux et non toxiques dans la plupart des cas. Par ailleurs, ces extraits contiennent une variété de métabolites qui peuvent aider à la réduction des ions d'argent.

L'étude du pouvoir antioxydant par les deux tests de DPPH et FRAP a montré que les nanoparticules métalliques de la partie aérienne de *R. pentaphylla* et *A. americana* enregistrent une activité antioxydante plus importante que celle des extraits aqueux correspondants mais qui reste inférieure à celle de l'antioxydant de référence. Cependant, si les nanoparticules des racines de *R. pentaphylla* et *A. americana* sont moins actifs que leurs extraits aqueux, celles des racines de *R. acaule* sont d'une activité meilleure que l'extrait aqueux correspondant.

En ce qui concerne l'activité anticorrosive, l'étude gravimétrique montre que l'extrait aqueux et les nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* L. montrent tous les deux une bonne efficacité inhibitrice vis-à-vis de la corrosion de l'acier au carbone en milieu acide perchlorique 1M. Par ailleurs, l'effet inhibiteur de ces extraits augmente avec l'augmentation de la concentration de l'inhibiteur et diminue avec l'augmentation de la température.

Comme perspectives, certains points restent à approfondir. Il serait donc intéressant de compléter ce travail par :

- Etudier la variabilité chimique des huiles essentielles de ces plantes.
- Isoler et identifier les molécules naturelles responsables de l'activité antioxydante.
- Investiguer d'autres activités biologiques telle que l'activité antimicrobienne.
- Utiliser le microscope électronique à transmission (MET) afin de mettre en évidence la forme nanométrique des nanoparticules d'argent synthétisées.
- Compléter l'étude gravimétrique de l'inhibition de corrosion de l'acier par une autre technique telle que la méthode électrochimique.

ANNEXES

Annexe1 :

Réactifs et réactions de caractérisations :

- ✚ **Réactifs de Wagner** : on fait dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I₂ dans 75 mL d'eau distillée, la solution ainsi obtenue est ajoutée à 100 mL d'eau distillée. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc.
- ✚ **Réactif de Mayer** : on dissout 1,358 g de HgCl₂ dans 60 mL d'eau distillée et 5 g de KI dans 10 mL d'eau distillée, on mélange ensuite les deux solutions et on ajuste le volume total à 100 mL d'eau distillée. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif une trouble plus un précipité blanc.
- ✚ **Réactif d'amidon** : une solution de 1,2 g d'iode dans 50 mL d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie, 5 mL de la solution à tester avec 10 mL de la solution d'une solution de NaCl saturé jusqu'à l'ébullition.
- ✚ **Réaction de liqueur de Fehling** : Mélanger 5 mL de liqueur Fehling A avec 5 mL de liqueur Fehling B. Le caractère réducteur des aldoses ou des cétooses donne un précipité rouge brique.
- ✚ **Réaction de Libermann-Burchardt** : Mélanger 5 mL de la solution à tester avec 5 mL d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser reposer la solution 30 minutes à 21°C.
- ✚ **Réaction de Bornträger** : En milieu alcalin aqueux (NH₄OH), les anthracénosides donnent à la solution une teinte vive variant, selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangé rouge au violet pourpre plus ou moins violacé.

Annexe 2 :

Courbes d'étalonnage :

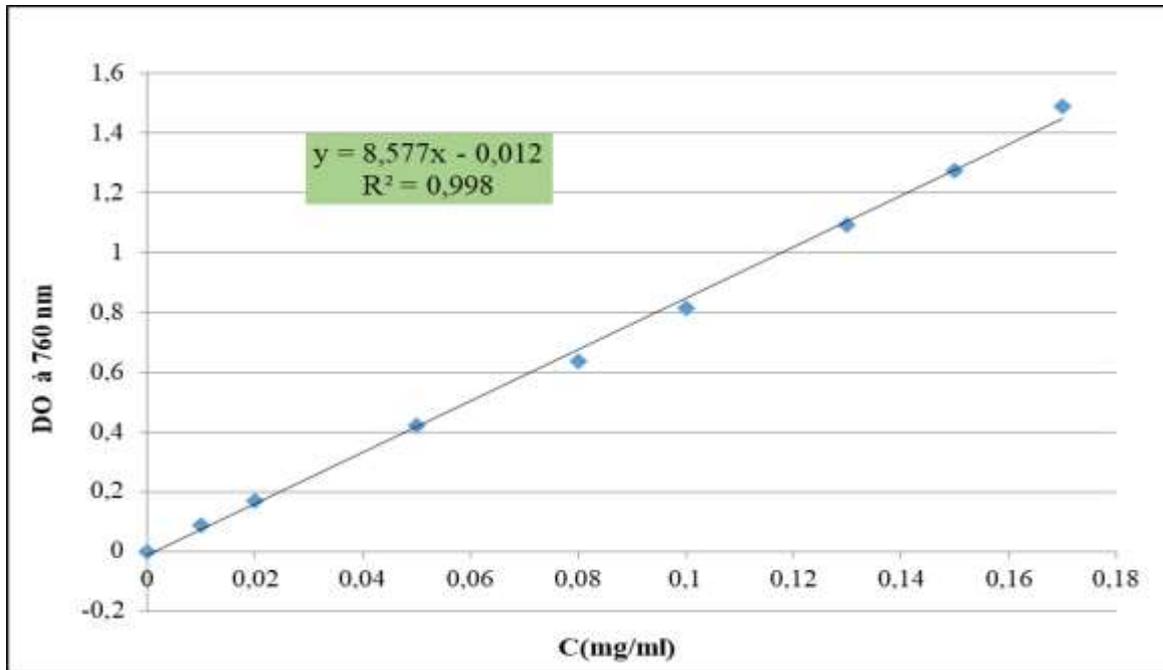


Figure 118 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

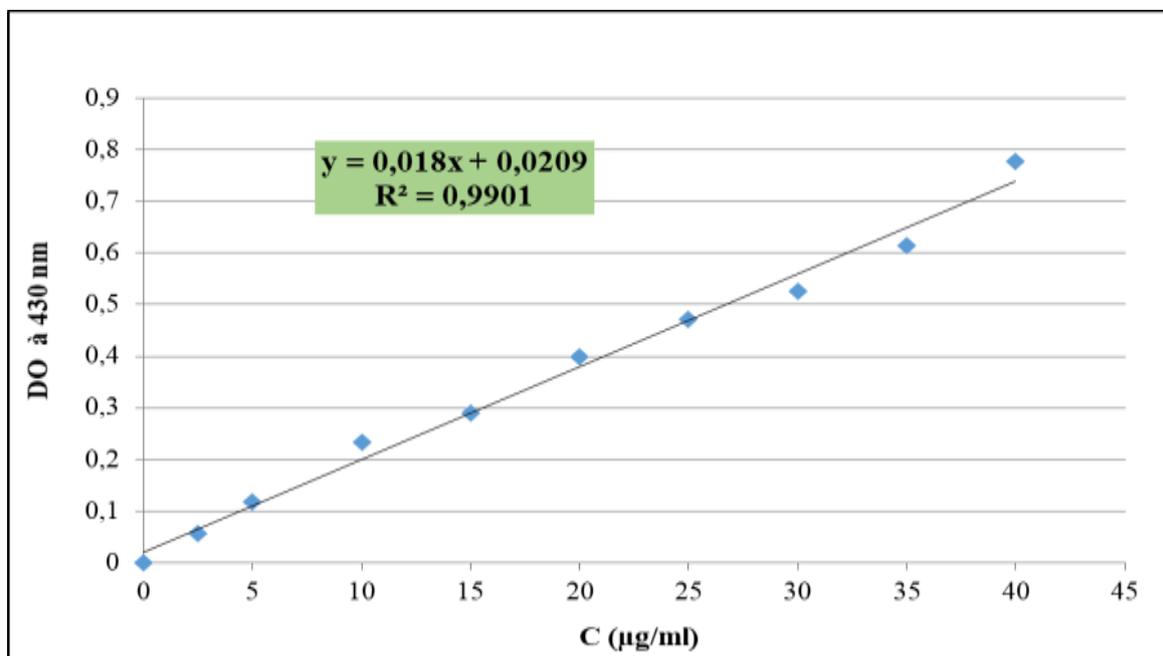


Figure 119 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

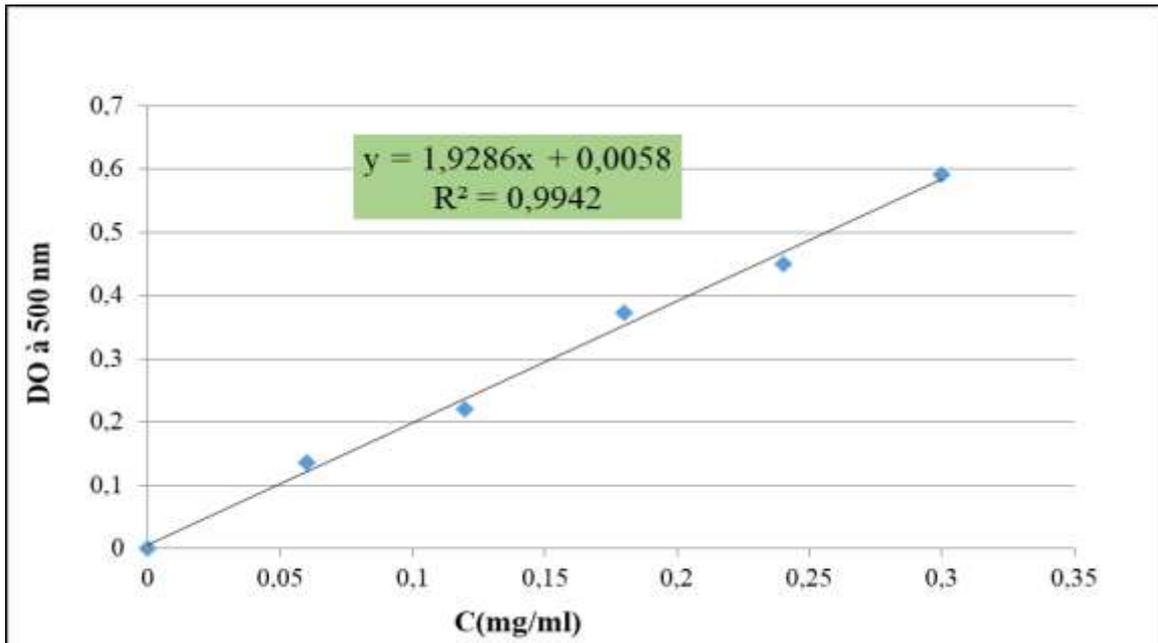


Figure 120 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

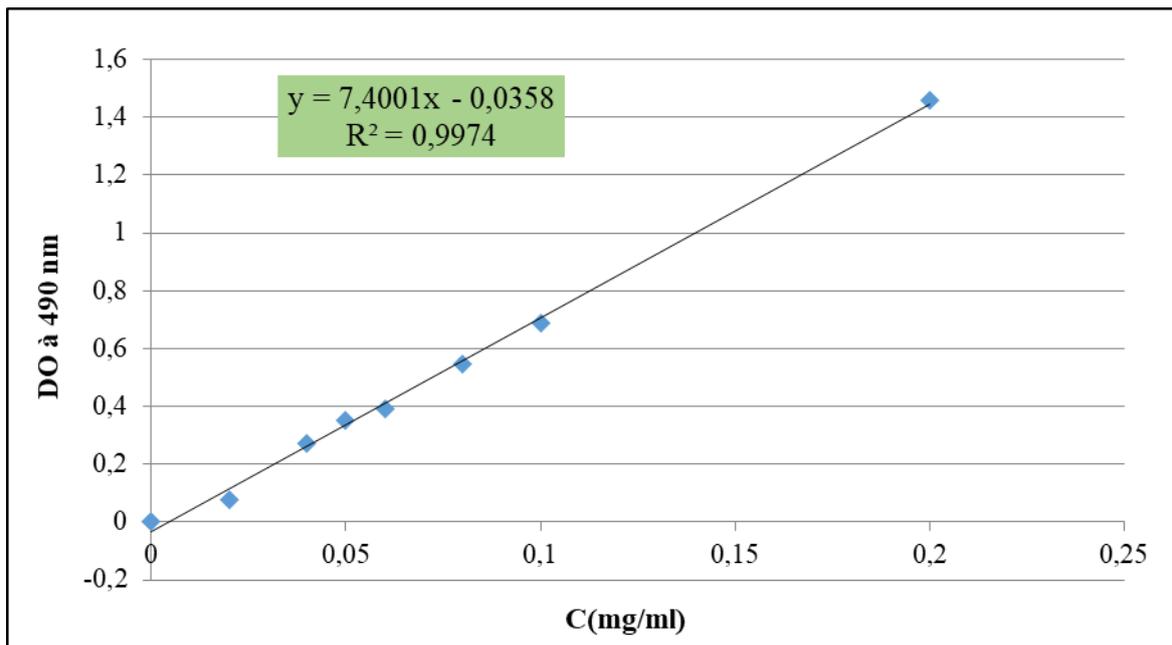


Figure 121 : Courbe d'étalonnage du glucose.

Annexe 3 :

La taille moyenne des nanoparticules d'argent :

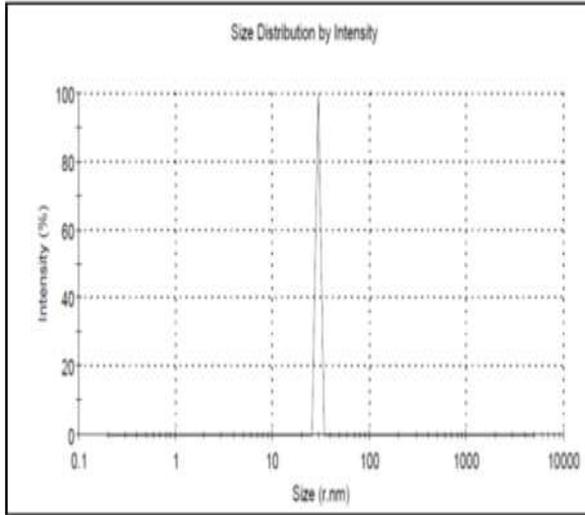


Figure 122 : La taille des nanoparticules d'argent des feuilles de *R. pentaphylla* Desf.

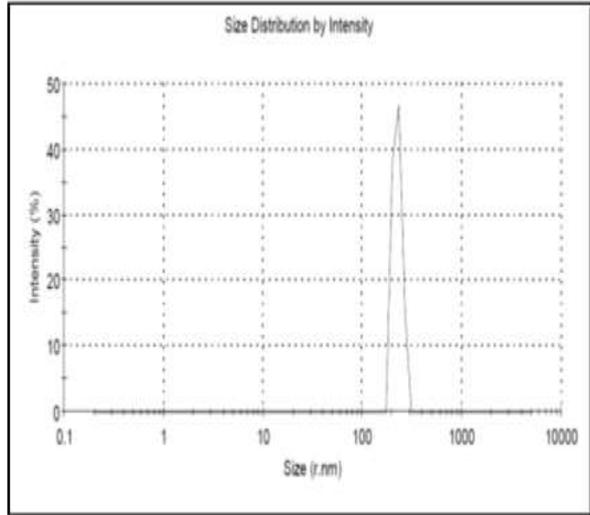


Figure 123 : La taille des nanoparticules d'argent des fruits de *R. pentaphylla* Desf.

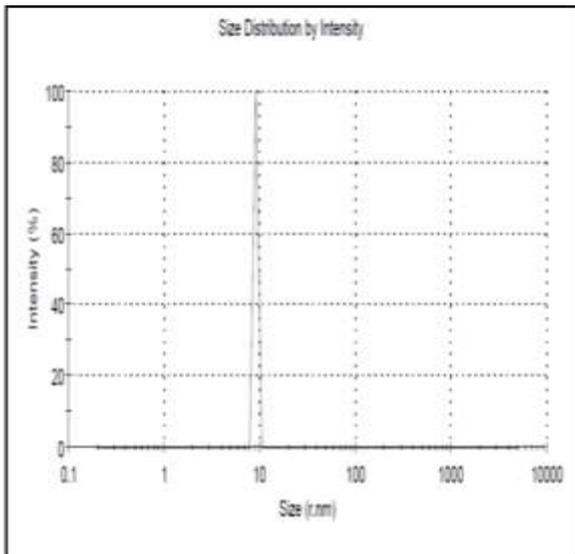


Figure 124 : La taille des nanoparticules d'argent des racines de *R. pentaphylla* Desf.

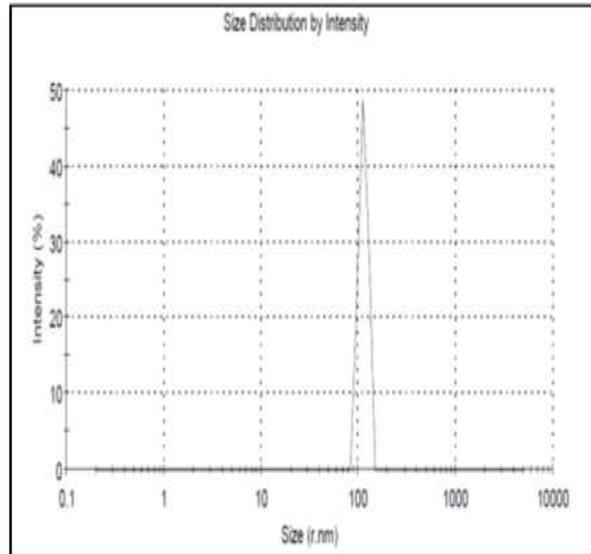


Figure 125 : La taille des nanoparticules d'argent des feuilles de *A. americana* L.

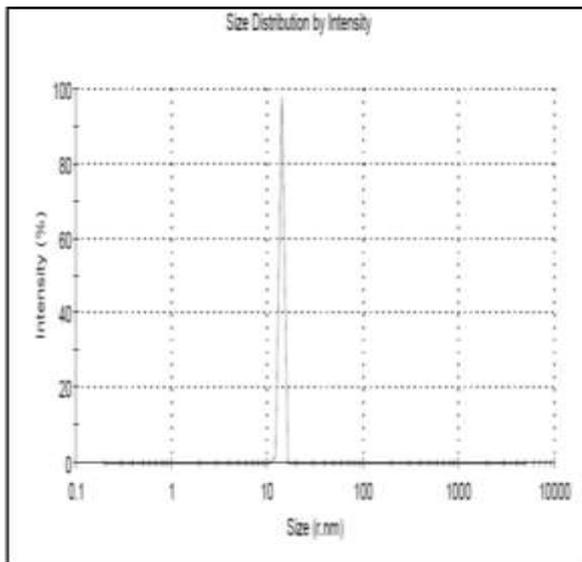


Figure 126 : La taille des nanoparticules d'argent des fleurs de *A. americana* L.

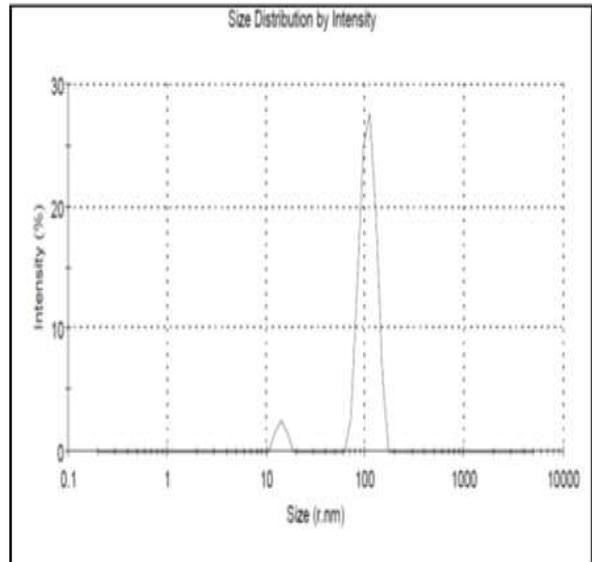


Figure 127 : La taille des nanoparticules d'argent des racines de *A. americana* L.

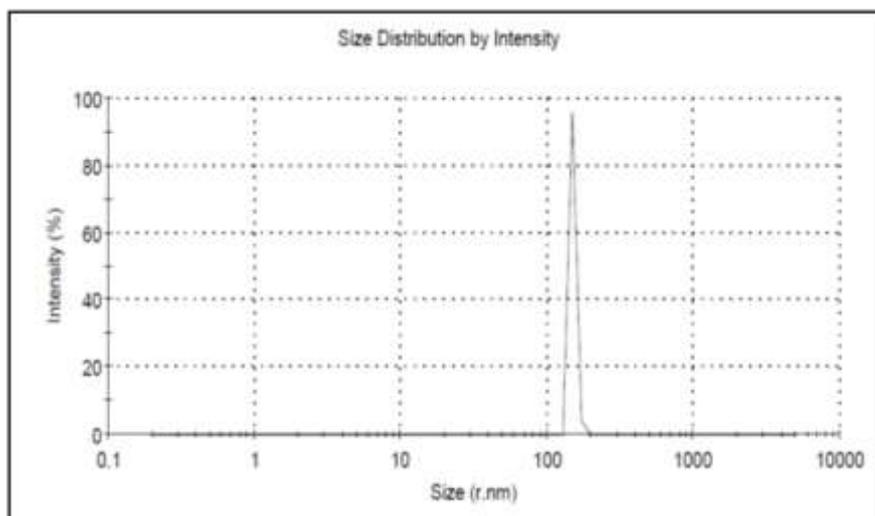


Figure 128 : La taille des nanoparticules d'argent des racines de *R. acaule* L.

***PUBLICATIONS ET
COMMUNICATIONS***

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS :

1. **Nassima Benmansour**, Asma Allal, Chaouki Selles, BoufeldjaTabti and Alain Muselli. Essential Oil and Hydrosol Extract Chemical Composition, Phytochemicals of Algerian *Rhus pentaphylla* Desf. and its Antioxidant Activity. Current Bioactive Compounds, 2019. **15**: p. 1-12.
2. Asma Allal, Samia Bellifa, **Nassima Benmansour**, Chaouki Selles, Mouhamed Semaoui, Hafida Hassaine & Alain Muselli. Essential Oil and Hydrosol Extract Chemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Potential of *Daphne gnidium* L. from Algeria. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2019. **22**(5): p. 1277-1288.
3. Radia Lemouchi, Chaouki Selles, Mohammed El Amine Dib, **Nassima Benmansour**, Asma Allal, Boufeldja Tabti & Kheireddine Ouali. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil and Hydrosol Extract Obtained by Hydrodistillation (HY) and Liquid–Liquid Extraction (LLE) of *Psoralea bituminosa*. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 2017. **23**(4): p. 299-307

Communications :

1. **Nassima Benmansour**, Asma Allal, Chaouki Selles, Mohamed El Amine Dib, Boufeldja Tabti, Alain Muselli. Essential Oil, « Hydrosol Extract profile and some phytochemicals of Algerian *Rhus pentaphylla* Desf. Evaluation of its Antioxidant Activity ». 17th International Days of Biotechnology (IDB2018), 20-23 December 2018, Sousse, Tunisia.
2. **Benmansour N**, Allal A, Selles C. « Etude phytochimique et composition chimique de l'huile essentielle de *Euphorbia serrata* L. ». Colloque international Biosciences 2018 « Génie enzymatique et production de métabolites », 28 et 29 Octobre 2018, Oran, Algérie.
3. Asma Allal, **Nassima Benmansour**, Selles Chaouki and Tabti Boufeldja. « Preliminary phytochemical screening of *Daphne gnidium* L. and chemical

composition of aerial part essential oil », 11th International Conference and Exhibition: on Pharmacology and Ethnopharmacologie & International Conference on Pharmaceutical Oncology, July 18-19, 2018, Atlanta, USA.

4. SELLES Chaouki, LEMOUCHI Radia, **BENMANSOUR Nassima** & ALLAL Asma. « Etude phytochimique et activités antioxydantes de quelques extraits de *Teucrium kabylicum* Batt. », 4th International Congress of Plants Biodiversity, 05-08 October 2017, Marrakech, Maroc.
5. Asma Allal, Chaouki Selles, Radia Lemouchi et **Nassima Benmansour**. « Screening phytochimique et évaluation des activités antioxydantes de quelques extraits de *Psoralea bituminosa* L. », Congrès international de phytothérapie 2017, du 29 avril au 1^{er} mai 2017, Monastir, Tunisie.
6. Asma Allal, Chaouki Selles, Radia Lemouchi, Mohamed el Amine Dib et **Nassima Benmansour**. « Composition chimique et activités antioxydantes de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Psoralea bituminosa* L. », Congrès international de phytothérapie 2017, du 29 avril au 1^{er} mai 2017, Monastir, Tunisie.

RESEARCH ARTICLE

Essential Oil and Hydrosol Extract Chemical Composition, Phytochemicals of Algerian *Rhus pentaphylla* Desf. and its Antioxidant Activity

Nassima Benmansour^a, Asma Allal^b, Chaouki Selles^{b,*}, BoufeldjaTabti^b and Alain Muselli^c

^aLaboratoire de spectrochimie et pharmacologie structurale (LSPS), département de chimie, université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie; ^bLaboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO), département de chimie, université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie; ^cUMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels (CPN), Université de Corse, Campus Grimaldi, BP 52, Corte 20250, France

Abstract: Background: *Rhus pentaphylla* Desf. (Anacardiaceae) widely grown in Algeria, is an underutilized plant and remains poorly studied. To investigate for the first time, the chemical composition profile of essential oil and hydrosol extract; besides total phenolic (TPC), flavonoid (TFC) and condensed tannins contents (CTC) of fruits, leaves and roots, the fatty acid composition was assessed. The radical scavenging activity of *R. pentaphylla* extracts was then evaluated.

Methods: Essential oil and hydrosol extract were isolated respectively by hydrodistillation and liquid-liquid-extraction from the aerial parts of *R. pentaphylla*. The antioxidant activity was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical and ferric reducing antioxidant power (FRAP). Chemical compositions of various extracts were investigated using Gas Chromatography (GC) and GC-Mass Spectrometry (GC-MS).

Results: The results of GC and GC-MS analysis revealed 83 components in essential oil and 75 components in hydrosol extract representing respectively 96.9% and 92.5% of the total extract composition. The main constituents were hexadecanoic acid (31.5%) followed by spathulenol (14.9%) in the oil while the higher amount present in the hydrosol extract was of spathulenol (14.2%). Otherwise, 13 and 18 fatty acids were identified in roots and fruits respectively. The highest levels of TPC and CTC were found in roots extracts while the highest quantity of TFC has been recorded in the leaves extract. Besides, hydrosol extract was able to scavenge DPPH and FRAP free radicals more efficiently than essential oil.

Conclusion: *R. pentaphylla* contains bioactive substances that could be used as a new promising source of antioxidant compounds in different applications.

Keywords: Essential oil, hydrosol, fatty acid, phenolic compounds, antioxidant activity, *Rhus pentaphylla*.

1. INTRODUCTION

In the recent years, medicinal plants have gained increasing attention due to their therapeutic properties, efficiency and safety [1, 2]. The therapeutic potential of these plants is generally related to its content of bioactive compounds, such as polyphenols, flavonoids, terpenoids, steroids, alkaloids and fatty acids that play an important role in food and pharmaceutical applications, as nutraceuticals on human health, flavors and fragrances [3].

Essential oils are a complex mixture of valuable natural products extracted from different parts of plants. They are aromatic substances which can be used for different purposes in many fields, including perfumery, pharmacy, cosmetic and food industries [4]. They are many reports that describe the chemical profiles of essential oils and other extracts as

well as their biological activities such as antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, analgesic, anti-tumoral and insecticidal [5, 6].

Otherwise, hydrosol also called hydrolate or condensate water is a mixture of co-products or by-products obtained during the process of extracting an essential oil by water or steam distillation from plant materials. It contains mainly hydrophilic compounds and traces of essential oils. Although there is extensive research regarding essential oils of plants, the chemical constituents of hydrosol extracts and their biological properties are still lacking. In some studies, hydrosols of various plants showed interesting biological activities: antioxidant [7, 8], antimicrobial [9, 10], anti-tyrosinase [11, 12] and phytotoxic [13].

Antioxidant activity is among the most studied topics in health care, in nutrition and food science. Various natural compounds from medicinal plants have important roles against oxidation processes and in preventing several chronic diseases. They have been proposed as an interesting alterna-

*Address correspondence to this author at the Laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO), département de chimie, université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie; E-mail: selleschaouki@yahoo.fr

tive to synthetic antioxidants with potential toxicological effects [14, 15]. Despite the high number of plants tested for their antioxidant activities, there are still many herbs and spices that have not yet been investigated. Throughout the world, the genus *Rhus* belonging to the Anacardiaceae family comprises over 250 species characterized by potential bioactive components and several biological activities [16]. According to Quezel and Santa [17], this genus is represented in the flora of Algeria by three species: *Rhus coriaria* L., *Rhus tripartitum* (Ucria DC.) and *Rhus pentaphylla* Desf. Commonly known as the “tizra” tree, *R. pentaphylla* is a sumac thorny and bushy shrub which grows spontaneously in the Mediterranean area, especially in the western part of Algeria in North Africa. *R. pentaphylla* is a drought-tolerant species which supports all soils. It is often a small tree 2-3 m that can reach 5 to 6 m in height. Its leaves with 5 leaflets, whole or more or less toothed at the top, are 5-7 times longer than wide. The fruit is a globular yellow-red drupe.

Both in traditional and modern medicines, *Rhus* species are widely used to treat various disorders and the most species of this genus have been assessed for chemicals and pharmacological properties [18-19]. Indeed, its several extracts have shown multiple biological activities, acting as antioxidants, antimicrobials, antifungals and antivirals [16, 20-21]. Other studies have reported that *Rhus* species have been shown to possess anti-inflammatory, antitumoral, neuro- and hepatoprotective activities [22-25]. Compared to other species of the same genus, *R. pentaphylla* is underutilized and remains poorly studied. Traditionally, its roots and heartwood rich in tannin have been used in Morocco in the tanning of leathers [26]. On the other hand, the bark aqueous extract was used to dye wool and silk fibers and has to be considered as a new promising source of natural textile colorant for protein fibers [27].

In herbal medicines, the leaves, roots and barks, in decoction, are used to fight gastrointestinal disorders while fruits, fresh or dried, are used to treat diarrhea and cure digestive ailments [28, 29]. Additionally, aqueous extracts of different parts of *R. pentaphylla* rich in tannins, flavonoids and coumarins revealed an important anticholinesterase activity that could be used to treat Alzheimer's disease. Thus, a correlation between the antioxidant and chemo-protective properties has been revealed [30]. In a recent study, the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of methanolic extracts from different plant parts of Tunisian and Moroccan *R. pentaphylla* Desf. populations were assessed. It has been shown that extracts exhibited substantial polyphenolic contents while the antioxidant activity, determined by DPPH and FRAP assays, was high. A significant correlation between antioxidant activity and phenolic content was established [31, 32]. Otherwise, a few investigations deal with essential oil profile of some *Rhus* species [33-35]. However, up to now, no study has been carried out on the chemical composition of both essential oil and hydrosol extract of the genus *pentaphylla*.

The objectives of this investigation were to (i) identify the chemical constituents of the essential oil, hydrosol extract and fatty acid obtained from different parts of *R. pentaphylla* grown in Algeria using Gas Chromatography (GC) and GC coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) (ii) evalu-

ate the major classes of polyphenolic compounds (iii) assess the radical scavenging activity of *R. pentaphylla*.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant Material

The aerial parts and roots of the *R. pentaphylla* were collected in February 2017 from around Marsat Ben M'hidi locality at about 90 km North West of Tlemcen, Algeria (100 m, 35°03'25.7"N 2°12'40.6"W). The plant material was authenticated by plant taxonomists in both, “Laboratory of Ecology and Ecosystem Management” and “Laboratory of Conservatory Management of Water”, Soil and Forests and Sustainable Development of the mountainous areas of the Tlemcen region”, Tlemcen University (Algeria). Voucher specimen has been kept in our laboratory. Once transported to the laboratory, the roots were separated from the aerial part, washed quickly under tap water, rinsed thoroughly with distilled water and then wiped with Joseph paper. Plant material was air-dried in a ventilated room and kept at dry place away from light and dust until use. To extract fatty acid and other phytochemical contents, different dried parts of *R. pentaphylla* were ground using a laboratory blender into fine powders, which were kept in closed desiccators at a refrigeration temperature before use.

2.2. Essential Oil and Hydrosol Extract Isolation

Air-dried aerial parts (leaves and stems) of *R. pentaphylla* were cut into small pieces and subjected to hydrodistillation for 4 hours using a conventional glass Clevenger-type apparatus whose boiling flask has a capacity of 5 liters according to the method recommended in the European Pharmacopoeia [36]. The volatile oils were dried over anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4) yielding 0.02% of yellow essential oil. In order to obtain the corresponding hydrosol extract, during the hydrodistillation, the first liter of condensed water was recovered and submitted three times to a liquid-liquid-extraction using 250 mL of diethyl ether at room temperature. The organic layer was evaporated and dried over Na_2SO_4 thus obtaining a yellowish oil with yield of 0.02% (w/w).

The volatile oils and the hydrosol extract were stored in waterproof amber glass vials at 4°C for the subsequent analyses. Their yields were calculated in relation to the weight of the dry vegetable matter [37].

2.3. Fatty Acid Extraction

In brief, about 10 g of each sample (fruit and root) were separately extracted for 5 h under reflux in a Soxhlet apparatus, using 200 mL of hexane. The extract was filtered and solvent was evaporated under reduced pressure using rotary vacuum evaporator. After removing the residual solvent under a stream of nitrogen, the obtained oily extract was gathered and dried on anhydrous Na_2SO_4 . The same procedure was performed in triplicate. The yields (w/w) expressed as the percentage of lipid in the dry matter of organ powder, were 10.4% for fruit and 7.7% for roots.

To analyze fatty acids, extracted oils were first converted to fatty acid methyl esters (FAMES) using transmethylation under alkaline conditions, according to the protocol followed

by DIB *et al.* [38] with minor modifications. Briefly, 1 g of lipids was mixed with 2 M sodium hydroxide in methyl alcohol (50 mL) and saponified by heating under reflux for 1 h 30 min. After cooling, demineralized water was added and the unsaponifiable components were extracted three times with 50 mL of diethyl ether. Then, the solvent was removed at 35°C under reduced pressure with a rotary evaporator. Then, the soapy aqueous solution was acidified with 1 mol.L⁻¹ HCl (pH 5-6) until the fatty acids were precipitated. The released fatty acids were extracted with diethyl ether (3 x 50 mL), dried on anhydrous Na₂SO₄ and weighed. The FAMES were obtained by adding BF₃-MeOH (10%) and then extracted three times with 50 mL of hexane. The organic layer was dried on Na₂SO₄ and evaporated. The solvent residue was removed under nitrogen flow and FAMES were kept in vials in a freezer until their analysis by gas chromatography. The yields (w/w) were 7.5% for fruits and 25% for roots.

2.4. Preparation of the Solvent Extracts

A solid-liquid-extraction was performed by putting 10 g of the ground air-dried plant material (Roots, Leaves and Fruits) in 100 mL of two different solvents methanol and distilled water separately. The extractions were performed under reflux using a soxhlet apparatus for one hour. Thereafter, the extracts were decanted, cooled and filtered through Whatman filter paper. Then, the methanolic extract was evaporated under vacuum rotary evaporator to dryness and kept in a refrigerator at +4°C until further use. For the aqueous extract, the filtrate was dried in the oven at 40°C to make a powder. The solid residue was stored in a desiccator in a freezer for subsequent use.

2.5. Determination of Total Phenolic Content (TPC)

Total phenolic content was determined spectrophotometrically according to the method described by Singleton and Rossi [39] with slight modifications.

Briefly, an aliquot (200 µL) of appropriately diluted aqueous extract and 0.5 mL of Folin & Ciocalteu's phenol reagent (diluted 1/10) were mixed. After 5 min, 800 µL of 7.5% sodium carbonate solution was added with mixing thoroughly and the mixture was incubated for 2 h in the dark at ambient temperature. The absorbance versus prepared blank was recorded at 760 nm on a UV-Visible spectrophotometer. Total phenolic contents were expressed as milligram gallic acid equivalents per gram (mg GAE/g) of dried sample referring to a gallic acid calibration curve. All experiments were carried out in triplicate.

2.6. Determination of Total Flavonoid Content (TFC)

Total flavonoid content of extracts was measured by aluminum chloride (AlCl₃) colorimetric assay based on the formation of a complex flavonoid-aluminum whose maximum absorbance is 430 nm. TFC estimation was performed according to Djeridane *et al.* [40] with minor modifications. 1 mL of each diluted methanolic extract was mixed with 1 mL of 2% AlCl₃ methanolic solution. After incubation for 10 min in the dark at ambient temperature, the absorbance of the reaction mixture was measured against a blank solution at 430 nm using a UV-Visible spectrophotometer. Quercetin was used to make the calibration curve, and the flavonoids

content was expressed as milligram quercetin equivalents per gram (mg QE/g) of dried sample. Each experiment was carried out in triplicate.

2.7. Determination of Condensed Tannins Content (CTC)

Condensed tannins were determined spectrophotometrically by the vanillin/HCl method according to Khattab and *al.* [41] with slight modifications. 500 µL of each diluted methanolic extract was mixed with 2.5 mL of a freshly prepared vanillin reagent (Mixture at equal volumes of 8% (v/v) HCl and 1% (w/v) vanillin, both in methanol) followed by stirring to obtain a colored solution. After incubation for 20 min in the dark at ambient temperature, the absorbance of the reaction mixture was measured against a blank solution at 500 nm using a UV-Visible spectrophotometer. Catechin was used to prepare the calibration curve, and the condensed tannins content was expressed as milligram catechin equivalents per gram (mg CE/g) of dried sample. All measurements were carried out in triplicate.

2.8. Estimation of Antioxidant Capacity

2.8.1. DPPH radical Scavenging Assay

This assay is based on the measurement of the scavenging ability of antioxidants towards the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The radical scavenging capacity of different samples was measured according to the procedure proposed by C. Sánchez-Moreno [42] with slight modifications. Briefly, 50 µL of each extract at different concentrations was added to a 1950 µL DPPH methanolic solution (0.025 g.L⁻¹). The mixture was shaken vigorously and left for incubation in the dark at ambient temperature for 30 min. Then, the absorbance of the resulting solution was recorded against a blank solution at 517 nm using a UV-Visible spectrophotometer. Ascorbic acid was used as a reference to compare the radical scavenging activity of extracts. Percentage of DPPH inhibition (I%) was estimated using the following equation:

$$I\% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

where A₀ and A₁ are the absorbance of the control (containing all reagents except the extract) and the extract, respectively. The scavenging activity on DPPH radical was expressed as IC₅₀, which is the concentration of extract required to give a 50% decrease of the absorbance and the IC₅₀ value was calculated from the graph. Each experiment was carried out in triplicate.

2.8.2. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay

FRAP assay was carried out according to M. Oyaizu [43] with minor modifications. Different amounts of extracts in 1 mL of methanol were mixed with phosphate buffer (2.5 mL, 0.2 mol.L⁻¹, pH 6.6) and potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆] (2.5 mL, 1%). The reaction mixture was incubated at 50°C for 20 min. After this, a portion (2.5 mL) of trichloroacetic acid (10%) was added to the mixture followed by centrifugation at 3000 rpm for 10 min. Finally, the upper layer of solution (2.5 mL) was mixed with distilled water (2.5 mL) and FeCl₃ (0.5 mL, 0.1%). Then, the absorbance of the resulting solution was measured against a blank solution at 700 nm using a UV-Visible spectrophotometer and compared with

ascorbic acid used as a positive control. The Reducing capacity was expressed as IC₅₀, which is the concentration of extract required to reduce 50% of the initial concentration of ferric thiocyanate. Each experiment was carried out in triplicate.

2.9. GC Analysis

GC analysis was carried out using PerkinElmer Clarus 600 GC apparatus (Walton, MA, USA) equipped with a dual flame ionization detection (FID) system and two fused-silica capillary column Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and Rtx-Wax (polyethylene glycol). (60 m×0.22 mm inner diameter, film thickness 0.25µm). The oven temperature was programmed from 60 to 230°C at 2°C/min and then held isothermally at 230°C for 35 min. Injector and detector temperature was maintained at 280°C.

Samples were injected in the split mode (1/50), using hydrogen as carrier gas (0.7 mL/min); injection volume, 0.2 µL. Retention indices (RI) of the compounds were determined from software PerkinElmer.

2.10. GC-MS Analysis

Samples were analyzed with a PerkinElmer Turbo mass detector (quadrupole), coupled to a PerkinElmer Autosystem XL. The apparatus was equipped with two fused-silica capillary columns Rtx-1 and Rtx-Wax. The oven temperature was programmed from 60 to 230°C at 2°C/min and then held isothermally at 230°C for 35 min. Hydrogen was employed as carrier gas (0.7 mL/min). The following chromatographic conditions were used: Injection volume, 0.2 µL. Ion source temperature: 150°C, ionization energy (EI): 70 eV, EI mass spectra were acquired over the mass range 35–350 Da (scan time: 1 s). Split mode becomes 1/80.

2.11. Component Identification and Quantification

The identification of individual compounds was based on their GC retention indices (RI) on polar and apolar columns, determined relative to the retention time of a series of n-alkanes with linear interpolation with those of authentic compounds, and on computer matching with commercial mass spectral libraries [44] and comparison of spectra with those of our own library. Relative amounts of individual components were performed on the basis of their GC peak areas without FID response factor correction.

2.12. Statistical Analysis

The assays were conducted in triplicate and all tabulated results were expressed as mean ± standard deviation (SD).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Essential oil and Hydrosol Extract Isolation

The total number of chemical components identified in essential oil and hydrosol from aerial parts was eighty-three and seventy-five respectively, accounting for 96.9% and 92.5% of the total extract composition, respectively (Table 1). All components were identified by comparison of their EI-MS and GC-retention indices using laboratory-produced

'Arômes' library in the Chemistry of Natural Products laboratory, Corse University, Corte, France.

Table 1 showed that oxygenated compounds dominated both essential oil and hydrosol. The essential oil was characterized by a high percentage of non terpenic compounds (50.2%), followed by sesquiterpenes compounds (40.1%) and monoterpenes compounds (6.0%).

The main components from aerial parts essential oil were hexadecanoic acid (31.5%) followed by spathulenol (14.9%), linolenic acid (3.5%), dodecanoic acid (3.2%), tetradecanoic acid (3.1%) and β-selinene (2.5%). On the other hand, the hydrosol extract from aerial parts was mainly characterized by three classes of oxygenated compounds: non terpenic compounds (32.3%), sesquiterpenes (30.1%) and monoterpenes (29.8%). However, hydrocarbons were not reported. Indeed, the main compounds present were spathulenol (14.2%), α-terpineol (5.2%), linalool (4.6%), hexadecanoic acid (4.2%) and 2-tridecanone (4.1%).

3.2. Fatty Acid Extraction

Table 2 shows the fatty acid concentration expressed as percentage of the total fatty acid concentration in each organ. Thirteen and eighteen fatty acids were identified and quantified in roots and fruits respectively. In the roots, palmitic acid (C16:0) was detected as a major fatty acid with the proportion of 43.2% followed in decreasing order of abundance by nonanoic acid (C9:0), decanoic acid (C10:0), palmitoleic acid (C16:1) and tridecanoic acid (C14:0). The other eight fatty acids were found at low percentages.

For the fruits, the most abundant fatty acids were tricosanoic acid (C23:0), palmitic acid (C16:0), heneicosanoic acid (C21:0) whose proportions are respectively 25%, 24.7%, 17.3% and at a less degree, palmitoleic acid (C16:1) (7.5%).

Palmitic acid present in the two organs is one of the most common saturated fatty acids found in animals, plants and most diets [45]. It is reported that the small-chain saturated fatty acids such as palmitic acid are used for the production of margarines, shortening and soaps. The oil compositions of both of fruit and root were dominated by saturated fatty acids (82.1% for the fruits and 76.1% for the roots) which provide the oil with a higher oxidative stability than unsaturated fatty acids. Otherwise, in the human diet, the most consumed saturated fatty acids are myristic, palmitic and stearic acids. On the other hand, the roots contained significant amounts of medium carbon chain fatty acids such as nonanoic (C9:0), decanoic (C10:0) and tridecanoic (C13:0) acids while the fruits are characterized by a high level of fatty acids with very long chain such as heneicosanoic (C21:0) and tricosanoic (C23:0) acids (17.3% and 25.4% respectively).

3.3. Contents of Total Phenols, Flavonoids and Tannins

Phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids and condensed tannins constitute a broad range of bioactive compounds which are considerably responsible for the antioxidant activities of plant materials [46]. The TPC, TFC and CTC of the extracts from different parts of *R. pentaphylla* are shown in Table 3. The contents of phenolic compounds

Table 1. Chemical compositions of the essential oil and hydrosol extract (% of fresh plant material) of *R. pentaphylla*.

N°	Compound ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Essential Oil ^e (%)	Hydrosol ^f (%)
1	Hexanal	770	765	1060	□	0.2
2	(E)-2-Hexenal	820	821	1206	□	0.5
3	(E)-3-Hexanol	832	828	1324	□	0.3
4	(Z)-3-Hexenol	838	841	1337	□	0.5
5	Hexanol	854	865	1368	□	0.6
6	Benzaldehyde	929	926	1502	□	0.4
7	α-Pinene	931	929	1016	0.6	□
8	Camphene	943	942	1061	0.3	□
9	Heptanol	950	949	1455	0.1	0.6
10	Octen-3-ol	959	957	1439	□	1.1
11	β-Pinene	970	969	1106	0.8	□
12	Phenylacetaldehyde	1013	1006	1617	tr	0.6
13	Benzylalcohol	1011	1009	1823	0.1	1.2
14	Limonene	1020	1020	1194	0.5	□
15	Acetophenone	1044	1032	1601	tr	0.5
16	trans-Sabinene hydrate	1051	1055	1428	tr	1.2
17	Octanol	1058	1058	1541	0.1	0.8
18	trans-Linalool oxide	1073	1074	1434	□	0.6
19	β-Phenylethanol	1080	1082	1919	0.2	2.5
20	Linalool	1081	1087	1531	0.4	4.6
21	Camphor	1123	1123	1514	tr	0.8
22	Isophorone	1124	1129	1578	0.2	1.6
23	Isoborneol	1148	1146	1671	□	0.8
24	Borneol	1150	1150	1681	0.5	2.6
25	Cryptone	1157	1159	1665	tr	1.2
26	Terpinen-4-ol	1161	1161	1584	0.6	2.8
27	Nonanol	1166	1167	1657	□	0.9
28	α-Terpineol	1179	1172	1677	0.5	5.2
29	Myrtenol	1177	1182	1769	0.3	2.4
30	α-Campholenol	1186	1186	1781	□	0.8
31	β-Cyclocitral	1200	1198	1614	□	1.5
32	Nerol	1214	1211	1679	0.9	1.1
33	Carvone	1222	1224	1745	□	0.7
34	Geraniol	1232	1235	1844	0.2	1.6
35	trans-Myrtenol	1241	1242	1859	□	0.5
36	(E)-2-Decanal	1248	1247	1650	□	0.2

Table (1) contd....

N°	Compound ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Essential Oil ^e (%)	Hydrosol ^e (%)
37	Lyratyl acetate	1256	1256	□	0.3	2.1
38	Indole	1269	1267	2359	0.4	□
39	Bornyl acetate	1270	1271	1566	tr	0.8
40	2-Undecanone	1273	1277	1580	tr	0.3
41	Carvacrol	1278	1284	2234	tr	1.2
42	Eugenol	1330	1330	2164	0.4	0.6
43	Decan-2-ol	1340	1356	1624	0.1	0.5
44	Undecanol	1359	1359	1827	0.2	0.2
45	α -copaene	1379	1372	1520	0.2	□
46	Decanoic acid	1380	1384	2287	0.1	0.9
47	Petasitene	1392	1396	1427	0.1	□
48	Dodecanal	1395	1405	1707	0.2	□
49	α -Ionone	1414	1413	1835	0.3	0.8
50	α -Gurjunene	1419	1420	1530	0.3	□
51	β -Cedrene	1424	1425	1590	0.4	□
52	Thujopsene	1425	1429	□	0.5	□
53	β -Copaene	1428	1433	1583	1.4	□
54	Neryl acetone	1430	1436	1827	tr	0.5
55	Aromadendrene	1441	1447	1602	0.3	□
56	α -Humulene	1454	1450	1664	0.2	□
57	Damascone	1456	1459	1809	0.3	1.2
58	Allo-Aromadendrene	1462	1460	1631	0.5	□
59	β -Ionone	1466	1466	1931	0.1	0.9
60	α -Curcumene	1471	1478	1772	0.3	□
61	γ -Curcumene	1474	1481	1685	0.4	□
62	β -Selinene	1483	1487	1715	2.5	□
63	2-Tridecanone	1491	1492	1815	0.1	4.1
64	Ledene	1494	1496	1691	0.8	□
65	β -Bisabolene	1500	1502	1711	0.5	□
66	α -Bisabolene	1518	1510	1740	0.7	□
67	Elemicine	1520	1517	2224	0.1	0.3
68	δ -Cadinene	1524	1531	1748	0.2	□
69	α -Cadinene	1535	1540	1755	0.5	□
70	Nerolidol	1546	1548	2044	1.2	0.5
71	α -Copaene-11-ol	1547	1552	2109	1.3	1.2
72	Epiglobulol	1558	1556	2024	0.8	0.5
73	Spathulenol	1568	1564	2093	14.9	14.2
74	Palustrol	1571	1567	1920	1.1	1.4
75	Dodecanoic acid	1572	1572	2443	3.2	1.1
76	Caryophellene oxide	1576	1579	1983	1.9	0.8

Table (1) cond....

N°	Compound ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Essential Oil ^e (%)	Hydrosol ^e (%)
77	Globulol	1580	1581	2074	1.5	1.2
78	Guaiol	1591	1588	2083	1.4	□
79	Copabomeol	1592	1592	2152	0.3	0.8
80	Viridiflorol	1593	1594	2085	□	0.3
81	Tetradecanal	1595	1596	2159	tr	0.2
82	Humulene epoxide II	1597	1601	2034	□	0.3
83	Ledol	1600	1607	2024	1.1	0.4
84	Benzophenone	1610	1611	2460	0.3	□
85	Cubenol	1611	1615	2074	□	0.4
86	Aromadendrene oxide II	1617	1620	1997	1.1	2.1
87	Epicubenol	1624	1622	2060	0.3	0.8
88	τ-Cadinol	1632	1632	2169	0.4	0.6
89	Hinesol	1636	1636	2195	1.2	1.5
90	β-Turmerone	1639	1638	□	□	0.5
91	β-Eudesmol	1644	1642	2234	0.5	0.4
92	α-Cadinol	1645	1649	2235	□	0.8
93	α-Eudesmol	1653	1654	2224	0.2	0.5
94	Bulnesol	1659	1659	2213	0.5	□
95	2-Oplophenol	1670	1670	2293	0.3	0.4
96	(Z, E)Farnesol	1687	1693	2307	0.3	0.5
97	Tetradecanoic acid	1748	1750	2651	3.1	0.6
98	Hexadecanal	1795	1793	2122	0.2	0.1
99	Phytone	1817	1824	2137	1.1	□
100	(Z, Z)-Farnesyl acetone	1844	1840	2295	0.3	0.4
101	Pentadecanoic acid	1848	1852	2783	0.2	0.2
102	Isophytol	1899	1902	2335	0.2	0.3
103	Cumbrene	1932	1937	□	2.1	□
104	Hexadecanoic acid	1968	1963	2867	31.5	4.2
105	Octadecanal	1995	1992	2359	0.2	□
106	Octadecanol	2070	2065	2582	0.3	tr
107	Phytol	2104	2092	2646	0.4	□
108	Linolenic acid	2115	2116	2587	3.5	□
109	Docosane	2200	2191	2185	0.3	□
110	Oleamide	2380	2389	□	0.3	□
111	Pentacosane	2500	2496	2485	0.4	□
112	Octacosane	2600	2609	□	0.3	□
	Total identification %				96.9	92.5

Table (1) contd....

N°	Compound ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Essential Oil ^e (%)	Hydrosol ^e (%)
	Oxygenated diterpenes				0.6	0.3
	Sesquiterpenes compounds				40.1	30.1
	Oxygenated sesquiterpenes				30.3	30.1
	Sesquiterpene hydrocarbons				9.8	□
	Monoterpenes compounds				6.0	29.8
	Oxygenated monoterpenes				3.8	29.8
	Monoterpene hydrocarbons				2.2	□
	Non terpenic compounds				50.2	32.3
	Non terpenic oxygenated				46.7	32.3
	Non terpenic hydrocarbons				3.5	□
	Alcohols				32.8	60.0

^aElution order on apolar column (Rtx-1). ^bRI_a: Retention indices of literature on the apolar column [44]. ^cRI_a: Retention indices on the apolar Rtx-1 column. ^dRI_p: Retention indices on the polar Rtx-Wax column. ^e Normalized % abundances given on the apolar column, tr= trace (< 0.05%), RI: retention indices.

Table 2. Fatty acid composition of *R. pentaphylla* as percentage of total fatty acid profile.

N°	Compound ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Fruits %	Roots %
1	Nonanoic acid (C9:0)	1210	1214	1497	4.1	10.1
2	Decanoic acid (C10:0)	1282	1279	1581	2.9	9.7
3	Undecanoic acid (C11:0)	1410	1413	1706	0.9	2.3
4	Lauric acid (C12:0)	1509	1510	1798	0.3	1.8
5	Tridecanoic acid (C14:0)	1572	1561	1921	1.8	4.3
6	Tetradecanoic acid (C14:0)	1713	1703	1986	0.1	0.8
7	Pentadecanoic acid (C15:0)	1817	1823	2146	0.5	1.6
8	Palmitoleic acid (C16:1)	1886	1904	2369	7.5	9.1
9	Palmitic acid (C16:0)	1928	1939	2087	24.7	43.2
10	Linolelaidic acid (C18:2)	1989	2003	2127	0.2	tr
11	Linoleic acid (C18:2)	2077	2067	2378	4.5	1.7
12	Oleic acid (C18:1)	2081	2070	2413	1.1	2.1
13	Elaidic acid (C18:1)	2085	2075	2420	2.2	2.2
14	Stearic acid (C18:0)	2111	2102	2394	1.3	2.3
15	Arachidic acid (C20:0)	2294	2302	2750	0.9	□
16	Henicosanoic acid (C21:0)	2395	2408	2460	17.3	□
17	Behenic acid (C22:0)	2502	2503	2511	1.9	□
18	Tricosanoic acid (C23:0)	2631	2624	2858	25.4	□
	Total identification %				97.6	91.2
	Saturated fatty acids (SFA)				82.1	76.1
	Mono unsaturated fatty acids (MUFA)				10.8	13.4
	Poly unsaturated fatty acids (PUFA)				4.7	1.7

^aElution order on apolar column (Rtx-1). ^bRI_a: Retention indices of literature on the apolar column [44]. ^cRI_a: Retention indices on the apolar Rtx-1 column. ^dRI_p: Retention indices on the polar Rtx-Wax column. ^e Normalized % abundances given on the apolar column, tr= trace (< 0.05%), RI: retention indices.

Table 3. Phenolic contents of the extracts from different parts of *R. pentaphylla*.

	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	CTC (mg CE/g)
Leaves (L)	26.93 ± 0.02	8.52 ± 0.03	13.52 ± 0.04
	83.17 ± 5.66 [31]	71.11 ± 1.60 [31]	
	48.26 ± 5.72 [31]	56.08 ± 1.42 [31]	
	39.33 ± 0.66 [32]	7.45 ± 0.53 [32]	
Fruits (F)	9.30 ± 0.09	6.17 ± 0.01	3.86 ± 0.03
	143.82 ± 5.72 [31]	14.28 ± 0.80 [31]	
	31.47 ± 5.65 [31]	7.93 ± 0.82 [31]	
Roots (R)	44.00 ± 0.09	2.61 ± 0.18	39.74 ± 0.08

Values are presented as mean ± standard deviation (n = 3)

varied between organs extracts. The highest levels of TPC and CTC and the lowest amounts of TFC were found in roots extracts, with the values of 44.00 ± 0.09 mg/g, 39.74 ± 0.08 mg/g and 2.61 ± 0.18 mg/g, respectively. Furthermore, lower quantities of TPC (9.30 ± 0.09 mg/g) and CTC (3.86 ± 0.03 mg/g) were observed in fruits extracts while the highest quantity of TFC (8.52 ± 0.03 mg/g) has been recorded in the leaves extract. The changes in phenolic contents from roots to the aerial part suggest a close relationship between each organ and different processes of biosynthesis, degradation and distribution of these compounds in the plant [31]. However, comparison between the polyphenolic compositions of different parts should be carried out in order to choose appropriate organ to use. Differences in TPC and TFC in fruits and leaves between our results and those reported on Tunisian and Moroccan *R. pentaphylla* (Table 3), reveal a great variability due to environmental factors such as pedoclimatic, agronomic and the degree of ripeness [47].

3.4. Estimation of Antioxidant Capacity

Essential oil and hydrosol extract isolated from the aerial parts of *R. pentaphylla* were assessed for their antioxidant activities *in vitro* using two different and complementary assays: the DPPH free radical scavenging and the FRAP determination. There are many *in vitro* methods for the assessment of antioxidant activity of foods, plant origin preparations, and other substances; the majority of them are based on single electron and hydrogen atom transfer reactions [48]. Those methods are widely used in estimation of antioxidant capacity thanks to their simplicity and precision. In order to evaluate antioxidant activities of *R. pentaphylla* extracts, IC₅₀ values were calculated and the results are shown in Table 4. At the lowest value of IC₅₀, corresponds the higher radical scavenging activity. Across the two testing methods, both evaluated extracts showed antioxidant activity lower than ascorbic acid well known as a strong antioxidant. In the DPPH method, the purple chromogen radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) is reduced by extracts to the corresponding pale-yellow hydrazine where antioxidant reducing compounds act as donors of hydrogen atoms or electrons. Therefore, this assay is considered an easy and useful spectrophotometric method with regard to screening/measuring

the antioxidant capacity of both pure compounds and complex samples [49]. The FRAP assay measures the reducing capacity of antioxidants based upon reduction of ferric ion (Fe³⁺) to ferrous iron (Fe²⁺). The FRAP method is simple, inexpensive and may offer a putative index of antioxidant capacity [49]. The results of antioxidant activity of *R. pentaphylla* hydrosol extract could be considered more interesting than essential oil (IC₅₀ values were respectively 6.41 ± 0.16 and 21.90 ± 0.40 mg/mL for DPPH assay and 0.44 ± 0.01 and 0.72 ± 0.04 mg/mL for ferric-reducing capacity). Otherwise, hydrosol extract compared to the ascorbic acid as standard antioxidant, revealed a good antioxidant activity with IC₅₀ values closer to the reference (IC₅₀ values were respectively 0.04 ± 0.01 and 0.01 ± 0.01 mg/mL for DPPH and FRAP assays) than essential oil. When we compared the results of the two methods, it seemed that results of antioxidant activities by FRAP test were higher than DPPH method.

The hydrosol extract of the *R. pentaphylla* aerial part has potential antioxidant activity and suggests that spathulenol, terpineol or myrtenol is responsible in part for antioxidant effect found in this study. It is very difficult to attribute the antioxidant effect of this essential oil to one or major components. However, the major compounds, also minor compounds may make a significant contribution to the oil activity. Indeed, α -terpineol, presented cytostatic effect against six cell lines, especially for breast adenocarcinoma and chronic myeloid leukemia [50]. On the other hand, according to the literature, myrtenol fully prevented the massive increase of cardiac reactive oxygen species generation and oxidative stress damage. Accordingly, myrtenol restored the impairment of endogenous antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and reductase) activities and balance of pro- and anti-apoptotic pathways (Bax and Bcl-2), associated with decreased apoptotic cells [51]. Furthermore, this might be related to the highest content of oxygenated compounds that act as strong bioactive components. Indeed, phenolic acids with aromatic rings bearing hydroxyl groups could exert antioxidant action by breaking the free radical chain by donating a hydrogen atom. Based on the reported studies on other aromatic plants, hydrosol extracts have usually higher antioxidant activity than essential oils [7-8, 11, 37, 52]. Otherwise, the obtained re-

Table 4. DPPH and FRAP radical-scavenging activities (IC₅₀) of essential oil and hydrosol extract from *R. pentaphylla*.

Extracts	DPPH (IC ₅₀ mg/mL)	FRAP (IC ₅₀ mg/mL)
Essential oil	21.90 ± 0.41	0.72 ± 0.04
Hydrosol extract	6.40 ± 0.16	0.44 ± 0.01
Ascorbic acid	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01

IC₅₀: Inhibition Concentration 50%.

sults also show that a large amount of antioxidants are lost during plant hydrodistillation process. The results showed that the hydrosol extracted from *R. pentaphylla* could effectively scavenge DPPH radical and exhibited good antioxidant activity. The results opened the opportunity for the use of hydrosol from *R. pentaphylla* as a raw natural antioxidant in food and pharmaceutical industries.

CONCLUSION

Chemical composition of essential oil and corresponding hydrosol extract obtained from the aerial parts of *R. pentaphylla* was studied for the first time. A total of 83 and 75 compounds respectively were identified using GC and GC-MS analysis. In accordance with hydrolate compositions from other aromatic plants, the *R. pentaphylla* hydrosol extract was characterized by the presence of only oxygenated compounds. On the other hand, qualitative and quantitative fatty acids compositions of fruits and roots were also investigated. They were dominated by saturated fatty acids (82.1% for the fruits and 76.1% for the roots) which give the oil a good oxidative stability. Besides, TPC, TFC and CTC of the extracts from different parts of *R. pentaphylla* showed that the highest levels of TPC and CTC were found in roots extract while higher quantities of TPC were observed in the leaves extract. Finally, the antioxidant activities of both essential oil and hydrosol extract from *R. pentaphylla* were determined by DPPH and FRAP assays.

The results showed that hydrosol extract could effectively scavenge DPPH radical and exhibited higher reducing power in comparison with essential oil, which can be attributed to the high content of active components. Indeed, the analyzed extracts were dominated by oxygenated compounds that could be responsible for the antioxidant activity. However, the chemical composition would allow to predict in an approximate way, the antioxidant capacity of both essential oil and hydrosol extract [53].

R. pentaphylla can be considered as a valuable source of natural antioxidants which can be used in development research on food, pharmaceutical and cosmetic industries by replacing synthetic antioxidants.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Not applicable.

HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No Animals/Humans were used for studies that are the basis of this research.

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

ACKNOWLEDGEMENTS

Corresponding author is sincerely thankful to Chemistry of Natural Products (CPN) laboratory, University of Corse, France for making available the GC and GC-MS apparatus for this work.

REFERENCES

- Balunas, M.J.; Kinghorn, A.D. *Drug discovery from medicinal plants*. Life Sciences, **2005**; vol 78(5), pp. 431-441.
- Fibrich, B.D.; Lall, N. *Chapter 10 - Maximizing Medicinal Plants: Steps to Realizing Their Full Potential*, in *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being*, N. Lall, Ed., Academic Press, **2018**; pp. 297-300.
- Jimenez-Garcia, S.N.; Vazquez-Cruz, M.A.; Guevara-Gonzalez, R.G.; Torres-Pacheco, I.; Cruz-Hernandez, A.; Feregrino-Perez, A.A. Current Approaches for Enhanced Expression of Secondary Metabolites as Bioactive Compounds in Plants for Agronomic and Human Health Purposes – a Review. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, **2013**, 63(2), 67-78.
- Sadgrove, N.; Jones, G. A Contemporary Introduction to Essential Oils. *Chemistry: Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. Agriculture*, **2015**, 5(1), 48-102.
- Costa, D.C.; Costa, H.S.; Albuquerque, T.G.; Ramos, F.; Castilho, M.C.; Sanches-Silva, A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Sci. Technol.*, **2015**, 45(2), 336-354.
- Mohammadhosseini, M. The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological properties and medicinal applications of essential oils and extracts of different *Ziziphora* species. *Ind. Crop. Prod.*, **2017**, 105: p. 164-192.
- Djabou, N.; Dib, M.A.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Chemical composition and antioxidant activity of hydrosol extracts obtained by liquid-liquid extraction (LLE) of *Daucus muricatus* L. *J. Essent. Oil Res.*, **2014**, 26(6), 393-399.
- Lemouchi, R.; Selles, C.; Dib, M.A.; Benmansour, N.; Allal, A.; Tabti, B.; Ouali, K. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil and Hydrosol Extract Obtained by Hydrodistillation (HY) and Liquid-Liquid Extraction (LLE) of *Psoralea bituminosa*. *J. Herbs, Spices Med. Plants.*, **2017**, 23(4), 299-307.

- [9] Tornuk, F.; Cankurt, H.; Ozturk, I.; Sagdic, O.; Bayram, O.; Yetim, H. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *Int. J. Food Microbiol.*, **2011**, 148(1), 30-35.
- [10] Tabet Zatla, A.; Dib, M.A.; Djabou, N.; Ilias, F.; Costa, J.; Muselli, A. Antifungal activities of essential oils and hydrosol extracts of *Daucus carota* subsp. *sativus* for the control of fungal pathogens, in particular gray rot of strawberry during storage. *J. Essent. Oil Res.*, **2017**, 29(5), 391-399.
- [11] Lante, A.; Tinello, F. Citrus hydrosols as useful by-products for tyrosinase inhibition. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **2015**, 27, 154-159.
- [12] Lin, C.C.; Yang, C.H.; Wu, P.S.; Kwan, C.C.; Chen, Y.S. Antimicrobial, anti-tyrosinase and antioxidant activities of aqueous aromatic extracts from forty-eight selected herbs. *J. Med. Plants Res.*, **2011**, 5(26), 6203-6209.
- [13] Hamdi, A.; Majouli, K.; Heyden, Y.V.; Flamini, G.; Marzouk, Z. Phytotoxic activities of essential oils and hydrosols of *Haplophyllum tuberculatum*. *Ind. Crop. Prod.*, **2017**, 97, 440-447.
- [14] Cömert, E.D.; Gökmen, B. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Res.Int.*, **2018**, 105, 76-93.
- [15] Shah, M.A.; Bosco, S.A.; Mir, S.J.D. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.*, **2014**, 98(1), 21-33.
- [16] Rayne, S.; Mazza, G. Biological activities of extracts from sumac (*Rhus* spp.): a review. *Plant foods hum. Nut.*, **2007**, 62(4), 165-175.
- [17] Quézel, P.; Santa, S. eds. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales - Tome II*. ed. Éd.C.N.d.I.R.S. Paris. **1963**; pp. 612-1171.
- [18] Abu-Reidah, I.M.; Ali-Shtayeh, M.S.; Jamous, R.M.; Arráez-Román, D.; Segura-Carretero, A. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. *Food Chem.*, **2015**, 166, 179-191.
- [19] Morshedloo, M.R.; Quassinti, L.; Bramucci, M.; Lupidi, G.; Maggi, F. Chemical composition, antioxidant activity and cytotoxicity on tumour cells of the essential oil from flowers of *Magnolia grandiflora* cultivated in Iran. *Nat. Prod. Res.*, **2017**, 31(24), 1-8.
- [20] Jasso de Rodríguez, D.; Trejo-González, F.A.; Rodríguez-García, R.; Díaz-Jimenez, M.L.V.; Sáenz-Galindo, A.; Hernández-Castillo, F.D.; Villarreal-Quintanilla, J.A.; Pena-Ramos, F.M. Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Ind. Crop. Prod.*, **2015**, 75, 150-158.
- [21] Shrestha, S.; Subaramaiah, S.R.; Subbaiah, S.G.P.; Eshwarappa, R.S.B.; Lakkappa, D.B. Evaluating the Antimicrobial Activity of Methanolic Extract of *Rhus Succedanea* Leaf Gall. *Bioimpacts*, **2013**, 4, 95-198.
- [22] Cho, N.; Choi, J.H.; Yang, H.; Jeong, E.J.; Lee, K.Y.; Kim, Y.C.; Sung, S.H. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of flavonoids isolated from *Rhus verniciflua* in neuronal HT22 and microglial BV2 cell lines. *Food Chem Toxicol.*, **2012**, 50(6), 1940-1945.
- [23] Peng, Y.; Zhang, H.; Liu, R.; Mine, Y.; Mc Callum, J.; Kirby, C.; Tsao, R. Antioxidant and anti-inflammatory activities of pyranoanthocyanins and other polyphenols from staghorn sumac (*Rhus hirta* L.) in Caco-2 cell models. *J. Funct. Foods.*, **2016**, 20, 139-147.
- [24] Khalilpour, S.; Behnammanesh, G.; Shah Abdul Majid, A.M.; Tamayol, A.; Shah Abdul Majid, A. Assessment of neuroprotective properties of *Rhus coriaria* L. ethanol extract in an *in vitro* model of retinal degeneration. *J. Herbal Med.*, **2017**, 10, 45-52.
- [25] Pourahmad, J.; Eskandari, M.R.; Shakibaei, R.; Kamalinejad, M. A search for hepatoprotective activity of aqueous extract of *Rhus coriaria* L. against oxidative stress cytotoxicity. *Food Chem. Toxicol.*, **2010**, 48(3), 854-858.
- [26] Roberts, M.; Etherington, D. *Bookbinding and the conservation of books: a dictionary of descriptive terminology*. **1982**; Library of Congress.
- [27] Ghouila, H.; Haddar, W.; Ben Ticha, M.; Baaka, N.; Meksi, N.; Mhenni, M.F.; Ben Jannet, H. *Rhus pentaphylla* Bark as a New Source of Natural Colorant for Wool and Silk fibers. *J. Tunisian Chem. Soc.*, **2014**, 6, 95-102.
- [28] Mazars, G. *Pharmacopée traditionnelle du Maroc : Jamal Bellakhdar, <i>La Pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires</i>*. Revue d'Histoire de la Pharmacie, **1998**; p. 465-466.
- [29] El Alami, A.; Loubna, F.; Abderrahman, C. Etude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc). *Algerian Journal of Natural Products*, **2016**, 4, 271-282.
- [30] Ben Mansour, H.; Yatouji, S.; Mbarek, S.; Houas, I.; Delai, A.; Dridi, D. Correlation between antityrosylcholinesterasic and antioxidant activities of three aqueous extracts from Tunisian *Rhus pentaphyllum*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, **2011**, 10, 32-32.
- [31] Chetoui, I.; Messaoud, C.; Boussaid, M.; Zaouali, Y. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variation among Tunisian natural populations of *Rhus tripartita* (Ucría) Grande and *Rhus pentaphylla* Desf. *Ind. Crop. Prod.*, **2013**, 51, 171-177.
- [32] Amri, O.; Elguiche, R.; Tahrouch, S.; Zekhnini, A.; Hatimi, A. Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *J. chem. Pharm. Res.*, **2015**, 7(7), 672-678.
- [33] Morshedloo, M.R.; Maggi, F.; Tavakoli Neko, H.; Aghdam, M.S. Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit: Essential oil variability in Iranian populations. *Ind. Crop. Prod.*, **2017**, 111(2018), 1-7.
- [34] Giovanelli, S.; Giusti, G.; Cioni, P.L.; Minissale, P.; Ciccarelli, D.; Pistelli, L. Aroma profile and essential oil composition of *Rhus coriaria* fruits from four Sicilian sites of collection. *Ind. Crop. Prod.*, **2017**, 97, 166-174.
- [35] Bestmann, H.-J.; Classen, B.; Kobold, U.; Vostrowsky, O.; Kungauf, F.; Stein, U. Steam volatile constituents from leaves of *Rhus typhina*. *Phytochem.*, **1988**, 27(1), 85-90.
- [36] Council of, E., *European pharmacopoeia*. 3rd ed.; Strasbourg: Council of Europe, **1997**.
- [37] Paolini, J.; Leandri, C.; Desjobert, J.-M.; Barboni, T.; Costa, J. Comparison of liquid–liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species. *J. Chromatogr. A.*, **2008**, 1193(1), 37-49.
- [38] Dib, M.A.; Bendahou, M.; Bendiabdellah, A.; Djabou, N.; Allali, H.; Tabti, B.; Costa, J. Partial chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus crinitus* Desf. extracts. *Grasas y Aceites*, **2010**, 61(3), 271-278.
- [39] Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, **1965**, 16(3), 144-158.
- [40] Djeridane, A.; Yousfi, M.; Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.; Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, **2006**, 97(4), 654-660.
- [41] Khattab, R.; Goldberg, E.; Lin, L.; Thiyam, U. Quantitative analysis and free-radical-scavenging activity of chlorophyll, phytic acid, and condensed tannins in canola. *Food Chem.*, **2010**, 122(4), 1266-1272.
- [42] Sanchez-Moreno, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci. Technol. Int.*, **2002**, 8(3), 121-137.
- [43] Oyaizu, M. Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap. J. Nutr.*, **1986**, 44, 307-315.
- [44] König, W.; Hochmuth, D.; Joulain, D. *Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils*. Library of MassFinder 2.1. University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany. **2001**.
- [45] Kien, C.L.; Bunn, J.Y.; Tompkins, C.L.; Dumas, J.A.; Crain, K.I.; Ebenstein, D.B.; Koves, T.R.; Muoio, D.M. Substituting dietary monounsaturated fat for saturated fat is associated with increased daily physical activity and resting energy expenditure and with changes in mood. *Am. J. Clinical Nut.*, **2013**, 97(4), 689-697.
- [46] Nile, S.; Shivraj Nile, A.; Keum, Y.S. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. *3 Biotech*, **2017**, 7(76),
- [47] Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. clinical. Nut.*, **2004**, 79(5), 727-747.
- [48] Huang, D.; Ou, B.; Prior, R.L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53(6), 1841-1856.
- [49] Magalhaes, L.M.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L.F.C. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, **2008**, 613(1), 1-19.

- [50] Bicas, J.L.; Neri-Numa, I.A.; Ruiz, A.L.T.G.; De Carvalho, J.E.; Pastore, G.M. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. *Food Chem Toxicol.*, **2011**, 49(7), 1610-1615.
- [51] Britto, R.M.; Silva-Neto, J.A.D.; Mesquita, T.R.R.; Vasconcelos, C.M.L.; de Almeida, G.K.M.; Jesus, I.C.G.; Santos, P.H.D.; Souza, D.S.; Miguel-Dos-Santos, R.; de Sá, L.A.; Dos Santos, F.S.M.; Pereira-Filho, R.N.; Albuquerque-Júnior, R.L.C.; Quintans-Júnior, L.J.; Guatimosim, S.; Lauton-Santos, S. Myrtenol protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through antioxidant and anti-apoptotic dependent mechanisms. *Food Chem. Toxicol.*, **2018**, 111, 557-566.
- [52] Shen, X.; Chen, W.; Zheng, Y.; Lei, X.; Tang, M.; Wang, H.; Song, F. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrosols from different parts of *Areca catechu* L. and *Cocos nucifera* L. *Ind. Crop. Prod.*, **2017**, 96, 110-119.
- [53] Amorati, R.; Foti, M.C.; Valgimigli, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. *J. Agric. Chem.*, **2013**, 61(46), 10835-10847.

Résumé :

Le travail effectué est constitué de deux parties : l'une porte sur la valorisation phytochimique et biologique de quatre plantes médicinales de la région de Tlemcen : *Rhus pentaphylla* Desf., *Ferula communis* L., *Rhaponticum acaule* L. et *Agave americana* L., par l'identification par CPG et CPG/SM de leurs compositions chimiques en huiles essentielles et en hydrolats, l'étude phytochimique de leurs extraits et l'évaluation de leurs activités antioxydantes par deux méthodes (FRAP et DPPH). La deuxième partie est consacrée à l'application des extraits aqueux dans la synthèse de nanoparticules d'argent. Ces dernières ont été analysées par différentes techniques (UV-Visible, FTIR, DRX..) et leurs activités : antioxydante (DPPH et FRAP) et anticorrosive (méthode gravimétrique) ont été investiguées.

Mots clés : huile essentielle, hydrolat, composés phénoliques, nanoparticules d'argent, activité antioxydante et activité anticorrosive.

Abstract :

The work carried out is made up of two parts: one relates to the phytochemical and biological valorization of four medicinal plants of the region of Tlemcen: *Rhus pentaphylla* Desf., *Ferula communis* L., *Rhaponticum acaule* L. and *Agave americana* L., by identification by CPG and CPG/SM of their chemical compositions in essential oils and in hydrosols, the phytochemical study of their extracts and the evaluation of their antioxidant activities by two methods (FRAP and DPPH). The second part is devoted to the application of aqueous extracts in the synthesis of silver nanoparticles. The latter were analyzed by different techniques (UV-Visible, FTIR, DRX, ..) and their activities : antioxidant (DPPH and FRAP) and anticorrosive (gravimetric method) were investigated.

Key words : essential oil, hydrosol, phenolic compounds, silver nanoparticles, antioxidant activity and anticorrosive activity.

ملخص:

يتكون العمل المنجز من جزأين: أحدهما يتعلق بالتحديد الكيميائي والبيولوجي لأربعة نباتات طبية في منطقة تلمسان: *Agave americana* L. و *Rhaponticum acaule* L.، *Ferula communis* L.، *Rhus pentaphylla* Desf. الكيميائية بواسطة CPG و CPG/SM للزيوت الأساسية والهيدروسولات، والدراسة الكيميائية النباتية لمستخلصاتها وتقييم أنشطتها المضادة للأوكسدة بطريقتين (FRAP و DPPH). يكرس الجزء الثاني لتطبيق المستخلصات المائية في تخليق الجسيمات النانوية الفضية. تم تحليل هذه الأخيرة بواسطة تقنيات مختلفة (UV-Visible، FTIR، DRX، ..) والتحقق في أنشطتها المضادة للأوكسدة (FRAP و DPPH) والمضادة للتآكل (طريقة الوزن).

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري، الهيدروسول، المركبات الفينولية، الجسيمات النانوية الفضية، نشاط مضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للتآكل.