

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



– UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences
De la Terre et de l'Univers



Département de Biologie
Laboratoire des Produits Naturels

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme De Magister en Biologie

Option : « Physiopathologie Cellulaire »

Présenté par le N°: 1169
Date de: 2011... 11
Code:

Thème



*Etude De
La Valeur Nutritive
Et de L'Activité Antioxydante
D'Urtica Dioica (L'Ortie)*

Présenté par :

Mr Megnounif Ihyes

Devant le jury composé de :

M^{me} MERZOUK H.

Présidente

Professeur.

M^{me} BENDIMERAD N.

Examinatrice

Maître de conférences A.

M^r BENMANSOUR A.

Examinateur

Professeur.

M^{me} BELARBI M.

Promotrice

Professeur.

Année Universitaire: 2010-2011

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

Aux personnes qui me sont les plus chères en priant le tout puissant de les protéger et de leur accorder longue vie.

D'abord à mes chers parents pour avoir veillé jour et nuit à ma réussite, pour leurs sacrifices, leur dévouement et leur amour éternel.

Aussi à mes grands parents pour leur immense affection. Je ne trouverai jamais les mots qu'il faut pour leur exprimer ma reconnaissance et mon amour.

Ensuite à mon oncle OUAÏSEIK pour son soutien indéfectible et ses encouragements qui m'ont permis de prendre davantage confiance en moi-même ainsi qu'à son épouse et ses enfants (Ferial, Rania et Chahine).

A mon frère Abdelhadi pour son aide précieuse.

A mes sœurs Nesrine et Nabila pour leur tendresse à mon égard.

A mon oncle Bensalem, son épouse et ses enfants.

A mes oncles Allal, Djamel, Chaib et sa petite famille.

Enfin à ma tante, Meriem pour avoir été mon guide et pour m'avoir consacré beaucoup de son temps.

A tous mes amis(es): Ilyes, Hafid, Naguib, Sofiane, Khalil, Riad, Ferial, Rim, Hanane, Meriem, Mehdi, Ramzi, Abderrahim, Zino, Fouzia, Nacera, Zoubida, Amel, Souad, Warda.

Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin et que je n'ai pas pu citer.

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

Mon travail n'aurait pu aboutir si je n'avais pas trouvé le soutien nécessaire auprès de mon encadreur M^{me} BELARBI M. Professeur à l'université de Tlemcen, qui a bien voulu diriger ce travail, ses qualités humaines et pédagogiques m'ont permis de prendre conscience de mes capacités et ont cultivé en moi le goût de la recherche, sa compétence a élargi ma vision sur le sujet abordé, sincèrement ce fut un grand bonheur d'avoir travaillé à ses cotés et je ne cesserai jamais de la remercier pour tout cela.

Je remercie également de tout mon cœur, M^{me} MERZOUK H. Professeur à l'université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury, mais aussi et par ailleurs, pour m'avoir souvent encouragé.

Mes remerciements vont également à M^{me} BENDIMERAD N. Maître de Conférences Classe A, Faculté des sciences Université de Tlemcen, pour avoir bien voulu accepté d'examiner ce mémoire.

A M^r BENMANSOUR A, professeur à l'université de Tlemcen pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce modeste travail.

Enfin de nombreuses personnes m'ont accompagné dans la réalisation de ce travail.

Je les remercie sincèrement pour m'avoir entouré et prodigué conseils, pour m'avoir apporté chaleur et compréhension à l'instar de M^r Beghidad C Maître de Conférence de Classe B à l'UABT, M^{elle} Belkacem N, M^r Nani H, M^r El haci et M^r Rahmoune.

Qu'ils trouvent dans ce témoignage

L'expression de ma gratitude,

Mon profond respect, et ma

Parfaite considération.



I.1 Détermination de la teneur en matière sèche	22
I.2 Tests phytochimiques	23
I.3 Métabolites primaires	25
I.3.1 Dosage des lipides	25
I.3.2 Dosage des matières azotées.....	26
I.3.3 Dosage des sucres totaux	30
I.3.4 Dosage des fibres alimentaires Brutes	31
I.3.5 Dosages des Cendres	33
I.4. Métabolites secondaires.....	34
I.4.1 Dosage des phénols totaux.....	34
I.4.2 Extraction sélectives	35
I.5. Evaluation du pouvoir antioxydant des métabolites secondaires des feuilles et des racines d' <i>Urtica Dioica</i>	36
I.6 Analyse qualitative de l'ortie.....	39
I.6.1 Chromatographie sur couche mince.....	39
I.6.2 Test antioxydant qualitatif	40

Partie III : Résultats Et Discussions

Chapitre I : Composition chimique de l'ortie

I.1. La teneur en matière sèche.....	41
I.2. Les tests phytochimiques.....	42
I.3. Métabolites primaires	44
I.3.1. Les sucres totaux.....	44
I.3.2. Les lipides.....	44
I.3.3. Les Protéines.....	45
I.3.4. Les Fibres totales	46
I.3.5. Les Cendres	46
I.4. Métabolites secondaires.....	47
I.4.1. Les phénols totaux	47
I.4.2. Extraction sélective.....	47
Tanins.....	47
Flavonoïdes	47

Chapitre II : Pouvoir antioxydant et Analyse qualitative des flavonoïdes et des tanins de l'ortie

II.1 Pouvoir antioxydant des flavonoïdes et des tanins d' <i>Urtica Dioica</i>	48
II.2 Analyse qualitative d' <i>Urtica dioica</i>	51
II.2.1 Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes	51

III.2.2 Chromatographie sur couche mince des tanins.....	52
II.2.3 Test de l'activité antioxydante.....	54
Conclusion Générale.....	57
Références bibliographiques.....	59
Annexes.....	66

☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯
Liste des abréviations
☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯ ☯☯

- % : Pourcent.
- ° C : Degré Celsius.
- μl : Microlitre.
- **CCM** : Chromatographie Sur Couche Mince.
- **cm** : centimètre.
- **DO** : Densité optique.
- **DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- **EC₅₀** : Concentration efficace=**IC₅₀** ; inhibitrice concentration.
- **g** : gramme.
- **l** : litre.
- **mg** : milligramme.
- **min** : minute.
- **ml** : millilitre.
- **mm** : millimètres.
- **MS** : Matière sèche.
- **nm**: nanomètre.
- **P** : poids.
- **PR** : pourcentage de réduction.
- **Rf** : facteur de rétention.
- **Rt** : Rendement.
- **Sol** : Solution.
- **UV** : Ultra-violet.
- **V** : volume.



Liste des Tableaux



<i>Tableau 01</i> : Les valeurs nutritionnelles de la grande Ortie et le Foin.....	16
<i>Tableau 02</i> : Propriétés Thérapeutiques d' <i>Urtica dioica</i>	19
<i>Tableau 03</i> : Mode opératoire des CCM.	40
<i>Tableau 04</i> : Résultats des examens phytochimique des feuilles d' <i>Urtica Dioica</i>	42
<i>Tableau 05</i> : Résultats des examens phytochimique des racines d' <i>Urtica Dioica</i>	43
<i>Tableau 06</i> : Teneur en métabolites primaires d' <i>Urtica dioica</i>	45
<i>Tableau 07</i> : Teneur en métabolites secondaires des feuilles d' <i>Urtica dioica</i>	47
<i>Tableau 08</i> : L'analyse quantitative par CCM des flavonoïdes d' <i>Urtica dioica</i> (partie feuilles)....	51
<i>Tableau 09</i> : L'analyse quantitative par CCM des flavonoïdes d' <i>Urtica Dioica</i> (partie racines)....	51
<i>Tableau 10</i> : Facteurs de rétention et détection UV des étalons.	52
<i>Tableau 11</i> : L'analyse qualitative par CCM des tanins d' <i>Urtica dioica</i> (partie feuilles).	53
<i>Tableau 12</i> : L'analyse qualitative par CCM des flavonoides d' <i>Urtica dioica</i> (partie racines).	53
<i>Tableau 13</i> : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (Partie Racines).....	76
<i>Tableau 14</i> : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (Partie Feuilles).....	76
<i>Tableau 15</i> : Pouvoir antioxydant des tanins (Partie Racines).....	76
<i>Tableau 16</i> : Pouvoir antioxydant des tanins (Partie Feuilles).....	76
<i>Tableau 17</i> : les valeurs de l'EC 50.	77
<i>Tableau 18</i> : Pouvoir antioxydant de la α tocopherol et l'acide ascorbiques.....	77



Liste des Figures



<i>Figure 01</i> : Urtica Dioica L.....	7
<i>Figure 02</i> : Urtica dioica (Mâle)	8
<i>Figure 03</i> : Urtica dioica (Femelle)	8
<i>Figure 04</i> : Poils urticants d'Urtica dioica.....	9
<i>Figure 05</i> : Structure d'un tanin hydrolysable.....	14
<i>Figure 06</i> : Structure d'un tanin condensé.....	14
<i>Figure 07</i> : Fil Brut 100 % Ortie Non Teinte Pelote	20
<i>Figure 08</i> : Matériel végétal épuisé avec 03 solvants différents.....	24
<i>Figure 09</i> : Minéralisateur de Kjeldahl.	27
<i>Figure 10</i> : Distillateur de Kjeldahl.	28
<i>Figure 11</i> : Dispositif de titrage.	29
<i>Figure 12</i> : Extracteur de fibre (fibrotest). <i>Fiwe-Velp Scientifica</i>	32
<i>Figure 13</i> : Solution fraîche de DPPH sans échantillon.	38
<i>Figure 14</i> : Solution de DPPH mise à réagir avec l'échantillon (extrait des flavonoïdes).....	38
<i>Figure 15</i> : Observation microscopique de la silice des racines (G × 40).	46
<i>Figure 16</i> : Pouvoir antioxydant des tanins (feuilles).	49
<i>Figure 17</i> : Pouvoir antioxydant des tanins (racines).	49
<i>Figure 18</i> : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (feuilles).	50
<i>Figure 19</i> : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (racines).	50
<i>Figure 20</i> : Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes responsables de l'action du piégeage du radical DPPH.	55
<i>Figure 21</i> : Chromatographie sur couche mince des tanins responsables de l'action du piégeage du radical DPPH.	56
<i>Figure 22</i> : produits épuisé avec de l'éthanol.	71
<i>Figure 23</i> : produits épuisé avec de l'eau chaude	72
<i>Figure 24</i> : produits épuisé avec de l'ether.....	73
<i>Figure 25</i> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.	75
<i>Figure 26</i> : Courbe d'étalonnage standard pour le dosage des polyphénols.....	75

INTRODUCTION

« L'Ortie ressemble à un homme un peu rude,
mais qui a du cœur et qui, au besoin,
sait sacrifier sa vie pour sauver celle de son voisin»

Curé de Wangs

INTRODUCTION

Ces diverses propriétés nous ont incités à déterminer la valeur nutritive de cette plante longtemps négligée, ainsi que d'éventuelles activités antioxydant.

Le présent travail est divisé en 3 parties :

- 1- La première comprend une synthèse bibliographique d'*Urtica dioica* : son origine, ses principaux aspects botaniques et caractères écologiques, sa phytochimie et ses diverses utilisations.
- 2- La deuxième expérimentale comprend :
 - ✓ La détermination de la teneur en eau, les tests phytochimiques caractérisant les différentes familles contenues dans la plante, ainsi, que la détermination de quelques métabolites primaires tels que : les lipides, sucres protéines, cendres et fibres et aussi, quelque métabolites secondaires comme les phénols totaux, les tanins et les flavonoïdes.
 - ✓ Une extraction sélective des tanins et des flavonoïdes.
 - ✓ Une évaluation du pouvoir antioxydant de ces derniers.
 - ✓ Et aussi une Chromatographie sur couche mince des tanins et des flavonoïdes.
- 3- La troisième partie, est une interprétation et discussion des résultats.

Enfin dans la conclusion générale, on discutera les principaux résultats obtenus, les limites de notre travail et les perspectives proposées pour pouvoir compléter voir améliorer cette étude.

Partie I

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

« Si tous les rois se présentaient dans leur force et splendeur, ils ne sauraient
faire pousser une feuille d'ortie »

H.C. Andersen.

Chapitre I:

Présentation De La Plante

Chapitre I : Présentation De La Plante

I.1 Historique



L'Ortie, compagne des premiers campements préhistoriques, fut l'un des premiers légumes utilisés par l'homme. Consommée partout comme épinard, elle fit l'objet de plantations depuis bien longtemps, que ce soit comme fourrage (pour le bétail) ou pour l'industrie (textile et papier) [Bertrand et Jeanne, 2008].

Au Moyen-âge, l'ortie était considérée comme une panacée. Elle était préconisée contre l'angine, les crachements de sang, les maladies de la rate, les maux de tête. Les graines étaient employées contre les maladies des reins et de poitrine. Le suc frais contre les douleurs articulaires et les plaies enflammées, la racine contre les tumeurs ganglionnaires et les saignements de nez [Bezanger et al., 1980]. Son utilisation ne s'est guère limitée à l'Europe, car les bandelettes entourant les momies de l'Égypte ancienne étaient constituées de fibres d'ortie "la Ramie". [Bertrand et Jeanne, 2000]

Connue aussi chez les Grecques et les Romains, les premiers d'ailleurs à l'avoir appelée *Alkalyphe*, et qui s'en servaient pour soigner la toux, la tuberculose, l'arthrite ainsi que pour stimuler la poussé des cheveux. Les américains de leurs coté la recommandaient en tisane contre les affections des reins et de la vessie, et son jus pur, contre les maladies de la peau [Keith et Wheeler, 2005].

Dans son ouvrage *Primitive Physic*, J. Wesley (1861) recommandait les Orties comme anti-hémorragique. Il conseillait la racine séchée pulvérisée et mélangée avec de la mélasse pour traiter les enrouements, proposait également de manger de l'ortie en cas de pleurésie et contre les vers, et d'appliquer directement le jus d'ortie sur une éruption due à des piqûres d'Ortie. Pour soigner une sciatique, il préconisait de faire des cataplasmes d'Orties bouillies [Valnet, 1983].

L'herboriste anglais John Gerard, la qualifiait de contrepoison efficace contre toutes sortes d'empoisonnements du sang. Alors que Nicholas Culpeper, célèbre médecin anglais de la

première moitié du XVII^e siècle, la recommandait pour soigner les maladies des vaisseaux sanguins et des voies respiratoires [Barnes et al., 2002].

En effet, l'ortie présente de nombreuses propriétés médicinales, culinaires et agricoles vantées depuis l'Antiquité. De nos jours, elle entre dans la composition d'un grand nombre de plats culinaires et de médicaments et fait toujours l'objet de beaucoup de recherches [Bertrand et Jeanne, 2008].

I.2 Dénominations de l'ortie

D'après Wichtk et Anton, 1999 *Urtica dioica* L. est appelée :

- ❖ **En français** : Ortie commune, Grande ortie, Ortie vivace.
- ❖ **En anglais** : Nettle, Common Nettle, Stinging Nettle, Tall Nettle, Slender Nettle, California Nettle, Greater Nettle.
- ❖ **En arabe** : حرايق
- ❖ **En espagnol** : Ortiga, Ortiga gran, Ortiga grossa, Ortiga major, Ortiga mayor.
- ❖ **En allemand** : Brennesslbatter, Brennessel-Kraut, Nesslkraut, Haarnesselkraut.
- ❖ **En néerlandais** : Grote brandnetel.

I.3 Origine et aire de répartition

Originnaire d'Eurasie, l'ortie s'est répandue dans toutes les régions tempérées du monde. On la rencontre plus en Europe du Nord qu'en Europe du Sud, en Afrique du nord, en Asie et largement distribuée en Amérique du Nord et du Sud [Brisse et al., 2003].

I.4 Classification et Caractères Botaniques

L'Ortie dioïque, genre *Urtica*, espèce *dioica*, appartient à la grande famille des Urticacées. Cette famille comprend près d'une cinquantaine de genres et plus de 700 espèces, elle est présente partout dans le monde. On distingue les Urticacées avec poils urticants (genre *Urtica*) ou sans (genres *Parietaria* et *Boehmeria*) [APGII, 2003].

Le terme *Urtica* tire son nom du latin *uro* ou *urere* qui signifie « celle qui brûle », allusion à ses poils urticants dont le contact est très irritant. Le terme *dioica* vient de

dioïque, ce qui signifie que les fleurs mâles et les fleurs femelles se trouvent sur des pieds séparés [Rioux *et al.*, 2009].

Selon **Quezel et Santa (1963)**, *Urtica dioica* L. appartient au :

- **Règne** : Plantae (plantes).
- **Sous-règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires).
- **Embranchement** : Magnoliophyta (phanérogames).
- **Sous-embranchement** : Magnoliophytina (angiospermes).
- **Classe** : Rosidae.
- **Sous-classe** : Rosidae dialycarpellées .
- **Ordre** : Rosales.
- **Famille** : Urticaceae.
- **Genre** : *Urtica* L.
- **Genre espèce** : *Urtica dioica* L.

L'ortie ou *Urtica dioica* L. est une plante vigoureuse, vivace et herbacée avec une taille de 60 à 120 cm de hauteur. Elle forme des colonies grâce à son système racinaire qui lui permet de se propager rapidement (figures 01, 02, 03) [Bertrand et Jeanne, 2008].

Ces organes souterrains sont constitués par des rhizomes cylindriques de 3 à 10 mm d'épaisseur et de longues racines de 1 à 5 mm d'épaisseur pourvues d'un chevelu de fines racines [Wichth et Anton, 1999].

Ces feuilles sont d'un vert frais, opposées deux par deux, pétiolées, stipulées et dentées. Elles sont velues sur les deux faces et munies de poils que sur le dessus. Il est donc possible de prendre une ortie par le dessous sans se piquer. Elles répandent une faible odeur herbacée et leurs saveurs est aigrelette et astringente [Collectif, 1999].

Ces tiges sont fortes, dressées, non ramifiées et à section carrée. . Plus ou moins raides, quadrangulaires et couvertes de poils urticants [Ducarf et Thiry, 2003].

Le genre *Urtica* est caractérisé par la présence de poils unicellulaires de forme conique sur la face supérieure des feuilles et sur la tige, ils sont constitués d'un bulbe incrusté de silice et surmontés par une pointe recourbée. Transparent et effilé, le poil est comparable à une ampoule dont la pointe est aiguë et très cassante. Par frottement, la partie aiguë rentre dans la peau, se casse et libère une partie du contenu urticant qui provoque la réaction allergique bien connue (Figure 04) [Bezanger *et al.*, 1961].

L'ortie est une espèce *dioïque*, elle peut donc se reproduire sexuellement. [Bezanger *et al.*, 1975].

Les fleurs, apparaissant de juin à septembre, sont disposées à l'aisselle des feuilles, en grappes ramifiées et dans toute la partie supérieure de la plante. Elles sont unisexuées et minuscules. Les grappes femelles sont tombantes tandis que les grappes mâles sont dressées [**Cazin, 1997**].

De couleur verdâtre, la fleur femelle est constituée de 4 sépales, dont deux biens plus gros enveloppant un ovaire uniloculaire et deux petits extérieurs. La fleur mâle, est de couleur jaunâtre (anthères à grains de pollen jaunes), et comporte 4 sépales et 4 étamines recourbées dans le bouton, se redressant de manière élastique à l'anthère en projetant au loin un petit nuage de pollen [**Wichtl et Anton, 2003**].

La pollinisation est anémophile et le fruit monosperme est un akène alors que la graine renferme un albumen oléagineux et un embryon droit [**Vernard, 1960**].

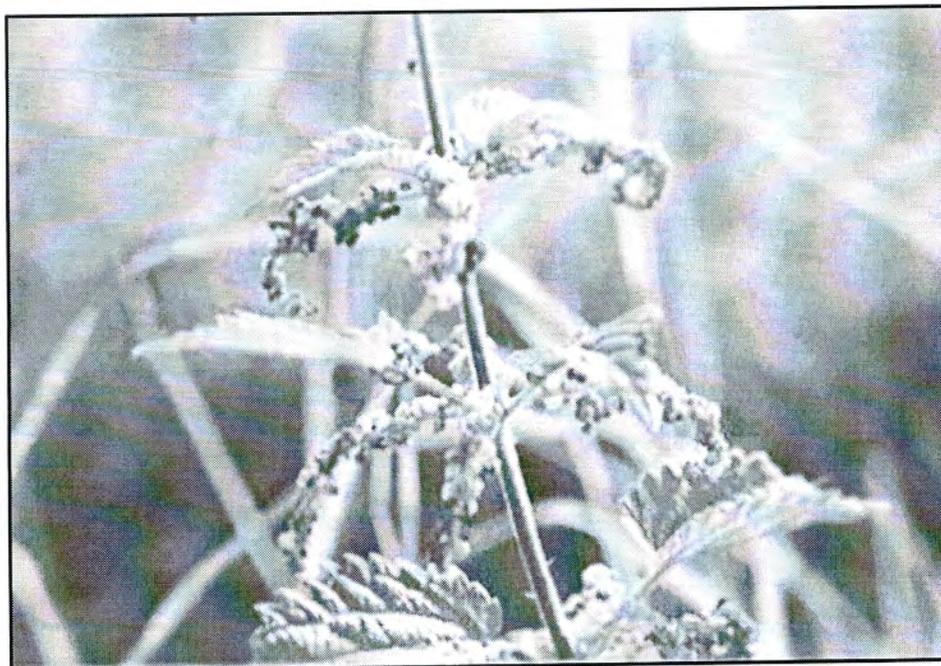


Figure 02 : *Urtica dioica* (Mâle) [Vanstippen, 2005].



Figure 03 : *Urtica dioica* (Femelle) [Vanstippen, 2005].

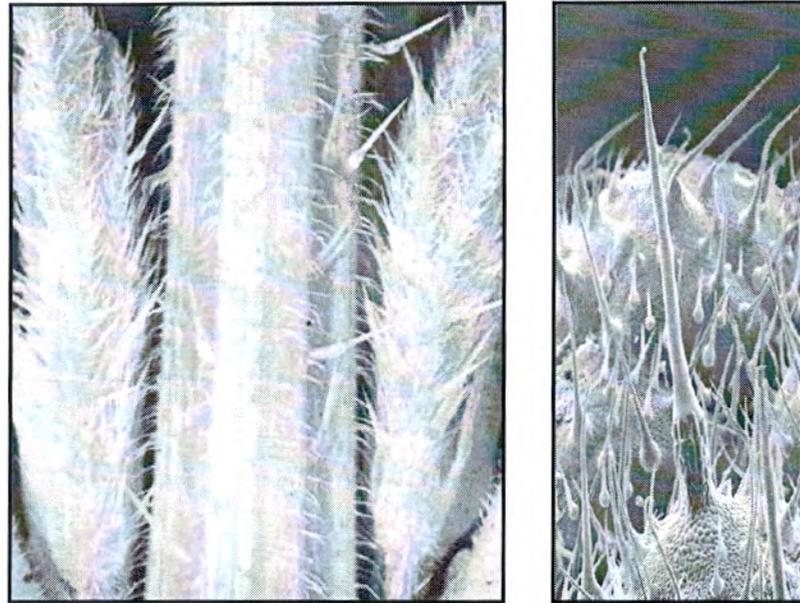


Figure 04 : Poils urticants d'*Urtica dioica* [Reynaud, 2010].

I.5 Biotope et Caractères écologiques

L'Ortie est une plante *cosmopolite* qu'on trouve dans le monde entier. C'est aussi une plante rudérale. Ce qui signifie qu'elle apprécie les endroits pollués qu'elle se charge d'assainir. En tant que plante nitrophile, elle suit la culture humaine et pousse spontanément jusqu'à 2500 m d'altitude, particulièrement sur les sols contaminés par les engrais [Preston *et al.*, 2002].

Agissant comme un puissant régulateur d'azote, c'est une plante bio-indicatrice. Au moment de sa décomposition, elle libère l'azote sous forme assimilable, ainsi disponible pour les plantes. Sa place dans l'assolement d'une exploitation, pourrait résoudre en partie les problèmes liés aux excès de nitrates dans les sols pollués. Elle peut donc être considérée comme une plante *CIPAN* (Culture Intermédiaire Piège à Nitrates) [Petiot *et al.*, 2010]. Elle se produit dans une grande variété d'habitats, comme les clairières des bois, les prairies non managées, broussailles, haies, bords des routes, jardins et champs. Elle est capable même de pousser au sein de vieux tas de ferraille. On la trouve plus rarement dans les régions de nature vierge. [Pojar et Kinnon, 1994].

L'ortie également qualifiée de plante ferreuse au premier degré, régularise la teneur en fer du sol et est aussi bénéfique pour toutes les autres plantes qui y poussent. Elle capte les métaux lourds dans sa partie racinaire, on n'en retrouve pas dans les feuilles mais un peu dans les racines. Elle élabore le soufre, véhicule le potassium et le calcium [Bertrand et Jeanne, 2008].

Elle fait partie du groupe des plantes photosensibles. Grâce à son appareil photosynthétique, elle est en mesure de subsister dans des conditions de luminosité très variables [Bertrand *et al.*, 2004].

Chapitre II:

La Phytochimie D'Urtica Dioica

Chapitre II : La phytochimie d'*Urtica Dioica*

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des composés chimiques. Parmi ces derniers nous avons de nombreux composés appelés *métabolites primaires* et qui sont indispensables à leurs existences, ceux-ci englobent des protéines, des lipides, des fibres alimentaires et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent. De plus, les plantes synthétisent aussi une gamme extraordinaire d'autres composés appelés *métabolites secondaires* dont la fonction est loin de faire l'unanimité [Cox *et al.*, 1994].

II.1 L'eau

Elle a un caractère essentiel pour tous les processus biologiques, elle participe aux phénomènes osmotiques et aux échanges thermiques [Etournaud, 1999].

II.2 Les sels minéraux

Les sels minéraux sont les constituants qui restent après la calcination des tissus organiques sous forme de cendres, ils sont essentiels à l'organisme [Etournaud, 1999].

Ces derniers représentent une valeur importante dans l'*Urtica dioica* [Bassett *et al.*, 1997].

II.3 Les métabolites Primaires

II.3.1 Les protéines

Les protéines sont des substances naturelles composées d'azote, de carbone d'hydrogène et d'oxygène et parfois de soufre ou de phosphore. Elles sont faites d'arrangements complexes d'acides aminés [Mc bride *et al.*, 1996].

Elles sont essentielles pour les êtres vivants car :

- Ce sont elles qui confèrent à chaque organisme son originalité spécifique et individuelle.
- Elles sont des catalyseurs des réactions biochimiques [Van Gansen et Alexandre, 1997].

Les protéines brutes comprennent les protéines vraies et d'autres substances qui renferment de l'azote comme l'ammoniac, les acides aminés et les nitrates [Mc bride *et al.*, 1996].

L'ortie fait partie des plantes les plus riches en protéine [Wichtl et Anton, 2003].

II.3.2 Les lipides

Les lipides sont des substances naturelles, esters d'acide gras et d'un polyol. [Bruneton, 1999]

Les acides gras comportent généralement un nombre paire d'atome de carbone entre 4 et 40, ils se répartissent en deux groupes : acides gras saturés et acides gras insaturés [Karleskind, 1992].

Une étude effectuée sur *Urtica dioica* L, a révélé la présence des acides gras dont l'acide linoléique représente avec un taux de 83% [Schmitt *et al.*, 1987].

II.4 Les métabolites Secondaires

On appelle métabolites secondaires des composés biosynthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal. De nombreux métabolites secondaires possèdent des propriétés thérapeutiques [Guillaume et Charrouf, 2005].

II.4.1 Les polyphénols

Les composés phénoliques (polyphénols) forment un très vaste ensemble de substances chimiques. L'élément structural fondamental qui les caractérisent est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une fonction : éther, ester, hétéroside [Bruneton, 1999].

II.4.1.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires qui constituent un des plus vastes groupes de poly phénols naturels et présentent un large champ d'activité biologique aussi bien chez les animaux que chez les végétaux [Richter, 1993; Stevens *et al.*, 1998].

Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement U.V [Hadi, 2004].

De plus, les flavonoïdes possèdent de remarquables activités biochimiques et pharmacologiques dues à leur pouvoir antioxydant, antibactérien, antiviral et anti-inflammatoire [Bruneton, 1999].

II.4.1.2 Les tanins

Les tanins sont des substances qui entrent dans la texture des parois cellulaires. Selon leur concentration dans un produit alimentaire, ils développent une note organoleptique positive (bière, vin), ou négative lorsque leur astringence et leur amertume deviennent excessives. Ils donnent aussi une saveur particulière à certains tissus végétaux [Cheftel, 1980].

Ce sont des substances polyphénoliques de structure variées, ayant la propriété de tanner la peau [Nahrsted et Butterweck, 1997].

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanin, différents, aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique [Haslam, 1989].

Les tanins hydrolysables (Figure 05), sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécule d'acides phénols. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénol est soit de l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydephinique HDDP et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques [Bruneton, 1999].

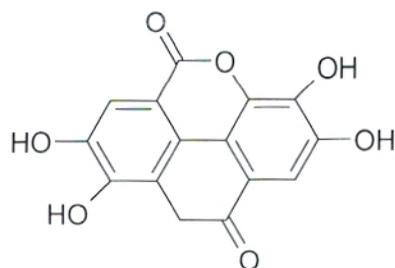


Figure 05: Structure d'un tannin hydrolysable.

Les tanins condensés (Figure 06) ou pro-anthocyanidols, se différencie fondamentalement des tanins galliques et éllagiques car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule, et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes [Paris et Hurabielle, 1981].

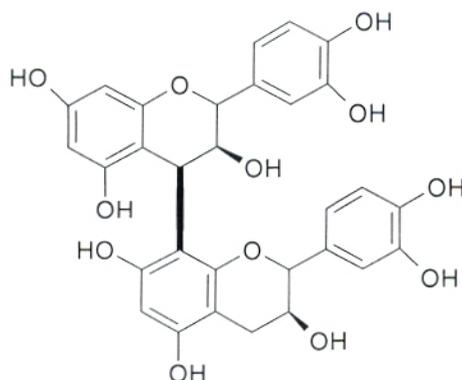


Figure 06: Structure d'un tannin condensé.

II.4.2 Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides fréquents chez les végétaux. Elles peuvent être classées en deux groupes selon la nature de leur génine.

- Les saponosides à génines stéroïdiques.
- Les saponosides à génines triterpéniques [Bruneton, 1999].

Chapitre III:

L'utilisation D'Urtica Dioica

Chapitre III : L'utilisation d'*Urtica Dioica*

L'Ortie est une des rares plantes que l'on peut reconnaître les yeux fermés. Considérée comme une « mauvaise herbe », elle est en réalité une plante riche en vitamines et minéraux et est pourvue de nombreuses vertus. Son utilisation est multiple, elle est employée en agriculture, en alimentation, en cosmétique, en teinturerie, dans l'industrie du textile et à des fins médicinales [Bertrand et Jeanne, 2008].

III.1 Usages alimentaires

« *Il y en a des plus riches que moi qui ont mangé des orties!* » Dicton populaire français.

L'ortie dioïque fait sans doute partie de ces légumes primitifs. Consommés depuis la nuit des temps. Elle était mentionnée dans les manuscrits par Hippocrate (460-377 av-JC) et Théophraste (372-285 av-JC) [Kavalali, 2003].

Les feuilles d'ortie fraîche étaient vendues sur les marchés de l'Europe de l'Est dans les années 50. Elle est source de nombreuses recettes [Petiot *et al.*, 2010]. Les feuilles de cette dernière sont comestibles. Elles peuvent être mangées crues (hachées en salade) ou en légumes, dans des gratins, en soupe, des quiches ou dans la potée aux orties. Le plus souvent elles sont consommées cuites à l'instar des épinards. Moins connue, il existe aussi une recette d'escargots aux orties et de la bière d'ortie. Jadis reconnue comme un "plat de pauvre", l'ortie est dans la majorité des recettes associée aux pommes de terre [Couplan et Styner, 2002].

Aujourd'hui, à l'exception d'un nombre restreint de régions où elle est toujours considérée comme aliment à part entière dans l'Himalaya ou comme légume en Finlande, elle a beaucoup perdu de son ancienne popularité et ne jouit plus que du statut de légume occasionnel. Sa consommation souffre d'une seule restriction, les plantes adultes, devenues filandreuses, prennent un goût désagréable, et leur consommation excessive à ce stade peut provoquer des dysfonctionnements rénaux [Kavalali, 2003].

L'ortie est aussi cultivée à des fins alimentaires pour ensuite être vendue dans des magasins d'alimentation bio sous des présentations pratiques [Bertrand et Jeanne, 2000]. C'est une plante extrêmement nutritive car elle est riche en chlorophylle et en minéraux, dont le fer, en protéines et en vitamines. Un taux de 4,8 mg de chlorophylle par gramme de

feuilles sèches a été trouvé. Cependant, l'ortie étant une plante photolabile, sa teneur en chlorophylle et en caroténoïdes varie selon qu'elle ait poussé au soleil ou à l'ombre [Kavalali, 2003 ; Bertrand et Jeanne, 2008].

Cultivée depuis des temps immémoriaux comme fourrage, l'ortie a l'avantage d'être présente autour de toute ferme. Les agriculteurs mettent à profit toutes les parties de la plante pour alimenter le bétail, qu'il soit grand ou petit, de la poule à la vache. Fauchée, puis fanée et séchée, l'ortie perd son pouvoir urticant, et constitue un fourrage d'excellente qualité, particulièrement riche en éléments minéraux et en protéines. Elle peut être donnée à tous les animaux de la ferme. Celle-ci peut être consommée fraîche ou sèche, seule ou mélangée à d'autres aliments [Tabardel, 2003].

La feuille d'ortie fraîche finement hachée est mélangée à du son et de la farine, servait à engraisser les dindonneaux, les poulets et les canards. Tandis que les chevaux, ânes et les ruminants apprécient la feuille d'ortie, quand elle est sèche [Lieutaghi, 1996].

Comme le montre le tableau ci-dessous, l'ortie est plus riche en éléments nutritifs, tout en étant plus pauvre en cellulose que le foin ; on comprend aisément que la valeur nutritionnelle de l'ortie est nettement supérieure à celle d'un bon fourrage [Bertrand et Jeanne, 2008].

Tableau 01 : Les valeurs nutritionnelles de la grande Ortie et le Foin [Bertrand et Jeanne, 2008].

	Protéines % MS	Matières grasses % MS	Matières non azotées % MS	Celluloses % MS
Foin	5,4	1	25,7	15
Grande Ortie	12,8	4,9	30	6

III.2 Usages agricoles

L'ortie nous plonge au tout début de l'agriculture. Car cette plante fut rapidement apprivoisée et devint une alliée précieuse du jardinier, qui peut, grâce à quelques applications simples, rendre son jardin plus productif [Tabardel, 2003].

Il appréciera ses vertus fertilisantes et insecticides, et renforcera la vitalité de ses légumes. Mais c'est surtout pour le jardinier biologique qu'elle est un outil indispensable. C'est, entre autres, grâce à elle et à ses multiples utilisations que l'on peut sans difficulté se passer des traitements qui empoisonnent le jardin et notre santé. On note aussi que sa seule présence stimule la croissance des végétaux voisins, de plus elle protège le sol des accidents climatiques [Bertrand, 2007].

Parmi les dérivés agricoles de l'ortie, le purin est sans doute le plus populaire. Considéré comme un remède miracle chez les uns, simple auxiliaire du jardinier pour les autres, le purin d'ortie n'a jamais rencontré de détracteurs. Son succès s'explique par les résultats obtenus, souvent spectaculaires, et sa simplicité de fabrication et d'utilisation. Son nom de purin, il le doit à l'odeur putride qui s'en dégage, résultat de la macération prolongée des feuilles d'orties dans de l'eau [Peterson, 1986].

Le purin d'ortie s'utilise soit comme fertilisant, soit en traitement préventif de certaines maladies ou invasions de parasites. Sa réputation est ancienne. On l'utilisait en agrobiologie sans même connaître les raisons scientifiques. Ce n'est que récemment que des chercheurs, intrigués par ces résultats, ont décidé de le soumettre à de rigoureuses expérimentations. Les travaux effectués en 1981, sont l'œuvre de *Rolf Peterson*, chercheur suédois. Ils confirment en tous points les travaux de terrain et donnent des arguments de poids aux fervents défenseurs de l'agriculture biologique [Peterson, 1986].

Sans oublier que c'est aussi un excellent accélérateur de compost [Bertrand, 2007].

III.3 Principales Utilisations thérapeutiques

III.3.1 Utilisation thérapeutique traditionnelle

L'ortie est un remède traditionnel utilisé depuis des années contre l'anémie et le manque d'énergie: on dit que c'est un excellent fortifiant grâce à sa haute teneur en fer et autres minéraux. On dit aussi qu'elle stimule les fonctions digestives (lourdeurs et crampes d'estomac) [Wichtl et Anton, 2003].

La tisane d'ortie est toujours proposée par les phytothérapeutes comme remède traditionnel pour la goutte et les rhumatismes. En Allemagne, la tisane d'ortie est utilisée comme diurétique léger, mais elle n'est pas suffisamment puissante pour être associée à un traitement de l'hypertension ou les problèmes cardiaques. Alors qu'en Russie, l'ortie est aussi employée pour les troubles biliaires et hépatiques [Valnet, 1983].

III.3.2 Utilisation thérapeutique actuelle

L'ortie dioïque appartient au monopole pharmaceutique. Elle est inscrite sur la liste des plantes médicinales retenues comme telles par la Pharmacopée dans le monde entier. Aujourd'hui les propriétés médicinales de l'ortie sont reconnues de tous. La plupart des pratiques populaires ancestrales ont été confirmées par l'analyse et l'expérimentation.

De nos jours, l'ortie rentre dans la composition d'une multitude de médicaments allopathiques et les recherches se poursuivent et viennent toujours confirmer certaines utilisations empiriques [Cazin, 1997].

On peut résumer d'autres propriétés thérapeutiques de l'ortie dans le tableau 02.

Tableau 02 : Propriétés Thérapeutiques d'*Urtica dioica*

Propriétés Thérapeutiques	Actions	Références
Traitement de cancer prostatique et d'hypertrophie bénigne de la prostate.	Les effets de la racine d'ortie dans le traitement de l'HBP. (un effet comparable à celui de la tamsulosine).	- Konrad <i>et al.</i> , 2000 - Durak <i>et al.</i> , 2004 - Schneider et Rubben, 2004 - Safarinejad, 2005 - Hoffman, 2006
Hypotenseur	Les racines d'ortie peuvent produire des réponses hypotensives à travers des effets vasodilatateurs, par la libération de l'oxyde d'azote endothélial et par l'ouverture des canaux potassiques, et à travers une action inotrope négative.	- Broncano, 1983 - Newall <i>et al.</i> , 1996 - Blumenthal, 2000 - Tahri <i>et al.</i> , 2000 - Testai <i>et al.</i> , 2002 - Legssyer <i>et al.</i> , 2002
Diurétique	Augmente le débit urinaire	- Blumenthal, 2000 - Tahri <i>et al.</i> , 2000
Hépatoprotectrice, Dépurative,	Elimination des toxines accumulées dans l'organisme (urée- ions de chlorure). La feuille aide à assainir autant la lymphe que le sang en diminuant l'acidité tout en régulant les facteurs inflammatoires.	- Turkdogan <i>et al.</i> , 2003 - Yener <i>et al.</i> , 2008
Anti-anémique, Anti-agrégation plaquettaire	Antifatigue grâce à la forte teneur en fer contenu dans la chlorophylle des feuilles.	- El houari <i>et al.</i> , 2006
Anti-allergique, Anti-oxydante	Utile dans le traitement de l'allergie au pollen, traitement de longue durée. Effets sur les récepteurs clés et les enzymes associés à la rhinite allergique (feuilles)	- Mittman, 1990 - Gulcin <i>et al.</i> , 2004 - Ilhami <i>et al.</i> , 2004 - Roschek <i>et al.</i> , 2009
Anti-inflammatoire, Immuno-stimulateur	Activité inhibitrice sur un œdème de patte de rat des polysaccharidique de l'extrait aqueux des racines. Une activité immuno-stimulatrice des flavonoïdes glycosides des feuilles sur les neutrophiles.	- Glusker et Rossi, 1986 - Wagner, 1994 - Akbay <i>et al.</i> , 2003 - Capasso <i>et al.</i> , 2003
Traitement de rhumatismes et Arthrose	Effet sur la maturation des cellules dendritiques myéloïdes humaines, avec diminution de l'induction la réponse des cellules T primaires du rhumatisme articulaire. Consolidation des cartilages grâce à sa richesse en Silice (surtout les racines).	- Wang et Wei, 2001 - Broer et Behnke, 2002
Effet sur la fonction cérébrale et la mémoire	La feuille d'ortie est capable de diminuer la transcription des facteurs de l'inflammation, et de stimuler la performance cérébrale	- Wichtl et Anton, 2003.
Alopécie (chute des cheveux)	Stoppe la chute des cheveux. (surtout les racines)	- Davis, 1982

III.4 Usages en cosmétique

L'Ortie est également utilisée en cosmétique sous forme de shampooing, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux (les feuilles et les racines sont d'excellents toniques capillaires) et dans certains produits pour traiter les maladies de la *peau comme l'eczéma et l'acné [Binns, 2006]*.

III.5 Usages en textile

L'industrie de l'ortie a essayé de s'imposer en Allemagne et en France plus particulièrement à Angers entre le XV^{ème} et le XVII^{ème} siècle car les fibres d'ortie (figure 07) étaient qualifiées de soie végétale. Grâce à sa couleur verte, elle a servi aux militaires allemands comme (tentes, sac à dos, filet de camouflage, pulls et chaussettes...) les hommes et les enfants des villages du Nord et de l'Est devaient récolter des orties pour approvisionner les usines textiles allemandes [**Petiot et al., 2010**].

Aujourd'hui, les matières végétales reviennent au goût du jour. On les retrouve donc de plus en plus dans la composition des vêtements.

L'ortie est donc une ancienne matière textile qui revient à la mode. Des entreprises françaises (Charente maritime et Nord de la France) fabriquent des draps, des vêtements et de la toile à partir des fibres de cette plante. Mais il s'agit de tissus mixtes dans lesquels ne figurent qu'un faible pourcentage de fibres d'ortie dioïque mais suffisant pour renforcer la solidité des tissus. En Allemagne, Heinrich Kranz a relancé la filière écologique de l'ortie textile (1000 Ha de cultures d'ortie) et actuellement les Britanniques ont un projet d'introduction de la fibre d'ortie dioïque dans des tissus d'ameublement ainsi que la confection de tissus écologiques (The Sting Project) [**Petiot et al., 2010**].

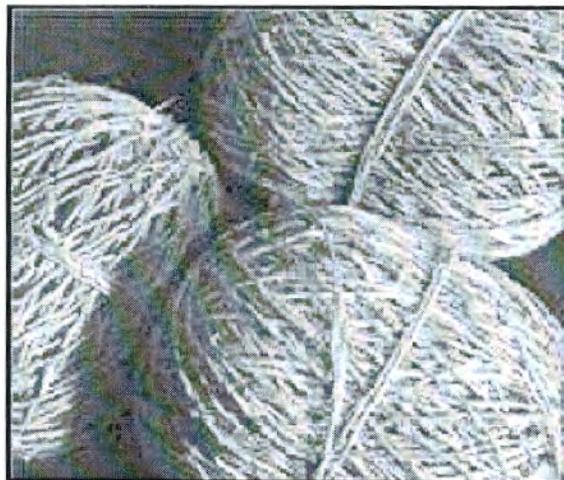


Figure 07 : Fil Brut 100 % Ortie Non Teinte Pelote [Petiot et al., 2010]

III.6 Usages divers

L'Ortie est aussi utilisée pour certains colorants car elle a une haute teneur en chlorophylle. Ses teintures vont du jaune (racines) au vert (feuilles). On a extrait de la chlorophylle des colorants alimentaires (E140), des arômes utilisés pour des dentifrices et chewing-gums [Sylvie et Ghislain, 2005]. On retrouve également cette plante dans la fabrication du papier et dans la composition de billets de banque [Petiot *et al.*, 2010].

On cite aussi qu'en Normandie, l'ortie était utilisée pour enlever les taches de graisse récalcitrantes. En montagne, les bergers récuraient leur chaudron à fromage avec une poignée d'orties fraîches. Cette propriété bien réelle de l'ortie est due à la forte concentration de la plante en silice (dans les poils) et en cristaux de calcium (dans l'épiderme) [Bertrand, 2002].

Partie II
MATÉRIELS
ET MÉTHODE

« La femme est semblable à l'Ortie, qui se laisse approcher et qui pique
d'abord »

Chevreau, Poésies, 1656.

Chapitre I:
Matériel Biologique
et
Méthodes d'analyses utilisées

La composition chimique d'un produit végétal varie selon plusieurs facteurs comme : l'origine ethnobotanique, l'âge, la structure du sol et sa fertilisation ainsi que les facteurs climatiques [Michel et Wattiax, 2000].

Chapitre I : Matériel Biologique et Méthodes d'analyse utilisées

L'espèce *Urtica dioica* a été récoltée dans la wilaya de Tlemcen (Ain El Houte) durant le mois de décembre de l'année 2009.

Les feuilles et les racines de la plante sont ensuite séchées, broyées puis conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière et l'humidité pour des analyses ultérieures.

I.1 Détermination de la teneur en matière sèche

▪ *Principe:* [Audigie et al., 1980]

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de l'ordre de 100°C à 105°C et sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placées dans un dessiccateur.

▪ *Mode opératoire*

- Sécher à l'étuve, les vases de tare pendant 30 min à 100°C avec couvercles inclinés ;
- Laisser refroidir dans un dessiccateur durant 20 à 30 min, puis on pèse les vases avec les couvercles ; c'est m_1 .
- Mettre dans chaque vase 2g d'échantillon frais moulu, on ferme les couvercles et on pèse ; c'est m_2 .
- Placer les vases qui contiennent l'échantillon dans l'étuve pendant 3h à 105°C avec couvercle incliné. Ensuite mettre rapidement les couvercles et laisser refroidir au dessiccateur pendant 15 min et peser ; c'est m_3 .
- Remettre les vases à couvercles inclinés dans l'étuve durant 1h et peser comme précédemment ;

Lorsque la différence entre deux pesés n'est pas significative (< 2 mg) on arrête le séchage, et on considère l'opération comme terminée, sinon, on continue jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

▪ Expression des résultats

Le taux d'humidité (%) d'un échantillon du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = (m_2 - m_3) / (m_2 - m_1) \times 100$$

m_1 : masse en gramme de la tare ;

m_2 : masse de la prise d'essai en gramme avant séchage ;

m_3 : masse de la prise d'essai en gramme après séchage.

→ Conversion en matière sèche

A partir de la teneur en humidité on peut déterminer le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{taux d'humidité (\%)}$$

I.2 Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont pour but de caractériser la présence ou l'absence des constituants chimiques d'une plante.

Lors de l'examen phytochimique, trois solvants de polarités différentes (eau, éthanol et éther diéthylique) ont été employés afin d'extraire les différents constituants de notre plante (figure 08).

Les réactifs de caractérisation classique ont permis de mettre en évidence les groupes chimiques suivants :

Les alcaloïdes (réactifs de Dragendorff et de Mayer), les composés réducteurs (réactif de Fehling), les saponosides (indice de mousse), les tanins (chlorure ferrique), les stérols et stéroïdes (réaction de Liebermann Buchard) [OUA, 1988 ; Bruneton, 1993], les terpénoides [Edeoga, 2005] (Voir Annexe).

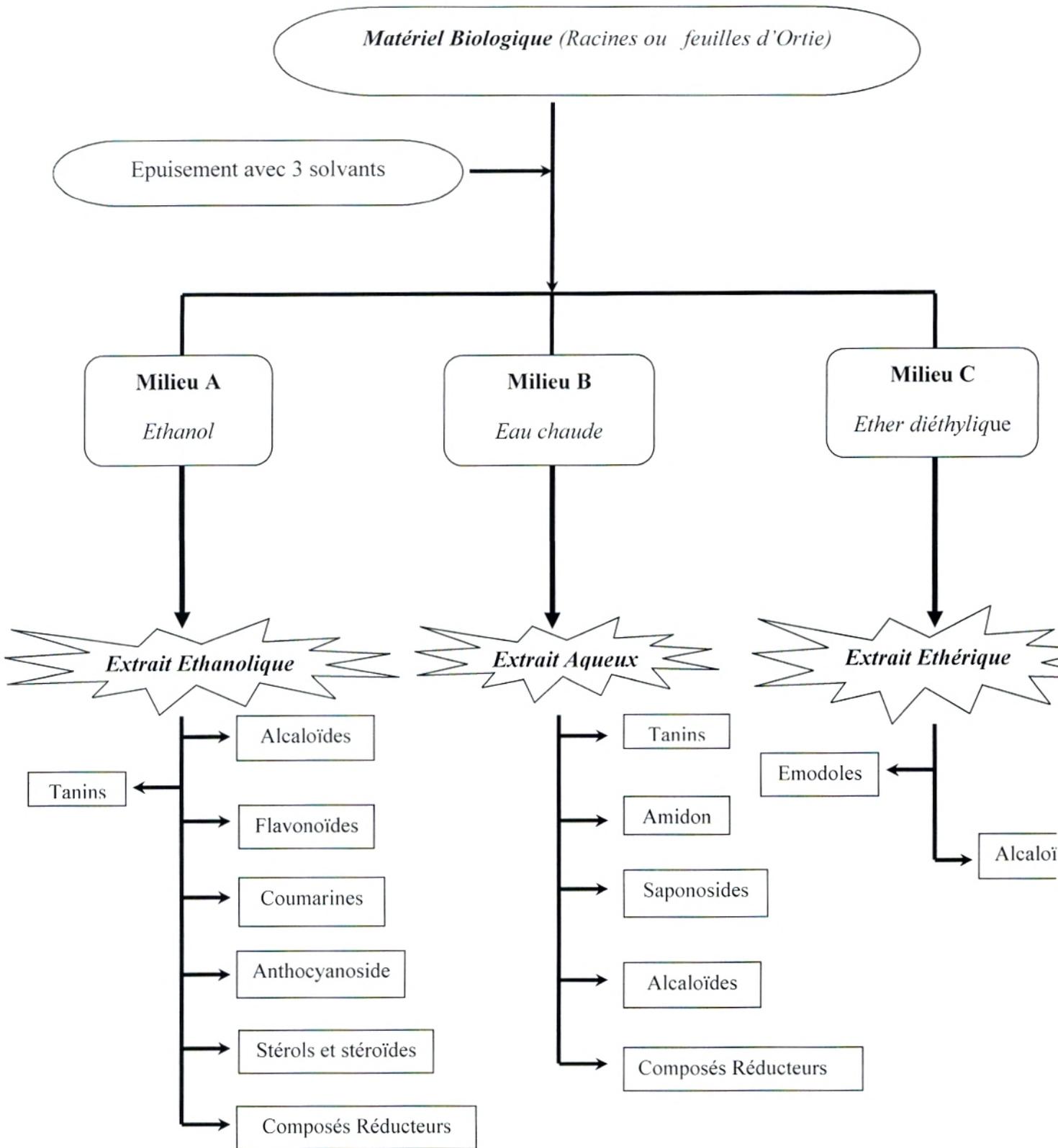


Figure 08 : Matériel végétal épuisé avec 03 solvants différents.

I.3 Métabolites primaires

I.3.1 Dosage des lipides

▪ *Principe* [Lecoq, 1965]

La méthode consiste à extraire la matière grasse à l'aide d'un solvant organique (hexane ou éther de pétrole).

L'extraction est réalisée dans un extracteur de type Soxhlet. Après évaporation du solvant, le taux de matière grasse est déterminé gravimétriquement selon la méthode indirecte.

▪ *Mode opératoire*

Il est réalisé selon la méthode indirecte ou des résidus.

La cartouche est séchée puis pesée : poids A ;

2g de matériel végétal à analyser sont mis dans la cartouche ;

La cartouche est mise dans un dessiccateur pendant 15min puis pesée : poids B;

La cartouche est placée dans l'appareil de Soxhlet (siphon) et mettre le solvant dans le ballon de 250 ml pendant 6 h ;

Après extraction, retirer la cartouche, et placer dans une vase de tare et sécher pendant 15min à 100-105°C jusqu'au poids constant, en suite, on pèse la cartouche : poids C ;

▪ *Expression des résultats*

Le pourcentage de la matière grasse est déterminé par la formule suivante :

$$\%MG = [(B-C) / (B-A)] \times 100$$

A : poids de la cartouche vide (g) ;

B : poids A+ échantillon avant extraction (g) ;

C : poids A+ échantillon après extraction (g) ;

100 : pour exprimer le pourcentage (%) ;

MG : taux des lipides de l'échantillon ;

I.3.2 Dosage des matières azotées

❖ Dosage de l'azote total

La méthode consiste à mesurer l'azote ammoniacal, après minéralisation du produit.

Il est réalisé par la méthode de **Kjeldahl (1883)**. Cette méthode comprend trois étapes: la minéralisation, la distillation et la titration.

▪ *Principe*

La méthode consiste à détruire la matière organique par l'acide sulfurique concentré et chaud, qui fait passer quantitativement l'azote à l'état de sulfate d'ammonium.

On déplace ensuite l'ammoniac par de la soude et on le recueille dans un excès d'acide sulfurique de concentration connue. Un titrage en retour par de la soude de concentration connue permet de déduire la quantité d'ammoniac formée, donc la teneur en azote du produit initial [**Lion, 1955**].

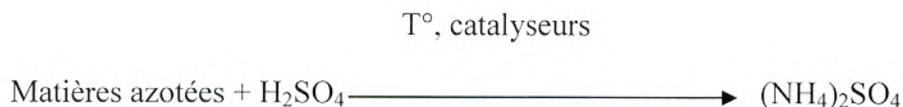
▪ *Mode opératoire*

- ✓ **Echantillon** : 1g environ de l'échantillon à analyser broyé, tamisé à travers des mailles de 2 mm et séché à 105°C jusqu'à poids constant est introduit dans un tube de digestion.
- ✓ **Réactifs pour la digestion** : Pour la digestion de chaque échantillon, nous avons ajouté dans le matras:
 - 1 g du catalyseur qui est composé de :
 - ✓ 7 g de sulfate de potassium anhydre K_2SO_4 ;
 - ✓ 1.2 g de sulfate de cuivre $CuSO_4$;
 - ✓ 5 mg de Sélénium en poudre ;
 - 12 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré à 98% ;
 - 5 ml de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 concentré à 35% (130vol) .
- ✓ **Digestion** : Elle est faite dans une unité de digestion **BÜCHI Digest system K-437**.

Les matras sont placés sur le dispositif de chauffage

L'appareil de digestion (figure 09) est préchauffé pendant 10 min, et les gaz d'échappement sont aspirés à l'aide d'une trempe à vide.

La minéralisation est lancée et poursuivie jusqu'à l'obtention d'une couleur limpide du mélange qui indique que tout l'azote organique contenu dans l'échantillon est transformé en azote minéral :



Le minéralisat (le contenu du matras) est transversé dans une fiole en complétant le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml puis mélangé soigneusement afin de solubiliser en maximum les sulfates d'ammonium et laissé refroidir.



Figure 09 : Minéralisateur de Kjeldahl.

✓ Distillation

Elle est faite dans une unité de distillation **BÜCHI Distillation Unit B-324** (figure 10)

10 ml du contenu de la fiole sont introduites dans le matras de l'unité de distillation aux quels sont ajoutés 50 ml d'eau distillée et 50 ml de la soude caustique (NaOH) à 35%, cette dernière va réagir avec le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ comme suite :



Le mélange est chauffé pendant 4 min de façon à recueillir 150 ml de distillat.

Le distillat est ensuite recueilli dans un flacon de réception qui contient 25 ml de solution d'acide borique à 0.1N additionné de 03 gouttes d'indicateur de *Tashiro* (0.2 g, rouge de méthyle et 0.19 g de bleu de méthylène dissouts dans 100 ml d'éthanol ; il est de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin), et l'interaction entre l'ammoniac et l'acide borique engendre la libération des anions de borate selon la réaction suivante :



Figure 10 : Distillateur de Kjeldahl.

✓ Titration

L'excès des anions de borate est titré avec une solution d'HCl à 0,1N jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet selon la réaction suivante (figure 11) :



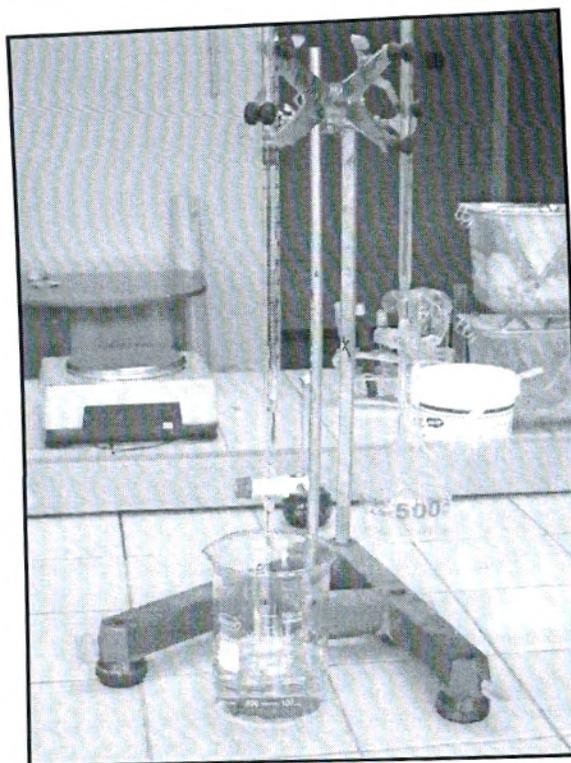


Figure 11 : Dispositif de titrage.

▪ *Expression des résultats*

Le nombre de mole d'HCL nécessaire pour neutraliser l'excès des anions de borate présent dans l'échantillon à analyser est égale au nombre de mole d' NH₃ et au nombre de mole d'azote (N) dans l'échantillon.

Le pourcentage d'azote total est calculé par la formule suivante:

$$\text{Azote total (\%)} = N (\%) = (V_e - V_b) \times N \times 14.01 \times 100/m$$

V_e : Volume en ml de la solution de HCl à 0,1N nécessaire pour neutraliser l'excès des anions de borate présent dans l'échantillon à analyser.

V_b : Volume en ml de la solution de HCl à 0,1N nécessaire pour neutraliser l'excès des anions de borate présent dans l'essai à blanc.

N: normalité de HCl utilisée pour titration (0,1N).

14.01 : la masse atomique de l'azote

m: masse en g de la prise d'essai.

→ Conversion du taux d'azote en taux de protéines

100 g de protéines correspond à 16 g d'azote dans la majorité des cas. On utilise un facteur de conversion **F** basé sur le taux moyen d'azote des protéines ;

$$F = 100/16 = 6,25$$

→ Les résultats sont exprimés de la façon suivante :

$$\text{Protéines brutes (\%)} = \text{PB\%} = \text{N (\%)} \times 6.25$$

❖ Dosage de l'azote protéique

Le principe de cette méthode consiste à traiter le matériel végétal avec une solution de trichloro-acide acétique (TCA) pour éliminer l'azote non protéique.

L'azote protéique est dosé par la méthode de **Kjeldhal** décrite précédemment.

▪ Mode opératoire

On traite 2g de matériel végétal par 10ml d'une solution de TCA (trichloro-acide acétique) à 10%, le mélange filtré est ensuite lavé avec 5ml du TCA (trichloro-acide acétique) à 2%. Le culot obtenu est constitué uniquement de l'azote protéique.

I.3.3 Dosage des sucres totaux**▪ Principe [Dubois et al., 1956]**

La méthode utilisée appelée aussi méthode phénol/acide sulfurique. En présence d'acide sulfurique concentré, les oses sont déshydratés, les produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaunes-oranges, l'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490nm.

- * Après avoir vidangé le dernier lavage, 150 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1.25% préchauffé et 3 à 5 gouttes d'agent anti-moussant (n-octanol) sont ajoutés, ensuite l'ensemble est bouilli pendant 30 min.
- * Après évacuation de KOH, le résidu est lavé 3 fois avec 30mL d'eau distillée chaude, se reliant chaque fois à l'air comprimé pour remuer le contenu du creuset ;
- * Le dernier lavage est effectué avec de l'eau distillée froide pour permettre aux creusets de refroidir, puis le contenu des creusets est lavé trois fois avec 25 ml d'acétone, en mélangeant chaque fois à l'aide d'air comprimé.
- * Les creusets sont retirés et le poids sec est déterminé après séchage dans un four à 105°C pendant une heure ou jusqu'à poids constant (P_1). Ce poids représente les fibres brutes plus la teneur en cendres en comparaison du poids initial.
- * Les creusets sont placés dans un four à moufle à 550°C pendant 3 h et repesés après refroidissement dans un dessiccateur.
- * Le résidu restant dans les creusets est pesé (P_2).
- * La différence des poids représente le contenu en fibre brute sans les cendres en comparaison à l'étape précédente.

▪ Expression des résultats

La teneur des fibres brutes est calculée par la formule présentée ci- dessous :

$$\text{Fibre brute (\%)} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100$$

P_0 : le poids de l'échantillon à analyser ;

P_1 : le poids des creusets + l'échantillon avant l'incinération ;

P_2 : le poids des creusets + l'échantillon après l'incinération.

I.3.5 Dosages des Cendres

▪ Principe [Audigie et Dupont, 1982]

Le principe consiste en une incinération de l'échantillon dans un four à moufle, dans des creusets en porcelaine à une température de 525°C±25°C jusqu'à ce que les résidus deviennent blancs après refroidissement.

Conventionnellement une grande capacité de piégeage (réduction) des radicaux libres est considérée comme une grande activité antioxydante.

▪ *Mode opératoire*

Préparation des solutions de contrôle

a. L'essai à blanc

Pour calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre) utilisé:

1,950ml de méthanol est additionnée à 50µl d'extrait sec d'acétone/eau des composés phénolique solubilisé dans du méthanol ensuite agiter le mélange.

b. La solution contrôle

Préparer 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) dans un tube à essai et additionner 50µl de méthanol. Ensuite laisser incuber à l'obscurité pendant 30 minutes. Puis lire l'absorbance du mélange à 515nm en utilisant un UV-VIS spectrophotomètre (figure13).

c. Préparation de l'échantillon

Préparer 1,950ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) dans un tube à essai et additionner 50µl d'extrait sec à différentes concentrations. Ensuite laisser incuber à l'obscurité pendant 30 minutes. Puis lire l'absorbance du mélange à 515nm en utilisant un UV-VIS spectrophotomètre (figure14).

▪ *Expression des résultats*

Le pourcentage de réduction du DPPH est donné par la formule décrite par **Yen et Duh, [1994]**

$$\% \text{ PR du DPPH} = [\text{DO}_{\text{Contrôle (0)}} - \text{DO}_{\text{Echantillon (t)}} / \text{DO}_{\text{Contrôle (0)}}] \times 100$$

% PR du DPPH : pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH.

DO_{Contrôle (0)} : densité optique du contrôle à t = 0 min.

DO_{Echantillon (t)} : densité optique de l'antioxydant à t = 30min.

A partir de la variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la concentration de l'extrait sec nous pourrions déterminer graphiquement l' IC_{50} qui est définie comme étant la concentration de l'antioxydant (l'extrait ou composé) nécessaire pour réduire ou inhiber 50% du DPPH.

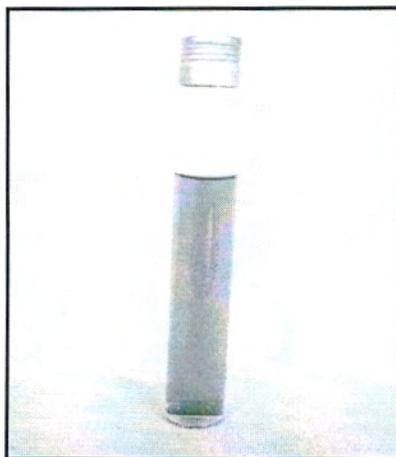


Figure 13 : Solution fraîche de DPPH sans échantillon.

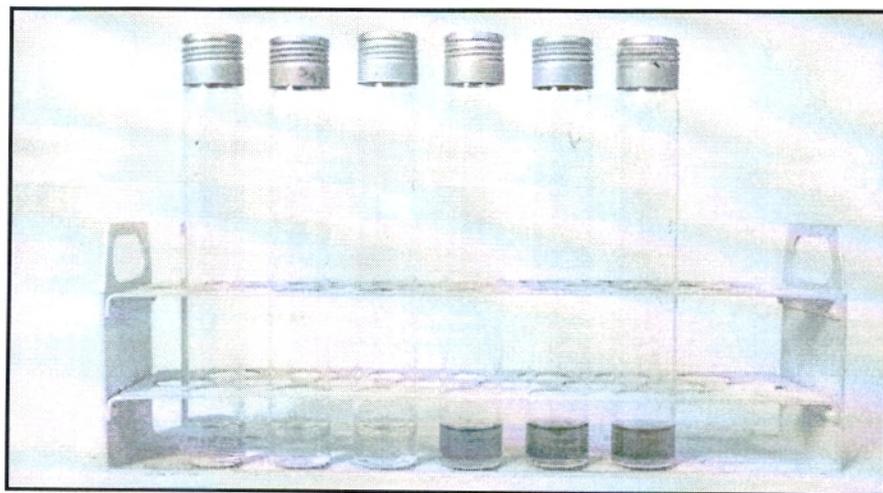


Figure 14 : Solution de DPPH mise à réagir avec l'échantillon (extrait des flavonoïdes).

I.6 Analyse qualitative de l'ortie

I.6.1 Chromatographie sur couche mince [Zeljan *et al.*, 1998]

La chromatographie sur couche mince (CCM) ou TLC (Thin Layer Chromatography) est avant tout un outil pour analyse rapide et elle est d'ailleurs extrêmement efficace à cet effet.

C'est une méthode physique de séparation de mélange en leurs constituants car elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une est stationnaire ou fixe et l'autre est mobile.

La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou mélange de solvants.

On dépose sur la plaque fixe (plaque CCM) une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile. Cette dernière migre de bas en haut par capillarité tout le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange.

C'est le phénomène d'élution qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, appelé rapport frontal ou facteur de rétention (Rf).

$$\mathbf{Rf = hauteur\ de\ la\ tache / hauteur\ du\ front\ du\ solvant.}$$

▪ *Mode opératoire de la chromatographie*

On réalise la saturation de la cuve 24 heures avant la chromatographie.

La chromatographie sur couche mince des tanins et des flavonoïdes a été réalisée selon le mode opératoire décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau 03 : Mode opératoire des CCM.

	Tanins	Flavonoïdes
Solvant de migration (phase mobile).	Chloroforme /Acétate d'éthyle / Acide formique (5 : 5 : 1 ; V / V / V) [Kurt, 1971].	Cyclohexane / Acétate d'éthyle / Acide acétique (31 : 14 : 5 ; V / V / V) [Marica <i>et al.</i> , 2004].
Phase stationnaire.	Plaque de gel de silice (6 - 60) en aluminium (20 × 20).	Plaque de gel de silice (6 - 60) en aluminium (20 × 20).
Front de migration.	Situé à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque.	Situé à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque.
Dépôt.	A 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, on effectue des dépôts de 8 µl à l'aide d'une micropipette de 2 µl à 20 µl.	A 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, on effectue des dépôts de 8 µl à l'aide d'une micropipette de 2 µl à 20 µl.
Révélation.	A l'aide d'une lampe UV, on révèle les plaques aux deux longueurs d'onde : 365 nm et 254 nm respectivement.	A l'aide d'une lampe UV, on révèle les plaques aux deux longueurs d'onde : 365 nm et 254 nm respectivement.

1.6.2 Test antioxydant qualitatif

Le test chimique employé pour déterminer l'existence de l'activité antioxydante sur chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits bruts est basé sur la technique mise au point par **Takao *et al.*(1994)**.

La détection de cette activité est basée sur le principe de la capture des radicaux libres fournis par un le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), lorsque ce dernier est réduit par un capteur de radicaux libres, sa couleur change. Le développement des plaques a été fait selon les conditions standards des extraits bruts.

Les plaques de CCM ont été séchées puis révélées avec une solution méthalonique de DPPH à 2 mg/ml.

En présence de composés antioxydants, le DPPH est réduit en passant du pourpre au jaune, le temps optimal de réaction est de 30 minutes.

Partie III
RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

« Si vous dormez sur les roses pendant votre jeunesse
vous dormirez sur les orties quand vous serez vieux »

[Proverbe serbe].

Chapitre I : Composition Chimique de l'ortie

La composition chimique des différents organes d'*Urtica dioica* L. à savoir les feuilles, les fruits et les racines, a été le sujet de nombreuses études depuis la seconde moitié du 19^{ème} siècle. La reconnaissance de l'importance médicinale de cette plante a commencé au début du 20^{ème} siècle. Depuis, des progrès considérables ont été réalisés dans la découverte de la structure des composés, grâce aux améliorations des techniques de séparation et des méthodes spectroscopiques [Draghi, 2005].

Selon Wren (1988) et Reckeweg (1996), l'intérêt et l'importance de l'ortie dioïque est due en grande partie à l'utilisation fréquente des parties aériennes et des racines.

C'est dans ce sens que nous avons orienté notre travail, car c'est à travers la composition chimique et la teneur en métabolites primaires et secondaires que contient une plante, qu'on peut apprécier leurs éventuelles utilisations ainsi que leurs valeurs nutritionnelles.

I.1. La teneur en matière sèche

Le calcul de la teneur en matière sèche repose sur la détermination du taux d'humidité contenu dans l'échantillon à analyser. Cette humidité demeure toujours un indice très important car elle donne une idée sur la qualité de notre échantillon.

En général, toutes les plantes possèdent des quantités variables d'eau, les jeunes plantes contiennent entre 70 à 80 %, soit une valeur de 20 à 30 % de matière sèche [Wattiaux, 1997].

D'après nos résultats, les feuilles d'*Urtica dioica* renferment un taux important en eau de l'ordre de 75% qui se traduit par 25% de matière sèche ce qui concorde avec la valeur trouvée par Bertrand et Jeanne (2008) à savoir un taux compris entre 20 et 23% en MS.

D'autres études sur la teneur en matière sèche des feuilles d'ortie ont été réalisées par Wetherilt(1992) avec un résultat trouvé de l'ordre de 23,1%.

Les racines d'*Urtica dioica* renferment un taux plus élevé en eau. Il est estimé à 85%. Le pourcentage en matière sèche (MS) est estimé à 15%.

I.2. Tests phytochimiques

Lors de l'examen phytochimique, la mise en évidence des différentes familles de métabolites primaires et secondaires est effectuée par des réactions simples et rapides (coloration avec un réactif spécifique, floculation, précipitation...).

Ces dernières présentent quatre possibilités :

(+): est enregistré si le réactif présente une légère opacité (présence en faible quantité)

(+ +): est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation (présence en quantité moyenne).

(+ + +): est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd (présence en forte quantité).

(-): est enregistré en cas d'absence de turbidité, de floculation et de précipitation (absence).

Les résultats des tests phytochimiques sont regroupés dans les tableaux suivants.

Tableau 04 : Résultats d'examen phytochimique des feuilles d'*Urtica Dioica*.

<i>Epuisement par</i> Familles des composés	<i>Ethanol</i>	<i>Eau</i>	<i>Ether</i>
Saponosides	-	+	-
Flavonoïdes	-	+	-
Tannins	++	++	-
Stérols et stéroïdes	++	-	-
Coumarines	+	-	-
Huiles volatiles	-	-	+
Antracénosides	-	-	-
Anthocyanosides	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-
Emodols	-	-	-
Composés réducteurs	++	+++	-
Amidon	-	-	-
Acides gras	-	-	++
Terpénoides	-	-	+++

Tableau 05 : Résultats d'examen phytochimique des racines d'*Urtica Dioica*.

<i>Epuisement par</i>	<i>Ethanol</i>	<i>Eau</i>	<i>Ether</i>
Familles des composés			
Saponosides	-	-	-
Flavonoïdes	++	-	-
Tannins	++	++	-
Stérols et stéroïdes	-	-	-
Coumarines	-	-	
Huiles volatiles	-	-	-
Antracénosides	-	-	-
Anthocyanosides	-	-	-
Alcaloïdes	+	-	-
Emodols	-	-	-
Composés réducteurs	+	++	-
Amidon	-	-	-
Acides gras	-	-	-
Terpénoides	-	++	-

Le screening phytochimique d'*Urtica dioica* réalisé sur les feuilles et les racines a permis de mettre en évidence la présence des saponosides, des flavonoïdes, des tannins, des stérols et stéroïdes, des coumarines, des composés réducteurs, des alcaloïdes, des acides gras et des terpénoides et huiles volatiles avec des proportions variables.

De même, nous avons observé que l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux renferment une teneur moyenne en tannins dans les feuilles et les racines.

L'épuisement à éthanol a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes en quantité moyenne dans les racines uniquement, par contre l'épuisement à l'eau de ces flavonoïdes nous a révélé une faible teneur dans les feuilles et une teneur négative dans les racines.

Les composés réducteurs se trouvent en quantité importante dans l'extrait aqueux des feuilles et une quantité moyenne au niveau des racines, on note aussi une faible quantité de

ces derniers concernant l'épuisement à l'éthanol qui nous a permis aussi de mettre en évidence la présence des composés réducteurs en quantité moyenne.

On remarque que les racines sont dépourvues de stérols, stéroïdes, coumarines et des saponosides. Tandis que pour les feuilles, l'épuisement à l'éthanol a montré une quantité moyenne des stérols et stéroïdes, et une faible quantité pour les coumarines, une faible quantité des saponosides a été observée concernant l'extrait aqueux.

La mise en évidence des acides gras et des huiles volatiles est signalée par un test négatif pour les racines et positif pour les feuilles.

Enfin, on a pu remarquer une absence totale des anthracénosides, anthocyanosides, amidon, emodols au niveau des deux parties d'*Urtica dioica*.

Des travaux effectués sur *Urtica dioica* nous ont confirmé la présence des flavonoïdes, des stérols et aussi des tannins et même des triterpènes [Basaran 2001; Chaurasia et Wichtl, 1987 ; Tita, 1993].

I.3. Métabolites primaires

I.3.1. Les sucres totaux

Le taux des sucres totaux dans les feuilles d'*Urtica dioica* est estimé à une teneur moyenne de l'ordre de 10,06 % par rapport à la matière sèche, alors que le taux de ces derniers au niveau des racines est estimé à une valeur de l'ordre de 12,60 % de MS (Tableau 06)

On peut dire que la quantité en sucres totaux est plus ou moins semblable au niveau des deux parties de notre plante.

I.3.2. Les lipides

Les résultats d'analyses des lipides ont révélé que les feuilles d'*Urtica dioica* renferment une quantité moyenne de l'ordre de 7,5 % de MS rejoignant celle trouvée par **Bertrand et Jeanne (2008)** et qui est estimée à une valeur comprise entre 3,03 à 8%. Par contre elle reste supérieure à celle trouvée par **Bassett et al. (1977)**, qui est estimée à une valeur comprise entre 3 à 5% de MS (Tableau 06).

Concernant les racines, nos résultats ont révélé une valeur estimée à 10,55 % en MS ce qui reste toujours supérieur à celle des feuilles.

Tableau 06 : Teneurs en métabolites primaires d'*Urtica dioica*.

Métabolites primaires	Teneur en % en MS	
	Feuilles	Racines
Sucres totaux	10,06	12,60
Lipides	7,5	10,55
Protéines totales	22,6	14,40
Protéines pures	15,75	7,02
Azote non protéique	1,096	1,18
Fibres totales	19,6	37,82
Cendres	25	-

I.3.3. Les protéines

Le dosage des protéines totales dans les feuilles d'*Urtica dioica* a donné un taux de 22.6% de matière sèche. (Tableau 06)

La valeur en protéines totales trouvée dans nos feuilles s'accorde parfaitement avec les résultats donnés par **Bassett et al.(1977)** et qui sont de l'ordre de 21 à 23% en MS, alors que selon les travaux de **Bertrand et Jeanne (2008)**, la valeur en protéines totales trouvée est estimée à 23,80% en MS. D'autres travaux réalisés par **Wetherilt (1992)**, ont révélé une teneur correspondant à 28% en MS.

D'un autre côté, **Hughes (1980)**, avait analysé les taux des protéines des feuilles chaque mois de l'année, il trouva que le taux le plus bas était au mois de décembre (20,9% en MS). Alors que ces taux commencent à augmenter régulièrement après ce mois, ils atteignent leurs valeurs maximales en avril (36% en MS), mois après lequel ils commencent à diminuer.

Après calcul, nous pouvons déduire aussi que les protéines pures dans les feuilles représentent 69,69% de la quantité totale des protéines. Ces résultats montrent l'importance de la valeur nutritionnelle des feuilles d'*Urtica dioica*, ce qui explique leur utilisation dans l'alimentation du bétail et de la volaille.

Pour le dosage des protéines totales dans les racines d'*Urtica dioica* nous avons pu déterminer un taux de l'ordre de 14,40% en matière sèche, ceci nous mène à dire que les protéines pures dans cette partie de la plante ne représentent qu'environ 48,75% de la quantité totale des protéines et qui restent d'ailleurs inférieures à celles trouvées au niveau des feuilles.

I.3.4. Les Fibres totales

La détermination de la teneur en fibres totales dans les feuilles d'*Urtica dioica* est de l'ordre 19,6% de MS, cette valeur correspond aux valeurs trouvées par **Bertrand et Jeanne (2008)** et qui varient entre 8,65 - 26,5 % de MS (Tableau 06).

Concernant les racines, une valeur beaucoup plus importante a été trouvée par rapport aux feuilles, elle est estimée à 37,82%.

La forte valeur en fibres totales dans *Urtica dioica* explique leur utilisation dans la fabrication des tissus et du papier. [**Vernard, 1960**]

I.3.5. Les Cendres

Les résultats obtenus montrent que les feuilles sont riches en matière minérale 25% (tableau 06) ce qui confirme la valeur déclarée par **Basset et al. (1977)** dont le taux est compris entre 19 et 29 % alors que **Bertrand et Jeanne (2008)** ont trouvé une valeur comprise entre 17.31 et 28%.

Dans le cas des racines, on n'a pas pu déterminer la teneur des sels minéraux car on a obtenu un aspect cristallisé à cause de la forte teneur en silice (figure 15).

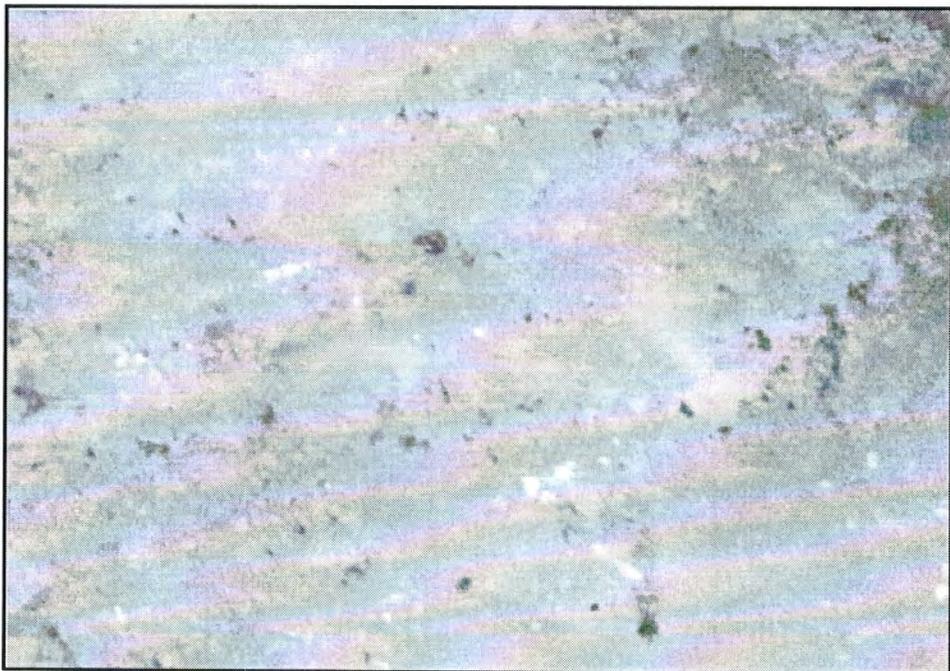


Figure 15: Observation microscopique de la silice des racines (G×40).

I.4. Métabolites secondaires

I.4.1. Les phénols totaux

Le résultat du dosage des phénols totaux des feuilles d'*Urtica dioica* est estimé à 4,58%, ce qui indique que ces dernières sont riches en polyphénols par rapport aux racines où le taux des polyphénols est estimé à 1,84 %. (Tableau 07)

I.4.2. Extraction sélective

Suite aux examens phytochimiques effectués, nous avons remarqué la présence de quelques familles de composés phénoliques en quantité appréciable chez les feuilles et les racines d'*Urtica Dioica*, à savoir les tanins et les flavonoïdes ce qui nous a poussé à faire des extractions sélectives de ces derniers à fin d'essayer de connaître leur rendement.

a- Tanins

Une extraction sélective des tanins a été effectuée sur les feuilles ainsi que les racines d'*Urtica Dioica*, le résidu obtenu a été évaporé sous vide et donné les rendements résumés dans le tableau ci dessous.

Avec un pourcentage de l'ordre de 0,61%, on remarque que le taux des tanins au niveau des feuilles est supérieur à celui de racines estimé à 0,25%.

b- Flavonoïdes

L'extraction par l'acétate d'éthyle nous a permis d'isoler les hétérosides et les génines libres avec les rendements qui sont reportés dans le tableau 07.

On remarque que les génines libres présentent un taux supérieur à celui des hétérosides au niveau des feuilles, ces derniers donnent une valeur égale à 0,25 % et qui est proche à celle trouvée par **El Houari et al. (2006)**, avec un rendement estimé à 0,18 %. Par contre les génines libres estimées à 0,44 % sont inférieures à nos résultats qui sont de l'ordre de 0,85 %.

Dans le cas des racines, on remarque que les hétérosides (0,5%) se trouvent en quantité supérieure par rapport aux génines libres (0,3%).

Tableau 07 : Teneurs en métabolites secondaires des feuilles d'*Urtica dioica*.

<i>Métabolites secondaires</i>	<i>Teneur en % en MS</i>	
	<i>Feuilles</i>	<i>Racines</i>
Phénols totaux	4,58	1,84
Tanins	0,61	0,25
Flavonoïdes (Génines libres)	0,85	0,3
Flavonoïdes (Hétérosides)	0,25	0,5

Chapitre II:
Pouvoir Antioxydant
et
Analyse Qualitative
des Flavonoïdes
et
des Tanins de l'ortie

Chapitre II : Pouvoir antioxydant et Analyse qualitative des flavonoïdes et des tanins de l'ortie

II.1 Pouvoir antioxydant des flavonoïdes et des tanins d'*Urtica Dioica*

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres.

Le pouvoir antioxydant est déterminé par la méthode utilisant le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), un radical libre, coloré, stable, facile à doser et capable d'arracher les atomes hydrogène labiles des groupements OH les plus réactifs.

Le virage vers cette coloration et l'intensité de changement de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance anti-radicalaire.

C'est dans ce contexte qu'on a essayé d'évaluer ce pouvoir ainsi que l'EC50 avec d'autres antioxydants naturels notamment l'acide ascorbique et la α tocophérol.

A partir de la variation du pourcentage de réduction du DPPH et en fonction de la concentration de l'extrait des tanins et des flavonoïdes, nous pouvons déterminer graphiquement l'EC50 qui est défini comme étant la concentration de l'extrait brut des métabolites secondaires nécessaire pour la réduction de 50% de DPPH.

Selon **Gordon (1990)**, le pourcentage d'inhibition augmente avec la substitution des mono-phénols avec le groupement hydroxyle en position ortho. La substitution du groupe hydroxyle est plus efficace qu'avec le groupement méthoxy.

En comparant les EC50 des tanins qui sont de l'ordre de 10,45 mg/ml et des flavonoïdes estimés à 18 mg/ml avec celle de l'acide ascorbique (0,06mg/ml) et la α tocophérol (0,16mg/ml) [**Khaldi, 2007**], nous avons remarqué que nos valeurs sont beaucoup plus importantes que celles de l'acide ascorbique et la α tocophérol.

Dans le cas des tanins (partie feuille), nous avons remarqué que l'augmentation de la concentration de ces derniers varie proportionnellement avec le pourcentage de réduction du DPPH avec une valeur maximale d'inhibition estimée à 90,76% à la concentration 16 mg/ml.

Des taux moyens ont été enregistrés de l'ordre de 57,9 et 78,22 , 72,54% pour les tanins (partie racine) et les flavonoïdes (partie feuille et racine) respectivement.

Selon El Houari *et al.* (2006), les flavonoïdes isolés à partir des feuilles d'*Urtica dioica* produisent un fort inhibiteur sur la thrombine-agrégation plaquettaire avec un EC50 de 0,25mg/ml, 0,40mg/ml génines et hétérosides respectivement.

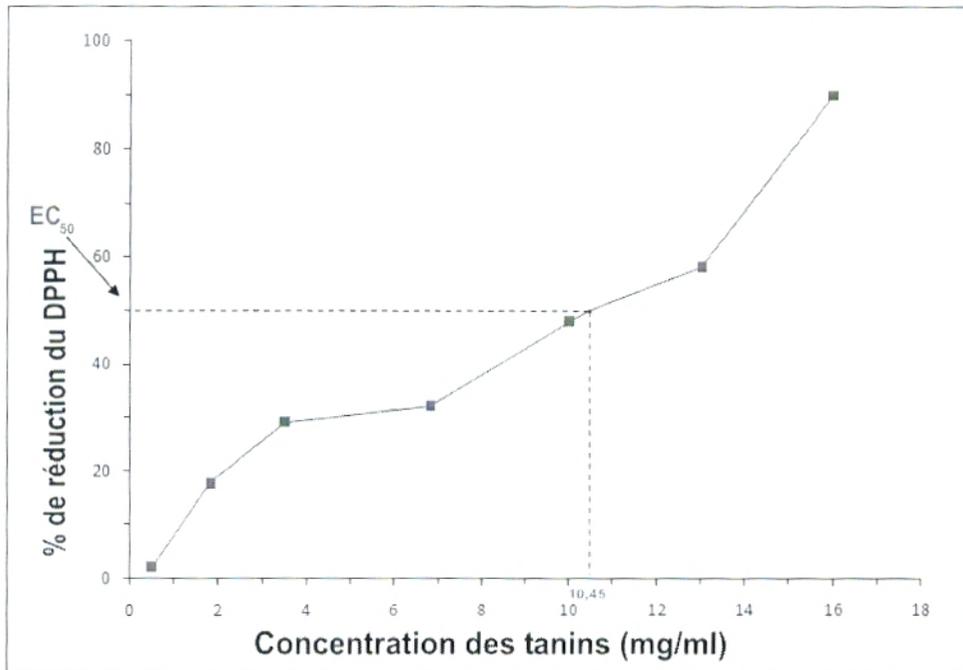


Figure 16 : Pouvoir antioxydant des tanins (feuilles).

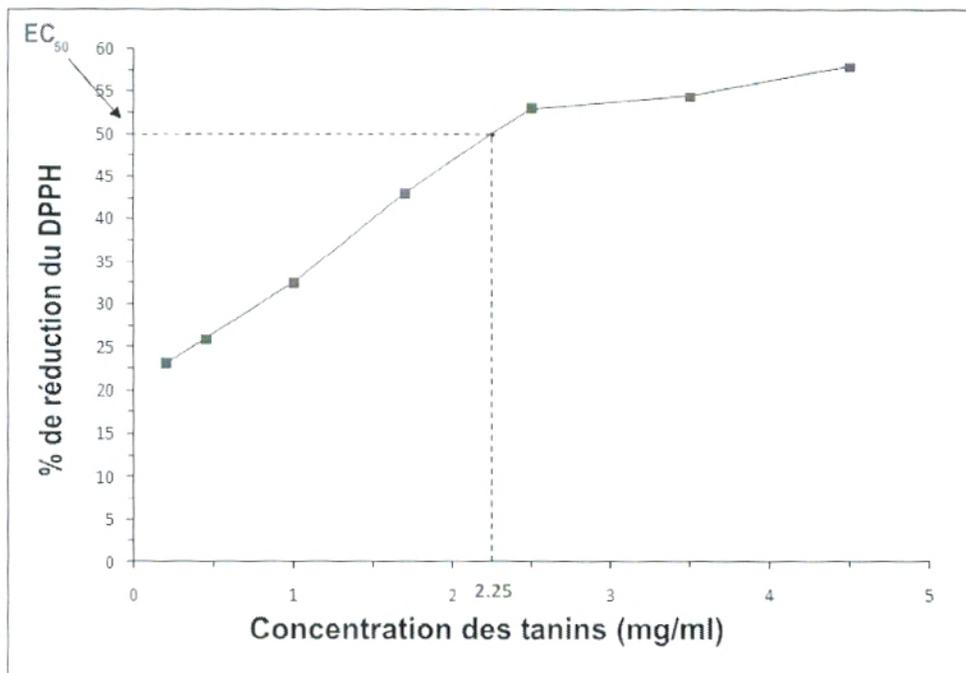


Figure 17 : Pouvoir antioxydant des tanins (racines).

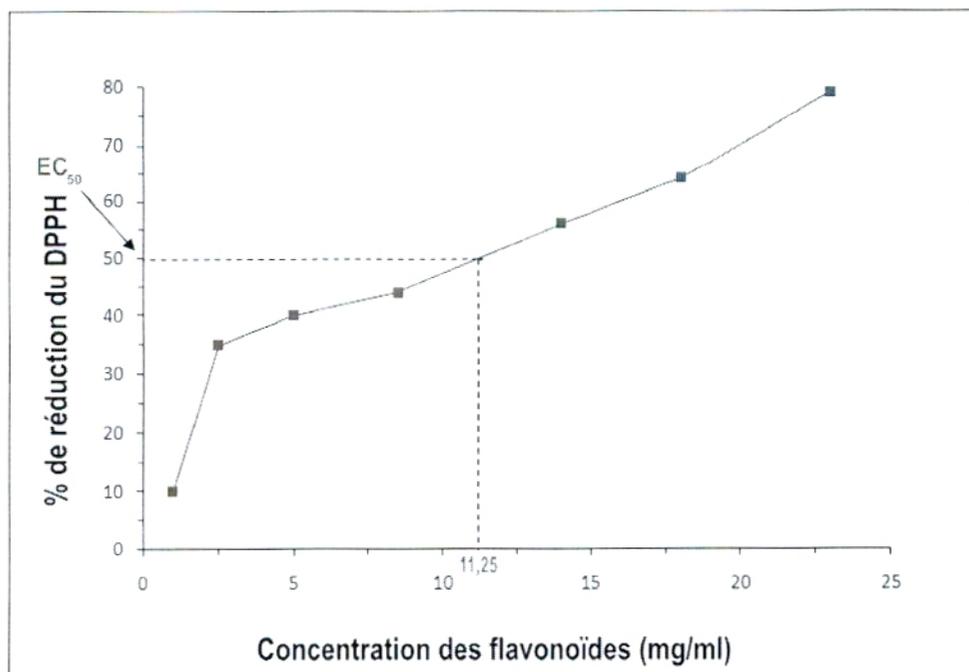


Figure 18 : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (feuilles).

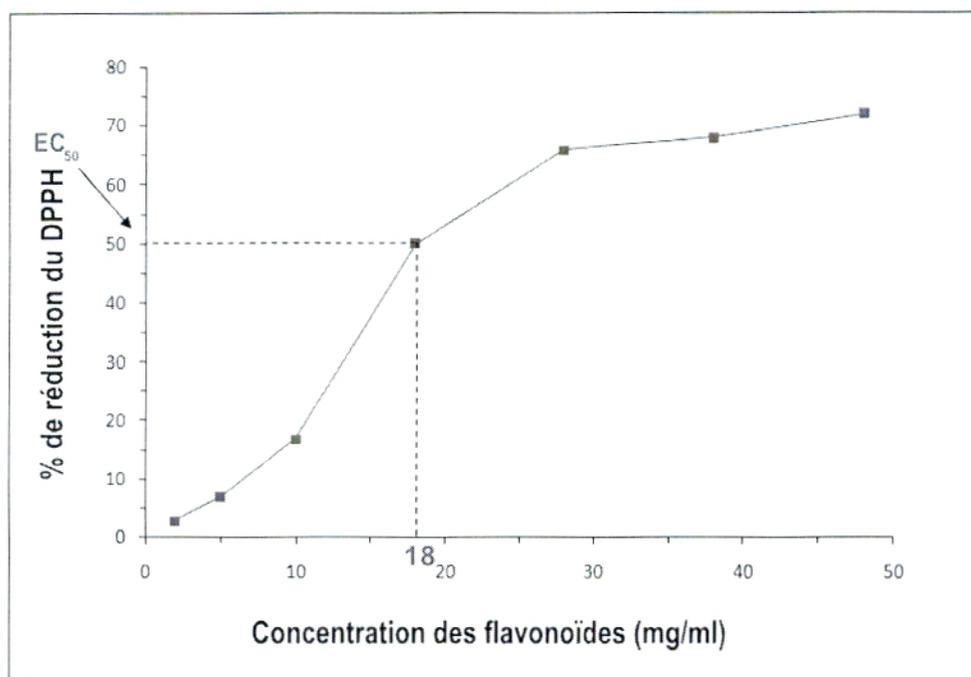


Figure 19 : Pouvoir antioxydant des flavonoïdes (racines).

II.2 Analyse qualitative d'*Urtica dioica*

II.2.1 Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes d'*Urtica dioica* (feuilles et racines) nous a conduit à faire une chromatographie sur couche mince (CCM) sur gel de silice à partir des extraits végétaux préparés.

Après plusieurs essais on a pu déterminer l'éluant qui donne une bonne séparation des flavonoïdes. Pour cela le système choisi est : *Cyclohexane/Acétate d'éthyle/Acide acétique* (31 :14 :5) (V : V : V) [Marica *et al.*, 2004].

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux 08 et 09

Tableau 08 : L'analyse qualitative par CCM des flavonoïdes d'*Urtica dioica* (feuilles).

Nombres de spots	RF	Détection UV	Composés identifiés	Pouvoir antioxydant
1	0,28	jaune	Quercitine	+++
2	0,33	bleu	Acide caféique	++
3	0,39	Jaune	Kaempférol	+
4	0,42	Mauve	7-hydroxyflavone	-
5	0,44	Jaune	Naringénine	-
6	0,49	Mauve clair	Acide-p-coumarique	-
7	0,53	Mauve foncé	Chrysine	+
8	0,56	Mauve foncé	-	-

Tableau 09 : L'analyse qualitative par CCM des flavonoïdes d'*Urtica Dioica* (racines).

Nombre de spots	Rf	Détection UV	Composés identifiés	Pouvoir antioxydant
1	0,42	Mauve	7-hydroxyflavone	-
2	0,51	Jaune	Acide o-coumarique	-
3	0,52	Mauve	3.6-Dihydroxyflavone	-
4	0,53	Mauve foncé	Chrysine	+
5	0,56	-	-	-
6	0,69	Mauve	-	-

+++ : Pouvoir antioxydant important.

++ : Pouvoir antioxydant moyen.

+ : Pouvoir antioxydant faible.

- : Absence du pouvoir antioxydant.

Rf : Facteur de Rétention.

UV : Ultra Violet.

Nos résultats ont été comparés avec les Rf calculés par **Marica et al. (2004)**.

Nous avons pu identifier deux flavonols qui sont le kaempférol et la quercétine ; alors que les deux flavones identifiées sont le chrysine et le 7-hydroxyflavone ainsi qu'une flavonone : le naringénine, ceci dans la les feuilles d'*Urtica Dioica*.

Concernant les racines, on a pu mettre en évidence trois flavones qui sont : le chrysine, le 7-hydroxyflavone et 3.6-dihydroxyflvone, sans oublier un acide phénolique qui est l'acide O-coumarique.

Des travaux antérieurs effectués sur *Urtica Dioica* ont mis en évidence la présence des composés suivants :

- ◆ Quercétine-3-0-ritinoside, kaempférol-3-0-ritinoside et isorhamnetin-3-0-glucoside. [Akby et al., 2003].
- ◆ Acide caféique, rutine, quercétine, hyperin, isoquercétine. [kavtaardze, 2001].
- ◆ Béta-sistostérol, trans-acide ferulique scopoletin, rutin, quercétine et p-hydroxylbenz-alcool. [Yang et al., 2007].

III.2.2 Chromatographie sur couche mince des tanins

L'application de la CCM comme un moyen d'identification de certains constituants des tanins dans les deux parties étudiées de notre plante, donne les résultats résumés dans les tableaux (11 et 12).

Tableau 10 : Facteurs de rétention et détection UV des étalons.

Nombres de spots	Rf	Etalon	Détection UV
1	0,54	Phloroglucinol	Jaune verdâtre
2	0,70	Hydroquinone	Mauve foncé
3	0,71	Acide vanillique	Mauve clair
4	0,72	Résorcinol	Marron clair
5	0,75	Pyrocathocol	Marron foncé

Tableau 11 : Analyse qualitative par CCM des tanins d'*Urtica dioica* (feuilles).

Nombres de spots	Rf	Détection UV	Composés identifiés	Pouvoir antioxydant
1	0,36	Bleu	-	++
2	0,54	Jaune verdâtre	Phloroglucinol	+
3	0,56	Mauve clair	-	-
4	0,70	Mauve foncé	hydroquinone	+
5	0,75	Marron foncé	-	-
6	0,89	Mauve foncé	-	+++

Tableau 12 : Analyse qualitative par CCM des tanins d'*Urtica dioica* (racines).

Nombres de spots	Rf	Détection UV	Composés identifiés	Pouvoir antioxydant
1	0,40	Jaune	-	-
2	0,59	Mauve	-	-
3	0,54	Jaune verdâtre	Phloglucinol	++
4	0,71	Mauve clair	Acide vanillique	+
5	0,86	Mauve foncé	-	+++

+++ : Pouvoir antioxydant important.

++ : Pouvoir antioxydant moyen.

+ : Pouvoir antioxydant faible.

- : Absence de pouvoir antioxydant.

Rf : Facteur de Rétention.

UV : Ultra violet

Le système éluant : *Chloroforme/Acétate d'éthyle/acide formique (5 :5 :1) (V : V : V)* a été choisi et adapté en fonction des composés à séparer [Kurt, 1971], il a donné les résultats suivants :

- 5 spots pour les racines.
- 6 spots pour les feuilles.

On a pu identifier deux composés en comparant avec des couches minces étalons pour chaque partie de la plante : le phloroglucinol et l'acide vanillique dans les racines, le phloroglucinol et l'hydroquinone dans les feuilles.

Il est a noté que nous n'avons pas pu identifier les autres spots par manque d'étalons.

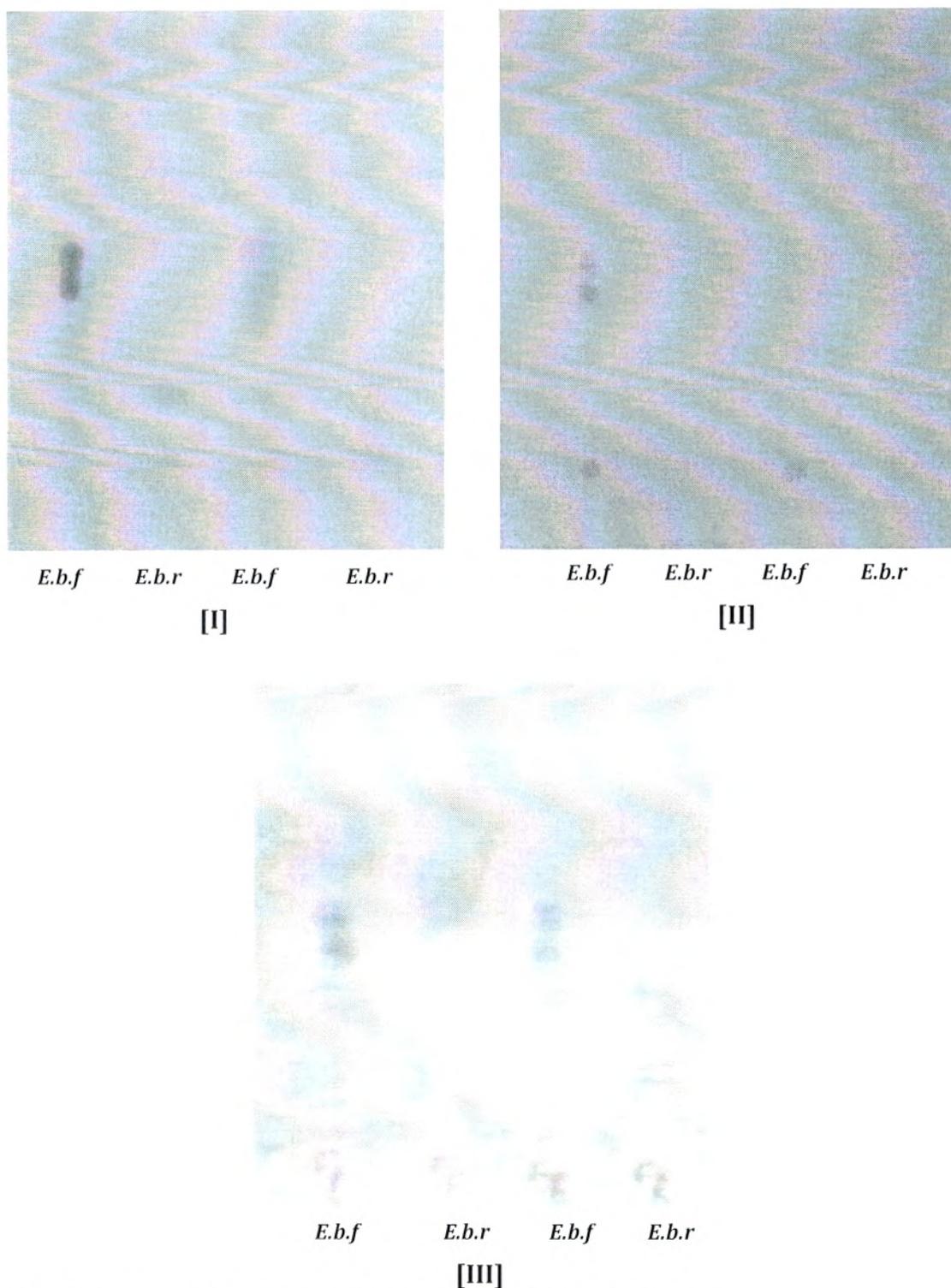
II.2.3 Test de l'activité antioxydante

Pour tester l'activité antioxydante des flavonoïdes et des tanins, la couche mince a été pulvérisée par la suite avec une solution méthanolique de DPPH (2mg/ml).

Pratiquement tous les composés phénoliques identifiés ont réagi positivement : tests anti radicalaires avec le DPPH, ceci s'explique par la présence d'un pouvoir antioxydant qui confirme nos résultats et ceux d'**Ilhami et al. (2004)**.

On a remarqué la présence des composés qui possèdent un pouvoir antioxydant au niveau des flavonoïdes (partie feuille) dont la quercitine qui a le pouvoir antioxydant le plus important, tandis que pour les racines, on n'a identifié qu'un seul composé (Chryisine) ayant un faible pouvoir antioxydant.

Certains composés ayant un pouvoir antioxydant important n'ont malheureusement pas pu être identifiés, ceci pour les tanins ayant un Rf de l'ordre de 0,86 pour les racines et 0,89 pour les feuilles.



Support : Gel de silice 60 F 254 sur feuille d'aluminium.

Eluant : Cyclohexane / Acétate d'éthyle / Acide acétique (31 : 14 : 5).

Spots : *E.b.f* (Extrait brut des feuilles) / *E.b.r* (Extrait brut des racines).

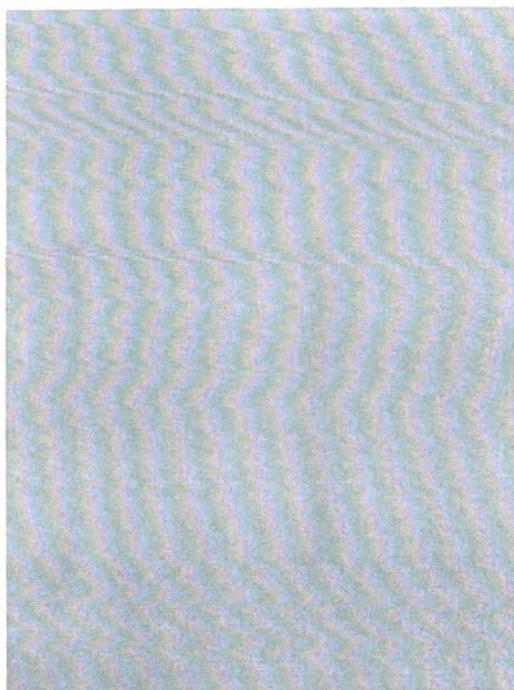
Photos :

[I] : CCM des flavonoides révélés par UV à 365 nm.

[II] : CCM des flavonoides révélés par UV à 254 nm.

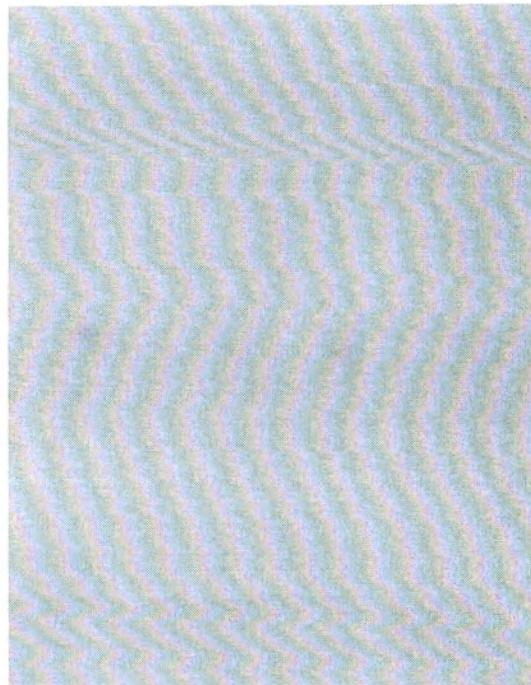
[III] : CCM des flavonoides après pulvérisation avec la solution DPPH.

Figure 20 : Chromatographie sur couche mince des flavonoïdes responsables de l'action du piégeage du radical DPPH.



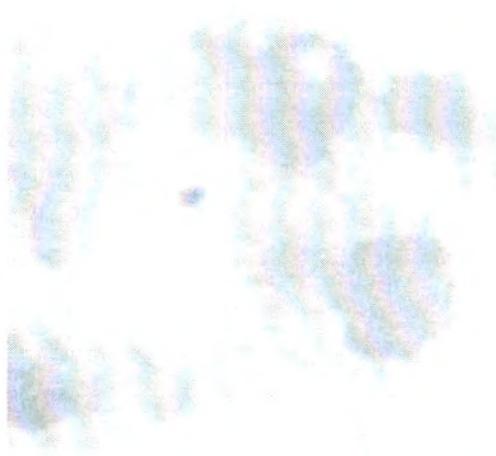
E.b.f *E.b.r* *E.b.f* *E.b.r*

[I]



E.b.f *E.b.r* *E.b.f* *E.b.r*

[II]



E.b.f *E.b.r* *E.b.f* *E.b.r*

[III]

Support : Gel de silice 60 F 254 sur feuille d'aluminium.

Eluant : Chloroforme / Acétate d'éthyle / Acide formique (5 : 5 : 1).

Spots : *E.b.f* (Extrait brut des feuilles) / *E.b.r* (Extrait brut des racines).

Photos :

[I] : CCM des tanins révélés par UV à 365 nm.

[II] : CCM des tanins révélés par UV à 254 nm.

[III] : CCM des tanins après pulvérisation avec la solution DPPH.

Figure 21 : Chromatographie sur couche mince des tanins responsables de l'action du piégeage du radical DPPH.

CONCLUSION GENERALE

« Une ortie dans le poulailler est un œuf de plus dans le panier »

[Proverbe français].

90,76% pour les feuilles, plus que pour les racines dont l'activité a été estimée à 57,09%. Alors que pour les flavonoïdes, on a remarqué une valeur maximale d'inhibition estimée à 78,22% et 72,54% des feuilles et des racines respectivement.

Par ailleurs, l'application de la chromatographie sur couche mince des flavonoïdes a signalé la présence de certains composés qui sont principalement :

- ◆ Le kaempférol, la quercétine, la chrysin, 7-hydroxyflavone et la naringénine au niveau des feuilles.
- ◆ La chrysin, 7-hydroxyflavone et la 3-6-dihydroxyflavone et sans oublier l'acide-O-coumarique au niveau des racines.

Par contre pour les tanins, l'analyse par chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence :

- ◆ Le Phloroglucinol et l'hydroquinone dans les feuilles.
- ◆ Le Phloroglucinol et l'acide vanillique dans les racines.

Nous avons aussi pu remarquer, concernant le test de l'activité antioxydante, la présence des composés qui possèdent un pouvoir antioxydant au niveau des flavonoïdes (partie feuille) dont la quercitine a le pouvoir antioxydant le plus important alors que pour les racines, nous n'avons identifié qu'un seul composé (Chrysin) ayant un faible pouvoir antioxydant.

En fin, l'ensemble de ces résultats ouvre des perspectives et des axes de recherche, tant au niveau de la connaissance scientifique, qu'à celui de la possibilité d'une valorisation des propriétés thérapeutiques de cette plante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

« On est souvent de si grande famille qu'on n'ose pas le penser ! »

Hans Christian Andersen.

- **Karleskind A. 1992.** Manuel des corps gras. Ed. Tech. & Doc. Lavoisier, tome (I-II) : 768-1571.
- **Khaldi D., 2007.** Etude chimique et nutritionnelle d'Argania spinosa de la région de Tindouf. Mémoire de Magister en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.
- **Kassel D.1996.** « Des hommes et des plantes ». Conservateur des Collections d'histoire de la pharmacie de l'Ordre national des pharmaciens : 1.
- **Kavalali G. 2003.** *Urtica*: therapeutic and nutritional aspects of stinging nettles. Londres, New York : Taylor & Francis. 83p.- (Série Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles : 37).
- **Kavtradze N.Sh., Alaniya M.D and Aneli J.N. 2001.** Chimiical components *Urtica Dioica* in georgia. Vol. 37 : 287.
- **Keith G., Wheeler R. 2005.** A Natural History of Nettles. ISBN 1-4120-2694-6.
- **Kjeldhal L. 1883.** Neue methode zur Bestimmung des Sticktoffs in organischem Korpen. Z. Anal. Chem, 22 : 366-382.
- **Koch E and Biber A. 1994.** Pharmacological Effects of Saw Palmetto and *Urtica* Extracts for Benign Prostatic Hyperplasia, and sex drive - Urology 34 : 90-95.
- **Konrad, L., Muller H.H., Lenz C., Laubinger H., Aumuller G., Lichius J.J. 2000.** Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) extract. Planta Med. 66 : 44-47.
- **Krut R. 1971.** Chromatographie sur couche mince. Ed. Gauthier-Villars, Paris : 398.
- **Lecoq R.1965.** Manuel d'analyse alimentaires et d'expertises usuelles. Vol 2. Ed Doin. Paris.
- **Lee J. H., Koo N. S. and Min B. 2004.** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive Review in food Science and food Safety. vol 3 : 20-33.
- **Legssyer A., Ziyyat A., Mekhfi H., Bnouham M., Tahri A., Serhrouchni M. 2002.** Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. Phytother. Res. 16 : 503-507.
- **Lenglen S. 2000.** L'ortie dioïque (*Urtiea dioica* L.) dans l'hypertrophie bénigne de la prostate. Th : Pharmacie: Lille 2 : 104.
- **Lieutaghi P. 1996.** les bonnes herbes. Ed. Actes de sud : 67-70.
- **M'Fouara J.C., Bouziane M.N., Prost J. et Belleville J. 1992 :** Production de malondialdéhyde et résistances des membranes érythrocytaires aux radicaux libres, en fonction d'un apport alimentaire suffisant en protéines associe à des différents huiles (tournesol, soja, coprah, saumon). C.R.Soc. Biol, 186 : 263-277.

- **El Houari M., Braitian M., Aziz M., Ziyat A., Legssyer A., Mekh F.H. 2006.** Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts phytotherapy research Doi.11: 1906.
- **Etournaud A. 1999.** Sciences alimentaires et chimie des denrées alimentaires. Laboratoire contonal.
- **Farombi D. 2003.** Africain indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agent. Africain journal of biotechnology. 2 (12) : 662 – 671.
- **Flemming S. 1991.** Le livre des herbes Comment les cultiver, les identifier et les utiliser en cuisine. Ed Chantecler, Belgique : 116.
- **Glusker J.P., Rossi M. 1986:** Molecular aspects of chemical carcinogens and bio-flavonoids. Progress in Clinical and Biological Research 21: 95–410.
- **Gordon B. 1990 :** Protéines végétales. 2^{ème} édition Tec Doc Lavoisier Paris : 194-197.
- **Guillaume D. et Charrouf Z., 2005.** Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). Cahier Agriculture., vol 14 N°6 : 509-513.
- **Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME. 2004.** Antioxydant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica Dioica L.*). J Ethnopharmacol 90 (2-3) : 205-15.
- **Hadi M. 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine, Pharmacochimie : 155.
- **Hagerman A E, Butler L G. 1988.** Choosing appropriate methodes et standards for assaying tannin journal of chemical ecology. Vol 15 : 1795-1810.
- **Haslam E. 1989.** Plante polyphenols vegetables tannins revisited University press Cambridge : 56.
- **Henneberg F et Stohmann B. 1860.** Méthode chimique pour l'analyse de fourrage .V. Ed Sofia Paris : 57.
- **Hoffman D. 2006.** Medical Herbalism. Rochester (VT): Healing Arts Press.
- **Hughes R. E., et al. 1980.** The dietary potential of the common nettle. *J Sci. Food Agric.* 31, 1279-1286
- **Ilhami G., Irfran O.K., Mehmet E.b. 2004.** Antioxydant, antimicrobial antiulcer et analgesic activities of nettle (*Urtica dioica*) Egthnopharmacol. Vol 90. Journal of Ethnopharmacology :205–215.

- **Makkar. 2003.** Quantification of tannin in tree and shrub foliage a laboratory manual, kluwer Academic publishers, Doctorecht : 102.
- **Marica M.Q., Ivona J0, Asia S.B and Marnar A. 2004.** Optimisation of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolics acides, croiticachemica : 361-366.
- **Mc Bride G., Pyneuburg S et Carroll J. 1996.** Programme consultatif sur la pâture technique d'élevage : 84-89.
- **Michel A., Wattiaux. 2000.** Institut de Babcock 204 agriculture hall, 1450. Linden Drive Madison 153706-1562 USA.
- **Mittman P. 1990.** Randomized, double-blind study of freeze-dried *Urtica dioica* in the treatment of allergie rhinitis. *Planta Med.* 56 : 44-47.
- **Nahrsted A, Butterweck V. 1997.** Biologically active and other chemical constituents of herb of hypericum perforatum L, pharmao Sychia., vol 30 (supply) : 129-134.
- **Newall C.A., Anderson L.A, Phillipson JD. 1996:** Herbal medecines; A Guide for health-care professionals, the pharmaceutical press, London : 201-202.
- **OUA. 1998.** Méthodes générales d'analyse pharmacopée africain. Vol.2. Lagos. : 264.
- **Paris M, Hurabielle M. 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) tome I, généralité-morphologies. Ed. Masson, Paris : 182-216.
- **Peter H., Raven A, Ray F.Evert., Susan E. 2007.** (trad. de la 7^e édition américaine Jules Bouharmont et révision scientifique Charles-Marie Evrard), *Biologie végétale, 2^{eme} édition*, De Boeck, (ISBN 978-2-8041-5020-4).
- **Peterson R. 1986.** Le purin d'ortie face à la science. Les 4 saisons du jardinage : 38.
- **Petiot E., Mazières V., Bertrand B., Jeannot D., Raymonde G., Lemoine P., Fougère M et Marche C. 2010.** « L'ortie a-t-elle un avenir dans l'agriculture écologique intensive ». Terminales S, Briacé.
- **Pojar J., Kinnon M. 1994.** A plant of the Pacific Northwest coast. Lone Pine Publishing. Redmond WA.
- **Pourmourad F, Hosseinimehr S.J, Shahabimajd. 2006.** Antioxydant activity, phenol and flavonoid contants of some selected Iranian medical plants. Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran, University of Medical Sciences, Iran.
- **Preston CD, Pearman DA and Dines TD. 2002.** *The New Atlas of the British and Irish Flora.* Oxford University Press, Oxford.
- **Quenzel P., Santa S. 1963.** Nouvelle flore d'Algérie Edition du centre national de la recherche scientifique. Ed Tome II.

- **Turkdogan M.K., Ozbek H., Yener Z., Tuncer I., Uygan I., Ceylan E. 2003:** The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research* 17 : 942–946.
- **Valnet Jean. 1983.** Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes. 5^{ème} édition. Paris: Maloine : 942
- **Vanstippen Marie-Jo. 2005.** La grande Ortie (*Urtica Dioica*) Cercles des Naturalistes de Belgique (CNB) – Section *LES SOURCES*.
- **Vernard M. 1960.** Encyclopedie de la pliedie botanique Ed. laibrairie Gallimard : 1081
- **Von Gadow A., Joubert E. et Hansmann C.F., 1997.** Comparaison of the antioxydant activity of Aspalathin with that of other plantof Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocophérol, BHT and BHA. *J.Agric. Food. Chem.* 45 : 632-638.
- **Wagner H. 1994.** Search for the antiprostatic principle of stinging nettle (*Urtica dioica*) roots. *Phytomedicine* : 213-224.
- **Wang, M., Wei, Y., Huang, X. 2001.** Advances in the study on medicinal herbs of *Urtica L.* *J. Chin. Med. Mater.* 25 : 58–60.
- **Wattiaux M.A. 1997.** Nutrition et alimentation. Composition et analyse des aliments.
- **Wetherilt H. 1992.** Evaluation of *Urtica* species as potential sources of important nutrients. In: *Food Science and Human Nutrition* / ed. Par Charalambous G. Elsevier Science Publishers : 15-25.
- **Wichtk M, Anton R. 1999.** Plantes médicinales thérapeutiques. Ed. Tec ET Doc : 451
- **Wichtl M, Anton R. 2003.** Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^{ème} édition française. Paris: éd. Tee & Doc; Cachan. Médicales Internationales : 692.
- **Wren Rc, 1988.** Potters new cyclopaedia of botanical drugs and preparation Essex (UK), CW Daniel Company Limied : 29.
- **Yang J.B, Su Y.L, Yuan L, Fenq X.Z, Ji TF. 2007.** Studies on the chemical constituents of *Urtica Dioica L.* groun in tib autonomous region. *zhong yao cai*, 36 : 662-4.
- **Yener Za., Celik I., Ilhan F., Bal R. 2008:** Effects of *Urtica dioica L.* seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food and Chemical Toxicology* 47: 418–424.
- **Zljan M, Marica M and Franz B. 1998.** Flavonoides of *Guiera Senegalensis J.F.GMEL* Thin Layer Chromatography and Numercial Methods croatica chemical *Acta* 71: 69-7-9.

ANNEXES

« L'amour est une ortie qu'il faut moissonner chaque instant si l'on veut faire la sieste étendu à son ombre »

[Pablo Picasso].

ANNEXE I:**→ Les Tests Phytochimiques****1. Produit végétal épuisé par l'éther diéthylique**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50g du matériel biologique en présence de 300ml d'éther diéthylique. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et le soumettre aux tests suivants :

✓ Alcaloïdes

Evaporer 10ml de l'extrait éthérique ensuite dissoudre le résidu obtenu dans 1,5ml de HCL à 2%. Ajouter à cette solution 1 à 2 gouttes du réactif de **Mayer**. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

✓ Emodoles :

Evaporer 3ml de l'extrait éthérique. Dissoudre ce résidu dans 1ml de NH₄OH concentré et traiter la solution avec le réactif de **Borntrager** (milieu alcalin aqueux). Un teste positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive virant de l'orangé rouge au violet pourpre.

✓ Huiles volatiles

Evaporer 20 ml de la solution éthérique. Le résidu ainsi obtenue est dissout dans l'éthanol. La solution éthanolique obtenue set par la suite concentré à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme.

✓ Acides gras

Concernant le résidu ras, il est saponifié et à la fin de la réaction ajouter un peu d'eau et extraite la solution avec l'éther diéthylique ;

Acidifier la solution alcaline, puis extraire avec l'éther diéthylique. La solution éthérique

est concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

2. Produit végétal épuisé par l'eau chaude

Dans un ballon surmonté d'un réfrigèrent, on met 50g de matériel végétal broyé en ajoutant 300 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux aux tests suivants :

➤ Amidon

Traiter 5ml de l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon.

➤ Composés réducteurs

Ajouter à 2ml de la solution aqueuse 5 à 8 gouttes de **liqueur de Fehling** et chauffer la solution. Un précipité rouge brique montre la présence des hydrates de carbones.

➤ Saponosides

Traiter l'extrait aqueux avec de l'eau bouillante. Refroidir puis agiter fortement jusqu'à formation d'une mousse. Abandonner le mélange pendant 20 minutes, la présence ou l'absence des saponosides est notée par la mousse et son épaisseur, ou sa disparition après 20 minutes :

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse de 1cm : test faiblement positif
- Mousse de 1 à 2cm : test positif
- Mousse plus de 2cm : test très positif

❖ Flavonoïdes

Traiter 5ml de l'extrait alcoolique avec quelques gouttes de HCL concentré et 0.5g de tournures de magnésium.

La présence de flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en espace de 3mn.

❖ Tanins

Prendre 1ml de la solution éthanolique, ajouter 2ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de $FeCl_3$ diluée.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir, verte ou bleu verte et un précipité, selon que les tanins sont catéchiques, galliques ou éllagiques.

❖ Anthracénosides

Traiter 8ml de la solution éthanolique par le réactif de **Borntrager** (milieu alcalin aqueux), un teste positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive virant de l'orangé rouge au violet pourpre.

❖ Anthocyanosides

La présence des anthocyanosides est révélée par un virage de couleur en fonction du PH suite à une titration de la solution aqueuse acide avec une solution de NaOH.

Si la solution prend une coloration rouge, le PH est inférieur 3, par contre si elle prend une couleur bleue, le PH se situe entre 4 et 6.

❖ Coumarines

Evaporer 5ml de la solution éthanolique, dissoudre le résidu dans 1 à 2 ml d'eau distillée chaude et diviser le volume en deux parties.

Prendre le demi-volume comme témoin et ajouter à l'autre volume 0.5ml de NH_4OH à 10% ensuite mettre deux taches sur un papier filtre et les examiner sous la lumière UV.

Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

❖ **Stérols et stéroïdes**

Evaporer 10ml de l'extrait alcoolique puis dissoudre le résidu obtenu dans 0.5ml d'anhydride acétique et 0.5ml de chloroforme.

Traiter le filtrat avec le réactif de **Libermann Burchardt**.

Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert. D'autre part, cette réaction donne avec les hétérosides stéroïdiens et triterpéniques respectivement des colorations bleue et verte violette.

Tableau 17 : les valeurs de l'EC 50.

Partie de la plante	EC 50 (mg/ml)	
	Flavonoïdes	Tanins
Racine	18	2,25
Feuilles	11,25	10,45

Tableau 18 : Pouvoir antioxydant de la α tocopherol et l'acide ascorbiques.

TROLOX		ACIDE ASCORBIQUE	
C (mg/ml)	% DPPH	C (mg/ml)	% DPPH
3	95,69	0,24	92,28
2	95,78	0,22	92,28
1	95,24	0,19	72,53
0.5	94,97	0,14	52,24
0.25	73,07	0,12	56,37
		0,062	56,62

الملخص

يندرج هذا العمل في إطار الدراسات حول القيمة الغذائية والنشاط المضاد للأكسدة لمختلف النباتات في منطقتها، ويهتم بدراسة نبات أرتيكا ديو *Urtica Dioica* من عائلة أرتيكاسي. وهي إحدى النباتات العفوية الأكثر انتشاراً في العالم. أجريت الدراسة على أوراق وجذور النبتة، وتهدف لإبراز قيمتها والتعرف على الجزئيات الكيميائية التي تحتوي عليها. تم تحديد مردود المادة الجافة بالإضافة إلى نسبة السكريات، البروتينات، الدهون، الألياف والرماد في كلا جزئي النبتة. فيما يخص المركبات الثانوية، تم العثور على المكونات الفينولية في الأوراق بنسبة 4,58% أما في ما يخص الجذور قدرت النسبة بـ 1,84%.

تم العثور على التانان والفلافونيات بكمية كبيرة على مستوى الأوراق بالمقارنة مع الجذور، حيث قاربت النسبة إلى 1,1-0,8% أجريت دراسة النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقة دي بي بي اش وهو عبارة عن الحرارة الراديكالية حر ملون ومستقر، وبين أن النشاط المضاد للأكسدة في كلا الجزئين ضعيف بالنسبة لقيمة التانان التي قدرت بـ 90,76%.

أخيراً، أظهر التحليل النوعي لالتانان وجود المكونات التالية:
أفلوروجلو سينول وأهيدروكينون بالأوراق و أفلوروجلو سينول وحمض النيكوب الجذور
أما التحليل النوعي للفلافونيات فقد بين وجود المكونات التالية:

إمبيفيرول، أكير سينين، ٧ هيدروكسي فلافون، أنارينجين على مستوى أوراق.
أكير سينين، ٧ هيدروكسي فلافون، ٦-٣ ديهيدروكسي فلافون، حمض كوماريك على مستوى الجذور.

وأخيراً، بشأن اختبار نشاط مضادات الأكسدة، لاحظنا وجود مركبات مضادة للأكسدة التي تمتلك مستوى من الفلافونويد جزء ورقة) الذي يحتوي على مضادات الأكسدة كير سينين هامة مثل الجذور، ونحن دون وقد وجدنا أن مركب واحد كريسين مع انخفاض القدرة المضادة للأكس.

الكلمات المفتاحية: *Urtica Dioica*، أمركبات الأيضية الثانوية، التانان والفلافونيات، النشاط المضاد للأكسدة، دي بي بي اش

Résumé

Dans le cadre des études portant sur la recherche de la valeur nutritive et d'éventuelles activités antioxydantes des différentes plantes de notre région, le présent travail porte sur l'étude de l'*Urtica Dioica* L. de la famille des Urticaceae qui fait partie des plantes spontanées largement réparties dans le monde.

L'étude réalisée sur les deux parties de cette plante, feuilles et racines a pour but de valoriser et d'identifier les différentes familles de composés chimiques contenues dans cette dernière. En effet, les teneurs en métabolites primaires indiquent un taux important en protéines, matière minérale ainsi que les fibres totales et des teneurs moyennes en lipides et sucres totaux. Par contre la détermination des métabolites secondaires a montré que, le taux des composés phénoliques dans les feuilles est de l'ordre de 4,58% en MS alors que dans les racines, il est estimé à 1,84% en MS. Les tanins et les flavonoïdes se trouvent en quantité importante au niveau des feuilles par rapport aux racines avec un taux de 1,1% et 0,8% en MS respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant la méthode du DPPH, un radical libre, coloré et stable avec lequel on a montré que les tanins (partie feuille) ont un pouvoir antioxydant important estimé à 90,76% par rapport aux tanins (partie racine) et les flavonoïdes des deux parties de cette plante.

Une analyse qualitative des tanins a permis de détecter certains composés qui sont : Le Phloroglucinol et l'Acide vanillique pour les racines. Et le Phloroglucinol et l'Hydroquinone pour les feuilles.

La chromatographie sur couche mince des flavonoïdes a permis aussi d'identifier :

Le 7- Hydroxyflavone, le 3-6- Dihydroxyflavone, la Chrysin ainsi que l'Acide-O-coumarique au niveau des racines. Et la Quercétine, Chrysin, Kaempférol, 7- Hydroxyflavone et aussi la naringénine au niveau des feuilles.

Enfin, concernant le test de l'activité antioxydante, nous avons remarqué la présence des composés qui possèdent un pouvoir antioxydant au niveau des flavonoïdes (partie feuille) dont la quercétine a le pouvoir antioxydant le plus important alors que pour les racines, nous n'avons identifié qu'un seul composé (Chrysin) ayant un faible pouvoir antioxydant.

Mots clés: *Urtica Dioica* L., métabolites secondaires, composés phénoliques, tanins flavonoïdes, pouvoir antioxydant DPPH.

Abstract

In the scope of the study of the nutritional values and eventual antioxydant activities of different plants of our region, this work aims at studying a spontaneous medicinal plant which is largely distributed in the world. This latter is called *Urtica Dioica* of the family of Urticaceae.

The purpose of the study carried out on two parts of this plant, sheets and roots, was to develop and identify the various families of chemical compounds contained in the latter. Indeed, the contents of dry matter, sugars, lipids, proteins, fibers and ashes were determined in the two parts of this plant. The determination of the secondary metabolites showed that the rate of the phenolic compounds in sheets was about 4.58% and it was estimated at 1.84% in roots. Tannins and flavonoïdes have a significant amount at the level of sheets comparing to that of roots with a rate of 0,8% and 1,1% respectively. The evaluation of the antioxydant activity was carried out by using the DPPH method, a free, colored and stable radical with which it has been shown that tannins (sheets) have an important antioxydant power with an estimation of about 90,76% comparing to that of tannins (roots) and flavonoids of both parts of this plant.

The qualitative analysis of tannins made it possible to detect some compounds which are:

The Phloroglucinol and the vanillic acid in roots and the Phloroglucinol and hydroquinone in sheets.

Thin layer chromatography of flavonoïdes also made it possible to identify:

The 7-hydroxyflavone, 3-6- Dihydroxyflavone, Chrysin and acid-O- coumarique on the level of roots and the quercetin, Chrysin, Kaempferol, 7-hydroxyflavone and naringénine on the level of sheets.

In the end, concerning the antioxydant activity test, we have noticed the presence of compounds which have an antioxydant power at the level of flavonoids (sheets), mainly the quercetin which has the most important antioxydant power. Whereas concerning roots, we have identified only one compound (Chrysin) which has a weak antioxydant power.

Key words: *Urtica Dioica* L., Secondary metabolites, polyphenols, tannins, flavonoïdes, antioxydant capacity DPPH.