



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

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par :

Mr Azzouz Abdelhak

Sur le thème

Optimisation des conditions d'extraction assistée par Ultrason des polyphénols de la plante Ephédra

Soutenu via teams le 07juillet 2021 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme GUENDOZ Souhila	Professeur	Université de Tlemcen	Présidente
Mme Bouazzaoui Naima	Professeure	Université de Mostaganem	Encadrante
Mr Selka Adil	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur
Mme KENICHE ASSIA	Professeur	Université de Tlemcen	Co-encadrante

DEDICACE

Je dédie ce travail

*A mes chers parents, ma mère Hafida et mon père Bouazza Pour leur patience, leur amour,
leur soutien et leur encouragement tout au long de ma vie.*

A mes frères Walid et Akram

A ma petite sœur

À toute ma famille Azzouz de près ou de loin.

*A ma encadrante Bouazzaoui Naimai qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa
direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*A ma Co-encadrante Keniche Assia qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce
travail*

*A La promotion de master 2 chimie pharmaceutique
À mes amies.*

À tous ceux qui me connais-Je dédie ce modeste travail

REMERCIEMENTS

A Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné le courage, la santé, et accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de " chimie organique substance naturelles et analyses " (COSNA) Université abou baker belkaid tlemcen (U.A.B.B.T)

Merci également au Dr Naima Bouazzoui pour m'avoir encadré

Merci également au Dr djabou directeur de laboratoire de chimie organique substances naturelles et analyses.

Merci également au doctorantes Yasmine, Fatima, Amina pour m'avoir soutenue tout au long de mon travail

J'exprime aussi mes remerciements et notre gratitude à Dr Kennich Assia pour leur encouragement et leur aides précieuses durant toute la période de notre travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Absorption.

A c : Absorbance contrôle.

AG : acide gallique

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

A t : absorbance du test effectué

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl.

Et : Ethanol

E Alata : Ephédra Alata

Fe⁺³ : Fer ferrique.

Fe²⁺ : Fer ferreux

FeCl₃ : Chlorure ferrique

HgCl₂ : Chlorure de mercure

IC 50 : Concentration inhibitrice a 50%.

g : gramme

mg : milligramme

mg/ml : milligramme par millilitre

mg/g : milligramme par gramme

µg : Microgramme

µg/ml : microgramme par millilitre

ml : millilitre

nm : nanomètre

PH : potentiel d'hydrogène.

Liste des Tableaux

Tableau 1: conditions d'extraction par Ultrason:	17
Tableau 2:Rendement des différents extraits	23
Tableau 3: Rendement des extractions assistées par ultrason de deux espèces de la plante Ephédra (Soumaya et al, 2020):	24
Tableau 4:Rendement d'extraction de la plante Ephédra alata de l'Ouarsenis Algérien (CHelli Maroua et al,2018):	25
Tableau 5:Resultats de la mise en évidence des tests phytochimiques:	26
Tableau 6:Comparaison avec la littérature (extraction par macération)	26
Tableau 7:Rendements des extractions	28
Tableau 8:Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des 5 extrais:	29
Tableau 9: Teneur des polyphénols totaux des extraits obtenus par une extraction assistée par ultrason de deux espèces de la plante Ephédra (Soumaya et al ,2020):	30
Tableau 10:resultats des IC50 et de valeur maximale d'absorbance	32
Tableau 11:tableau comparative des rendements assistee par ultrason de trois solvants	36
Tableau 12:absorbance de l'étalonnage d'acide gallique:	36
Tableau 13:absorbance des extrais des polyphénols assistée par extraction par ultrason:	36
Tableau 14:absorbance des extraits de flavonoïdes par ultrason	36
Tableau 15:absorbance de l'étalonnage de quercetine	36
Tableau 16 : pourcentage d'inhibition des échantillon (5 expériences):	37
Tableau 17:absorbance de l'étalonnage d'acide ascorbique (avec DPPH)	38
Tableau 18:absorbance des échantillons (5 expériences):	38
Tableau 19: absorbance de l'étalonnage d'acide ascorbique (avec frap):	39

Liste des figures

<i>Figure 1: la plante éphédra alata</i>	<i>3</i>
<i>Figure 2: les principaux alcaloïdes de l'éphédra.....</i>	<i>6</i>
<i>Figure 3: les flavonoïdes de l'éphédra</i>	<i>7</i>
<i>Figure 4: les tannins de l'éphédra.....</i>	<i>8</i>
<i>Figure 5: montage de la macération a froid</i>	<i>9</i>
<i>Figure 6: montage de l'extraction par soxhlet.....</i>	<i>10</i>
<i>Figure 7: montage d'extraction par hydrodistillation</i>	<i>11</i>
<i>Figure 8 : montage d'extraction par distillation a la vapeur d'eau</i>	<i>11</i>
<i>Figure 9: la plante Éphédra alata</i>	<i>15</i>
<i>Figure 10: filtration d'échantillon après macération a froid.....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 11: montage de soxhlet</i>	<i>16</i>
<i>Figure 12: extraction par l'ultrason.....</i>	<i>18</i>
<i>Figure 13: Réaction du DPPH avec les polyphénols</i>	<i>20</i>
<i>Figure 14 : Histogramme des rendements des extrait des différentes méthodes d'extraction avec différents solvants</i>	<i>24</i>
<i>Figure 15: Histogramme de pourcentage de rendement des expériences.....</i>	<i>28</i>
<i>Figure 16: Histogramme comparatives de la quantité des polyphénols des 5 expériences..</i>	<i>30</i>
<i>Figure 17: Histogramme de la quantité comparative des flavonoïdes des 5 expériences</i>	<i>31</i>
<i>Figure 18: histogramme de l'activité antioxydante par DPPH.....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 19: courbe de l'absorbance en fonction de concentration (mg/ml)</i>	<i>33</i>
<i>Figure 20: courbe d'étalonnage d'acide gallique</i>	<i>39</i>
<i>Figure 21: courbe d'étalonnage de quercetine</i>	<i>40</i>
<i>Figure 22: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique avec DPPH</i>	<i>40</i>
<i>Figure 23: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique avec frap</i>	<i>41</i>
<i>Figure 24: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 1.....</i>	<i>41</i>
<i>Figure 25: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 2.....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 26: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration de l'extrait d'expérience 3.....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 27: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 4.....</i>	<i>43</i>
<i>Figure 28 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 5.....</i>	<i>43</i>

SOMMAIRE :

Introduction générale	1
1 Partie 01 : Généralité sur la plante Ephédra :.....	3
1.1 Description botanique de la plante Ephédra alata :.....	3
1.2 Utilisation de la plante dans le domaine thérapeutique	4
1.3 Toxicologie de la plante	5
1.4 Etude de la composition chimique de la plante.....	6
1.4.1 Les alcaloïdes	6
1.4.2 Les flavonoïdes	6
1.4.3 Les tannins	7
1.4.4 Les polysaccharides	8
1.5 Propriété pharmacologique de la plante.....	8
2 Partie 02 : Techniques d'extraction des substances naturelles :.....	9
2.1 Techniques conventionnelles	9
2.1.1 La macération	9
2.1.2 Extraction par soxhlet	10
2.1.3 I.3. L'hydrodistillation.....	10
2.1.4 Entraînement à la vapeur.....	11
2.2 Techniques nouvelles	12
2.2.1 II.1. Extraction assistée par microonde.....	12
2.2.2 Extraction assistée par ultrason.....	12
3 Matériel et méthode	15
3.1 Matériel végétale	15
3.2 Méthodes d'extraction	15
3.2.1 Extraction par macération à froid	15
3.2.2 Extraction par soxhlet.....	16
3.2.3 Extraction par Ultrason	17
3.3 Tests phytochimiques	18
3.3.1 Détection des flavonoïdes.....	18
3.3.2 Détection des tannins	18
3.3.3 Détection des alcaloïdes	18
3.4 Dosage des polyphénols	19
3.5 Dosage des flavonoïdes	19
3.6 Activité anti-oxydante	19
3.6.1 Activité anti-oxydante avec DPPH.....	19

3.6.2	Activité anti-oxydante avec frappe :	20
4	Résultats et discussion	23
4.1	Comparaison des méthodes d'extraction de la plante Ephédre alata	23
4.1.1	Rendements selon les différentes méthodes d'extractions	23
4.1.2	Résultats des tests phytochimiques :	25
4.2	Extraction assistée par l'ultrason	27
4.3	Optimisation des conditions d'extraction.....	27
4.3.1	Rendement des extractions	28
4.3.2	Dosage des polyphénols et en flavonoïdes :	29
4.3.2.1	Dosage des polyphénols	30
4.3.2.2	Dosage des flavonoïdes	31
4.3.3	Evaluation de L'activité anti –oxydante :	32
4.3.3.1	Activité antianxydante par la méthode DPPH	32
4.3.3.2	Activité antianxydante par la méthode FRAP	33
	Conclusion générale.....	34

Introduction générale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les différentes maladies. Leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voir des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti et al., 2003).

Les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits en particulier dans les domaines nutraceutiques, pharmaceutique, la cosmétique et les parfums.

L'*Ephédra alata* est une plante médicinale connue et employée en Chine depuis plus de cinq mille ans, elle est très stimulante et tient une place importante dans la tradition herboriste de plusieurs pays. Elle est traditionnellement utilisée pour traiter le rhume, l'asthme bronchique, la toux, la fièvre, la grippe, les maux de tête, les œdèmes et les allergies (Zhang Ben-Mei, et al., 2018; Evans, 2009 ; Bagheri-Gavkosh et al, 2009 ; Gherraf et al, 2014).

L'*Ephédra alata* est très répandue dans les zones sahariennes du sud Algérien et dont l'utilisation a considérablement augmenté récemment, du à plusieurs recherches qui affirment son effet anticancéreux dans plusieurs pays.

La valeur thérapeutique de cette plante est due à ses métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tannins. Les techniques traditionnelles d'extraction de ces principes actifs nécessitent la plupart du temps l'utilisation des solvants organiques à des températures élevées pendant une durée de temps importantes.

Pour réduire le temps d'extraction et le risque de ces conditions sur une éventuelle dégradation des composés les plus thermolabiles par effet de la chaleur, des approches scientifiques modernes d'extraction ont vu le jour. En effet, les techniques innovantes tel que l'extraction

par CO₂ supercritique, par micro-onde ou par ultrason sont de plus en plus utilisées pour l'extraction des substances naturelles à partir des plantes médicinales.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui s'intitule : « Optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrason des polyphénols de la plante *Ephédra* »

Nous avons fixé les objectifs suivants :

1. Une étude comparative de trois méthodes d'extraction : la macération à froid, le soxhlet et l'ultrason en utilisant différents solvant. La comparaison porte sur le rendement et sur une étude phytochimiques des extraits obtenus.
2. Optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrason des polyphénols.
L'optimisation porte sur deux paramètres : le temps et le rapport liquide solide.

Le but est d'étudier les conditions d'extraction sur le rendement en extrait et sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes. L'activité antioxydante a également été évaluée sur les extraits obtenus.

Nous avons adopté un plan classique pour la présentation de notre travail :

Le premier chapitre : est consacré à l'état de l'art à travers une synthèse bibliographique. Elle comprend deux parties :

Une première partie s'intéresse à la présentation de la plante *Ephédra*.

Une deuxième partie se focalise sur les différentes méthodes d'extraction des substances naturelles à partir des plantes.

Un deuxième chapitre : expose les protocoles expérimentaux que nous avons adoptés pour mener à bien notre étude.

Le troisième chapitre : consacré aux résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Notre manuscrit se termine par une conclusion générale sur les différents travaux réalisés et les perspectives à développer à l'avenir.

1 Partie 01 : Généralité sur la plante Ephédra :

La famille des *Ephédraceae* ne renferme qu'un seul genre *Ephédra* composé de plus de 60 espèces que l'on rencontre dans toute l'Asie, l'Amérique, l'Europe et l'Afrique du Nord. Ces espèces ont une valeur médicinale, écologique et économique (Zhang Ben-Mei, et al., 2018).

1.1 Description botanique de la plante Ephédra alata :

- ✓ Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes, réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau (FIG. 1). C'est un arbuste de 0,5 à 2 m de haut (Ozenda, 1991; Danin, 1973).
- ✓ Les rameaux sont articulés et portent au niveau des nœuds des feuilles réduites en écailles et opposées, alternes.
- ✓ Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes blanchâtre, dioïques. Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents. Les cônes mâles sont groupés en chatons jaunâtres, les cônes femelles à bractées s'accroissent pendant la maturation.
- ✓ Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant, sa floraison est du mois de Mars à Juin (Derbal et al 2010).



Figure 1: la plante éphédra alata *Ephédra Alata alenda* (Ozenda, 1991).

La position systématique d'*Ephédra alata* est la suivante (Ozenda, 1991) :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Ggnetopsida
Ordre :	Ephédrales
Famille :	Ephédraceae
Genre :	<i>Ephédra</i>
Espèce :	<i>Ephédra alata</i>

1.2 Utilisation de la plante dans le domaine thérapeutique

L'Ephédra est l'une des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies. En effet, les tiges séchées sont traditionnellement utilisées pour traiter le rhume, l'asthme bronchique, la toux, la fièvre, la grippe, les maux de tête, les œdèmes et les allergies (Zhang Ben-Mei, et al., 2018; Evans, 2009 ; Bagheri-Gavkosh et al, 2009 ; Gherraf et al, 2014).

En Russie, la plante est utilisée pour le traitement des troubles respiratoires et rhumatismes pendant de nombreux siècles (Al-sanafi, 2017).

En Egypte, *Ephédra alata*, est utilisée comme dépurative, hypotensive et antiasthmatique (Nawwar et al, 1984). Elle est également utilisée contre le diabète au Maroc (Ghourri et al, 2013).

Ephedra alata est connue pour son usage en médecine traditionnelle dans plusieurs régions d'Algérie. Elle est utilisée contre la grippe, la coqueluche, la faiblesse, et les rhumes par la population de la région d'Ourgla (Ould El Hadj et al, 2003 ; Chehla et Réda Djebbar, 2008).

Dans la région d'El Oued, la plante est utilisée contre les avortements, le cancer, le diabète, la toux, l'ulcère gastrique, la grippe, les gaz intestinaux, l'obésité et l'insuffisance rénale et

cardiaque (Belgacemi et Dou, 2019). Le cancer n'est traité que par *Ephédra alata* pour la communauté des Touareg de la région d'Illizi (Miara et al, 2019).

Des recherches menées par Benaïssa et al. (2018) et Hadjadj et al (2019) ont montré qu'*Ephédra alata* est très utilisée par la population rurale de la steppe Algérienne (wilaya de Naâma) comme anticancéreuse, antidiabétique et hypotenseur.

Divers organes de la plante sont utilisés en médecine traditionnelle. Selon une étude réalisée par Hadjadj et al, 2020, sur l'importance thérapeutique de la plante *Ephédra alata* dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de Guettara (Djelfa, Algérie) ; les organes couramment utilisés sont : la partie aérienne ou tiges vertes et les fruits. Les tiges vertes sont les plus utilisés à raison de 93% et les fruits avec un pourcentage de 7%.

L'infusion constitue le moyen le plus pratiqué et la méthode consiste à verser de l'eau chaude sur les tiges vertes de la plante pendant 20 à 30 minutes. Il est conseillé d'ajouter du miel à la tisane obtenue et la servir soit chaude ou froide selon la maladie à traiter.

Selon toujours cette étude, la préparation de tisane consiste à ajouter selon l'âge de l'individu malade entre 20 et 40 g des tiges vertes non séchées à un litre d'eau. La tisane sera conservée et consommée entre deux à trois fois par semaine (Hadjaj et al, 2020).

1.3 Toxicologie de la plante

L'utilisation de l'*Ephédra* est connue pour être associée avec des effets néfastes, tel que des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (Peters et al, 2005). C'est la raison pour laquelle son utilisation est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre indiqué pour l'utilisation à long terme (Chen et al., 2010).

Les effets toxicologiques de l'*Ephédra* semblent être attribués à ses alcaloïdes de type éphédrine, principalement pseudo-éphédrine (Chen et al., 2010 ; Limberger et al., 2013). A forte dose, l'éphédrine provoque une hépatotoxicité avec une nécrose massive visible lors de l'examen histologique (Zheng et Navarro, 2016), elle induit aussi la nervosité, l'insomnie, maux de tête, vertiges, palpitations sueurs, nausées et vomissement, parfois des douleurs précordiales et quelque fois des dermatites (Peters et al., 2005).

1.4 Etude de la composition chimique de la plante

Des études phytochimiques sur la plante *Ephédra* ont montré la présence de plus de 145 composés qui ont été isolés et identifiés, dont ; les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les polysaccharides (Zhang Ben-Mei, et al., 2018).

1.4.1 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires, le plus souvent localisés dans les tissus périphériques, assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graines (Krief, 2003). Leurs principales propriétés pharmacologiques connues sont dépresseurs ou stimulant au niveau du système nerveux central, sympathomimétique, parasymphatomimétique au niveau du système nerveux autonome, anesthésiques locaux, antipyrétique, antitumoraux (Bruneton., 2009)

Les alcaloïdes sont les principaux composants de *l'Ephédra*, vingt-neuf composés ont été isolés et identifiés (Zhang Ben-Mei, et al., 2018). Les plus importants sont l'éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthyle pseudoéphédrine (Fig 00) (Al-Snafi, 2017).

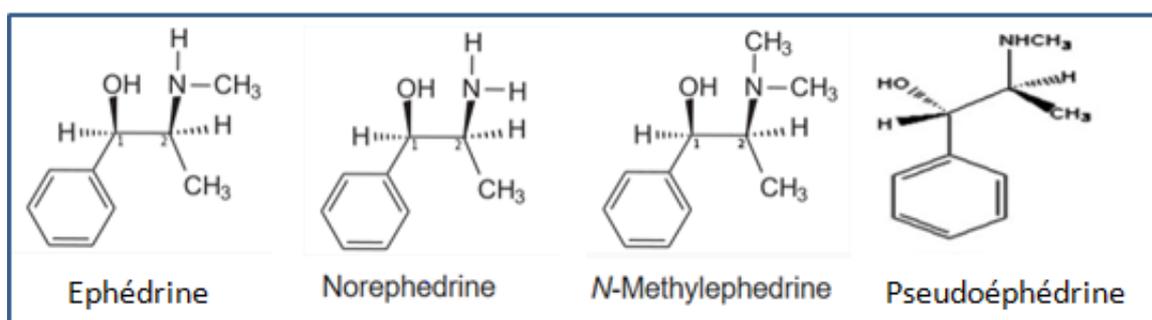


Figure 2: les principaux alcaloïdes de l'éphédra

1.4.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et al., 2006), ils sont présents dans une grande variété d'aliment. Les flavonoïdes sont dépourvus de toxicité et ont des propriétés tinctoriales et vitaminiques.

Il existe plusieurs classe des flavonoïdes dont les principales sont les flavones, les flavonols, les isoflavones, les flavonones, ext. Plus de Quarante flavonoïdes ont été identifiés dans le genre *Ephédra* dont les plus important ; les flavones et leurs glycosides ainsi que les flavonols et leurs 3-O-glycosides (**Fig 03**) (Zhang Ben-Mei, et al., 2018).

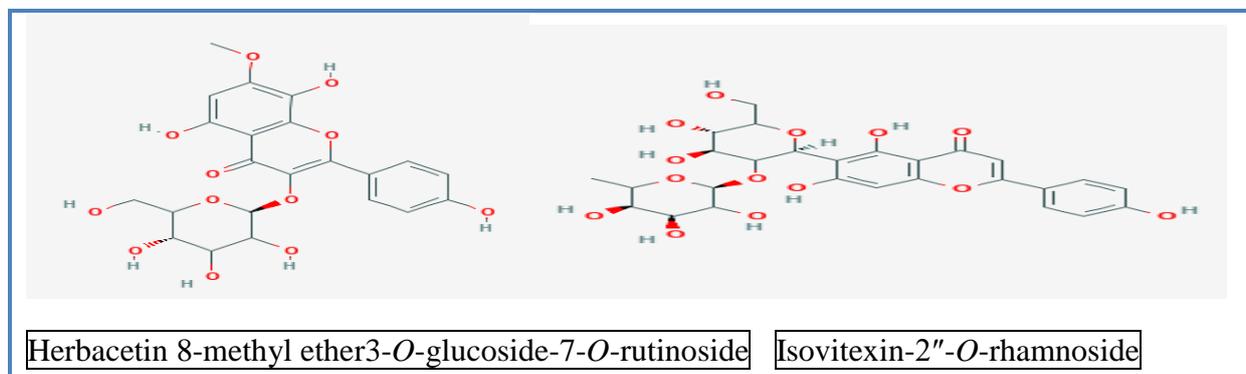


Figure 3: les flavonoïdes de l'éphédra

1.4.3 Les tannins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans presque toutes les parties de la plante, (Khanbabae et van Ree, 2001). Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines, d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Macheix et al., 2005). Mais il existe aussi une autre classe qui peut également être envisagée: les tanins complexes (Arbenz et Avérous, 2015).

Grâce à leurs astringentes les tanins sont utilisés comme anti diarrhéiques vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans traitement des varices et hémorroïdes (Paris et Hurabielle., 1981).

Plus de quarante tannins ont été identifiés dans le genre *Ephédra* principalement les tanins condensés de la proanthocyanidines (**Fig 04**) (Zhang Ben-Mei, et al., 2018).

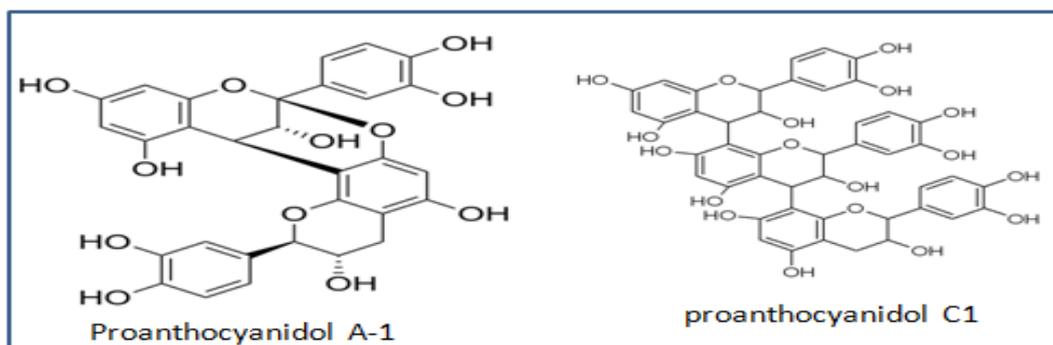


Figure 4: les tannins de l'éphédra

1.4.4 Les polysaccharides

Les composants à grosses molécules des espèces d'*Ephédra* ont également été étudiés. Ils contiennent une quantité élevée de polysaccharides, qui représentent entre 3 à 5 % du poids total de la matière sèche (Zhang Ben-Mei, et al., 2018).

1.5 Propriété pharmacologique de la plante

La richesse de la plante *Ephédra* en substances naturelles bioactives lui confère des propriétés pharmacologiques prouvées dans beaucoup de travaux antérieurs, dont voici quelques uns :

L'extrait aqueux d'*Ephédra alata* égyptienne présente un potentiel d'inhibition significatif *in vitro* et *in vivo* contre la croissance et la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* (Al-Qarawi et al, 2012).

Une étude a montré que les cinq glycanes actifs isolés de l'*Ephédra* ont réduit significativement le taux de glucose sanguin chez des souris normales et diabétiques (Konno et al., 1985). Ainsi que l'extrait alcoolique de l'*Ephédra alata* a présenté un abaissement persistant du taux de glucose sanguin une heure après son administration à des rats à jeun (Shabana, 1990).

Les composés phénoliques isolés de l'*Ephédra* présentent une activité antimicrobienne importante contre les bactéries Gram-Positives et les bactéries Gram-négatives (Khan et al., 2017).

D'autres études ont montré que deux flavonoïdes isolés de la plante *Ephédra* présentent des activités antiprolifératives et analgésiques importantes (Oshima N, 2017)

En Tunisie, [Sioud et al, 2020](#) ont montré que l'extrait d'*Ephédra alata* inhibait la viabilité cellulaire des cellules cancéreuses.

2 Partie 02 : Techniques d'extraction des substances naturelles :

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits à haute valeur ajoutée provenant du règne végétal. Ces techniques peuvent être considérées soit conventionnelles ou classiques telles que l'extraction par macération, par infusion et au Soxhlet, ou nouvelles comme l'extraction assistée par micro-ondes, par ultrasons, ou par fluide supercritique.

2.1 Techniques conventionnelles

2.1.1 La macération

La macération est connue et exploitée au moins depuis l'antiquité, il s'agit d'une technique d'extraction solide-liquide destinée à retirer d'une substance solide les espèces chimiques qu'elle contient en les dissolvant dans un liquide. Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective.

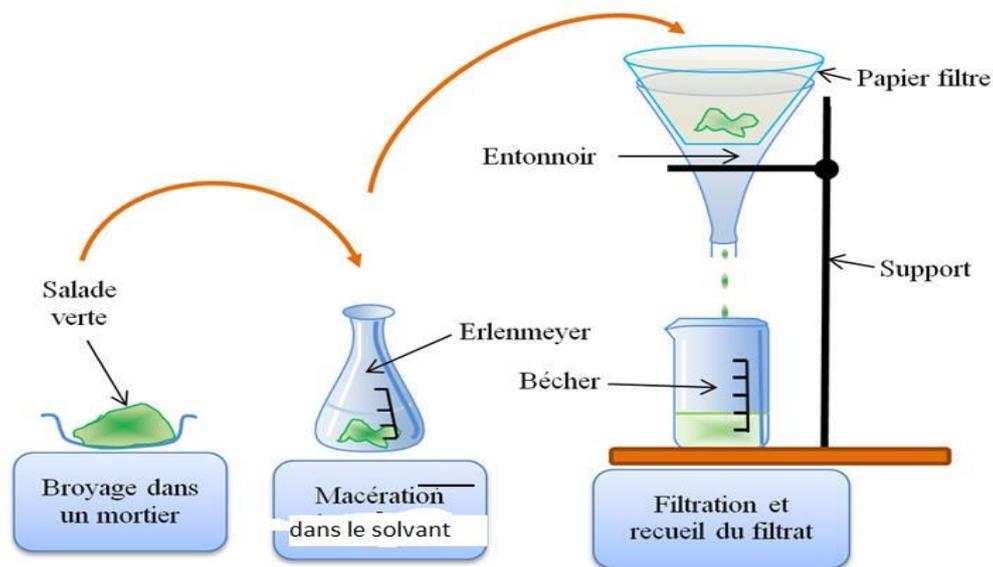


Figure 5: montage de la macération a froid

2.1.2 Extraction par soxhlet

L'extraction par soxhlet a été employée depuis longtemps, la conception de cette technique a été mise au point pour la première fois par Franz von Soxhlet en 1879 pour la détermination de la teneur lipidique du lait (Soxhlet, 1879).

Le principe consiste à peser et mettre la matière à extraire dans la cartouche de soxhlet. Le solvant est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction, l'opération est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair. Le schéma de l'appareil soxhlet est le suivant :

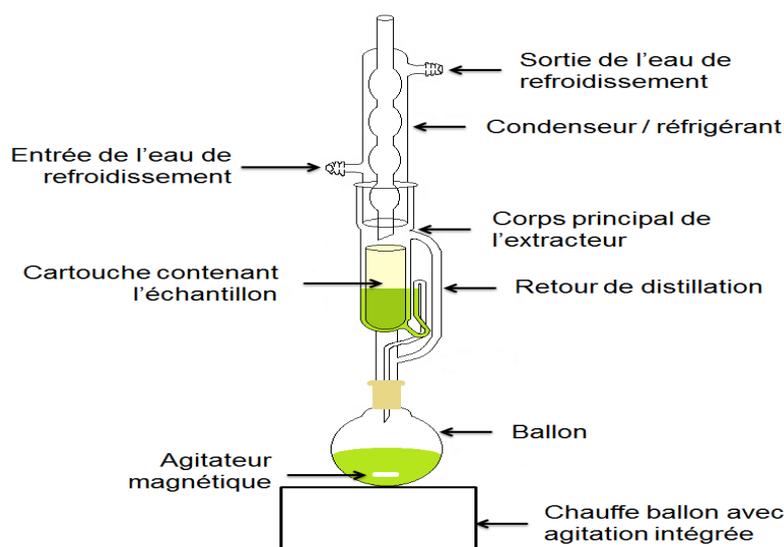


Figure 6: montage de l'extraction par soxhlet

La méthode de Soxhlet est très simple, elle ne nécessite aucune filtration après extraction. Cependant, elle présente l'inconvénient d'une éventuelle possibilité de dégradation thermique des composés cibles vu que l'extraction s'opère habituellement au point d'ébullition du solvant pendant un temps assez long.

2.1.3 I.3. L'hydrodistillation

Dans le cas de l'hydrodistillation, la plante se trouve dans un réacteur où elle est en contact direct avec l'eau bouillante. Selon la densité ou la quantité de la plante utilisée, elle peut flotter ou être complètement immergée dans l'eau. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. Le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale. Un condenseur permet de refroidir ces vapeurs afin de récupérer ces substances dans des récipients appropriés (**figure 07**).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter.

La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

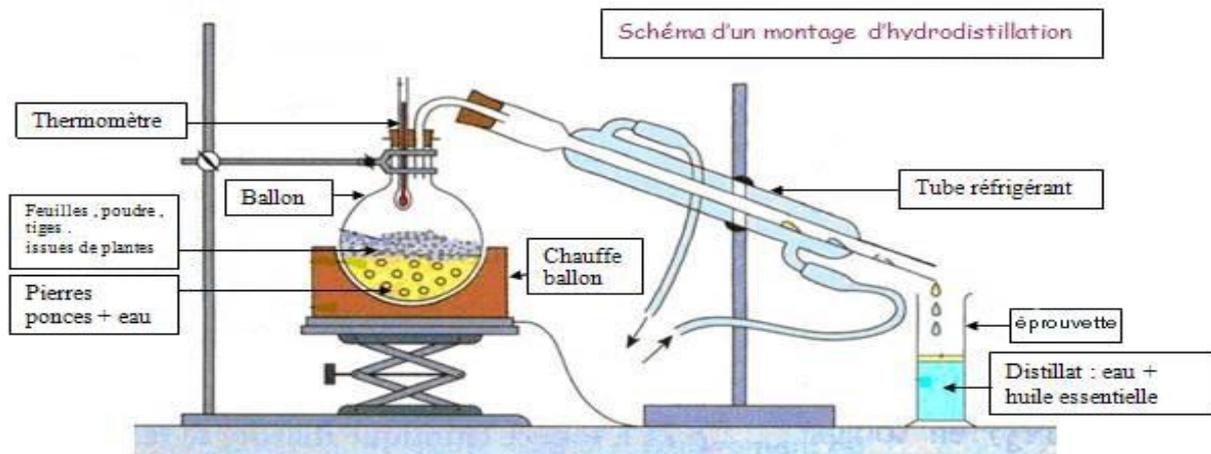


Figure 7: montage d'extraction par hydrodistillation

2.1.4 Entraînement à la vapeur

C'est le moyen le plus répandu pour extraire les molécules volatiles. Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, mais la vapeur d'eau produite par une chaudière est injectée et traverse la matière végétale de bas en haut, éclate les cellules et entraîne les molécules volatiles. La vapeur chargée d'huile essentielle est condensée par refroidissement dans un condenseur avant d'être récupérée dans un essencier. L'hydrolat et l'huile essentielle, de densités différentes, se séparent naturellement dans l'essencier (**figure 08**).

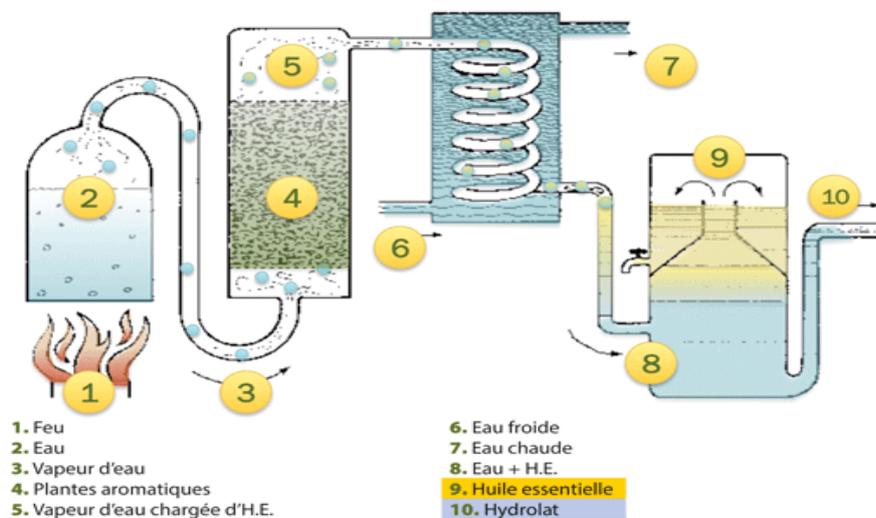


Figure 8 : montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau

Cette technique a l'avantage d'être plus efficace que l'hydrodistillation. Elle limite aussi les phénomènes d'hydrolyse de l'huile essentielle.

2.2 Techniques nouvelles

2.2.1 II.1. Extraction assistée par microonde

Parmi les technologies d'extraction les plus prometteuses, l'extraction par microondes, est l'une des méthodes les plus récentes pour l'extraction de molécules d'intérêt avec un impact environnemental positif : moins d'énergie, de solvants et des eaux usées.

Ganzler et coll, en 1986, en Hongrie furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Les travaux ont continué d'avancer, et c'est en 1990 que l'équipe canadienne de *Paré et coll* a déposé un premier brevet, européen, sur « l'extraction de produits naturels assistée par micro-ondes ».

Le procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière, végétale broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les microondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation, les échantillons sont récupérés.

Cette technique se présentait comme beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie.

2.2.2 Extraction assistée par ultrason

L'extraction par ultrasons a été considérée comme une technique prometteuse et innovante ayant de nombreuses applications dans les domaines de la chimie, de la pharmacie, des cosmétiques et de l'alimentation.

Le principe de l'extraction consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons, ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction. Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz. En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d'expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles. Le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires, entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l'explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires (**Routray et al., 2012**).

Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, polyphénols), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes (**Wang et al, 2006**).

MATERIEL ET METHODES

3 Matériel et méthode

3.1 Matériel végétale

Notre étude porte sur la plante *Ephédra alata* de la famille *Ephedraceae*.



Figure 9: la plante Éphédra alata

La plante a été récoltée dans la région de Taghit de la wilaya de Bechar durant le mois décembre 2019. Elle a été conservée à une température ambiante à l'abri de la lumière. Les tiges de la plante ont été utilisées broyer et non broyer pour l'extraction des différents extraits.

3.2 Méthodes d'extraction

3.2.1 Extraction par macération à froid

Quatre types de solvants d'extraction de polarité variables ont été utilisés, il s'agit du méthanol, l'éthanol, chloroforme et l'éther de pétrole. Pour chaque extraction, 20 g des tiges séchées non broyées sont macérées dans 120 ml de solvant pendant 10 jours à température ambiante. Chaque mélange a ensuite été filtré sur papier filtre et les solvants sont éliminés au rotavapor. Les extraits obtenus sont conservés à 4°C à l'abri de la lumière.

Calcul du rendement :

$$\text{Rendement \%} = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.



Figure 10: filtration d'échantillon après macération à froid

3.2.2 Extraction par soxhlet

Deux solvants de polarité différentes ont été utilisé pour l'extraction par soxhlet ; l'hexane et l'éthanol.

Chaque extraction a été réalisée sur une masse de 6 g de tige non broyée pour 500 ml de solvant. La durée de l'extraction est de 3heures.

Calcule de rendement :

$$\text{Rendement \%} = m_0/m_1 \times 100$$

m0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

m1: Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.



Figure 11: montage de soxhlet

3.2.3 Extraction par Ultrason

Dans cette partie de notre travail, nous avons essayé d'optimiser les conditions d'extraction en variant deux paramètres, le temps d'extraction et le rapport liquide/solide (R (L/S)).

Brièvement, 10g de tige séchée et broyée est mélangé avec le solvant dans un ballon. Le tout est introduit dans le bain à Ultrason à température ambiante. Le solvant utilisé est l'éthanol. Cinq expériences ont été réalisées dont les conditions sont détaillée dans le tableau 01. Les extraits obtenus sont filtrés, éliminés du solvant en utilisant un rotavap et conservés à 4°C pour les analyses ultérieures.

Calcul de rendement :

$$\text{Rendement \%} = m0/m1 \times 100$$

m0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

m1: Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

Tableau 1: conditions d'extraction par Ultrason:

<i>Expérience</i>	<i>Nature de la plante</i>	<i>R (L/S)</i>	<i>Temps (min)</i>
<i>1</i>	<i>Non broyée</i>	<i>10</i>	<i>30</i>
<i>2</i>	<i>broyée</i>	<i>10</i>	<i>30</i>
<i>3</i>	<i>broyée</i>	<i>8</i>	<i>50</i>
<i>4</i>	<i>broyée</i>	<i>12</i>	<i>50</i>
<i>5</i>	<i>broyée</i>	<i>12</i>	<i>12</i>



Figure 12: extraction par l'ultrason

3.3 Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des techniques qui permettent la détermination des différents groupes des composés chimiques contenus dans un organe végétale.

Nous avons réalisé les tests suivants :

- flavonoïdes
- tannins
- alcaloïdes

3.3.1 Détection des flavonoïdes

Un mélange de 2 ml de l'extrait, quelques gouttes de l'acide chlorhydrique avec quelque milligramme de magnésium Mg est placé dans un tube à essai durant 3 min. l'apparition de la coloration rose, rouge ou orange indique la présence des flavonoïdes (**Karima et Bechlaghem** ,2009)

3.3.2 Détection des tannins

Les tannins sont mis en évidence à partir de 1ml d'extrait végétal étudié, placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes de FeCl_3 1% (préparé au méthanol). Après agitation de l'extrait de quelques minutes, la couleur vire :

- au bleu noir en présence de tannins gallique,
- au brun verdâtre en présence tannins catéchiqes (**Karima et Bechlaghem** ,2009)

3.3.3 Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont détectés par le réactif de Mayer qui se base sur la méthode suivante :

Dissoudre 1,36g de HgCl_2 dans 60 mL d'eau distillée, 5 g d'iodure de potassium KI sont mélangés avec cette première solution. L'eau distillée est ajoutée jusqu'à un volume de 100

mL. Quelques gouttes de cette préparation sont introduites dans un tube à essai qui contient déjà notre échantillon (2 ml). Le résultat donne un précipité brun ou blanc (**Karima et Bechlaghem ,2009**)

3.4 Dosage des polyphénols

Les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits ont été évaluées suivant la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Siddhuraju, et Becker., **2003**).

0,2 ml d'extrait est mélangé avec 1ml du réactif de Folin (0,2 N). Ce mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 8 min avant l'addition d'une solution 0,8 mL de carbonate de sodium (75g/ml). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 50 min. Les absorbances ont été mesurées à 760 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

Une courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique (EAG)/g de masse d'extrait.

3.5 Dosage des flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Lamaison et al.,1990).

1 ml d'AlCl₃ 2% est ajouté à 1 ml d'extrait. Le mélange est bien homogénéisé et est incubé à l'abri de la lumière durant 10 min à température ambiante. L'absorbance de ce mélange est mesurée à 450 nm.

Les concentrations en flavonoïdes ont été estimées en référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine/g de masse d'extrait.

3.6 Activité anti-oxydante

3.6.1 Activité anti-oxydante avec DPPH

Principe de la méthode

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

Dans le cas des composés phénoliques (Ar-OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors il se transforme en une molécule stable DPPH (**Bahri et al., 2009**).

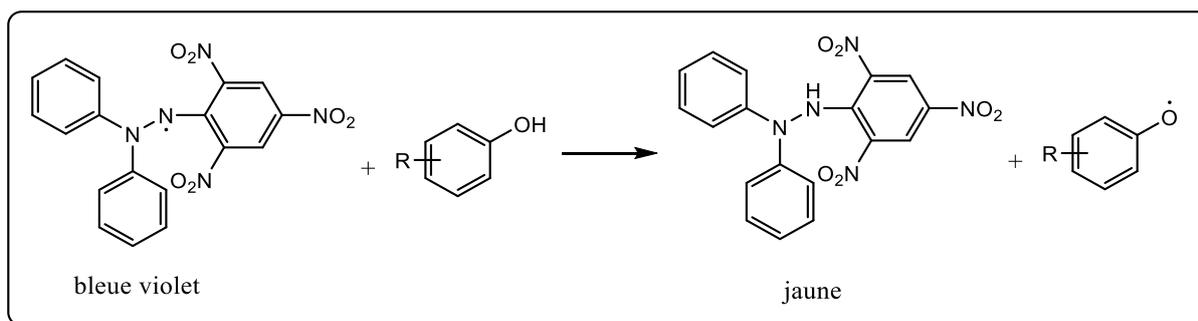


Figure 13: Réaction du DPPH avec les polyphénols

Expérience : En premier, une solution éthanolique de DPPH est préparée en solubilisant 2mg de DPPH dans 50 ml d'éthanol, la solution est conservée au froid et à l'abri de la lumière afin d'éviter sa dégradation.

Le mélange de réaction contient 2 ml d'éthanol, 1 ml de la solution du DPPH, et 1 ml des pour chaque échantillon à tester (départ avec une solution de 1mg/ml et l'étalonnage de cette solution jusqu'à 0.04 mg/ml).

Après 45 min d'incubation à l'abri de la lumière, l'absorbance a été enregistré à 517 nm pour chaque solution par rapport aux deux solutions le blanc (2ml de DPPH) et le témoin négatif (1ml de DPPH +1ml d'éthanol) .le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de d'inhibition par rapport aux valeurs de contrôle négatif témoin.

Le calcul des pourcentages d'inhibition a été fait selon la formule suivante :

$$I \% = (Ac - At) / Ac$$

Ac : absorbance du contrôle

At : absorbance du test effectué

3.6.2 Activité anti-oxydante avec frappe :

Principe de la méthode :

La méthode de frappe est fondée sur la réduction fer ferrique Fe^{3+} (couleur jaune) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en fer ferreux Fe^{2+} (couleur bleu vert) en présence des antioxydants. L'intensité de la coloration est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm (Tepe., 2006).

Expérience :

Selon la méthode de Lugasi, l'échantillon dilué (prendre de 0.5 ml de la solution mère de 2mg/ml et diluée jusqu'à 0.06 mg/ml) a été mélangé avec du tampon phosphate (1.25 ml, 0,2

M, pH=7) et 1.25 ml ferricyanure de potassium 1%, le mélange est incubé à 35°C pendant 20 min. Après refroidissement à température ambiante

L'acide trichloracétique (2,5 ml, 10 %) a été ajouté au mélange puis centrifugé pendant 10 min, (1.25 ml) de la solution a été mélangée avec de l'eau distillée (1,25 ml) et une solution fraîchement préparée de FeCl_3 (0,25 ml, 0,1 %), L'absorbance a été lue à 700 nm l'opération doit être répété avec les autres concentrations de la dilution.

Afin d'explorer les résultats obtenus, des graphes de l'absorbance en fonction des concentrations de différents échantillons sont tracés, l'augmentation des absorbances signifie une augmentation de la capacité réductrice (**Lugasi., 2003**).

RESULTATS ET DISCUSSION

4 Résultats et discussion

4.1 Comparaison des méthodes d'extraction de la plante Ephédre alata

4.1.1 Rendements selon les différentes méthodes d'extractions

Les résultats des rendements de différentes extractions sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2:Rendement des différents extraits

<i>Méthode d'extractions</i>	<i>Solvant</i>	<i>Rendement</i>
<i>Ultrason</i>	<i>Et OH</i>	<i>7.1%</i>
<i>Ultrason</i>	<i>Acétate d'éthyle</i>	<i>3.1%</i>
<i>Ultrason</i>	<i>Hexane</i>	<i>0.4%</i>
<i>Soxhlet</i>	<i>EtOH</i>	<i>15.11%</i>
<i>Soxhlet</i>	<i>Hexane</i>	<i>2.24%</i>
<i>Macération froid</i>	<i>Et OH</i>	<i>1.7%</i>
<i>Macération froid</i>	<i>Chloroforme</i>	<i>1.35%</i>
<i>Macération froid</i>	<i>Ether de Pétrole</i>	<i>0.45%</i>

Ces résultats montrent que c'est l'éthanol qui a donné le meilleur rendement pour les trois types d'extraction ; 15,11% pour le soxhlet, 7,1% pour l'ultrason et 1,7% pour la macération à froid.

Le plus faible rendement est obtenu avec l'hexane pour les extractions au soxhlet et à l'ultrason estimé à 2,24% et 0,4% respectivement.

0,45% d'extrait est obtenu dans le cas de la macération en utilisant l'éther de pétrole.

L'histogramme suivant illustre les résultats des différents rendements :

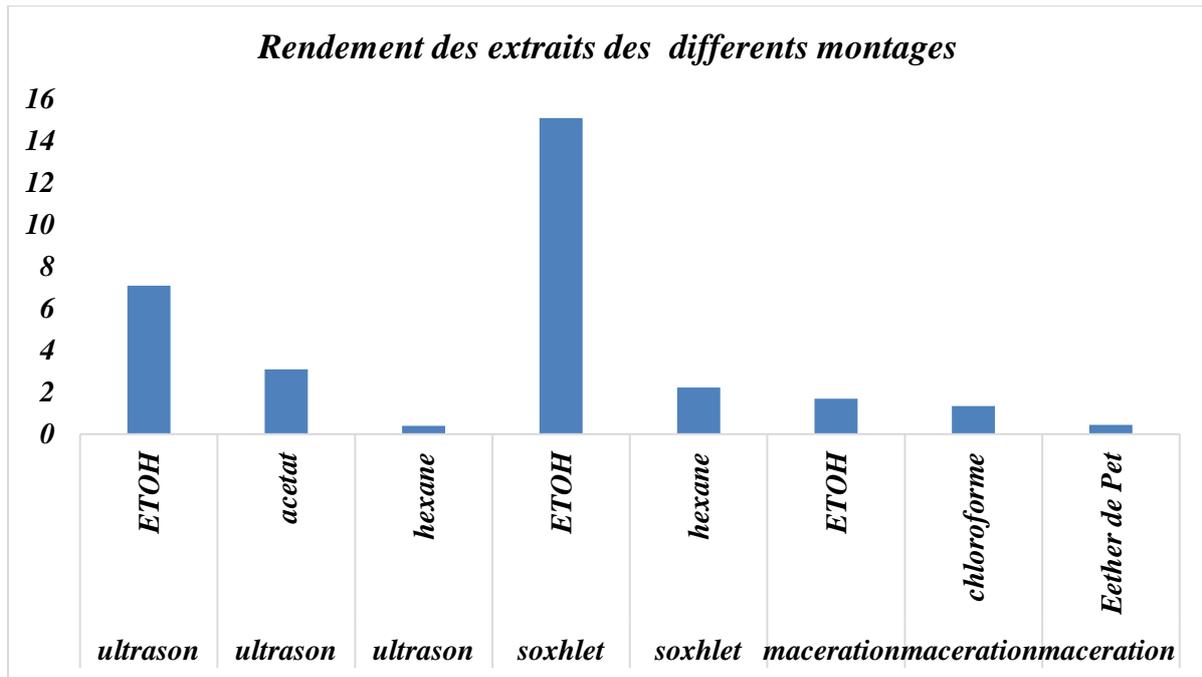


Figure 14 : Histogramme des rendements des extraits des différentes méthodes d'extraction avec différents solvants

Des résultats similaires ont été obtenus dans le cas de l'extraction par l'ultrason dans des travaux antérieurs, en effet, selon *Soumaya et al*, les rendements de l'extraction de deux types de la plante *Ephedra* Tunisienne en utilisant trois solvants sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Rendement des extractions assistées par ultrason de deux espèces de la plante *Ephédra* (*Soumaya et al, 2020*):

R %	<i>Ephédra alata</i>	<i>Ephédra fragilis</i>
<i>Ethanol</i>	2,11	4,60
<i>Acétate d'éthyle</i>	1,61	1,30
<i>Hexane</i>	0,80	0,60

Pour les deux espèces le meilleur rendement est obtenu avec l'éthanol suivi par l'acétate d'éthyle et le plus faible rendement est obtenu avec l'hexane.

Dans le cas de la macération à froid, des études antérieures effectuées sur la plante *Ephédra alata* de la région de l'Ourès Algérien, montrent les rendements d'extraction comme suit :

Tableau 4: Rendement d'extraction de la plante *Ephédra alata* de l'Oures Algérien (CHelli Maroua et al, 2018):

<i>Solvant</i>	<i>Rendement %</i>
<i>Acétate d'éthyle</i>	<i>6,4</i>
<i>Ethanol</i>	<i>3,8</i>

Dans ce cas, on remarque que le rendement de l'extraction en utilisant l'acétate d'éthyle est plus important que celui de l'éthanol.

Les teneurs en extraits varient fortement non seulement en fonction de la méthode mais aussi en fonction des paramètres d'extraction, notamment le solvant qui joue un rôle important dans la solubilisation des principes actifs de la plante. En effet, quel que soit la méthode d'extraction, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs

Dans la présente étude, la méthode de l'ultrason permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact avec l'extrait (30 min) par rapport à la méthode de macération qui a durée plusieurs heures. De plus, le déroulement de cette extraction à température ambiante permet de prévenir la dénaturation ou modification probable des principes actifs dus aux températures élevées utilisées dans l'extraction par soxhlet.

4.1.2 Résultats des tests phytochimiques :

Dans le but d'étudier l'influence du solvant sur la qualité des extraits pour les trois méthodes d'extraction, nous avons réalisé trois tests phytochimiques. La mise en évidence des alcaloïdes et tannins a été basée sur des phénomènes de précipitation, tandis que le test de coloration en solution permet de mettre en évidence les flavonoïdes. Les résultats sont représentés dans le tableau 05. Il révèle la présence ou l'absence d'un métabolite secondaire.

+/- : présent en quantité négligeable ou absent

+ : présence

++ : Présence moyenne

+++ : Présence forte

Tableau 5: Résultats de la mise en évidence des tests phytochimiques:

<i>Méthode d'extractions</i>	<i>Solvant</i>	<i>Rendement %</i>	<i>Alcaloïdes</i>	<i>Tannins</i>	<i>flavonoïdes</i>
<i>Ultrason</i>	<i>Et OH</i>	7.1	++	+++	+
<i>Ultrason</i>	<i>Acétate d'éthyle</i>	3.1	++	+++	-
<i>Soxhlet</i>	<i>EtOH</i>	15.11	+++	+++	++
<i>Macération froid</i>	<i>Et OH</i>	1.7	++	+++	-
<i>Macération froid</i>	<i>Chloroforme</i>	1.35	-	++	-
<i>Macération froid</i>	<i>Ether de Pétrole</i>	0.45	-	+	-

Ces résultats montrent que l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet est très riche en alcaloïdes et en tannins et moyennement riche en flavonoïdes.

Pour l'ultrason, les tannins sont fortement présents, les alcaloïdes moins présents et les flavonoïdes sont négligeables dans les deux extraits (éthanolique est d'acétate d'éthyle).

Dans le cas de la macération, seul l'extrait éthanolique représente un résultat similaire à celui des résultats de l'ultrason.

Les extraits de l'éther de pétrole et de chloroforme sont très faibles en ces métopolites secondaires.

Nous avons comparé ces résultats avec ceux de la littérature, dans le tableau suivant :

Tableau 6: Comparaison avec la littérature (extraction par macération)

<i>Solvant</i>	<i>Alcaloïdes</i>	<i>Tannins</i>	<i>flavonoïdes</i>	<i>Références</i>
<i>Et OH</i>	++	+++	-	Notre étude
<i>Chloroforme</i>	-	++	-	
<i>Ether de Pétrole</i>	-	+	-	
<i>Méthanol</i>	+++	+++	++	<i>Boulberhane et al, 2017</i>
<i>Ethanol</i>	ND		+++	<i>Chelli et al, 2018</i>
<i>Acétate d'éthyle</i>	+++		+++	

Nous constatons que les extraits des tiges d'*Ephédra alata* des deux travaux antérieurs sont plus riches en métabolites secondaires que nos extraits notamment en flavonoïdes. Ces différences peuvent être liés à plusieurs facteurs ; conditions d'extraction et de quantification, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique), la période de la récolte et le stade de développement de la plante.

Il faudra aussi signaler que nous avons utilisé les tiges de la plante non broyée, ce qui n'est pas le cas dans les deux travaux cités dans le tableau.

4.2 Extraction assistée par l'ultrason

L'extraction assistée par ultrason consiste à immerger dans le solvant la matière végétale, et soumettre le tout à l'action des ultrasons.

Pendant la sonification, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans la matière à travers une succession des phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation.

Les bulles formées par l'expansion vont se développer puis dégonfler, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapide (*Bashi et al, 2012*).

L'extraction dépend de nombreux facteurs qui ont une influence directe sur le rendement et la qualité du produit obtenu et par conséquent sur le développement ou la mise au point du procédé. Parmi ces facteurs, on peut citer :

Le temps d'extraction, le diamètre des particules, le solvant, le ratio liquide solide, la vitesse d'extraction et la température.

4.3 Optimisation des conditions d'extraction

Dans cette partie de notre travail, nous avons tenté d'étudier l'influence de deux paramètres; le ratio liquide/solide et le temps d'extraction sur le rendement de l'extraction et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

Nous avons fixé un objectif de 12 expériences mais malheureusement, nous n'avons pu réaliser que 5.

Nous avons utilisé la matière sèche broyée sauf pour la première expérience.

Le solvant utilisé est l'éthanol.

4.3.1 Rendement des extractions

Les résultats des rendements sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 7: Rendements des extractions

<i>EXP</i>	<i>Matière sèche</i>	<i>Temps (min)</i>	<i>Ratio L/S</i>	<i>R (%)</i>
<i>1</i>	<i>Non broyée</i>	<i>30</i>	<i>10</i>	<i>7,1</i>
<i>2</i>	<i>broyée</i>	<i>30</i>	<i>10</i>	<i>10,2</i>
<i>3</i>	<i>broyée</i>	<i>12</i>	<i>12</i>	<i>3,6</i>
<i>4</i>	<i>broyée</i>	<i>50</i>	<i>12</i>	<i>7,7</i>
<i>5</i>	<i>broyée</i>	<i>50</i>	<i>8</i>	<i>4,8</i>

L'histogramme suivant illustre ces résultats.

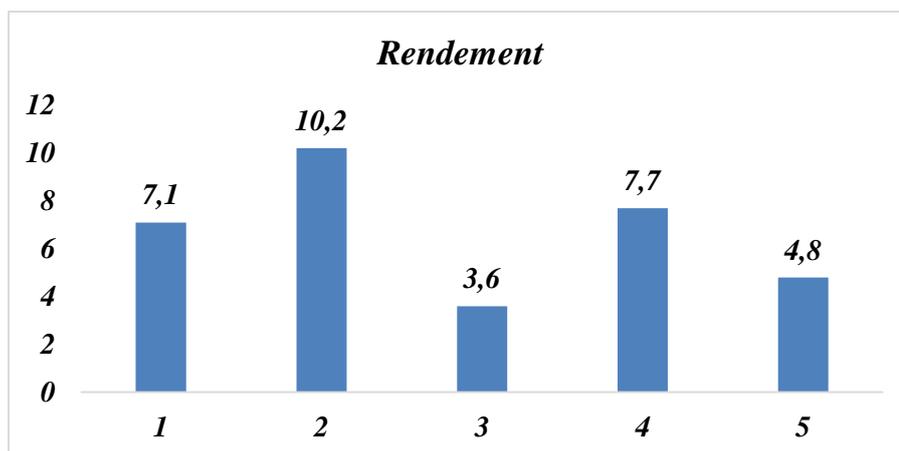


Figure 15: Histogramme de pourcentage de rendement des expériences

On comparant entre la première et la deuxième expérience, on remarque que le rendement augmente significativement lorsque la matière végétale est broyée, ceci est dû à la surface de contact solide liquide qui est plus grande lorsque la matière est broyée, ce qui facilite la pénétration du solvant à l'intérieur des particules.

On comparant entre la troisième et la quatrième expérience, on remarque une augmentation du rendement avec l'augmentation de la durée d'extraction de 12 à 50 min.

Et enfin, la comparaison entre la quatrième et la cinquième expérience, révèle que le ratio L/S de 12 donne un rendement plus important que celui de 8.

A l'issu de ces résultats, on peut conclure que les conditions optimales pour un bon rendement d'extraction sont :

La durée d'extraction est de 30 min, le ratio L/S est de 10 et la matière sèche doit être broyée.

4.3.2 Dosage des polyphénols et en flavonoïdes :

Les résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont représentés dans le tableau 08. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg acide gallique en g matière sèche (mg AG/s MS).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg quercitrine en g matière sèche (mg Quercétine/g MS).

-Le calcul de la teneur des polyphénols et graphiquement par la courbe deetalonage de l'acide gallique selon la formule suivante :

$$Y=ax+b$$

Avec : Y : l'absorbance de l'échantillon, x : teneur de polyphénols.

La même méthode de calcul de la teneur des flavonoïdes, sauf que l'étalonnage de quercitrine et pas de l'acide gallique. (voir annexe courbe d'étalonnage de l'acide gallique, courbe d'étalonnage de quercetine)

Tableau 8:Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des 5 extrais:

<i>EXP</i>	<i>Matière sèche</i>	<i>Temps (min)</i>	<i>Ratio L/S</i>	<i>R (%)</i>	<i>Polyphénol (mg AG/gMS)</i>	<i>Flavonoïdes (mg Quercétine /gMS)</i>
<i>1</i>	<i>Non broyée</i>	<i>30</i>	<i>10</i>	<i>7,1</i>	<i>53,37</i>	<i>62,93</i>
<i>2</i>	<i>broyée</i>	<i>30</i>	<i>10</i>	<i>10,2</i>	<i>54,27</i>	<i>32,91</i>
<i>3</i>	<i>broyée</i>	<i>12</i>	<i>12</i>	<i>3,6</i>	<i>41,57</i>	<i>24,72</i>
<i>4</i>	<i>broyée</i>	<i>50</i>	<i>12</i>	<i>7,7</i>	<i>52,70</i>	<i>93,19</i>
<i>5</i>	<i>broyée</i>	<i>50</i>	<i>8</i>	<i>4,8</i>	<i>50,89</i>	<i>72,62</i>

4.3.2.1 Dosage des polyphénols

L'histogramme suivant représente les résultats de la quantité des polyphénols totaux des différents extraits.

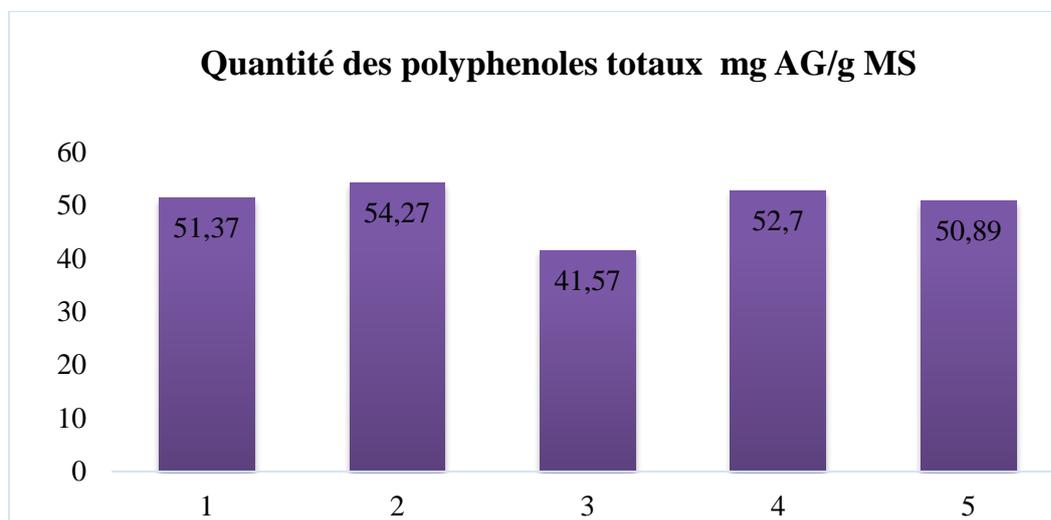


Figure 16: Histogramme comparatives de la quantité des polyphénols des 5 expériences

Les valeurs de la teneur en polyphénols des différents extraits ne varient pas très significativement et elles se situent entre 41,37 mg AG/gMS pour la première expérience et 54,27 mg AG/g MS pour la troisième expérience. Ces valeurs sont similaires aux résultats des travaux de Soumaya *et al* représentés dans le tableau suivant :

Tableau 8: Teneur des polyphénols totaux des extraits obtenus par une extraction assistée par ultrason de deux espèces de la plante *Ephédra* (Soumaya *et al*, 2020):

Teneur en polyphénol totaux (mg AG/g MS)	<i>Ephédra alata</i>	<i>Ephédra fragilis</i>
Hexane	0,15	0,11
Acétate d'éthyle	58,47	56,25
Ethanol	164,58	19,17

la teneur en polyphénols des deux extraits de l'acétate d'éthyle des deux espèces ; *Ephédra alata* et *Ephédra fragilis* sont de 58,47 et 56,25 respectivement et ils sont comparables aux valeurs de nos résultats.

Les conditions optimales pour l'extraction des polyphénols correspondent à une durée de 30 min, un rapport liquide solide de 10 et la matière sèche doit être broyée. Ce sont donc les conditions optimales pour un bon rendement d'extraction de la plante.

En effet, On remarque que la teneur en polyphénols des deux extraits de l'acétate d'éthyle des deux espèces ; *Ephédra alata* et *Ephédra fragilis* sont de 58,47 et 56,25 respectivement et ils sont comparables aux valeurs de nos résultats.

Les conditions optimales pour l'extraction des polyphénols correspondent à une durée de 30 min, un rapport liquide solide de 10 et la matière sèche doit être broyée. Ce sont donc les conditions optimales pour un bon rendement d'extraction de la plante.

4.3.2.2 Dosage des flavonoïdes

L'histogramme suivant illustre les résultats du dosage des différents extraits

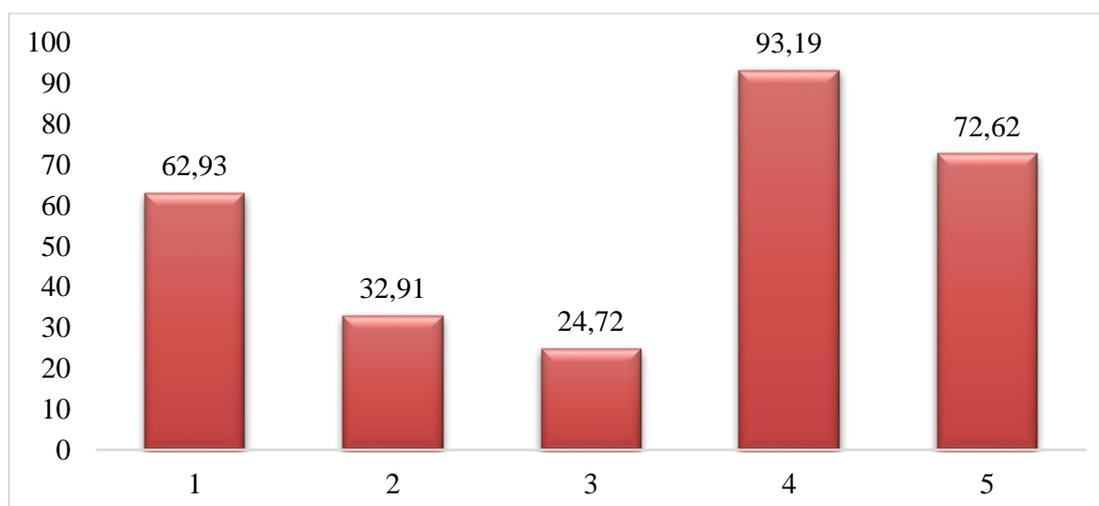


Figure 17: Histogramme de la quantité comparative des flavonoïdes des 5 expériences

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits varient très significativement en fonction des conditions d'extraction. Elles se situent entre 24,72 et 93,19 mg Quercétine/g MS. Les conditions optimales correspondent à la quatrième expérience dont la durée d'extraction est de 50 min, et le rapport solide liquide est de 8. Là aussi la matière doit être broyée.

4.3.3 Evaluation de L'activité anti –oxydante :

L'activité anti-oxydante de nos extraits a été évaluée par deux méthodes ; DPPH et FRAP.

Les résultats des IC 50 et de valeur maximale d'absorbance sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 9: resultats des IC50 et de valeur maximale d'absorbance

<i>EXP</i>	<i>R (%)</i>	<i>Polyphénol (mg AG/gMS)</i>	<i>Flavonoïdes (mg Quercétine /gMS)</i>	<i>DPPH IC50 (µg /ml)</i>	<i>FRAP Abs Maximum</i>
1	7,1	53,37	62,93	18,75	0,7
2	10,2	54,27	32,91	16,73	1,314
3	3,6	41,57	24,72	33,25	1,867
4	7,7	52,70	93,19	63,65	1,288
5	4,8	50,89	72,62	18,76	1,828

4.3.3.1 Activité antianxydante par la méthode DPPH

L'histogramme suivant illustre les résultats de la IC50 des extraits déterminée par la méthode DPPH.

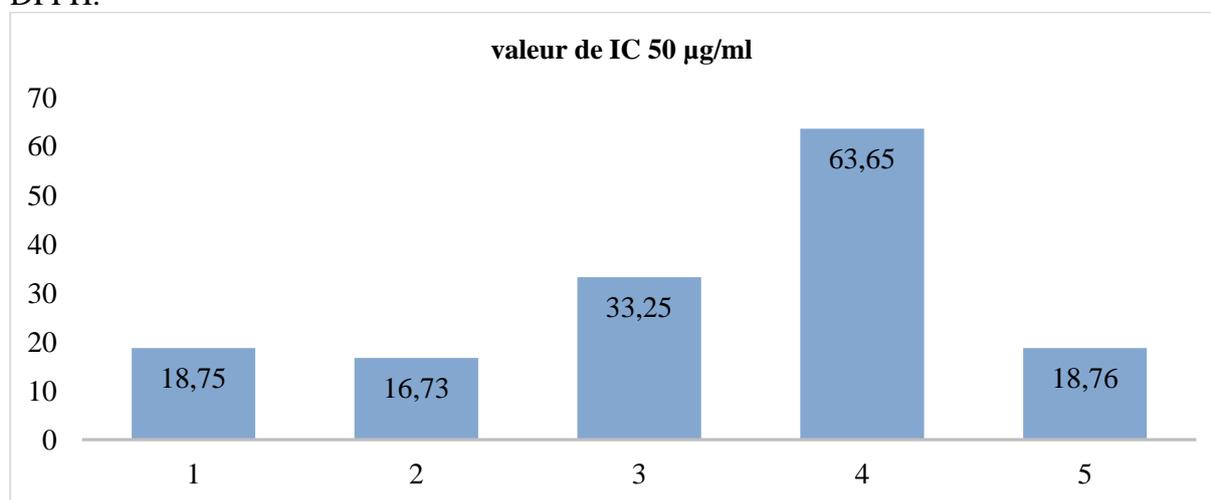


Figure 18: histogramme de l'activité antioxydante par DPPH

Les résultats montrent que l'activité antioxydante varie significativement d'un échantillon à un autre dont, l'IC50 se situe entre 16,73 et 63,65 µg/ml. L'échantillon le plus riche en polyphénol est bien celui qui a l'activité antioxydante la plus importante, il s'agit de

l'échantillon 2 obtenu après 30 min et avec un rapport liquide solide de 10 mL/g. Les extraits 1 et 5 présentent la même activité antioxydante (IC50 de 18,75µg/mL) et qui reste très proches à celle de l'échantillon 2.

Lorsqu'on a augmenté le temps à 50 min et baissé la valeur du rapport liquide solide de 10 à 12, l'activité antioxydante a nettement diminuée dont la IC50 prend une valeur de 63,65 µg/mL.

Des résultats similaires ont été observés dans les travaux de Soumya et al effectuée sur la plante *Ephédra alata* et *Ephédra fragilis* tunisienne dont les IC50 sont de 83,07 et 72,37 µg/mL respectivement. Dans ces travaux, les extraits ont été obtenus par une extraction assistée par ultrason en utilisant l'éthanol comme solvant.

4.3.3.2 Activité antianxydante par la méthode FRAP

Les résultats de l'activité antioxydante par la technique de réduction du fer des différents échantillons sont illustrés par les courbes suivantes et qui représente l'absorbance en fonction des concentrations de chaque extrait

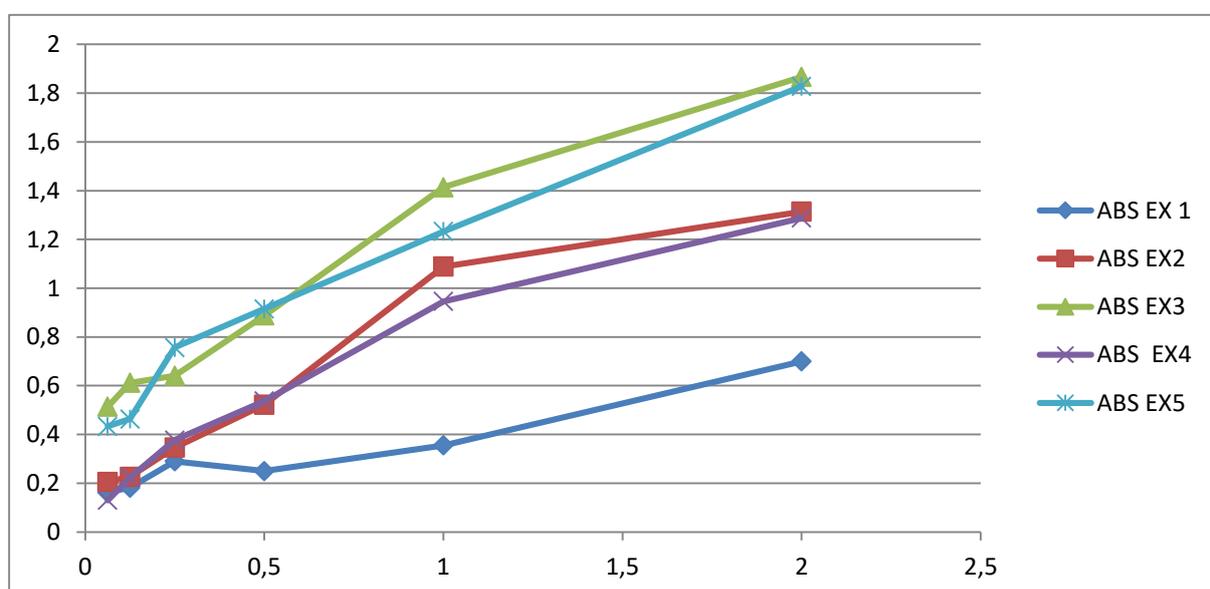


Figure 19: courbe de l'absorbance en fonction de concentration (mg/ml)

A une concentration de 2 mg/mL, les extraits 3 et 5 présentent l'activité antioxydante la plus importante avec une légère différence, suivit par les échantillons 2 et 4. L'échantillon 1 présente l'activité la plus faible.

Donc les conditions optimales sont un temps d'extraction de 12 min et un rapport liquide solide de 12 mL/g.

Conclusion générale

Notre travail est une contribution à l'étude de l'extraction de polyphénols de la plante *Ephédra*, qui sont à l'origine de nombreuses activités thérapeutiques.

Dans un premier temps, nous avons mené une étude comparative de trois méthodes d'extraction en utilisant principalement l'Ethanol, l'Acétate d'éthyle et l'hexane comme solvants.

Nous avons constaté que le meilleur rendement a été obtenu avec l'Ethanol pour les trois méthodes, (15,11%, 7,1% et 1,7%) pour le soxhlet, l'ultrason et la macération respectivement. En termes de tests phytochimique, l'extrait éthanolique du soxhlet a révélé une présence élevée des tannins et des alcaloïdes et une présence moyenne des flavonoïdes. L'extrait éthanolique du ultrason révélé une présence élevée des tannins et une présence moyenne des alcaloïdes et une présence faible des flavonoïdes. L'extrait éthanolique de la macération donne la même observation que l'ultrason sauf pour les flavonoïdes où le test était négatif.

A l'issue de ces résultats, nous pouvons conclure que, la méthode de l'ultrason permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact avec l'extrait (30 min) par rapport à la méthode de macération qui a duré plusieurs heures. De plus, le déroulement de cette extraction à température ambiante permet de prévenir la dénaturation ou modification probable des principes actifs dus aux températures élevées utilisées dans l'extraction par soxhlet.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons essayé d'optimiser les conditions d'extraction assistée par ultrason de polyphénols. Pour cela, nous avons varié le temps (12, 30, et 50 min) et le rapport liquide solide (8, 10 et 12 mL/g) en utilisant l'éthanol comme solvant. Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante pour chaque extrait ont été évaluées.

Les résultats ont montré que les rendements varient de 4,8% à 10,2% dont le meilleur est obtenu après 30 min et avec un rapport liquide solide de 10mL/g.

Pour le dosage de polyphénol, les résultats ont montré une teneur qui varie entre 41,57mg et 54,27 mg AG/gE, dont la teneur la plus élevée correspond là aussi à l'extrait obtenu après 30 min et avec un rapport liquide solide de 10 mL/g.

Les teneurs en flavonoïdes varient significativement d'un extrait à un autre, elles se situent entre 24,72 et 93,19 mg Quercétine/g ES, dont la valeur la plus élevée correspond dans ce cas à l'extrait obtenu après 50 min et avec un rapport liquide solide de 12 mL/g.

L'activité antioxydante évaluée par la méthode de DPPH la plus importante correspond à l'extrait le plus riche en polyphénol avec une IC50 de 16.73 µg/mL.

Cependant, c'est l'extrait obtenu dans les conditions de 12 min et un rapport liquide solide de 12mL/g qui a donné l'activité antioxydante la plus importante selon la méthode FRAP.

A partir de ces résultats, nous pouvons avancer que l'extraction assistée par ultrason des substances naturelle est une méthode simple et efficace et peu coûteuse. Elle augmente le rendement d'extraction tout en améliorant la qualité de l'extrait.

Cependant, les paramètres d'extraction tel que le temps et le rapport liquide solide jouent un rôle important et influent significativement sur le rendement et la qualité de l'extrait, d'où l'importance de les optimiser avant tous développement à l'échelle industriel.

De point de vu énergétique, cette technologique consomme beaucoup moins d'énergie par rapport aux procédés usuels, il ne fait donc aucun doute que les ultrasons constituent une alternative verte aux techniques d'extractions conventionnelles.

En guise de perspectives, il nous semble intéressant de mener beaucoup plus d'essai en variant d'autres paramètres tel que le solvant, la taille des particules, la puissance de l'ultrason, la température dans le but de produire beaucoup plus et mieux en consommant moins d'énergie tout en respectant l'environnement .

ANNEXES

1. Les tableaux

Tableau 10:tableau comparative des rendements assistee par ultrason de trois solvants

<i>Extrait</i>	<i>Methode d'extraction</i>	<i>Solvant</i>	<i>Apparence</i>	<i>Rendement</i>
<i>Tiges</i>	<i>Ultrason</i>	<i>Acétate d'éthyle</i>	<i>Solide pâteux</i>	<i>3.1 %</i>
<i>Tiges</i>	<i>Ultrason</i>	<i>Ethanol</i>	<i>Solide pâteux</i>	<i>7.1 %</i>
<i>Tiges</i>	<i>Ultrason</i>	<i>Hexane</i>	<i>Solide pâteux</i>	<i>0.4 %</i>

Tableau 11:absorbance de l'étalonnage d'acide gallique:

[a gallique] mg/ml	0,006	0,01	0,012	0,02	0,05	0,06
Abs	0,404	0,468	0,503	0,555	0,879	1,01

Tableau 12:absorbance des extrais des polyphénols assistée par extraction par ultrason:

EXP	1	2	3	4	5
Abs	1,013	1,05	0,888	1,03	1,006

Tableau 13:absorbance des extraits de flavonoïdes par ultrason

EXP	1	2	3	4	5
Abs	1,204	0,823	0,719	1,588	1,327

Tableau 14:absorbance de l'étalonnage de quercetine

[quercetine]mg /ml	0,0025	0,05	0,075	0,08	0,125	0,15
Abs	0,437	0,924	1,25	1,669	2,08	2,195

- **activité antioxydante DPPH :**

Tableau 15 : pourcentage d'inhibition des échantillons (5 expériences):

Expérience 1 :

C µg/ml	0,041	0,16	0,5	1
I %	47	55	78,75	88,3

Expérience 2 :

C µg/ml	0,04	0,16	0,5	1
I %	42,68	64,33	71,45	88,4

Expérience 3 :

C µg/ml	0,04	0,16	0,5	1
I %	46,62	58,93	68,88	87,54

Expérience 4 :

C µg/ml	0,02	0,04	0,08	0,16
I %	34,58	41,52	61,11	76,38

Expérience 5 :

C µg/ml	0,02	0,04	0,08	0,16
I %	45,41	60,13	74,3	94,44

Tableau 16:absorbance de l'étalonnage d'acide ascorbique (avec DPPH)**(l'acide ascorbique comme Référence)**

<i>C</i> µg/ml	6.25	3.125	1.563	0.781
A%	69.402	36.225	21.454	12.075

IC50 de l'acide ascorbique : 4.39 µg/ml

- **activité antioxydante FRAP :**

Tableau 17:absorbance des échantillons (5 expériences):**Expérience 1 :**

[C]mg/ml	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
A%	0,162	0,182	0,29	0,25	0,355	0,7

Expérience 2 :

[C]mg/ml	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
A%	0,205	0,226	0,346	0,522	1,089	1,314

Expérience 3 :

[C]mg/ml	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
A%	0,514	0,612	0,641	0,888	1,414	1,867

Expérience 4 :

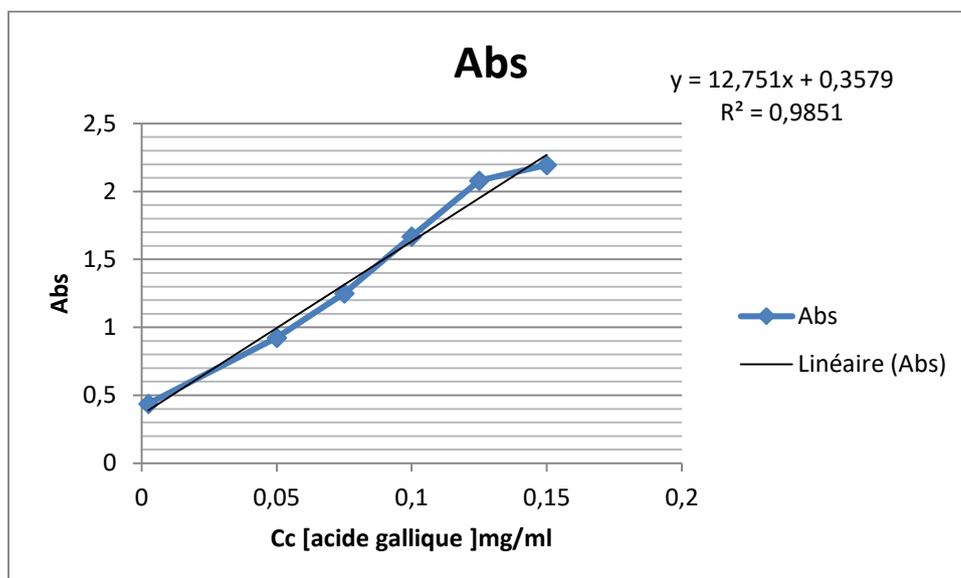
[C]mg/ml	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
A%	0,13	0,223	0,377	0,537	0,946	1,288

Expérience 5 :

[C]mg/ml	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
A%	0,433	0,463	0,757	0,915	1,233	1,828

Tableau 18: absorbance de l'étalonnage d'acide ascorbique (avec frap) :

[C] mg/ml	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1
ABS	0,195	0,273	0,503	0,889	1,213

2. Les courbes :**Figure 20: courbe d'étalonnage d'acide gallique**

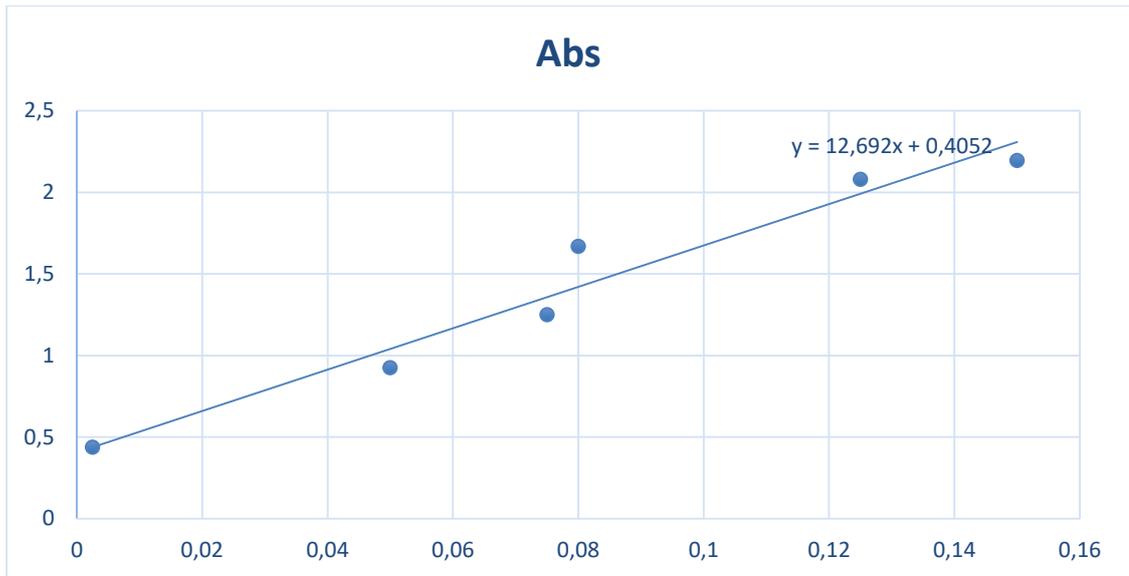


Figure 21: courbe d'étalonnage de quercetine

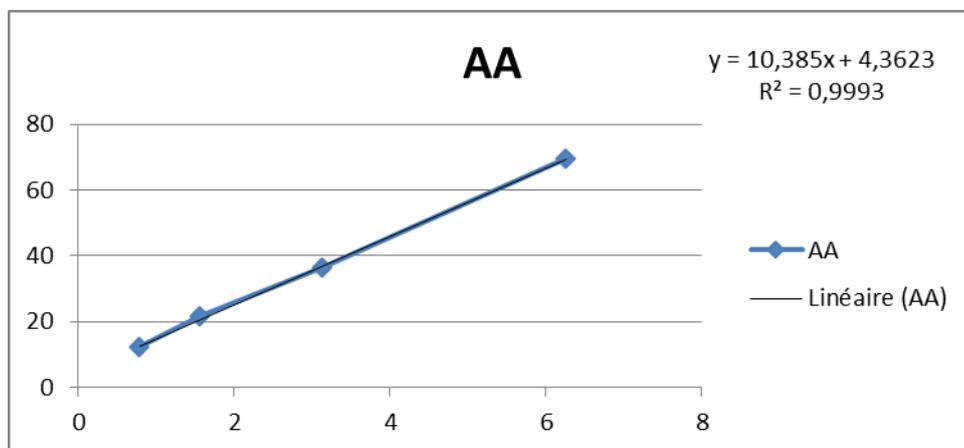


Figure 22: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique avec DPPH

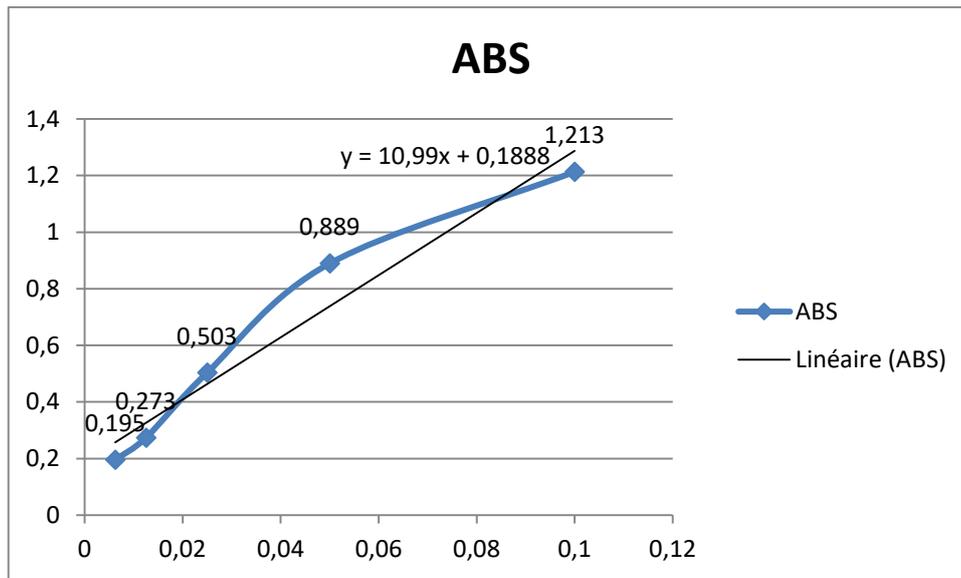


Figure 23: courbe d'étalonnage d'acide ascorbique avec frap

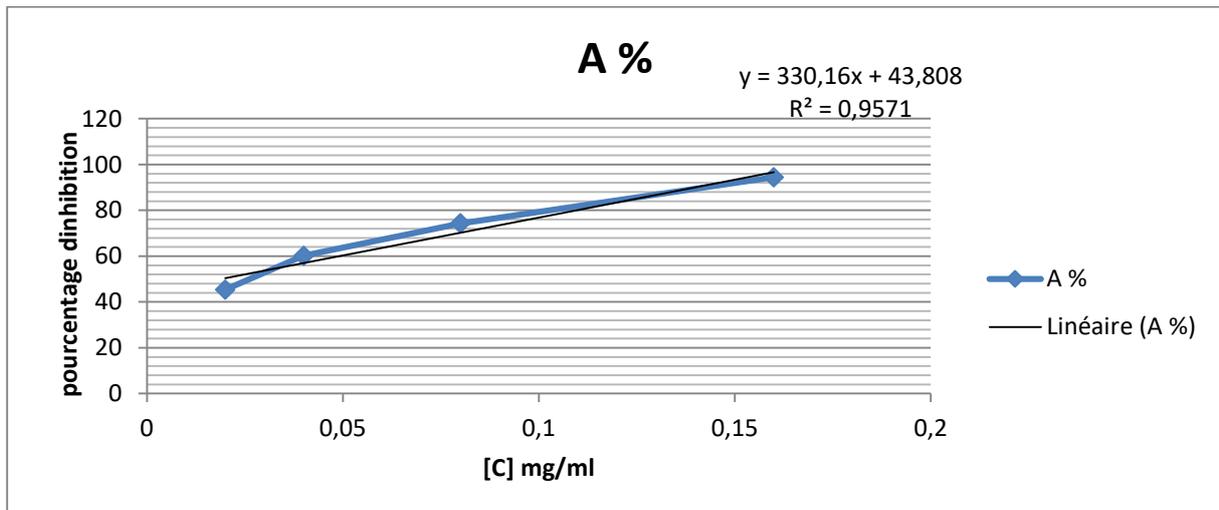


Figure 24: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 1

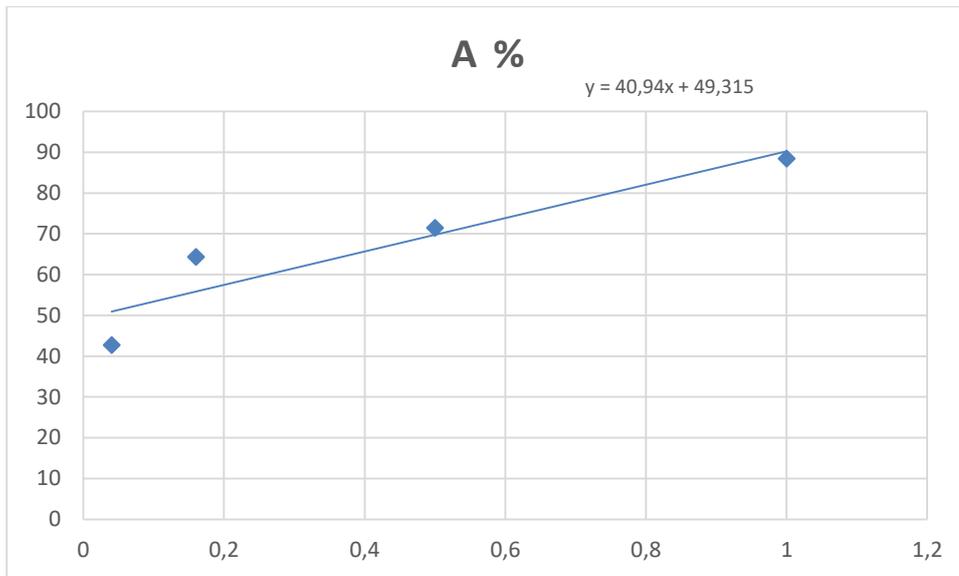


Figure 25: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 2

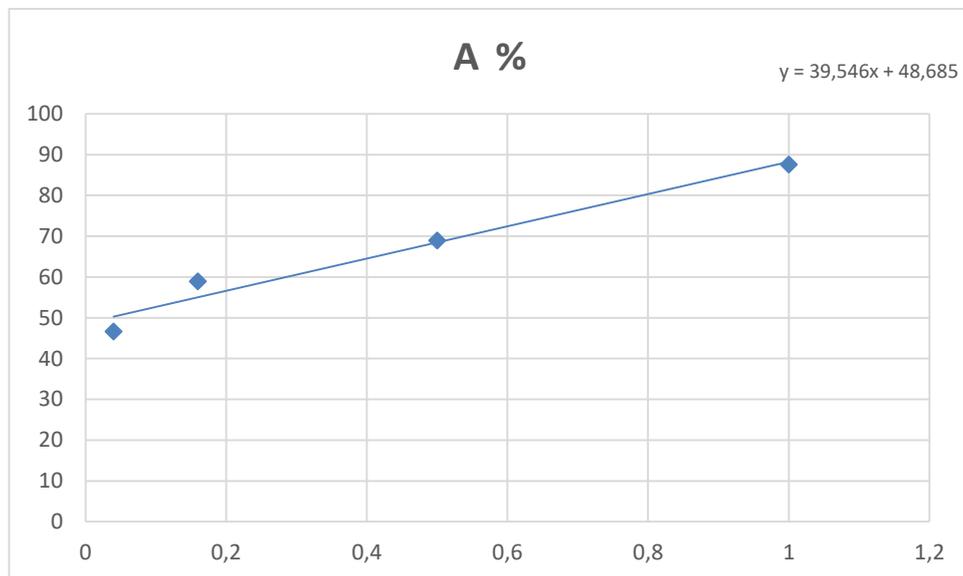


Figure 26 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration de l'extrait d'expérience 3

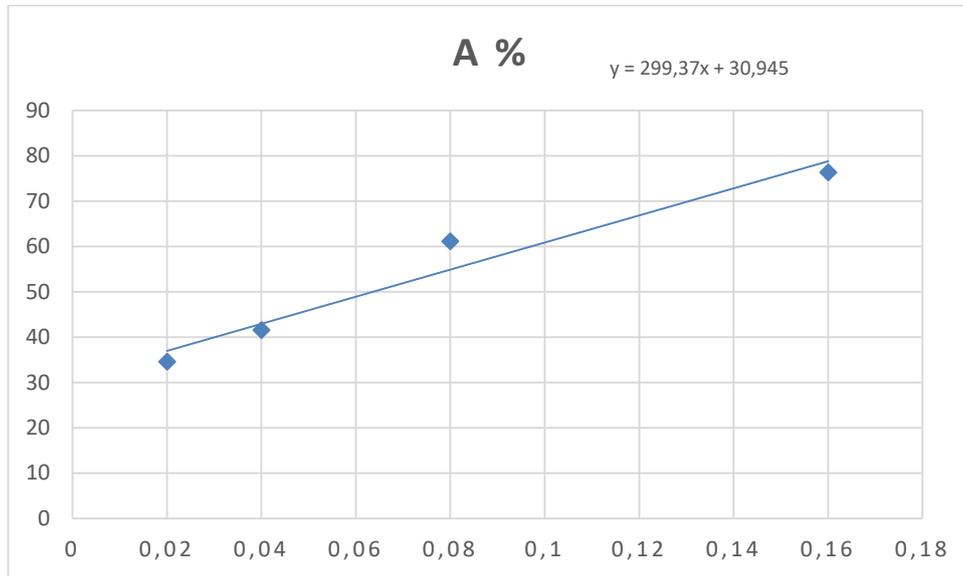


Figure 27: courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'extrait d'expérience 4

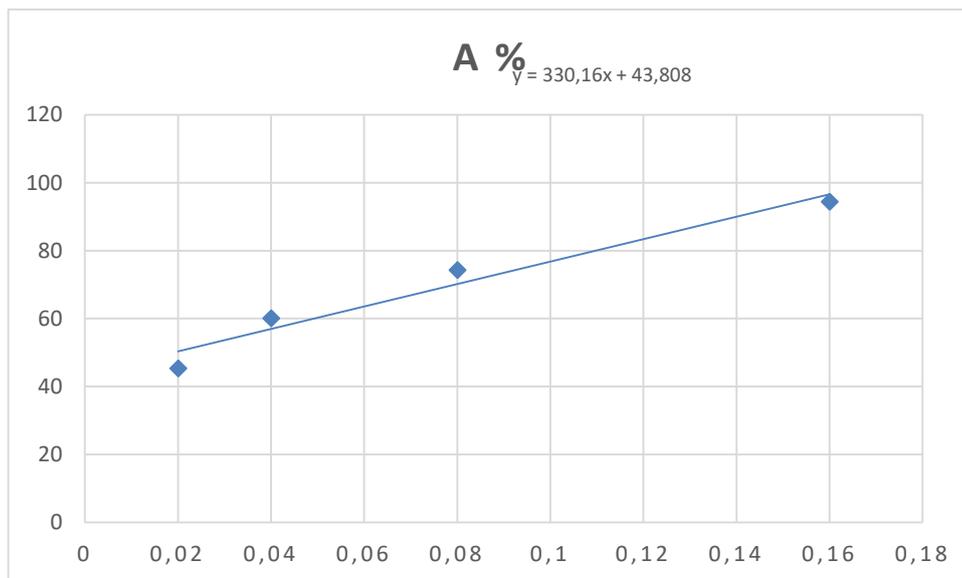


Figure 28 : courbe de pourcentage d'inhibition en fonction concentration d'extrait d'expérience 5

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

A

- AGENCE MONDIALE ANTIDOPAGE, 2017. Liste des interdictions, 9 p. Site web: www.wada-ama.org.
- 2. AL-QARAWI M., ABDULAZIZ A., 2011, Vegetation, analysis in the Rawdhat Om Al- Khefas, Central Saudi Arabia. Australian Journal of Basic and Applied Sciences **5** (12) : 3264-3269. Juin 2021
- A. Lugasi .,2003, “the role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases”, *Acta Biologica Szegediensis*, **47**, 119-125.)
- AL-KHATEEB E., AL-ANI H., AL-KADI K., AL-OVAIDI E., SHALAN N., AL-RAWI N., 2014. Investigation of the alkaloids of two *Ephedra* spp., wildly grown in Iraq. Jordan journal of pharmaceutical sciences **7** (3): 191-198.
- Al-Qarawi A.A., Abd Allah E.F. et Hashem A., 2012- Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* . Pak. J. Bot., Vol. 44, N°1, pp. 425-428
- AL-QARAWI, Abdulaziz A. 2011. Vegetation analysis in the Rawdhat Om Al-Khefas, Central Saudi Arabia. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, , vol. 5, no 12, p. 3264-3269.
- AL-SNAFI A. E., 2017. Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra foliata*, A review. IAJPS (Indo-American Journal of Pharmaceutical Sciences) **4** (2): 399-406.
- Arbenz A., Avérous L., 2015 .Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. *Green Chem*, **17**:2626–2646p.

B

- Bahri-Sahloul ;Ammar S;Fredj RB;Saguem S;Grec S; Trotin Skhiri FH.,2009 . Polyphenol contents and antioxidant activities of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus* L. varieties;;*Pak J Biol Sci*12(9):660-8
 - Bashi DS, Mortazavi SA, Rezaei K, Rajaei A, Karimkhani MM.,2012 .Optimization of ultrasoundassisted extraction of phenolic compounds from Yarrow (*Achillea beibrestinii*) by response surface methodology. *Food Science and Biotechnology.*;21(4):1005-11.
 - BAGHERI-GAVKOSH S., BIGDELI M., SHAMS-GHAHFAROKHI M., RAZZAGHI-ABYANEH M., 2009. Inhibitory Effects of *Ephedra major* Host on *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Production. *Mycopathologia* **168** : 249-255.
 - BELGACEMI M., DOU A., 2019. Etude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par *Ephedra alata* DC. Mémoire Master, Université Echahid Hama Lakhdar-El OUED (Algérie), 75 p.
 - BENAÏSSA M., EL HAITOUM A., HADJADJ K., 2018. Floristic and medical diversity interest of Djebel Aïssa national park (Ksour Montains, Algeria). *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences* **14** (2) : 303-306.
 - BOULBERHANE SAOUSSENE .,2017. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata* alenda Staph.
 - Bourgou Soumaya .,2020. Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anti cancer activities of two Tunisian *Ephedra* species: *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*
 - BRUNETON J., 2009. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 4 édition, Editions Lavoisier Tec et Doc, Paris, 1270 p.
- C**
- CHEHMA A., RÉDA DJEBAR M., 2008. Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse* **17**: 36-45.
 - CHELLI Mouna Rayene - ZENAD Hadjer .,2018. Evaluation in vitro de l'activité antioxydante des trois espèces végétales dans la région de l'Ourès Algérien
 - CHEN W. L., TSAI T. H., YANG C. C. H., KUO T. B .J., 2010. Effects of *Ephedra* on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of Ethnopharmacology* **130** : 563–568.
- D**
- Danin, A., (1973). Contributions to the flora of Sinai. New and confused taxes. Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh.32: 259–271.

- Derbel, S., Touzard, B., Triki, MA. & Chaieb, M., (2010). Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*. Vol. 205. pp. 471–474.

E

- EVANS W. C., 2009. *Trease and Evans, pharmacognosy*. Saunders, 16^{ième} Ed., 616 p

G

- GHERRAF N., CHEBOUAT E., DADAMOUSA B., GARABLI S., ALLOUI M., CHERITI A., ZELLAGUI A., 2014. Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extracts from *Ephedra alata*. *Der Pharmacia Lettre* **6** (3) : 27-30.

- GHOURRI M., ZIDANE L., DOUIRA A., 2013. Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Sahara marocain. *Journal of Animal & Plant Sciences* **17** : 2388-2411.

H

- HADJADJ K., BENAÏSSA M., MAHAMMEDI M., OURAGH A., RAHMOUE A., 2019. Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aïssa (Sud ouest algérien), *Lejeunia, Nouvelle série* **199** : 1-12.

- HADJADJ Kouider , DAOUDI Bilal Belkacem & GUERINE Lakhdar., 2020. IMPORTANCE THÉRAPEUTIQUE DE LA PLANTE *Ephedra alata* subsp. *alenda* DANS LA MÉDECINE TRADITIONNELLE POUR LA POPULATION DE LA RÉGION DE GUETTARA (DJELFA, ALGÉRIE). *LEJEUNIA REVUE DE BOTANIQUE*. Nouvelle série N° 201

J

- J.L. Luque-Garcia, M.D. ,2004, Luque de Castro. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction : devices and applications, *Talanta*, 64, 571-577.
- J.R.J. Paré, M. Sigouin, J. Lapointe .,1990..Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. Brevet européen, EP 398798,

K

- Karima Bechlaghem, 2009 . Screening Phytochimique de La Rhapontique, Une plante Commune Dans Toute l'Algérie Septentrionale, (M.) ,
- Khan A, Jan G, Khan A, *et al.* , 2017: *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Ephedra gerardiana* (root and stem) crude extract and fractions [J]. *Evid-based Compl Alt Med, eCAM*, 20176.

- Khanbabae K., Ree T.R. 2001. Tannins. Classification and Defenition: *Journal of Royal - Society of Chemistry* 18: 641-649.

- Konno, C., Mizuno, T. & Hikino, H. (1985). Isolation and hypoglycemic activity of Ephedrans A, B, C, D and E, glycans of *Ephedra distachya* herbs. *Planta Medica*. 51: 162–163.

- Krief S., 2003-Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. HAL. Thèse de doctorat "Ecologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle. pp. 31-32.

L

- LIMBERGER R. P., JACQUES A. L. B., SCHMITT G. C., ARBO M. D., 2013. Pharmacological effects of ephedrine, Natural products (ouvrage) : 1218-1237.

M

- Macheix J-J., Fleuriet A., Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechnique et universitaires romandes, Italie. p 2-3-12-13-14.
- MIARA M. D., TEIXIDOR-TONEU I., SAHNOUN T., BENDIF H., AIT HAMMOU M., 2019. Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environments* **167** : 65-73.

N

- Nawwar M.A.M, El-Sissi H.I., Barakat H.H., 1984- Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939

O

- OULD EL HADJ M. D., HADJ MAHAMMED M., ZABEIROU H., 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir* **3** : 47-51
- Oshima N *Yakugaku Zasshi.*, 2017., Efficient preparation of *Ephedrine* alkaloids-free *Ephedra* herb extract and its antitumor effect and putative marker compound [J]. **137**(2): 173-177.

- Ozenda P., 1991-Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3ème Ed.). 662 p

P

- Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.

- PETERS C. M., O'NEILL J. O., YOUNG J. B., 2005. Is there an association between *Ephedra* and heart failure? A case series. *Journal of cardiac failure* **11** (1) : 1-9.

R

- Routray W, Orsat V., 2012. Microwave assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*; **5**(2):409-24.

S

- Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K. (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. **67**: 2058–2070
- SHABANA, M. M., MIRHOM, Y. W., GENENAH, A. A., et al. 1990., Study in tow wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication:

hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats. *Archiv fur experimentelle Veterinarmedizin*, vol. 44, no 3, p. 389-394.

- Shabana, M.M. (1990). Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanated rats. *Archiv fur Experimentelle Veterinar Medizin, USA*. 44: 389.
- Siddhuraju, P ; Becker, K. ; 2003, Antioxidants Properties of Various Solvent Extracts of total Phenolic Constituents from three different agroclimatic Origins of Drumstick Trees (*Moringa oleifera*) ,*Journal .Agricultural .Food Chemistry* , 51,2144-2155
- SIOUD F., AMOR S., BEN TOUMIA I., LAHMAR A., AIRES V., CHEKIRGHEDIRA L., DELMAS D. A., 2020. New Highlight of *Ephedra alata* Decne Properties of Potential Adjuvant in Combination with Cisplatin to Induce Cell Death of 4T1 Breast Cancer Cells In Vitro and In Vivo, *Cells* **9** (362) : 1-19.
- Soxhlet, F. (1879). *Dinglers' Polyt.* 232, 461

T

- Tepe B., Sokmen M., AKpulat H..A ., Sokmen A. 2006. Screening of the Antioxidant Potentials of Six *Salvia* Species from Turkey .*J.food.Chem.*.95 :200-204
- Tabuti J.R.S., Lye K.A. et Dhillion S.S., 2003 - Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 88, N°1, pp. 19-44.

W

- Wang L, Weller CL ., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*.;17(6):300-12.

Z

- ZHANG Ben-Mei, WANG Zhi-Bin, XIN Ping, WANG Qiu-Hong, BU He KUANG Hai-Xue.
- ZHENG E., NAVARRO V., 2016. Liver injury due to herbal and dietary supplements : A review of individual ingredients, *Clinical liver disease* **7** : 81 p.

Summary:

This work is a contribution to the study of the extraction of polyphenols from the Ephedra plant from the Taghit region of the wilaya of Bechar.

An optimization of the conditions of ultrasonically assisted extraction of polyphenols was carried out. For this, the time was varied from (12, 30, and 50 min) and the solid liquid ratio (8, 10 and 12 mL / g) using ethanol as the solvent. The results showed that the optimal conditions for a better yield of extract and polyphenols are a time of 30 min and a solid liquid ratio of 10 mL / g, the values of which are respectively (10.2% and 54.27 mg AG / gE). The antioxidant activity evaluated by the most important DPPH method corresponds to the extract richest in polyphenol with an IC50 of 16.73 µg / mL, while the extract obtained under the conditions of 12 min and a ratio solid liquid of 12 mL / g gave the highest antioxidant activity according to the FRAP method.

These results show that ultrasound assisted extraction is a simple, efficient and inexpensive method. It increases the extraction yield while improving the quality of the extract.

Keywords: Ephedra alata, ultrasonic extraction, polyphenol content, antioxidant activity.

Résumé :

Ce travail est une contribution à l'étude de l'extraction de polyphénols de la plante *Ephédra* de la région de Taghit de la wilaya de Bechar.

Une optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrason de polyphénols a été menée. Pour cela, le temps a varié de (12, 30, et 50 min) et le rapport liquide solide (8, 10 et 12 mL/g) en utilisant l'éthanol comme solvant. Les résultats ont montré que les conditions optimales pour un meilleur rendement en extrait et en polyphénols sont un temps de 30 min et un rapport liquide solide de 10 mL/g, dont les valeurs sont respectivement (10,2% et 54,27 mg AG/gE). L'activité antioxydante évaluée par la méthode de DPPH la plus importante correspond à l'extrait le plus riche en polyphénol avec une IC50 de 16,73 µg/mL, tandis ce que l'extrait obtenu dans les conditions de 12 min et un rapport liquide solide de 12 mL/g a donné l'activité antioxydante la plus importante selon la méthode FRAP. Ces résultats montrent que l'extraction assistée par ultrason est une méthode simple et efficace et peu coûteuse. Elle augmente le rendement d'extraction tout en améliorant la qualité de l'extrait.

Mots Clet : *Ephédra alata*, extraction par ultrason, teneur en polyphénol, activité antioxydante.

ملخص:

يساهم هذا العمل في دراسة استخلاص البوليفينول من نبات الإفيدرا من منطقة تاغيت بولاية بشار. تم إجراء تحسين لظروف الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية من البوليفينول. لهذا، اختلف الوقت من (12، 30، و 50 دقيقة) ونسبة السائل الصلب (8، 10 و 12 مل / جم) باستخدام الإيثانول كمذيب. أظهرت النتائج أن الظروف المثلى للحصول على محصول أفضل من المستخلص والبوليفينول هي وقت 30 دقيقة ونسبة سائلة صلبة 10 مل / جم وقيمتها على التوالي (10.2٪ و 54.27 مجم AG / gE). تم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة بأهم طريقة DPPH مع المستخلص الأكثر ثراءً في البوليفينول مع IC50 من 16.73 ميكروغرام / مل، بينما أعطى المستخلص الذي تم الحصول عليه تحت ظروف 12 دقيقة ونسبة سائلة صلبة 12 مل / جم أعلى مضاد للأكسدة حسب طريقة FRAP.

تظهر هذه النتائج أن الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية هو طريقة بسيطة وفعالة وغير مكلفة. يزيد من إنتاجية الاستخراج مع تحسين جودة المستخلص.

الكلمات المفتاحية: الإفيدرا الألتا، الاستخراج بالموجات فوق الصوتية، محتوى البوليفينول، الفعالية المضادة للأكسدة