REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Aboubakr Belkaïd– Tlemcen –
Faculté des sciences

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : chimie physique et analytique

Par :

M^elle^ CHALABI Nahid

Sur le thème

Caractéristiques physico-chimiques de quelques extraits d'une plante : *Ferula communis* L

Soutenu publiquement, le 02/ 07 / 2017, devant le jury composé de :

LARABI Lahcen	Professeur	UABB Tlemcen	Président
NEGADI Amina	Professeure	UABB Tlemcen	Examinatrice
SELLES Chaouki	MCA	UABB Tlemcen	Encadreur

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Ce n'est pas parce que la tradition l'exige par habitude que cette page est présentée dans mon mémoire de fin d'étude, mais parce que les personnes à qui s'adressent mes remerciements les méritent vraiment.

Au début j'adresse par mes remerciements à Allah de m'avoir aidé à accomplir ce modeste travail.

Mes sincères remerciements vont à mon encadreur ***Dr. SELLES Chaouki*** *pour l'honneur d'avoir proposé ce thème et de m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa compréhension et ses conseils, Je tiens à présenter toute ma gratitude, mes respects et ma grande estime à vous monsieur.*

Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères au ***Pr. DAHMANI Bennamar*** *Chef de spécialité Chimie Physique et Analytique de m'avoir accueilli dans ce Master. Si ce travail est présentable aujourd'hui, c'est grâce à ses efforts inlassables, merci monsieur*

Je voudrais également remercier ***Pr.LARABI Lahcen*** *et* ***Pr NEGADI Amina*** *membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

Mes remerciements vont également à ***Pr. Mohamed el Amine DIB*** *de m'avoir aidé à réaliser les analyses chromatographiques.*

J'ai eu la chance d'effectuer l'analyse de l'indice de réfraction dans le laboratoire du ***Pr.NEGADI Latifa*** *.Qu'elle trouve ici mes remerciements les plus distingues.*

Un remerciement particulier va à ***Melle BENMANSOUR Nassima*** *doctorante en chimie physique et analytique à Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, pour son aide précieuse au quotidien, pour le partage de ses expériences et son suivi, pour sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse.*

Je tiens particulièrement à remercier mes parents qui n'ont pas hésité de m'offrir tous les moyens et de m'avoir encouragée et conseillée

Un grand merci à tous mes amis de la promotion du Master CPA. Je vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble, Merci infiniment.

J'exprime mes vifs et sincères remerciements, à tout ceux qui ont participé de prêt ou de loin, et qui n'ont pas hésité à me soutenir tout au long de mes études



Dédicaces

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail
Que je dédie :

A mes très chers ***parents*** *qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et m'a soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis.*
Merci mes parents

À mes chers frères et sœurs : ***Manelle****,* ***Amine****,* ***Rania*** *et* ***Sid ahmed***

A ma ***grande mère*** *pour les prières qui m'ont accompagné tout au long de ma vie.*

A mes ami(e)s

À mon encadreur Monsieur ***Selles Chaouki***

Enfin, à tous ceux qui m'aiment.

Nahid

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

CHAPITRE I

I. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales……...….....2

II. Présentation de la plante ferula communis …….…….……..2

II.1- Présentation de la famille Apiaceae…….…….....2

II.2- Généralités sur le genre ferula…….....2

II.3- Caractéristiques générales de Ferula communis L…….…….....2

II.4- Toxicité et composition chimique……...….……..3

II.5- Travaux antérieurs sur Ferula communis L ……..…….…3

III. Généralités sur les huiles essentielles....……..……....5

IV. Activité antioxydante…….10

IV.1- Les antioxydants ……...…….....10

IV.2- Méthodes…….…….....11

IV.2.1- Test de réduction du radical stable (DPPH)…….…….....11

IV.2.2- Test de FRAP (Ferric Reducing Ability Power) ……..……....12

V. Dosages des composés phénoliques ……..……....12

Chapitre II

I. Matériel végétal…….....15

Table des matières

II. Etude phytochimique…….…….....16
III. Analyses quantitatives……...23
III.1. Détermination de la teneur en eau……...…….23
III.2. Teneur en cendres totales……..24
III.3. Dosages des polyphénols totaux……...……..25
III.4. Dosages des flavonoïdes…….....25
III.5. Dosage des tanins……..……...26
III.6. Dosage des sucres…….…….....26
III.7 Dosage des métaux lourds……....27
IV. Huiles essentielles…….....……...……....27
IV.3.Procédé d'obtention de l'hydrolat……...……...….29
IV.4. Détermination des constantes physico-chimiques……...…..29
V. Chromatographie en Phase Gazeuse CPG …….…….....33
VI. Etude du pouvoir antioxydant…….....34

Chapitre III

I. Calcul du rendement ……..……..36
II. Résultats des Tests phytochimiques ……...…….....36
III. Analyse quantitative……..……...….....38
IV. Extraction des huiles essentielles…….……40
V. Caractéristiques physico-chimiques ……..……..……41
VI. Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse …….....43
VII. Résultats de l'activité antioxydante …….....44

Conclusion Générale
Références bibliographiques
Annexe

Abréviations

ABS : absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

Ext aq : Extrait aqueux

F act : Fraction acétate d'éthyle

Fe^{2+} : Ions ferreux.

Fe^{3+} : Ions ferriques.

Fn buOH : Fraction n-butanol

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

H : Humidité

H.Y : Hydrolat

HE : Huile essentielle

IC50 Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

I_R : Indice de rétention.

MeOH : Extrait méthanolique

Ms : Matière sèche

Pa : Partie aérienne

R: Racines

TPTZ: Ferric 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine.

Liste des figures

N°	Chapitre I : Etude bibliographique	pages
1	*Ferula communis* L	3
2	Montage de l'hydrodistillation type Clevenger	7
3	Montage de l'entrainement à la vapeur	8
4	Structures chimiques de quelques antioxydants naturels	11
5	Réaction du test DPPH	12
6	Schéma de la réaction de test FRAP	12
7	Structures des deux types de tanins	14

N°	Chapitre II : Matériel et méthodes	pages
8	Carte géographique de la région de Tlemcen (Boukiou)	15
9	Montage de soxhlet	16
10	Protocole d'extraction des flavonoïdes	17
11	Macération et extraction des tanins	18
12	Creusets contenant la plante	23
13	Cendres	24
14	Spectromètre d'absorption atomique (SAA)	27
15	Montage de l'hydrodistillation	28
16	Obtention de l'hydrolat	29

N°	Chapitre III : Résultats et discussion	pages
17	**Rendements des extraits**	36
18	**Histogramme des dosages**	38
19	**Huile essentielle de *Ferula communis* L.**	40
20	**% d'inhibition du DPPH● de l'huile essentielle et de l'hydrolat**	46
21	**% d'inhibition du DPPH● de l'extrait méthanolique**	46
22	**% d'inhibition du DPPH● de l'extrait aqueux**	46
23	**% d'inhibition du DPPH● des tanins**	46
24	**% d'inhibition du DPPH● de la fraction butanolique**	46
25	**% d'inhibition du DPPH● de l'extrait d'acétate d'éthyle**	46
26	**Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat**	48
27	**Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique**	48
28	**Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux.**	48
29	**Pouvoir réducteur du fer des tanins**	48
30	**Pouvoir réducteur du fer de l'extrait d'acétate d'éthyle**	48
31	**Pouvoir réducteur du fer de la fraction butanolique**	48

Liste des tableaux

N°	Chapitre III : Résultats et discussion	pages
1	Tests phytochimiques	37
2	Teneurs en eau	38
3	Teneurs en cendres	38
4	Dosages des composés phénoliques et des sucres	39
5	Teneurs en métaux lourds	40
6	Taux d'huile de *Ferula communis* L dans différentes régions	41
7	Caractéristiques physico-chimiques de HE	42
8	CPG de HE	43
9	Valeurs des IC50 et des ARP des différents extraits (Méthode DPPH)	45
10	Valeurs des IC50 et des ARP des différents extraits (Méthode FRAP)	47

De par sa situation géographique, la région de Tlemcen possède une flore riche et peu valorisée. Cependant, beaucoup de plantes qui s'y trouvent ont tendance à régresser. D'un point de vue de leur potentiel chimique et leur pouvoir thérapeutique, ces plantes ne sont pas valorisées et restent peu étudiées. En effet, les plantes médicinales sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants naturels **[1]**

La plante sur laquelle nous nous sommes penchés appartient à la famille des apiacées ; il s'agit de *Ferula communis* L. appelée communément le fenouil géant.

L'étude qui fait l'objet du présent mémoire, consiste à l'examen phytochimique, la détermination de quelques paramètres physicochimiques, l'évaluation de la composition chimique de l'huile essentielle et l'investigation des activités antioxydantes par deux méthodes différentes, de quelques extraits de cette plante.

Ce travail se subdivise en trois parties ;

La première partie est consacrée à une étude bibliographique sur les plantes aromatiques et médicinales en général et *Ferula communis* L en particulier. Seront exposés, les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction, les propriétés physicochimiques ainsi que les méthodes utilisées pour la détermination des activités antioxydantes de ces extraits.

Dans la deuxième partie, nous exposerons notre travail au laboratoire et les différents modes opératoires que nous avons suivis pour la détermination de quelques paramètres physico-chimiques, l'extraction de quelques familles de composés et l'évaluation de leurs activités antioxydantes. Par ailleurs, nous procèderons par chromatographie en phase gazeuse, à la mise en évidence de quelques composants de l'huile essentielle de la partie aérienne de cette plante.

Dans le troisième chapitre, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus.

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

Partie I

Etude bibliographique

I. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales:

I.1.Définition :

Une plante médicinale est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies **[2]**

Une plante aromatique est une plante susceptible d'être utilisée en cuisine et en médecine douce pour ses arômes et les huiles essentielles que l'on peut en extraire **[3]**

I.2. Histoire des plantes aromatiques et médicinales :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Depuis l'antiquité, ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine**.**

Les égyptiens ont constitué la première législation des plantes médicinales en "Pharmacopée" dont le nom dérive du mot égyptien " Farmake" (qui guérit) **[3]**

A l'époque Romaine, du moins dans les premiers siècles, les experts en matière de botanique étaient toujours des Grecs, et ce n'est que plus tard que les Romains s'attachèrent à l'étude de la flore et à l'élaboration des médicaments qu'ils en pouvaient obtenir. Les Arabes furent, eux aussi de grands connaisseurs de plantes, ils avaient hérité, de la grande culture des perses, de solides préceptes médicaux, tout en se référant à Galien pour l'essentiel de sa doctrine.

77 ans après JC, Discoride inventorie plus de 600 plantes d'origine végétale **[4],** comprenant une centaine de plantes aromatiques. Les auteurs arabo persans comme Ibn al Baytâr (1877-1883) ont ajouté de nombreuses espèces nouvelles à cet arsenal thérapeutique. Depuis cette époque jusqu'à nos jours, les herbes, les bais, les racines n'ont pas cessé d'être l'objet d'études approfondies, si bien que chaque jour leurs vertus soient mieux reconnues et plus utilement appliquées. Aujourd'hui, malgré la profusion des médicaments purement chimique, les plantes remportent toujours de nouvelles victoires **[5]**

II. Présentation de la plante *Ferula communis* L :

II.1.Présentation de la famille des Apiaceae :

Les Apiaceae (Ombellifères) comprennent environ 3.000 espèces réparties dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. C'est une famille facile à reconnaître grâce à son inflorescence typique ombelle. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres **[6-7].**

II.2.Généralités sur le genre ferula :

II.2.1.Définition :

Le genre Ferula comporte près de 180 espèces poussant à travers le monde, principalement dans les régions arides. 130 espèces sont communes au bassin méditerranéen et à l'Asie centrale [**8].**

II.2.2.Utilisations traditionnelles :

La décoction des fruits de *Ferula vesceritensis* est utilisée pour traiter les maux de tête, la fièvre et les infections de la gorge **[9]**. *F. communis L* est utilisée pour traiter l'hystérie et la dysenterie [**10].**

Les tiges sèches sont utilisées pour la vannerie et la confection des ruches d'abeilles **[11].** *F. communis* connue au Yemen sous le nom «Chemer ou Chemar», est utilisée en médecine traditionnelle pour éliminer les sels des urines **[9]**

II.3.Caractéristiques générales de *Ferula communis* L:

F. communis est une plante méditerranéenne, un arbrisseau vivace pouvant atteindre deux mètres de haut, à croissance très rapide (quelques semaines) et caractérisée par une inflorescence très dense. **[12]** La totalité de l'appareil végétatif est parcouru de canaux sécréteurs contenant un mélange d'essence et de résines **[7]**



Figure 1 : *Ferula communis* L

II.4.Toxicité et composition chimique :

La plante est moyennement toxique **[13]** où les principes toxiques majeurs sont des hydroxycoumarines prénylées en C3. Le férulénol, l'hydroxyférulénol, la ferpénine ont une action anticoagulante. Le férulénol possède également une activité cytotoxique, à l'instar du taxol.

Les intoxications sont rares chez l'homme et se manifestent par une faiblesse générale, des convulsions, des diarrhées sanglantes. Ces intoxications présentent un risque particulier chez les patients déjà sous AVK (antivitamines k). **[13]**

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

Le genre Ferula est étudié depuis plusieurs années. De nombreuses études ont été réalisées sur les métabolites secondaires synthétisés par les différentes parties des espèces appartenant à ce genre **[14-15-6]**

La coumarine prénylé (dérivée de coumarines) extraite de *F. communis* L, a une action toxique. La présence de cette molécule est une indication de toxicité **[14].**

Le fenouil géant est une espèce existante au Maroc et à la Sardaigne (Italie) qui contient un chimiotype toxique responsable d'un syndrome d'hémorragie connue par le férulisme chez les bétails. Les hydroxycoumarines ont une activité antivitamine K. Ce sont des molécules responsables de la toxicité **[16-17]**

Certains esters-daucane sont extraits de *F. communis*. En Sardinia (Italie) possèdent une activité antiproléfirative des cellules de cancer du colon inférieur chez l'homme **[18].** Des antimycobactériens peuvent être produites par des sesquiterpènes synthétisés par cette espèce. Toutefois, leur ingestion peut poser des problèmes toxicologiques et aussi écotoxicologiques **[6]**

ALKHATIB (2010) signale que certains composés isolés d'espèces de ce genre sont considérés comme agents chimiopréventifs, et servent à surmonter la résistance aux anticancéreux en agissant sur la pompe d'efflux de la glycoprotéine P. Il a été suggéré que l'acétophénone o-phénylé, acétophénone 2- (3-méthylbut-2- enyloxy), extrait des racines de *F. communis*, induit l'activité analgésique et l'activité anti-inflammatoire **[45]**

La fibre de ferula pré-séchée a été utilisée pour la mesure de la densité par la méthode d'Archimède avec de l'éthanol, selon ASTM D 3800-99. La densité des fibres de ferula a été déterminée comme égale à 1,24 g / cm^3 **[46]**

L'analyse phytochimique de l'extrait d'acétate d'éthyle et de l'extrait de n-butanol de *Ferula communis* a mis en évidence la présence de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de diterpènes, de glycosides, de glucides, de protéines, de terpénoïdes, et de tanins. L'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de n-butanol de *Ferula communis* ont été testés pour les activités antioxydantes où les deux extraits de plantes ont présenté un bon pouvoir réducteur à différentes concentrations **[47].**

Les huiles essentielles de *Ferula communis* L sont constituées par 3 composants majoritaires: le myrcène (52.5%), l'α- pinène : (20.90%) et le β-phellandrène (7.70%) **[6]**

III. Généralités sur les huiles essentielles :

III.1. Introduction :

Les huiles essentielles (HE) ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes **[19]**

Selon les normes internationales, les huiles essentielles doivent être liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est souvent inférieure à celle de l'eau, volatiles, insolubles dans l'eau, et solubles dans les huiles végétales, dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, et de polarité moyenne **[6]**

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules. Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (bergamotier, rose, ...), les sommités fleuries (lavande, menthe, ...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, ...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma, ...), les fruits (poivres, ...), le bois (bois de rose, santal,...), ou les grains (muscade, ambrette, ...). **[21]**

III.2.Composition des HE :

La composition chimique des HE est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les huiles essentielles sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés.

- ✓ **Les terpénoïdes :**

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes(n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes **[22].**

- ✓ **Les composés aromatiques :**

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles **[22].**

- ✓ **Les composés d'origines diverses :**

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînables lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés **[22]**

III.3.Hydrolat :

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires. Le principal marché des hydrolats se situe dans le domaine des cosmétiques et des arômes alimentaires **[23].** Traités au départ comme un déchet de la distillation des huiles essentielles, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus présents sur le marché des produits naturels. Les praticiens en aromathérapie les utilisent souvent en compléments d'une thérapie par les huiles essentielles. Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Leur popularité auprès des consommateurs est principalement due à leur non toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leurs faibles teneurs en principe actifs. Ils sont de ce fait beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles ce qui en fait un produit de choix pour les aromathérapeutes. Malgré cet engouement, les chercheurs s'intéressent peu aux hydrolats et à leurs potentiels thérapeutiques et il existe donc un réel manque de données fiables dans ce domaine **[23]**

III.4.Principales méthodes d'extraction des huiles essentielles :

III.4.1. L'hydrodistillation:

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si

chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation. **[24]**

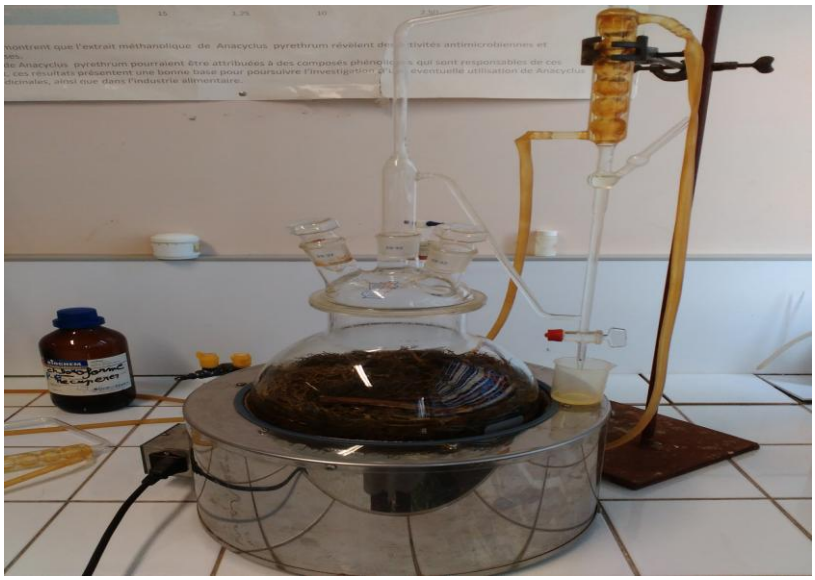


Figure 2 : Montage de l'hydrodistillation type Clevenger.

III.4.2. L'entraînement à la vapeur d'eau :

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation **[25].**

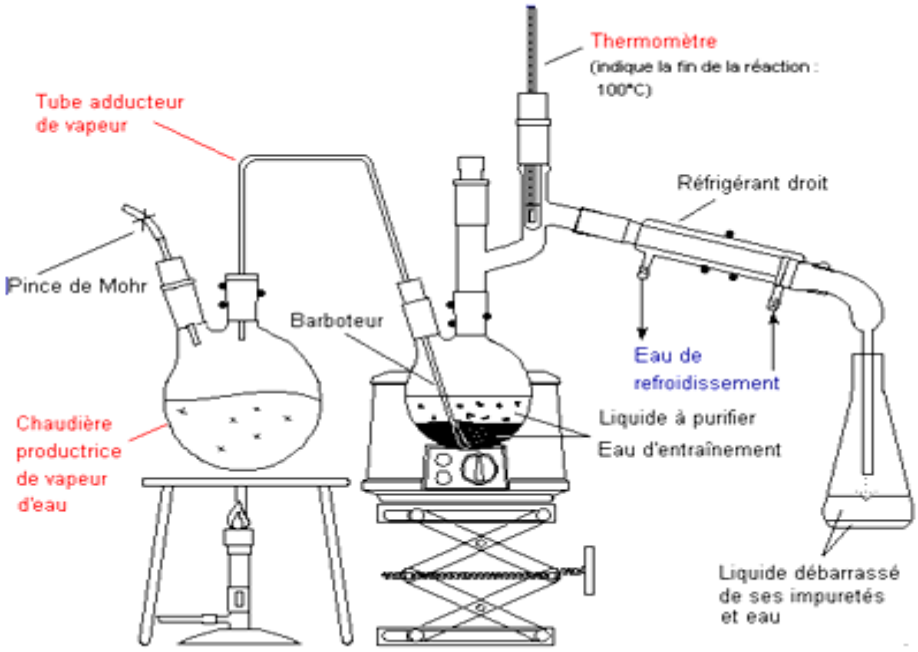


Figure 3 : Montage de l'entrainement à la vapeur

Il existe d'autres méthodes d'extraction tels que :

- L'hydrodiffusion
- La distillation à vapeur saturée
- L'expression à froid

III.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

III.5.1.Caractéristiques physiques :

III.5.1.1. la densité relative :

La densité relative à la température ordinaire d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à la température ordinaire à la masse d'un égal volume d'eau distillée à cette température. **[26]**

III.5.1.2.Indice de réfraction :

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. [26]

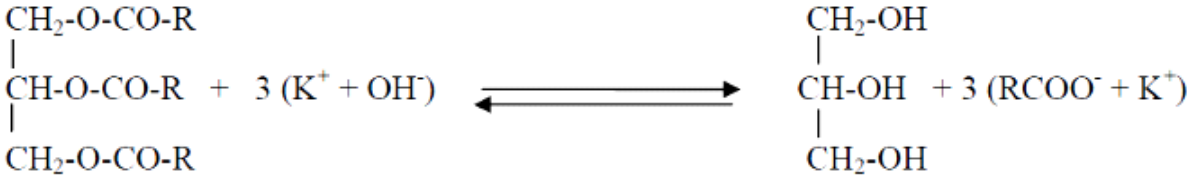
III.5.2. Caractéristiques chimiques :

III .5.2.2. Indice d'acide (I.A):

L'indice d'acide est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme d'huile essentielle. Cet indice apporte un renseignement précieux sur la qualité de la conservation de l'huile **[27]**

III.5.2.3.Indice de saponification (I.S) :

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



La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituants l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides que renferment l'huile. **[28]**

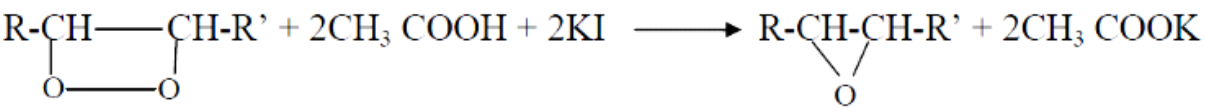
III.5.2.4.Indice d'iode (I.I):

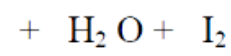
L'indice d'iode (I.I) d'une huile est le nombre de grammes d'halogène exprimé en iode fixé par 100 grammes d'huile. Le principe de sa détermination est basé sur la fixation d'halogènes par les doubles liaisons des acides gras insaturés, il permet donc d'évaluer le taux des insaturations moyennes de l'huile.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

III.5.2.5.Indice de peroxyde (I.P):

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état de fraicheur de l'huile **[30]**







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



IV. Activité antioxydante :

IV.1. Les antioxydants :

Un antioxydant est toute substance présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat**.** **[31]**.

Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres tels que les vitamines et polyphénols, doivent être apportés par notre alimentation. **[32]**

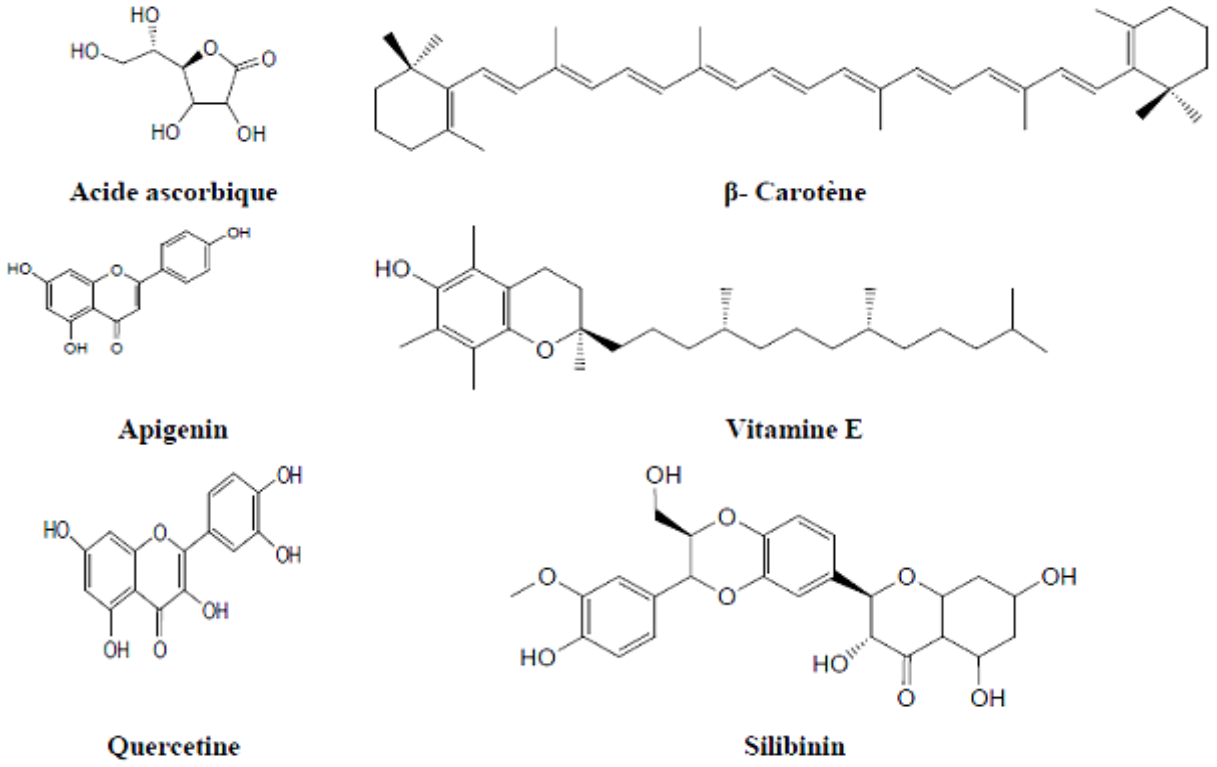


Figure 4 : Structures chimiques de quelques antioxydants naturels

IV.2.Méthodes d'investigation du pouvoir antioxydant :

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer la capacité antioxydante elles sont décrites dans la littérature. Parmi lesquelles nous citons :

IV.2.1.Test de réduction du radical stable, le DPPH :

- **Principe de la méthode :**

La stabilité du radical libre 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (DPPH) résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant, ainsi, la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux. Cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette foncée caractérisée par une bande d'absorption entre 515-517 nm.

Quand une solution de DPPH est mélangée avec celle pouvant céder un atome d'hydrogène, une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH s'est produite. Il persiste une légère coloration jaune due au groupement picryl résiduel **[33].**

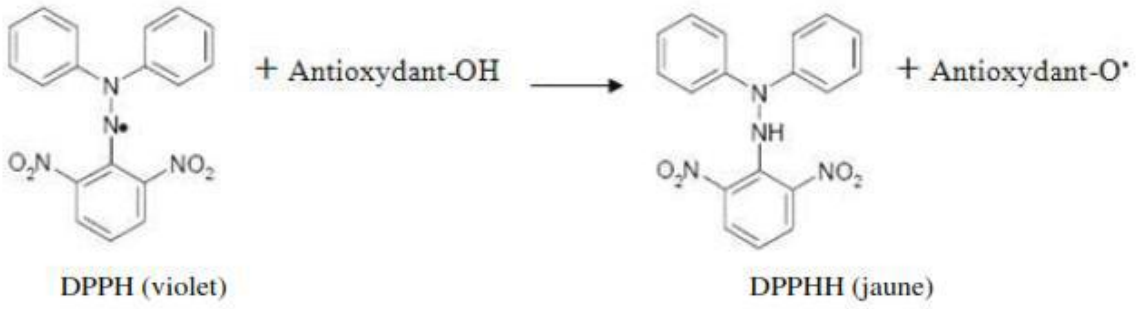


Figure 5 : Réaction du test DPPH **[34]**

IV.2.2.Test FRAP (Ferric Reducing Ability Power) :

Cette technique consiste à réduire le complexe ferrique de 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine [(Fe(III)-TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu à PH=3.6. Le problème de cette méthode, est qu'elle ne donne pas des résultats avec les antioxydants qui portent les groupes SH (les thiols**) [35-36]**

L'absorbance est enregistrée à 595 nm après 30 min d'incubation à 37 ° C **[37]**

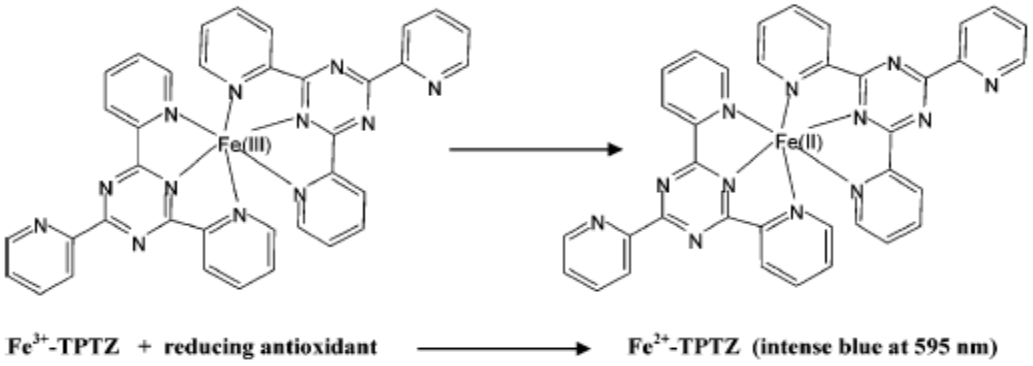


Figure 6 : Schéma de la réaction de test FRAP **[38]**

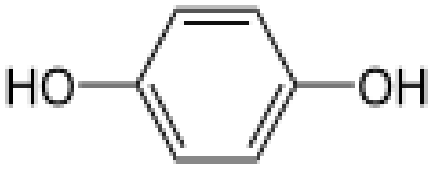
V. Dosage des composés phénoliques:

V.1.polyphénols :

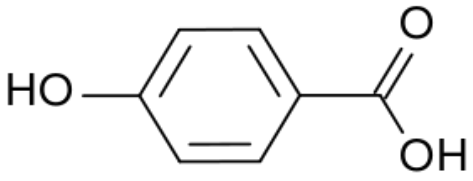
Plus de 8 000 composés polyphénoliques ont été identifiés dans diverses espèces végétales. Tous les composés phénoliques végétaux proviennent d'un intermédiaire commun, la phénylalanine, ou un précurseur proche, l'acide shikimique. Ils se présentent principalement

sous des formes conjuguées, avec un ou plusieurs résidus de sucre liés à des groupes hydroxyle, bien que des liaisons directes du sucre (polysaccharide ou monosaccharide) à un carbone aromatique existent également**. [39]**

La teneur des phénols peut être déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu **[40]** le réactif de couleur jaune est constitué d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de cette coloration est directement proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés **[41].**



Hydroquinone (Busserole)

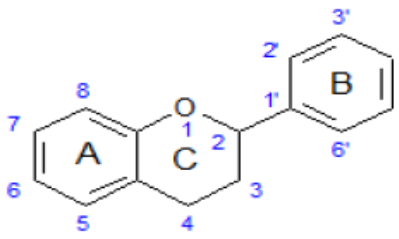


Acide parahydroxybenzoïque

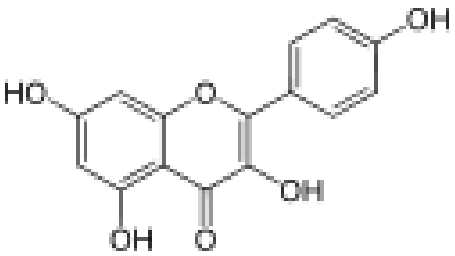
V.2.flavonoïdes :

Les favonoïdes constituent le groupe le plus étudié de polyphénols. Ce groupe a une structure basique commune consistant en deux cycles aromatiques liés ensemble par trois atomes de carbone qui forment un hétérocycle oxygéné**. [39]**

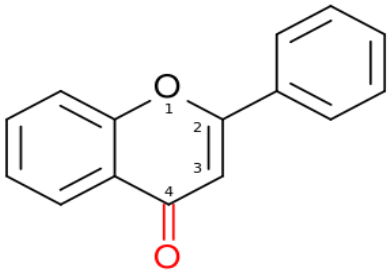
La détermination des flavonoïdes peut être effectuée selon la méthode décrite par [**42]** avec le réactif de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ et la soude NaOH. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.



Structure générale des flavonoïdes



Kaempférol (les fraises)

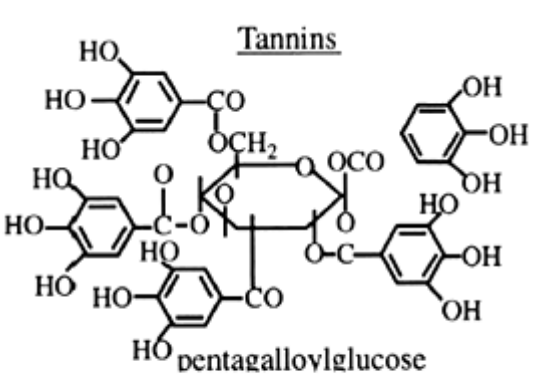


2-phénylchromen-4-one

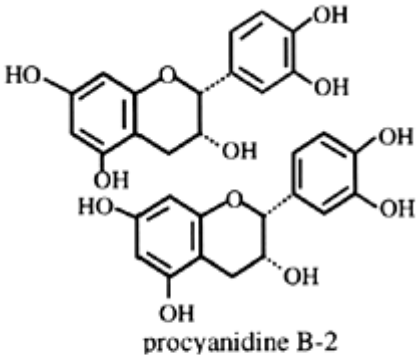
V.3.Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation **[43].**

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides **[44]**



Tanin condensé



Tanin hydrolysable

Figure 7: Structures des deux types de tanins

Partie II

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal :

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

Pour la réalisation des objectifs de notre travail, la plante a été récoltée de la région de Tlemcen (Boukiou) au mois de mars.



Figure 8 : Carte géographique de la région de Tlemcen (Boukiou)

I.2. Identification botanique :

L'identification botanique a été faite par le professeur Benabadji N. du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'université de Tlemcen.

I.3. Préparation du matériel végétal :

Après sa récolte, le matériel végétal a été nettoyé puis séché à l'ombre, à l'abri de la poussière et dans des endroits bien aérés à température ambiante pendant 15 jours.

La matière végétale sèche a été placée dans des sacs en papier et une quantité de la partie aérienne et des racines récupérées a été broyée, ensuite conservées dans des flacons en verre, hermétiquement fermés, au congélateur.

II. Étude phytochimique :

II.1. Préparation des extraits bruts :

II.1.1. Extraction sous reflux et soxhlet:

1) Préparation de l'extrait méthanolique, éthanolique et éthéré :

L'épuisement de la matière végétale a été réalisé à chaud par un montage de type Soxhlet, où 10 g de la matière végétale est placée dans une cartouche poreuse à l'intérieur du siphon, et cela en présence de 100 mL de solvant. Le mélange est filtré et l'extrait obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif (Rotavapor) puis conservé dans un flacon stérile. **[45]**



Figure 9 : Montage de soxhlet.

2) Préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux de *Ferula communis* L est obtenu à partir de 10 g de la poudre de plante que nous chauffons sous reflux dans 100 mL de l'eau distillée pendant une heure. Ensuite et âpres décantation, la solution est filtrée sur du papier filtre. Le filtrat est centrifugé pendant 10 minutes à 3900 tours par minute. Le surnageant a été filtré pour éliminer d'éventuels résidus.

Le filtrat est transvasé dans des boites de pétri puis mis dans l'étuve à 40°C jusqu'à obtention d'un extrait qui sera conservé dans le dessiccateur jusqu'à utilisation ultérieure. **[1]**

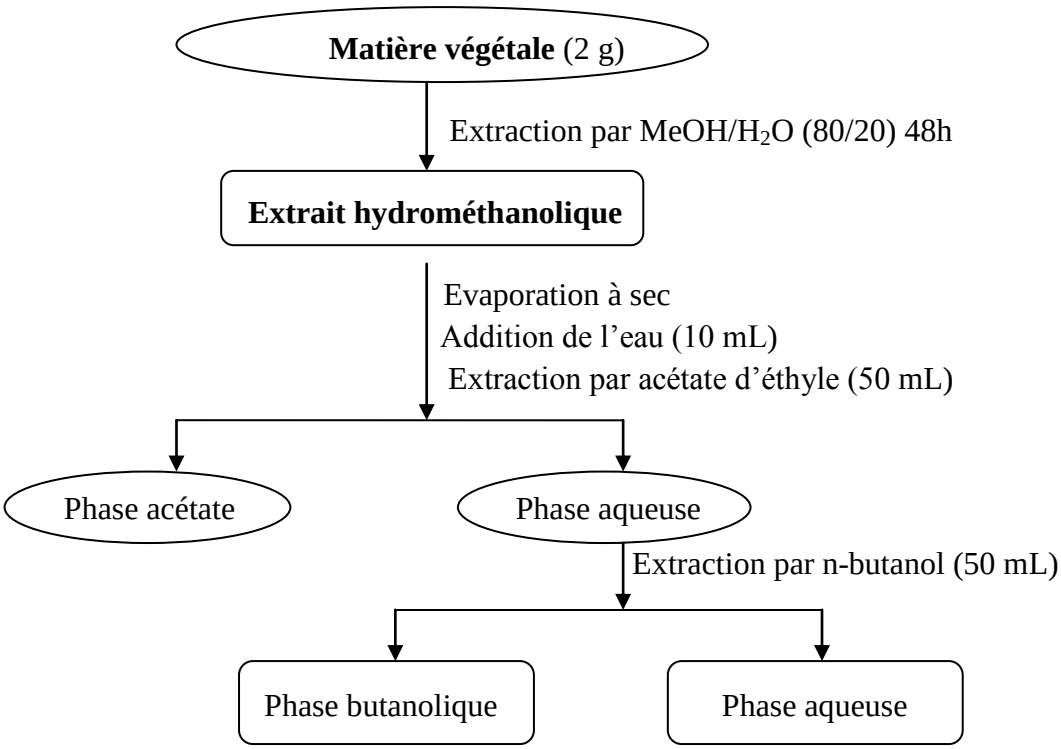
II.1.2. Extraction par macération :

1) Dégraissage du matériel végétal :

En utilisant un soxhlet, 10 g de la matière végétale est extraite en présence de 100 mL d'hexane tout en chauffant pendant 4 h. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu sous forme d'un extrait huileux représente la matière grasse. **[46]**

2) <u>Extraction des flavonoïdes</u> :

2 g de la matière végétale est soumise à macération pendant 48h à température ambiante, dans un mélange hydro-alcoolique de type méthanol-eau (80:20 V/V). Après filtration et évaporation du solvant, l'extrait brut obtenu est épuisé successivement par 2 solvants ; l'acétate d'éthyle et le n- butanol. **[47]**



<u>Figure 10</u> : Protocole d'extraction des flavonoïdes.

3) <u>Extraction des tanins</u> :

L'extraction des tanins a été effectuée selon la méthode adoptée par **Zhang et *al.***
2.5 g de poudre de matériel végétal ont été extraits par 100 mL du mélange acétone/eau distillée (100/40, V/V) durant trois jours à une température ambiante.

La solution est filtrée puis évaporée par un rotavapor pour éliminer l'acétone. La phase aqueuse est lavée par 15 mL de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments.

Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite deux fois avec 15 mL d'acétate d'éthyle. Le mélange des deux phases est évaporé à sec à 40 °C puis pesé et repris par 3 mL de méthanol. **[48]**



Figure 11 : Macération et extraction des tanins.

II.2. Calcul du rendement :

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

Ce rendement est calculé par la formule :

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

R : Rendement en %,

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

$\mathbf{M_0}$: Masse en grammes du matériel végétal obtenu après dégraissage.

II.3. Tests phytochimiques :

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal et d'identifier la présence des substances chimiques. Ces tests sont basés sur des réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée et provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié, est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation dans une molécule.

II.3.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau à chaud :

L'extrait aqueux est soumis aux différents tests cités ci-dessous :

1) Amidon :

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

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée. **[49]**

2) Saponosides :

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse [**50]**.
On ajoute 1 mL d'eau distillée à 2 mL de l'extrait aqueux, puis on agite fortement pendant 1 mn. Le mélange est ensuite abandonné pendant 20 mn puis la teneur en saponosides est évaluée. La présence des saponosides est confirmée par la mesure de la hauteur de la mousse :
- S'il n'y a pas de mousse, le test est dit négatif (-)
- Si la mousse est de 1cm d'épaisseur, le test est faiblement positif (+)
- Si la mousse est entre1 et 2 cm, le test est positif (++)
- Si la mousse est supérieur à 2 cm, le test est fortement positif (+++)

3) Tanins :

Pour détecter les tanins, on ajoute à 1 mL d'extrait aqueux, 1 mL d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%. La couleur verte foncée ou bleue-verte indique la présence de tanins **[51]**

4) Les anthraquinones :

La détection des anthraquinones consiste à : **[50]**

- Traiter 1 g du matériel végétal avec 10 mL de KOH 0,5 M et 1 mL H_2O_2 diluée à 5% ;
- Bouillir et refroidir le mélange, puis filtrer et acidifier le filtrat avec de l'acide acétique ;
- Extraire la solution acide obtenue avec 10 mL de toluène ;
- Agiter l'extrait de toluène en présence de 5 mL de NH_4OH.

Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

II.3.2. Epuisement du matériel végétal avec de l'éthanol :

L'extrait éthanolique est soumis aux tests cités ci-dessous :

1) Flavonoïdes :

Traiter 5 mL de l'extrait éthanolique avec 1 mL d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes **[26]**

2) Alcaloïdes sels :

Leur détection consiste à :

- Evaporer à sec 20 mL de l'extrait éthanolique ;
- Ajouter 5 mL d'HCl (10%) au résidu obtenu, puis chauffer dans un bain marie ;
- Filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes d'une solution de NH_4OH (10%) jusqu'au pH 9, puis extraire la solution avec l'éther diéthylique, ensuite concentrer à sec et dissoudre le résidu dans HCl (2%) ;
- Tester la présence des alcaloïdes par les réactifs de Mayer et de Wagner afin d'obtenir un précipité blanc et un précipité brun respectivement indiquant leur présence. **[52]**

3) Les tanins :

Ajouter 1 mL de l'extrait éthanolique ; 2 mL d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée. Un test positif est révélé par : **[51]**

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

4) Anthracénosides, coumarines et anthocyanosides : [50]

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

- Ajouter 15 mL d'HCl (10%) à 25 mL de l'extrait éthanolique et porter l'ensemble à reflux pendant 30 minutes ;
- Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 mL d'éther diéthylique.

Ensuite, chacune de ces familles est détectée séparément :

a. Les anthracénosides :

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

b. Les coumarines :

5 mL de la solution extractive étherique est évaporé à sec. Le résidu ainsi obtenu est repris dans 2 mL d'eau chaude, un volume de cette phase aqueuse est additionné avec 0,5 mL d'une solution d'ammoniaque NH_4OH à 10% et un autre volume est gardé comme un témoin.

L'apparition de fluorescence après observation sous UV indique la présence des coumarines.

c. Les anthocyanosides :

Leur détection consiste à doser la solution aqueuse acide avec une solution de NaOH. Elles ont des colorations variant en fonction du pH, le virage de couleur confirme la présence des anthocynosides de façon que :

- pH < 3, la solution prend une coloration rouge ;
- 4 < pH < 6, la solution prend une coloration bleue.

5) Stérols et stéroïdes :

Deux essais ont été effectués : **[53]**

- **Essai 01 :** Il consiste à :

- Evaporer à sec 10 mL d'extrait éthanolique ;
- Traiter le résidu obtenu avec 10 mL de chloroforme anhydre puis filtrer ;
- Mélanger 5 mL de la solution chloroformique avec 5 mL d'anhydride acétique, ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, agiter et après laisser la solution reposer.

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

- **Essai 02 :** Il consiste à :

- Evaporer à sec 10 mL d'extrait éthanolique ;

- Dissoudre le résidu obtenu dans 0,5 mL d'anhydride acétique et 0,5 mL de chloroforme, puis filtrer, et traiter le filtrat par la réaction de Libermann-Burchardt.

Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique la présence des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement.

6) <u>Les composés réducteurs</u> :

Leur détection consiste à traiter 1 mL de l'extrait éthanolique avec 2 mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique **[51]**.

II.3.3. <u>Epuisement du matériel végétal avec l'éther diéthylique</u> :

L'extrait éthéré est soumis aux tests cités ci-dessous

1) <u>Les huiles volatiles</u> : [54]

La détection des huiles volatiles consiste à :

- Evaporer à sec 20 mL de l'extrait éthéré ;
- Dissoudre le résidu obtenu dans l'alcool puis concentrer à sec la solution alcoolique obtenue.

Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme.

2) <u>Acides gras</u> : [**54]**

L'essai effectué consiste à :

- Concentrer à sec 20 mL de la solution éthérée ;
- Dissoudre le résidu obtenu dans de l'alcool puis traiter la solution alcoolique avec une solution basique de soude ou de potasse ;
- Ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique et après concentrer à sec la solution éthérée. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

3) <u>Les alcaloïdes bases</u> :

La détection des alcaloïdes consiste à : **[52]**

- Evaporer à sec 10 mL de l'extrait éthéré ;
- Dissoudre le résidu obtenu dans 1,5 mL d'HCl (2%) et ajouter 1 à 2 gouttes de réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases.

II.3.4. <u>Caractérisation des mucilages</u> :

Mélanger 1 mL d'extrait aqueux et 5 mL d'alcool absolu. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux. **[50]**

III. Analyses quantitatives :

III.1. Détermination de la teneur en eau :

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'un échantillon de 1g à la température de 105°C dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. Elle est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation. **[55]**



Figure 12 : Creusets contenant la plante.

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante :

$$H\ \% = \frac{M1 - M2}{PE} \times 100$$

H% : Teneur en eau,

M1 : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation,

M2 : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation,

PE : La prise d'essai.

- La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

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

III.2. Teneur en cendres totales :

Elle consiste à un passage au four de 2 g d'échantillon broyé dans une capsule tarée à une température de 550°C, jusqu'à destruction totale de toute particule charbonneuse (couleur grise claire ou blanchâtre). **[56]**



Figure 13 : Cendres

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la carbonisation. La teneur en matière organique est calculée par la formule suivante :

$$MO\% = \frac{M1 - M2}{PE} \times 100$$

MO% : Matière organique,
M1 : Poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination,
M2 : Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination,
PE : Prise d'essai.

- La teneur en cendres est calculée comme suit :

$$Cendres\ \% = 100 - MO\ \%$$

III.3. Dosages des polyphénols totaux : [57]

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été effectuée par spectrophotométrie UV-Visible selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu.

- **Mode opératoire :**

Dans un tube à essai, on introduit 0.2 mL de l'extrait aqueux, 0.8 mL de la solution de Na_2CO_3 à 7.5 % et on agite. 1 mL de la solution de Folin Ciocalteu (10 mL du réactif Folin Ciocalteu + 90 mL d'eau distillée) y est additionné. L'ensemble est incubé à une température ambiante pendant deux heures.

La lecture est effectuée contre un blanc sans extrait à 760 nm.

- **Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :**

Une gamme étalon a été établie de 0.01 à 0.2 mg/mL avec l'acide gallique pour calculer la concentration des composés phénoliques dans chaque extrait. Les résultats sont exprimés en équivalent-mg d'acide gallique /g d'extrait. **(Annexe 1)**

La concentration des polyphénols a été déterminée par la formule suivante :

$$T = C \times \frac{V \times D}{Ps}$$

T : teneur en phénols totaux

C : concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe

V : Volume de l'extrait

D : facteur de dilution

Ps : poids de la matière sèche.

III.4. Dosages des flavonoïdes : [58]

- **Mode opératoire :**

Dans un tube à essai, on introduit 1 mL de l'extrait méthanolique. 1 mL de la solution d'$AlCl_3$ (2% dans le méthanol) est ajouté. Le mélange est vigoureusement agité. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm**.**

- **Préparation de la courbe d'étalonnage de la quercétine :**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en

utilisant de la quercétine comme contrôle positif. Une gamme de 10 concentrations de quercétine allant de 40 à 2.5 µg/mL a été préparée à partir d'une solution mère à 400 µg/mL. La teneur en flavonoïdes est exprimée en (µg Eq / g d'extrait). **(Annexe 2)**

III.5. Dosage des tanins : [59]

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide**.** Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm.

- **Mode opératoire :**

Dans un erlenmeyer, on introduit 5 mL du réactif d'analyse qui contient : 2.5 mL de la solution de vanilline à 1% mélangée à 2,5 mL de la solution de HCl à 8% (8 mL de HCl complétés à 100 mL avec du méthanol). On ajoute 1 mL de l'échantillon (préparé dans le méthanol) et on agite le mélange pendant une minute. On additionne 5mL de la solution de HCl à 4%. L'erlenmeyer est ensuite introduit au bain marie à 30°C et laissé pendant 20 min La lecture des absorbances est faite à 500 nm**.**

- **Préparation de la courbe d'étalonnage de la catéchine :**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Une gamme de concentrations de la catéchine allant de 0.3 à 0.06 mg/mL a été préparée à partir d'une solution mère à 4.4 mg/mL. **(Annexe3).**

III.6. Dosage des sucres : [60]

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique. Cette dernière nécessite une hydrolyse acide qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans le polyoside.

Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. A ce moment là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange.

- **Mode opératoire :**

Dans un tube à essais, on introduit 0.5 mL de la solution à doser, puis 0.5 mL de la solution de phénol (5%). Les tubes sont soigneusement agités. 2.5 mL d'acide sulfurique

concentré sont ajoutés à l'aide d'une pipette graduée. Après séjour de 30 mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance sont effectuées à 490 nm.

- **Préparation de la courbe d'étalonnage du glucose :**

Une gamme de concentrations du glucose allant de 1 à 0.02 mg/mL a été préparée à partir d'une solution mère à 1 mg/mL **(Annexe 4)**

III.7 Dosage des métaux lourds :

Les échantillons de la partie aérienne et des racines de *Ferula communis* L (2 g) ont été pesés dans des creusets puis introduits dans un four à moufle pendant 6 heures. La cendre obtenue a été dissoute dans 4 ml d'acide hydrochlorique concentré et la solution filtrée dans un flacon de 10 mL. Le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge, avant de servir à l'analyse des métaux lourds. **[61]**

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



Figure 14 : Spectromètre d'absorption atomique (SAA)

IV. Huiles essentielles :

IV.1. Procédé d'extraction : [1]

L'hydrodistillation est une technique, parmi beaucoup d'autres, permettant d'extraire des huiles essentielles à partir de la plante fraiche ou sèche. L'hydrodistillation des deux parties (tiges, fleurs) de *Ferula communis* L a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type

Clevenger. Le montage expérimental est constitué d'un chauffe-ballon muni d'un thermostat et surmonté d'un essencier de type Clevenger.



Figure 15 : Montage de l'hydrodistillation

Dans un ballon de six litres, une quantité du matériel végétal est mise en contact direct avec quatre litres d'eau. Le chauffage est mis en marche en opérant une ébullition douce. Le réfrigérant est mis en fonction en réglant le débit d'eau.

La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau aromatique par décantation. La récupération de cette huile est effectuée du haut de l'essencier, à l'aide d'une pipette pasteur en introduisant de l'éther diéthylique surtout quand le rendement est faible. Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant (sulfate de magnésium anhydre).C'est l'opération de séchage. On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau. L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée au congélateur jusqu'à analyse.

IV.2. Calcul du rendement :

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

$$Rd\% = (m_1/m_0) \times 100$$

R : rendement en huile essentielle,

$\mathbf{m_1}$: masse en gramme d'huile essentielle,

$\mathbf{m_0}$: masse en gramme de la matière végétale sèche.

IV.3.Procédé d'obtention de l'hydrolat :

Pour chaque extraction 400 mL d'hydrolat a été récupéré dans des bouteilles en verre ambré et conservé à l'abri de la chaleur. Le volume total a été soumis à une extraction séquentielle liquide-liquide par un solvant apolaire en utilisant une ampoule à décanter.



Figure 16 : Obtention de l'hydrolat

Chaque 400 mL de l'hydrolat a été traité par 3 fois 50 mL d'éther diéthylique. Le résidu ainsi récupéré a été mis dans des flacons opaques préalablement pesés.

Le calcul de rendement est défini comme suit :

$$\%H.Y = [V/V0] \times 100$$

%H.Y : rendement en hydrolat,
V : volume d'hydrolat après traitement en millilitre,
$\mathbf{V_0}$: volume total de l'hydrolat en millilitre.

IV.4. Détermination des constantes physico-chimiques :

1- Caractéristiques physiques :

- **Densité relative : [62]**

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

$$d\theta = (m_1\text{-}m) / (m_2\text{-}m)$$

m_1 : Poids du pilulier avec l'huile,

m_2 : Poids du pilulier avec l'eau distillée,

m : Poids du pilulier à vide,

dθ : Densité à température ambiante,

$$d20 = d\theta + (\theta - 20)0.00068$$

θ : Température ambiante.

d20 : Densité à 20°C,

0.00068 : la variation de la densité quand la température varie de 1°C.

- **Indice de réfraction : [63]**

Un réfractomètre numérique Abbe (modèle Abbemat 300, Anton Paar (Autriche)), avec une précision de ± 0,02 K pour la température.

Les valeurs mesurées des indices de réfraction utilisant la méthode et l'appareil ont été estimées à ± 0,005 de leurs valeurs réelles (incertitude).

➢ **Mode opératoire :**

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

2- Indices chimiques :

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

- **Indice d'Acide (IA) : [64]**

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

➢ **Calcul de l'indice d'acide :**

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

$$IA = V \times N \times (56.1/ m)$$

IA : Indice d'acide,

V : Volume de KOH utilisé (mL),

N : normalité de la solution éthanolique de KOH exprimé en éqg /L,

m : Masse de la prise d'essai d'huile en gramme,

56,1 : masse molaire de KOH.

- **Indice d'iode : [65]**

Une quantité de 0.2 g d'huile est solubilisée dans 20 mL de CCl_4. A cette solution on ajoute 20 mL de réactif de Wijs (solution de concentration de 0,1M de monochlorure d'iode). Le mélange est bouché et mis à l'obscurité pendant 1 heure. On ajoute au mélange précédent 20 mL d'une solution à 10 % (m/v) d'iodure de potassium (KI) et 100 mL d'eau distillée puis on dose l'excès d'iode par une solution de thiosulfate de sodium $Na_2S_2O_3$ (0.2N) en utilisant l'amidon comme indicateur.

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

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

$\mathbf{V_0}$: Volume de thiosulfate de sodium dans le test à blanc exprimé en mL,

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

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

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

- **Indice de saponification (I.S) : [65]**

Une quantité d'un gramme d'huile est saponifiée à reflux par 25 mL de KOH éthanolique (0.5N) pendant une heure. L'excès du KOH est neutralisé par de l'acide hydrochlorique (HCl) (0.5N) en présence de phénophtaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans l'huile.

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

$$I.S = \frac{N.(V_0 - V).C.56,1}{m}$$

I.S : Indice de saponification,

$\mathbf{V_0}$: volume de HCl en mL dans le test à blanc en mL,

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

m : Masse d'huile prise en gramme,

N : Normalité de la solution potassique,

56,1 : Masse molaire de KOH.

- **Indice d'ester:**

C'est la quantité en mg de KOH nécessaire pour saponifier 1 g d'huile dépourvue d'acide gras. **[62]**

$$IE = IS - IA$$

IE : Indice d'ester,

IS : Indice de saponification,

IA : Indice d'acide**.**

- **L'indice de peroxyde : [30]**

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

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

$$\text{Indice de peroxyde} = \frac{(V - V_0) \times N \times 1000}{m}$$

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

$\mathbf{V_0}$: Volume de thiosulfate de sodium dans le test à blanc exprimé en mL.

m : Masse de la prise d'essai d'huile en gramme

V. Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en Phase Gazeuse CPG :

La CPG est une méthode de séparation mais aussi d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissant une quantification relative.

L'identification d'une substance peut être facilitée par la connaissance de son temps de rétention qui est une valeur caractéristique pour une phase stationnaire donnée. En effet, les temps de rétention de chaque composé dépendent des conditions expérimentales.

La CPG est préférentiellement utilisée dans le cas des molécules volatiles comme celles qui sont présentes dans les HEs **[66]**

- **Conditions opératoires :**

Le chromatographe est de marque Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) Autosystem XL, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et deux colonnes capillaires en

silice fondue, polaire Rtx-wax, polyethyleneglycol et apolaire Rtx-1 (DB5), polydimethylsiloxane).

- Programmation de température : de 60 à 230 °C à 2°C/min
- Température de l'injecteur: 280 °C.
- Température de détecteur: 280°C.
- Injection: mode split (1:50).
- Gaz vecteur: Hélium (1mL/min).
- Volume injecté : 0.2 µL.

VI. Etude du pouvoir antioxydant :

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extrais. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisé deux méthodes différentes à savoir : le test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) qui mesure les pouvoir de réduction des ions du fer et l'effet scavanger sur le radical 2,2 diphényl1-1-picrylhydrazyl (DPPH).

VI.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH :

50 µL de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,0025 g/L). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. **[67]**

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$I\ \% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

- **Calcul de la concentration IC50 :**

La IC50 (concentration inhibitrice à 50%) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés donnant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations. **[68]**

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance antiradicalaire (ARP). **[69]**

$$\mathbf{ARP = 1 / IC50}$$

ARP : Puissance anti radicalaire,

IC50 : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

VI.2. Méthode de la réduction du fer FRAP :

1 mL de l'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 mL d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2.5 mL d'acide trichloracétiquee à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. 2.5 mL du surnageant sont ajoutés à 2.5 mL d'eau distillée et 500 µl d'une solution de chlorure du fer ($FeCl_3$, $6H_2O$) à 0.1 % sont ajoutés au mélange.

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un Spectrophotomètre. **[67]**

Partie III

Résultats et discussion

I. Calcul du rendement :

Les rendements des extraits bruts secs, des deux parties racines et partie aérienne de *Ferula communis* L, obtenus sont exprimés en pourcentage, et présentés dans l'histogramme **(Figure 17)**

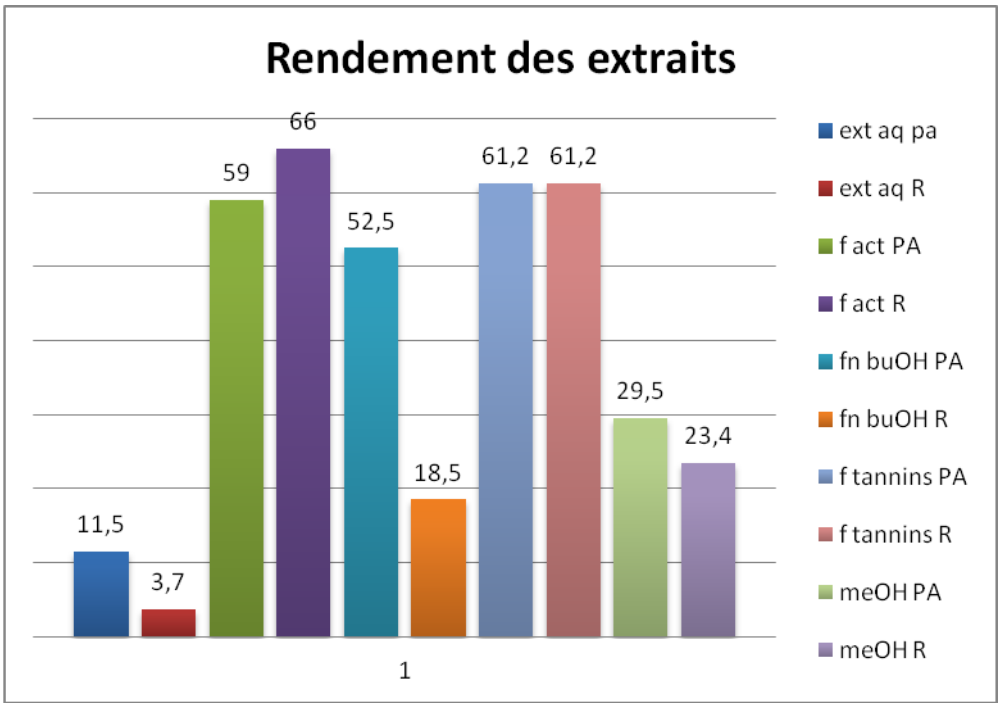


Figure 17 : Rendements des extraits.

Les résultats montrent que les rendements en extraits de fraction acétate d'éthyle des racines et le plus élevé 66%, l'extraction des tanins a donné un taux élevé aussi 61.2% pour les deux partie de la plante par contre l'extraction a l'eau a donné le taux le plus faible 3.7% des racines et 11.5% de la partie aérienne.

II. Tests phytochimiques :

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur la partie aérienne et les racines de *Ferula communis* L sont regroupés dans le **Tableau 1** :

Substance recherchée	Pa	R
Flavonoïdes	++	+
Tannis	+++ (catéchique)	+++ (gallique)
Anthocyanosides	_	_
Anthracénosides	_	_
Anthraquinones	_	_
Coumarines	_	_
Alcaloïdes sels	_	_
Alcaloïdes bases	_	_
Saponosides	_	_
Stérols et stéroïdes	+++	+++
Acides gras	_	_
Huiles volatiles	+++	++
Composés réducteurs	+++	+++
Amidon	_	_
Mucilage	+++	+++

Tableau 1 : Tests phytochimiques.

Réaction faiblement positive : + Réaction fortement positive : +++

Réaction négative : - Réaction moyennement positive : ++

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir de la partie aérienne et des racines de la plante *Ferula communis* L, extraits par des solvants de polarités différentes : eau, éthanol, et éther diéthylique, en utilisant des réactifs spécifiques de révélation.

A l'exception d'une différence dans la nature des tanins, la partie aérienne et les racines présentent le même profil phytochimique.

Les résultats montrent une forte présence des tanins, des stérols et stéroides, des composés réducteurs, des mucilages, des huiles volatiles. La présence des flavonoïdes dans la partie aérienne est moyenne alors qu'elle est faible dans les racines.

Les tests d'amidon, des acides gras, des alcaloïdes, des coumarines et des osides produisent une inférence négative.

Par ailleurs, la plante est riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins dont les propriétés antioxydantes sont importantes.

III. Analyse quantitative :

III.1. Teneur en eau :

	H (%)	MS(%)
Racines	16	84
Partie aérienne	15	85

Tableau 2: Teneurs en eau.

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

III.2 Teneur en cendres totales :

Partie aérienne	11.50
Racines	10.25

Tableau 3: Teneurs en cendres**.**

Le pourcentage en cendres totales permet d'informer sur la teneur en minéraux, ces derniers n'étant pas transformés en substances volatiles à haute température, contrairement aux matières organiques. La teneur en cendres totales a été évaluée à 11.5% pour la partie aérienne et 10.25% pour les racines.

III.3. Résultats des dosages :

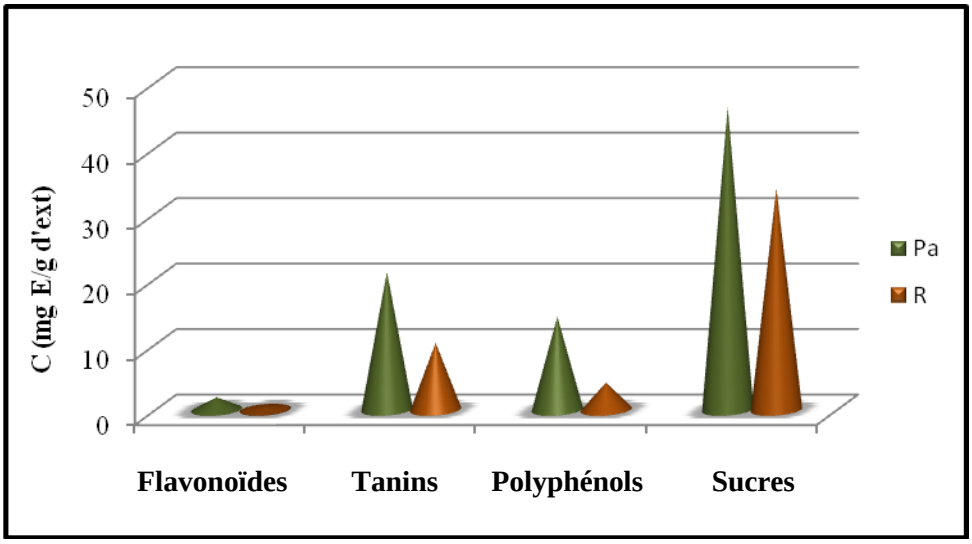


Figure 18 : Histogramme des dosages

A la lecture des résultats trouvés, les sucres sont les plus présents dans notre plante avec 46.29 mg E/g d'extrait de la partie aérienne et 33.89 mg E/g d'extrait des racines donnant à *Ferula communis* L une saveur sucrée. Idéale pour remplacer le sucre de façon naturelle et sans calories, *Ferula communis* L justifie son utilisation comme aliment de bétail.

La quantité des tanins est importante aussi ; elle est de 21.06 mg E / g d'extrait pour la Pa et 10.23 mg E / g d'extrait dans les racines. Le taux des tanins dans une plante dépend de deux facteurs principaux : le stade de développement végétatif et les conditions environnementales. Leur concentration varie considérablement entre les différentes espèces végétales et au sein de la même espèce où elle dépend du degré de maturité, de l'âge des feuilles, des fleurs et de la saison **[70]**

Les polyphénols ont une quantité acceptable dans la Pa mais faible dans les racines par contre, les flavonoïdes ont une très faible quantité de 1.92 mg E /g d'extrait dans la PA et 0.47 mg E/ g d'extrait pour les racines.

	C(mg E/g d'ext)	
	P.A	R
Flavonoïdes	1.92 ± 0.04	0.47 ± 0.03
Tanins	21.06 ± 0.01	10.23 ± 0.02
Poly phénols	14.22 ± 0.06	4.17 ± 0.04
Sucres	46.29 ± 0.08	33.89 ± 0.05

Tableau 4 : Dosages des composés phénoliques et des sucres

III.4. Dosages des métaux lourds :

Les résultats des minéraux présentés dans le **Tableau 5** montrent que la teneur en cuivre, en chrome et en plomb est élevée par rapport aux teneurs des autres éléments qui se sont révélées faibles. A faible dose, la plupart des oligo-éléments sont plus que nécessaires. Cependant, en quantités trop importantes, ils pourraient être très nocifs ; c'est le cas du cuivre et du chrome. D'autres minéraux ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas, comme le cadmium et le plomb.

Métal	Concentration (ppm)	
	PA	**R**
Plomb	5.331	5.304
Cadmium	0. 225	0. 299
Cobalt	0.866	0.946
Nickel	1.08	1.56
Chrome	7.054	8.028
Cuivre	8.365	9.472
Zinc	3.193	5.634

Tableau 5 : Teneurs en métaux lourds

IV. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation au moyen d'un Clevenger (Extraction solide-liquide) et de l'hydrolat par extraction liquide-liquide en utilisant l'éther diéthylique a donné des rendements très faibles de 0.05% et 0.01% respectivement.

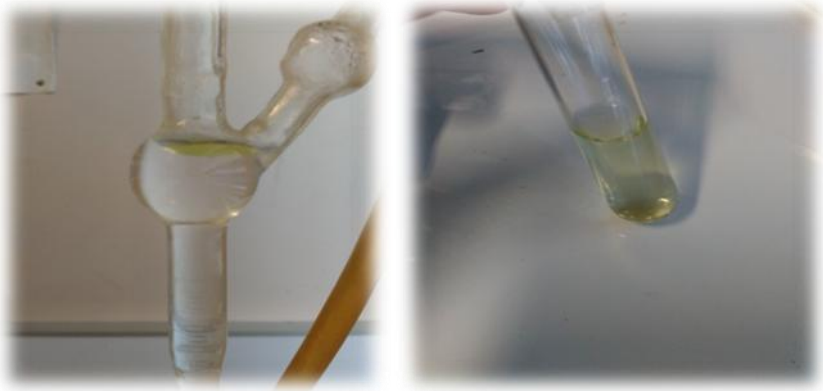


Figure 19 : Huile essentielle de *Ferula communis* L.

Une étude comparative des rendements en huile essentielle de l'espèce en question avec ceux obtenus des différentes régions de la Tunisie (**Tableau 6)** montre que le taux de l'huile varie d'une région à une autre. En effet, la nature du sol, les conditions climatiques et géographiques constituent des facteurs non négligeables.

Notre travail	**0.05**
Rades	0.38
Bizerte	0.022
Soliman	0.11
Gammarth	0.22

Tableau 6 : Taux d'huile de *Ferula communis* L dans différentes régions de Tunisie **[71]**

- **Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Ferula communis* L :**

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

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

- **Test de Potentiel d'hydrogène pH :**

Le potentiel d'hydrogène, une variable facile à mesurer, est utilisée pour caractériser un produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité.

Le pH de l'huile essentielle de notre plante est de l'ordre de 4

V. Caractéristiques physico-chimiques :

Les résultats obtenus sont reportés dans le **tableau 7**

Densité relative	0.84 (25°C)
Indice de réfraction	1.460880 (20°C) 1.467330 (25°C)
Miscibilité à l'éthanol	4V/V
Indice d'acide	17.06
Indice de saponification	72.93
Indice d'ester	55.87
Indice de peroxyde	5.00
Indice d'iode	121.82

Tableau 7: Caractéristiques physico-chimiques de HE

Inférieure à l'unité, la valeur de la densité relative de l'huile essentielle confirme sa légèreté par rapport à l'eau.

La mesure de l'indice de réfraction a été faite à deux températures différentes (20 et 25°C) à l'aide d'un réfractomètre par lecture directe. Sa détermination présente donc un grand intérêt. En effet, un indice de réfraction varie surtout avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés où une forte teneur en ces composés donnera un indice plus au moins élevé. Pour certains auteurs **[72]**, un faible indice de réfraction de l'huile correspond à sa faible réfraction de la lumière, ce qui favoriserait son utilisation dans les produits cosmétiques.

L'indice de réfraction, comme critère de pureté, est utilisé pour l'identification des huiles essentielles. Chacune d'elles a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction est proche de la valeur attendue, plus la « pureté » de l'huile est grande.

Nous constatons que l'indice d'acide est anormalement élevé, cela veut dire qu'il y a une quantité importante d'acides gras libres dans l'huile essentielle de *Ferula communis* L

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

L'indice d'ester est un indicateur très fort de la qualité de l'huile étudiée. En effet, une huile essentielle de très bonne qualité renferme une très grande quantité d'esters La valeur obtenue est relativement basse et témoigne donc de la faible teneur en esters de cette huile. En effet, la qualité d'une huile est proportionnelle à la quantité d'esters qu'elle referme. Cet

indice peut aussi être influencé par d'autres facteurs, tels que les conditions dans lesquelles s'effectue l'hydrolyse.

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

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

VI. Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse :

En se basant sur la recherche bibliographique concernant la composition de l'huile essentielle de *Ferula communis*, nous avons injecté une série de composés étalons susceptibles d'y être présents afin de déterminer leurs temps de rétention. Par la suite, nous avons procédé à l'injection de l'huile essentielle de la partie aérienne dans les mêmes conditions opératoires citées précédemment.

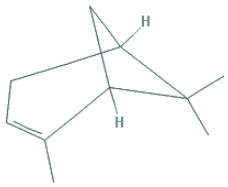
L'évaluation de la proportion de chaque composé dans l'huile a permis d'obtenir les résultats présentés dans le **Tableau 8**

N°	Composé	Tr (expérimentale)	Tr Huile essentielle	%
01	α-pinène	2.56	2.68	9.3
02	sabinène	5.4	5.47	5.2
03	β-pinène	6.4	6.27	5.0
04	myrcène	8.79	8.71	0.4
05	α-terpinène	12.72	12.73	0.7
06	limonène	12.94	/	/
07	(Z)-β-ocimène	13.45	13.27	9.3
08	(E)-β-ocimène	13.74	13.78	3.8
09	γ-terpinène	13.96	14.1	6.5

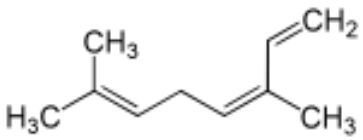
Tableau 8 : CPG de HE

Dans le tableau, les composés identifiés sont listés suivant l'ordre de leur temps de rétention. Au total, 9 composés ont été identifiés à des pourcentages variables. Le α-pinène et le (Z)-β-ocimène apparaissent comme les constituants les plus importants (9.3 % chacun), suivis du γ-terpinène (6.5 %), du sabinène (5.2 %) et du β-pinène (5 %).

Cette HE est composée de molécules dont l'industrie pharmaceutique a souvent recours. En effet**,** l'alpha pinène**,** le terpène le plus courant dans la nature, est une molécule efficace pour le traitement des affections respiratoires comme le rhume, la toux ou la bronchite. Par ailleurs, grâce à la ressemblance de **s**on odeur avec celle du sapin**,** il est couramment utilisé dans les désodorisants et les produits d'entretien. D'autre part, le (Z)-β-ocimène est connu pour ses propriétés et ses stabilités empêchant notamment son oxydation.



α-pinène



(Z)-β-ocimène

VII. Activité antioxydante des extraits :

VI.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de *Ferula communis* L. a été évaluée par spectrophotométrie suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm.

Les valeurs des IC50 et par conséquent des ARP ont été calculées en vue de déterminer les concentrations qui réduisent 50% des radicaux libres. Une valeur faible de IC50 (valeur élevée de ARP) indique une activité antioxydante forte.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans **le Tableau 9** et illustrés par les **figures 20, 21, 22, 23, 24,25.**

Extrait	**Partie utilisée**	**IC50**	**ARP**
Acide Ascorbique (A.A)		**0.07**	**15.22**
Hydrolat	Partie aérienne	15.19	0.07
Huile essentielle	Partie aérienne	21.11	0.05
Extrait méthanolique	Racines	3.72	0.27
	Partie aérienne	4.50	0.22
Extrait aqueux	Racines	9.98	0.10
	Partie aérienne	6.53	0.15
Tanins	Racines	**0.06**	16.67
	Partie aérienne	**0.02**	50.00
Extrait d'acétate d'éthyle	Racines	**0.02**	50.00
	Partie aérienne	**0.02**	50.00
Extrait au n-butanol	Racines	**0.03**	33.33
	Partie aérienne	**0.06**	16.67

Tableau 9 : Valeurs des IC50 et des ARP des différents extraits (Méthode DPPH)

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

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

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

En ce qui concerne les polyphénols, qu'il s'agisse de tanins, d'extraits à l'acétate d'éthyle ou de la fraction butanolique, les deux parties de la plante manifestent une activité antioxydante très intéressante avec des valeurs des IC50 inferieures même à celle de l'antioxydant de référence. En effet, les composés phénoliques qui y sont présents constituent une famille très diversifiée qui représente une source potentielle d'antioxydants.

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

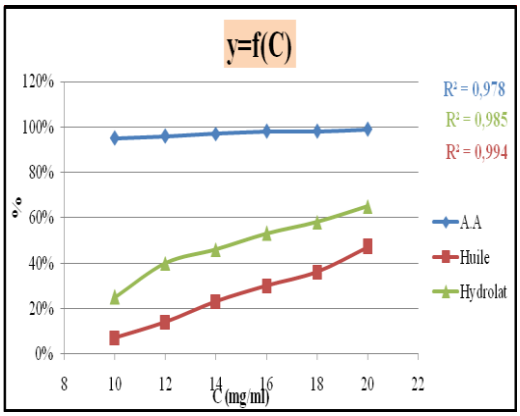


Figure20 : % d'inhibition du DPPH● de l'huile essentielle et de l'hydrolat.

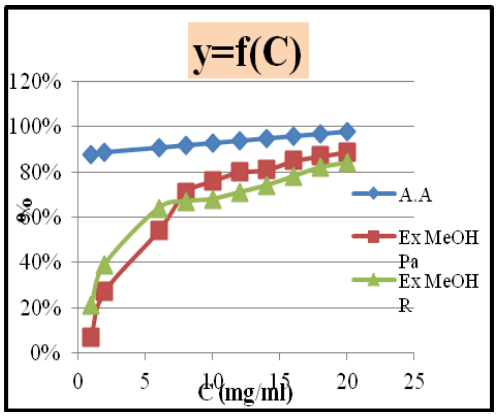


Figure21 : % d'inhibition du DPPH● de l'extrait méthanolique

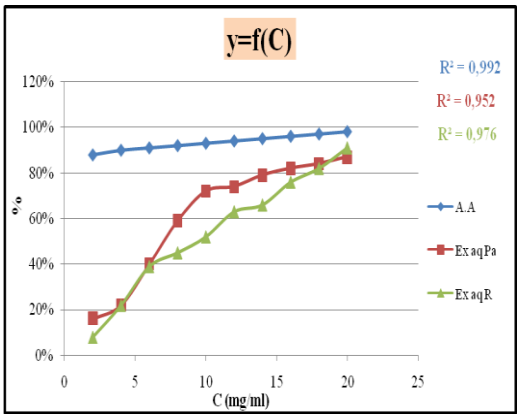


Figure22 : % d'inhibition du DPPH● de l'extrait aqueux

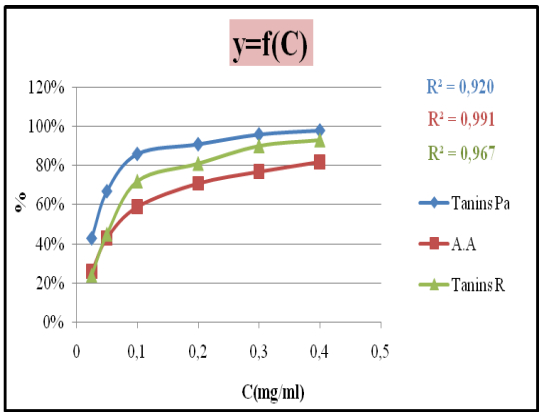


Figure23 : % d'inhibition du DPPH● des tanins

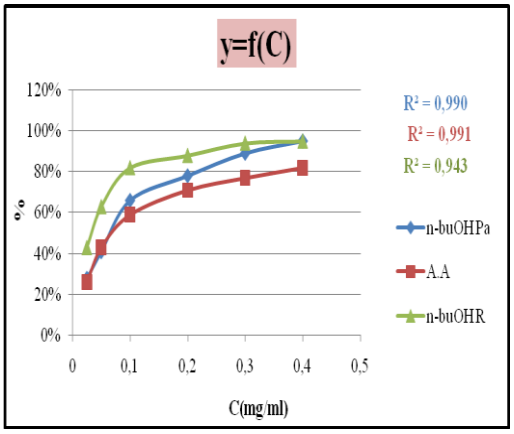


Figure24 : % d'inhibition du DPPH● de la fraction butanolique

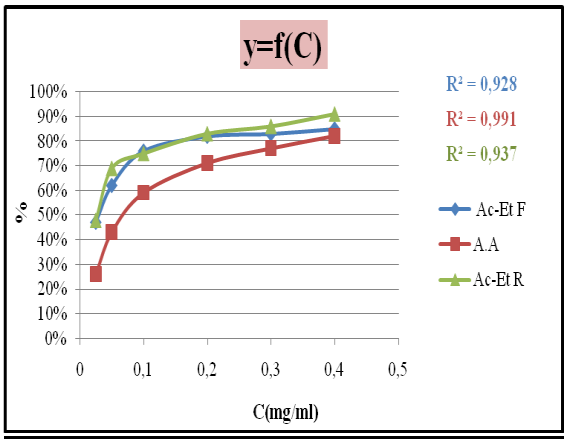


Figure25 : % d'inhibition du DPPH● de l'extrait d'acétate d'éthyle

VI.2.Méthode de réduction des ions ferriques FRAP :

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

Les valeurs des IC50 obtenues sont reportées dans le **Tableau 10** et illustrés par les **figures 26, 27, 28, 29, 30,31.**

Extrait	**Partie utilisée**	**IC50**	**ARP**
Acide Ascorbique (A.A)		**0.01**	**100**
Hydrolat	Partie aérienne	1.65	0.61
Huile essentielle	Partie aérienne	4.64	0.22
Extrait méthanolique	Racines	0.90	1.11
	Partie aérienne	2.08	0.48
Extrait aqueux	Racines	1.59	0.63
	Partie aérienne	1.88	0.53
Tanins	Racines	**0.01**	100
	Partie aérienne	**0.01**	100
Extrait d'acétate d'éthyle	Racines	**0.02**	50
	Partie aérienne	**0.01**	100
Extrait au n-butanol	Racines	**0.02**	50
	Partie aérienne	**0.01**	100

Tableau 10 : Valeurs des IC50 et des ARP des différents extraits (Méthode FRAP)

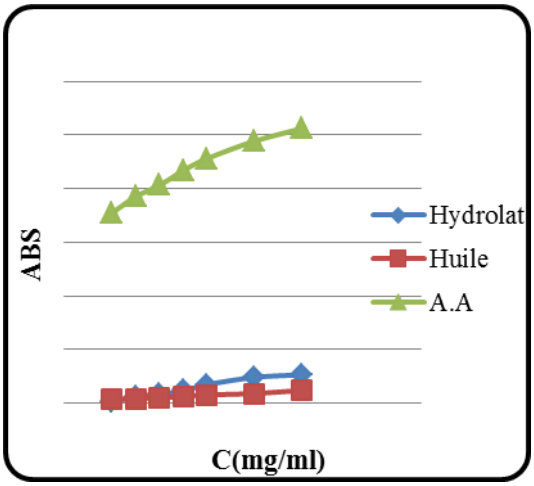


Figure 26 : Pouvoir réducteur du fer de l'huile essentielle et de l'hydrolat.

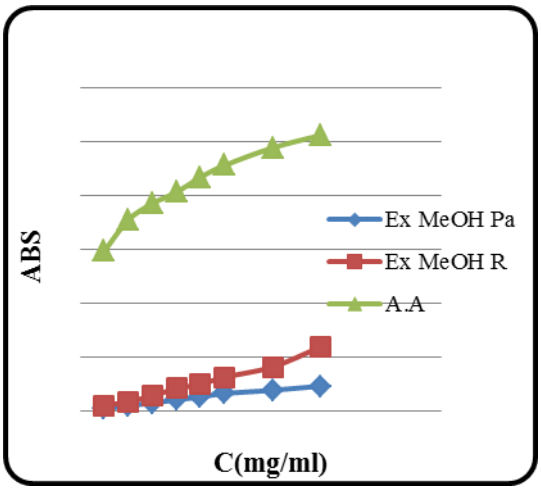


Figure 27: Pouvoir réducteur du fer de l'extrait méthanolique

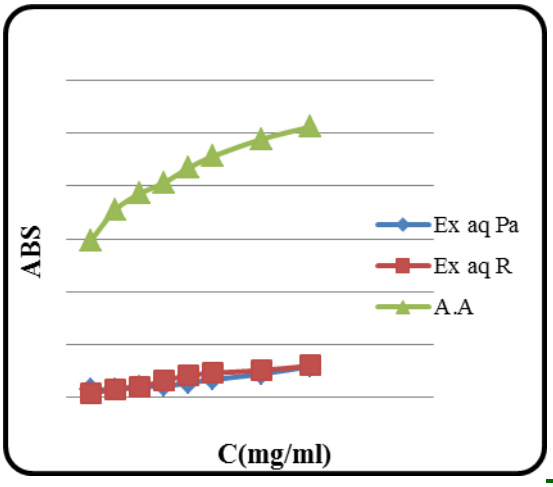


Figure 28 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait aqueux.

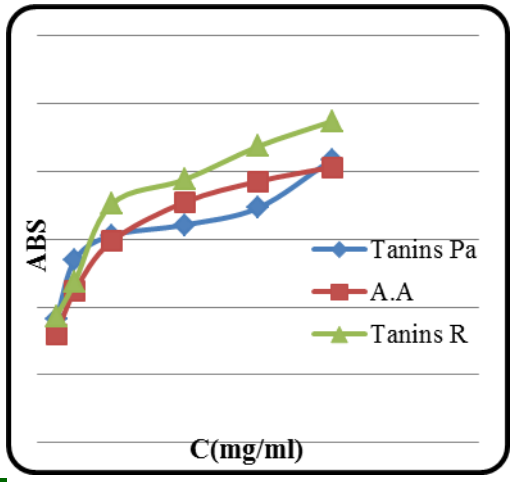


Figure 29 : Pouvoir réducteur du fer des tanins

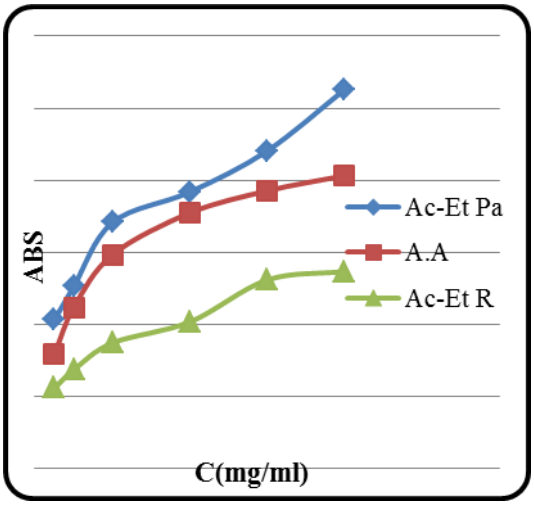


Figure 30 : Pouvoir réducteur du fer de l'extrait d'acétate d'éthyle.

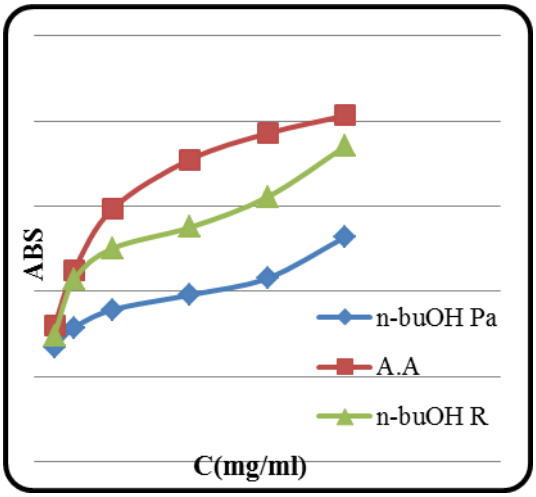


Figure 31 : Pouvoir réducteur du fer de la fraction butanolique

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

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

En revanche, l'huile essentielle de la plante accuse le pouvoir réducteur vis-à-vis du fer le plus faible avec une IC50 de 4.64. Par ailleurs, pour les extraits bruts (méthanolique et aqueux) dont la capacité réductrice est nettement inférieure par rapport à celles des polyphénols, ce sont les racines de la plante qui manifestent une activité antioxydante légèrement supérieure à celle de la partie aérienne.

Conclusion

L’étude qui fait l’objet de ce mémoire s’inscrit dans le cadre des travaux de recherche ayant comme objectif la valorisation des espèces végétales de la région de Tlemcen.

Le travail de cette recherche consiste à une étude physicochimique d’une plante de la famille des apiacées ; *Ferula communis* L. Un examen phytochimique qualitatif basé sur des réactions de coloration et/ou de précipitation a révélé la richesse de cette plante en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins dont les propriétés antioxydantes sont remarquables.

Cette étude est suivie par l’estimation de quelques caractéristiques physicochimiques de *Ferula communis* L. En effet, la plante est d’une teneur relativement faible en eau. Le cuivre, le chrome et le plomb s’y trouvent en proportions élevées par rapport à celles des autres éléments.

Après avoir extrait l’huile essentielle de la partie aérienne par hydrodistillation, plusieurs indices chimiques et physiques ont été déterminés alors qu’aucune étude n’en a fait état jusqu’à présent dans la littérature. La densité relative de l’huile essentielle obtenue confirme sa légèreté par rapport à l’eau. Les valeurs des indices chimiques montrent que l’huile essentielle contient beaucoup d'acides gras libres et peu d’esters, des acides gras insaturés et qu’elle est relativement stable vis-à-vis de l’oxydation lui permettant ainsi une longue conservation.

La caractérisation par chromatographie en phase gazeuse de l’huile essentielle a permis la mise en évidence de 9 composés dont α-pinène et (Z)-β-ocimène ; deux molécules très prisées par l'industrie pharmaceutique et en cosmétologie.

Pour l’évaluation du pouvoir antioxydant de cette plante, des extractions par des solvants de polarités différentes ont été effectuées. Les volatiles de *Ferula communis* L, ainsi que les extraits obtenus sont soumis à deux méthodes d’évaluation, à savoir : l’activité de piégeage du radical DPPH et la capacité de réduction du fer (FRAP) ; deux approches méthodologiques différentes pour une meilleure lecture de l’activité antioxydante de nos extraits.

Contrairement à ce qui était prévu, l’huile essentielle et l’hydrolat se sont montrés comme étant les deux extraits les moins actifs comme piégeurs du radical DPPH. Cependant, les tanins, les extraits à l’acétate d’éthyle ou la fraction butanolique des deux parties de la

plante manifestent une activité antioxydante très remarquable avec des valeurs des IC50 inferieures même à celle de l'antioxydant de référence. En effet, Les structures chimiques et la polarité de ces molécules sont déterminantes dans leur capacité à piéger les radicaux libres.

En ce qui concerne la capacité de réduire le fer (Fe(III) en Fe(II)) des extraits, il ressort des valeurs obtenues que les polyphénols extraits des deux parties de la plante révèlent un pouvoir à réduire le fer égal ou très proche de celui de l'acide ascorbique et plus important que celui des autres extraits. Une fois encore, l'huile essentielle et l'hydrolat accusent des activités les plus faibles. Cela ne peut s'expliquer que par l'effet antagoniste de leurs constituants.

Finalement, au vu des résultats prometteurs obtenus, une étude complémentaire pourra être envisagée pour connaître les composés responsables de l'activité antioxydante de cette plante.

Références bibliographiques

1. **Selles,Chaouki**, Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H_2SO_4 0.5M. Thèse de doctorat d'état : chimie physique. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 2012, 214p.

2. **Schauenberg P., Paris F. (1977).** Guide to medicinal plants. Guildford, Lutterworth Press.349p.

3. **Amina BOUNIHI.** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées).thèse de doctorat : Sciences du Médicament.rabat : Centre d'Études Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé,2016,199p

4. **Dioscoride, (1959**). The Greek Herbal of Dioscorides, R. T. Gunther (ed.), repr, Hafner Publishing Co., Inc., New York, pp. 259, 617.

5. **Encyclopedie pour tous**, (1970). Editors: Brunke EJ.Publisher: De Gruyter, Berlin, Fed.Rep.Ger. Edition Lipidis. Paris. 49-55.

6. **CHIBANI S., 2013**.- Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'Est Algerien. Thèse de doctorat, université de Constantine.199 p.

7. **FILIAT P**., 2012.- les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Thèse de doctorat en pharmacie faculté de Grenoble 129p.

8. **PIMENOV** M. G., et LEONOV M. V., 2004.- The Asian Apiaceae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west Asian taxa Turk. J. Bot., vol. 28:139-145.

9. **AHMED** A. A., HEGAZY M.-E. F., ZELLAGUI A., RHOUATI S., MOHAMED, T. A.,SAYED, A. A., ABDELLA, M. A., OHTA, S., HIRATA, T., 2007.- Ferulsinaic acid, asesquiterpenecoumarin with a rare carbon skeleton from Ferula species. Phytochemistry, vol. 68:680–686.

10. **HEYWOOD** V. H., 1971.- The biology and chemistry of the Umbelliferae.Academic Press, London, 438p.

11. **TRABUT** L., 1935.- Flore du nord de l'Afrique Répertoire des Noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique. Alger. Imprimeries «La Typo·Litho» et jules carbonelreunies. 355p.

12. **QUEZEL** P., et SANTA S., 1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 670p

13. **Claude hammer**.Le site des plantes toxique. [en ligne]. (modifié le 01/11/2016) disponible sur :< http://www.toxiplante.fr/monographies/ferrule.html> (consulté le 26/01/2017).

14. **ERJON MAMOCI**., CAVOSKI I., ANDRES M.F., DIAZ C. E., COLOMA A. G., 2012.Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from *Dittrichia viscose* and *Ferula communis*.BiochemicalSystematics and Ecology, vol. 43: 101–107.

15. **FILIPOM**., CECCHINI C., CRESCI A., COMANM. M., TIRILLINI B., SAGRATINI G.,PAPA F., 2009.- Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from*Ferula glauca* L. (F. *communis* L. subsp. glauca) growing in Marche(central Italy).Fitoterapia, vol.80: 68–72.

16. **VALLE M**. G., A ENDINO G., NANO G. M., PICCI, V., 1987.- Prenylated coumarins and sesquiterpenoids from *Ferula communis*. Phytochemistry, vol. 26: 253-256.

17. **FLESH E.,** 2005- Intoxications d'origine végétale Plant poisoning, EMC-Médecine, vol.2: 532–546.

18. **POLI F.,** APPENDINOG., SACCHETTI G., BALLERO M., MAGGIANO N., RANELLETTI FO., 2005.- Antiproliferative effects of daucane esters from *Ferula communis* and *F. arrigonii* on human colon cancer cell lines. Phytother Res, vol. 19 (2): 152-7.

19. **ALKHATIB R. 2010**, Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula lycia Boiss* (Apiacées). Chemical Sciences. Université du Droit et de la Santé .Thèse de doctorat, Lille II, France 233p.

20. **Yoldas Seki** , Mehmet Sarikanat , Kutlay Sever, Cenk Durmus kahya. Extraction and properties of Ferula communis (chakshir) fibers as novel reinforcement for composites materials.2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.compositesb.2012.03.013

21. **M. A. B Gamal**, Rajab A Atraiki.Phytochemical constituents of Ferula communis plant extracts and their antimicrobial and antioxidant activity. Lebda Medical Journal, vol. 1, June 2015, p. 6-9

22. **M. Piochon**, "Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse," Mémoire, Université du Quebec ,Quebec, 2008.

23. **Melle MEBARKI NOUDJOUB**, mémoire de Magister en génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 2010

24. **TEISSEIRE P.J**. (1991), Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p

25. **Abderrahim EL HAIB**, Thèse du DOCTORAT, Université de Toulouse, 2011

26. **BRUNETON J. (1993),** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2ième éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France.

27. **Polycopie de travaux pratiques de la chimie des substances naturelles de S6**, Université ibn tofail, 2009/2010

28. **NFT 60-206 1990**. Détermination de l'indice de saponification. Association Française de Normalisation AFNOR, Paris, France.

29. **NF EN ISO 3961 Septembre 2013**.Corps gras d'origines animale et végétale .Détermination de l'indice d'iode.

30. **NFT 60-220 1995.** Détermination de l'indice de péroxyde. Association Française de Normalisation AFNOR, Paris, France.

31. **Halliwell**, B; **Gutteridge,** J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

32. **Pincemail** ,J ; **Defraigne**, J.D. (2004). Les antioxidants un vaste réseau de defenses pour latter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, Pro biox SA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique.

33. **Molyneux P**, the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, songklanakarin J.Sci.Technol ,2004, 26(2) : 211-219.

34. **CONGO M**, 2012. Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de Salvadora Persica L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.

35. **Leopoldini** M, Pitarch IP, Russo N, Toscano M. Structure,conformation, and electronic properties of apigenin, luteolin,and taxifolin antioxidants. A first principle theoretical study. J Phys Chem A 2004; 108: 92-96

36. **Saleem M**, **Nazir M**, **Ali MS**, **Hussain H**, **Lee YS, Riaz N,** et al.Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. Nat Prod Rep 2010; 27: 238-254.

37. **Durazzo, A., Lisciani, S., Camilli, E., Gabrielli, P., Marconi, S., Gambelli, L., Aguzzi, A.,Lucarini, M., Maiani, G., Casale, G., Marletta., L**., Nutritional composition and antioxidant properties of traditional Italian dishes, *Food Chemistry* (2016), doi: http://dx.doi.org/10.1016/ j.foodchem.2016.08.120

38. **PRIOR R L**., **WU X., SCHAICH K., 2005.** Standardized Methods for the Determination ofAntioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements . Agric. Food Chem.(53) : 4290-4302.

39. **Kanti Bhooshan Pandey and Syed Ibrahim Rizv**. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2009 Nov-Dec; 2(5): 270–278.

40. **Lister E**, **Wilson P., (2001).** Measurement of total phenolics and ABTS assay for Antioxidant Activity. New Zealand: Crop Research Institute.

41. **Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d‟un arbre foustier. Le cahier des techniques de l‟Inra. Pp79-82.

42. **Dewanto V, Wu X, Adom K K, Liu R H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 50, 3010 -3014.

43. **Hemingway R W, 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : Lpant polyphenols: synthesis, properties, significande. Hemingway R W, Laks P. E. New York.

44. **Cavin A. (1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : Tinospora crispa (Ménispermacées), Merremia emarginata (Convolvulacées) et Oropea enneandra (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P.

45. **Houghton P.J and Raman A**, Laboratory Hand Book For Fractionation Of Natural Extracts, 1sted. Londres, 1998.

46. **Benmehdi H,** « Valorisation de certaines plantes medicinales a activité hypoglycemiante comme la la coloquinte », Abou Bekr Belkaid, tlemcen, 2000.

47. **Merghem R., Jay M., Viricel M. R., Bayet C. et Voirin B**. 1995. Five 8-C benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiateae). *Phytochemistry*., **38** (3) : 637-640.

48. **Zhang, S.Y; Zheng, C.G; Yan, X.Y; Tian, W.X. (2008).** Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371: 654-658.

49. **Guignard J-L. ; (1979).** Abrégé de biochimie végétale. 2ème Ed. Masson-Paris

50. **Bruneton J. ; (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris-France.

51. **Trease E., Evans W.C. ; (1987).** Pharmacognosy Billiaire. Ed. Billiaire. Tindall-London

52. **Memelink J., Verpoort R., Kijine J.W. ; (2001).** Organization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science*, **6,** 212-221.

53. **Linden G., et Lovient D. ; (1994).** Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole. Ed. Masson-Paris.

54. **Harbone J.B. ; (1967).** Comparative Biochemistry of the flavonoids. Academic Press, New York.

55. **Audigié C., Figarella J., Zonszain F., 1978**. Manipulation d'analyse biochimique. Doin Edition, Paris. P 247.

56. **Laurent E., 1991.** Eléments minéraux in: Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition Lavoisier. Paris, p78-98

57. **Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. (1999);** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*.299 : 152-178

58. **Yi Z.-B., Yu Y., Liang Y.-Z., Zeng B. (2007).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids, *LWT-Food Science and Technology*. 4 : 1000-1016.

59. **Price, M.L; Van scoyoc, S; et Butler, L.G. (1978).** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, J. *Agric. Food Chem*, 26: 1214-1218.

60. **Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F.,** 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances Analytical chemistry. Pp 350-356.

61. **Armand, A.B.**, université de Ngaoundere.Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires<Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle>. 20 janvier 2009.

62. **Ferhat M A**, **Boukhatem M N, Hazzit M, Chemat F.** Rapid Extraction of Volatile Compounds from *Citrus* Fruits using a Microwave dry Distillation. J. Fundam. Appl. Sci., 2016, *8(3),753-781*.

63. **AFNOR NF ISO280 (T75-112),** 1999- Huiles essentielles-. Détermination de l'indice de réfraction (homologuée le 5 septembre 1994). Journal officiel du 23 février 1999, Num. 147 : Avis relatifs à l'homologation et à l'annulation de normes. NOR : ECOI9910009V.

64. **Afnor, 2004.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic, Tome 2. Vol 1. Monographie relative aux huiles essentielles. 323 p.

65. **Association Française de Normalisation (AFNOR),** Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuse, produits dérives, 3éme édition, 1984.

66. **Benomari F.Z**, "Caractérisation chimique et activités biologiques des volatils de mentha aquantical (DOMRANE) de l'ouest Algérien," Abou Bekr Belkaid, tlemcen, 2014.

67. **N. Bougandoura ,N.Bendimerad** , "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq.," *Nat. Technol.*, vol. 9, p. 14 à 19, Juin 2013.

68. **Bentabet N, Boucherit-otmani Z, and Boucherit K**, "Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de fedolia avetioides de la région de Béchar en Algérie."

69. **Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.; (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*, 28, 25-30.

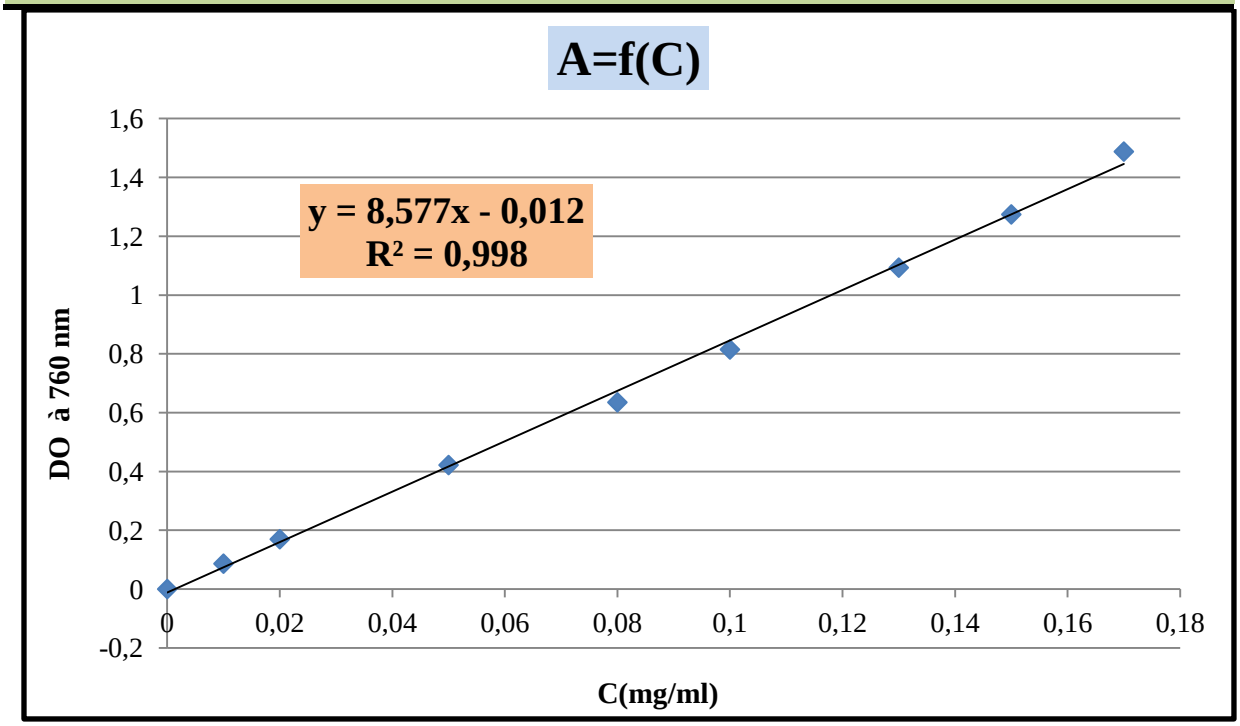
70. **Skadhauge B., GruberM.Y., Thomsen K.K., Von Wettstein D., 1997.** Leucocyanidin reductase activity and accumulation of proanthocyanidins in developing legume tissue. Am. J. Bot. Pp494-503.

71. **Rahali, F.Z., et al**. Metabolite profiles of essential oils and molecular markers analysis to explore the biodiversity of Ferula communis: Towards conservation of the endemic giant fennel. Phytochemistry (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.012

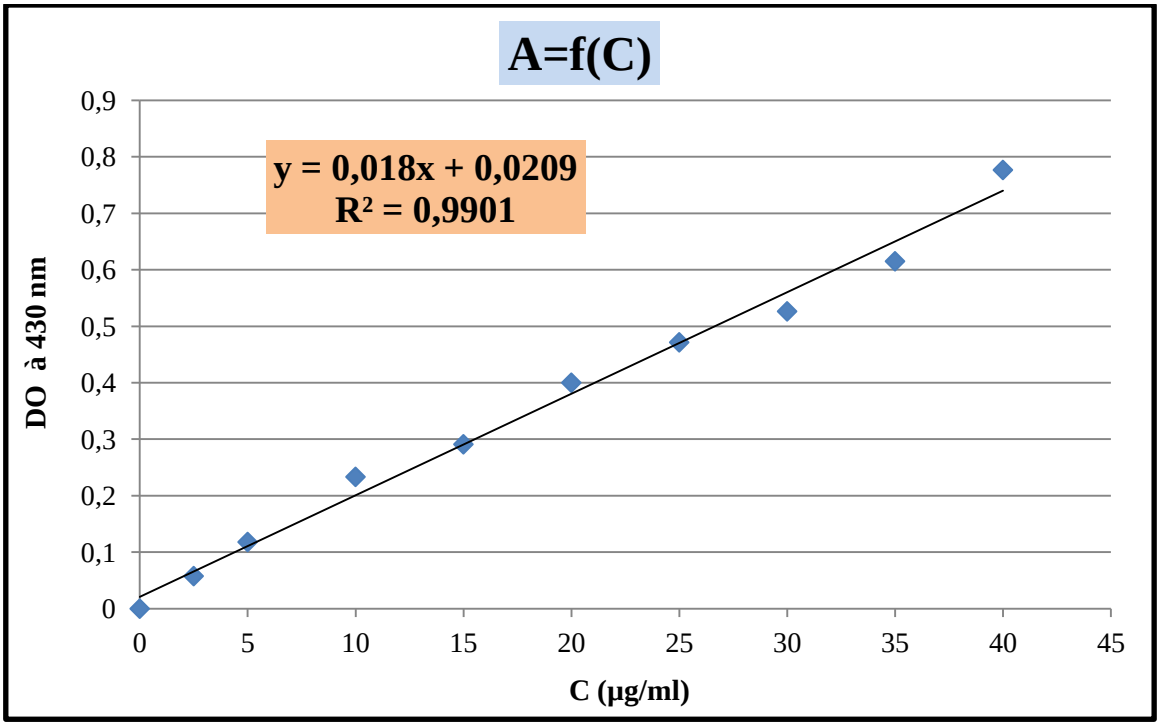
72. **KANKO C, SAWALIHO BE, KONE S, KOUKOUA G, N'GUESSAN YT**. « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus ». Comptes rendus Chimie 7 (2004) 1039–1042

Annexe

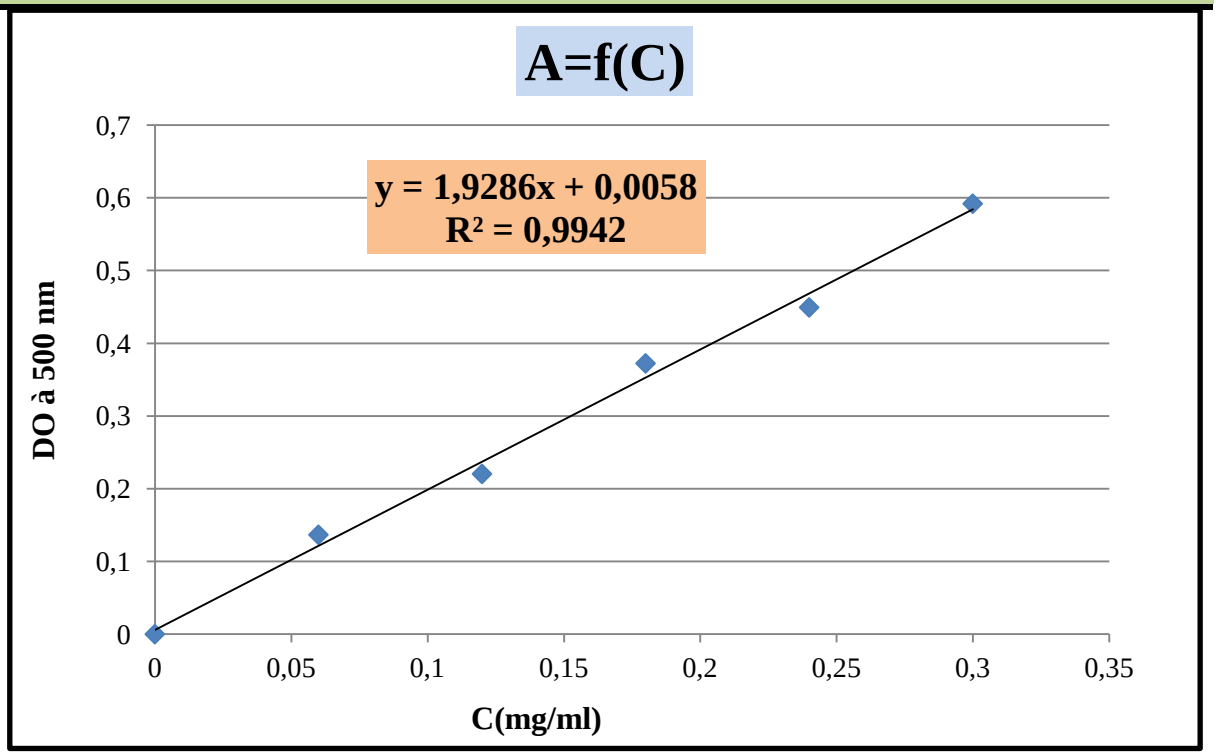
Annexe1 :Courbe d'étalonnage de l'acide gallique:



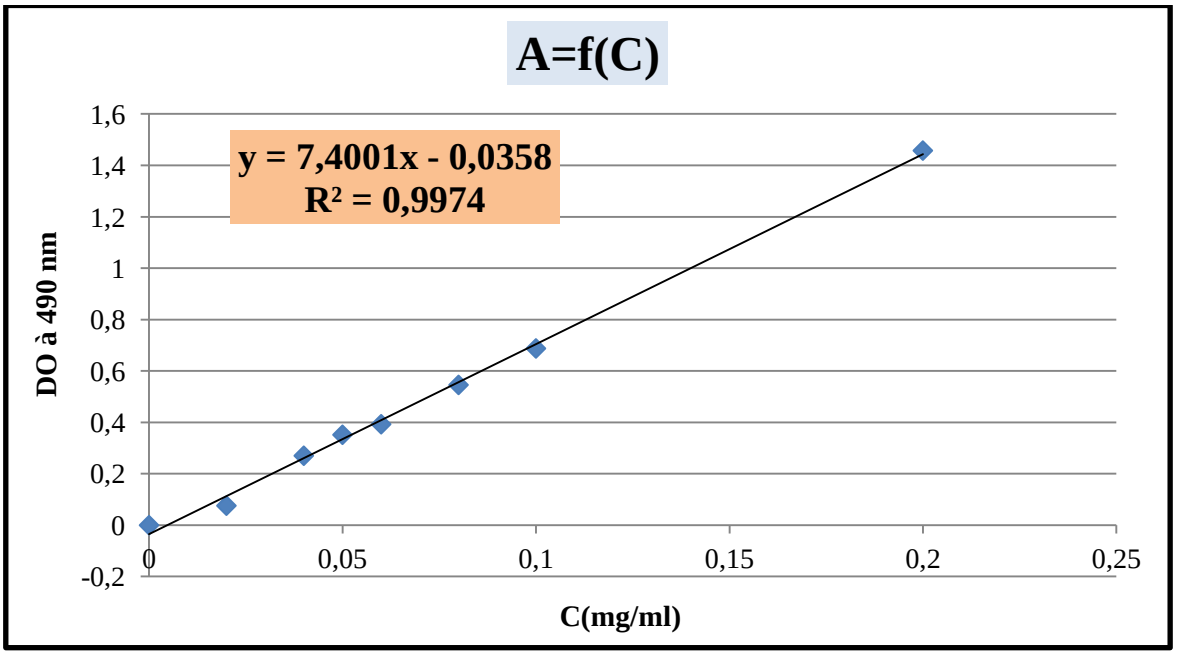
Annexe2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine :



Annexe3 :Courbe d'étalonnage de la catéchine :



Annexe4 : Courbe d'étalonnage du glucose :



Annexe5 : Réactifs et réactions de caractérisations :

✓ **Réactifs de wagner** : on fait dissoudre 2 g de KI et 1.27 de I_2 dans 75 mL d'eau, la solution ainsi obtenue est ajoutée à 100 mL d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc.

✓ **Réactif de Mayer** : on dissout 1.358 g de $HgCl_2$ dans 60 mL d'eau et 5 g de KI dans 10 mL d'eau, on mélange ensuite les deux solutions et on ajuste le volume total à 100 mL d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif une trouble plus un précipité blanc.

✓ **Réactif d'amidon** : une solution de 1.2 g d'iode dans 50 mL d'eau distillé contenant 2.5 g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie, 5 mL de la solution à tester avec 10 mL de la solution d'une solution de NaCl saturé jusqu'à l'ébullition.

✓ **Réaction de liqueur de Fehling** : Mélanger 5 mL de liqueur Fehling A avec 5 mL de liqueur Fehling B. Le caractère réducteur des aldoses ou des cétoses donne un précipité rouge brique.

✓ **Réaction de Libermann-Burchardt** : Mélanger 5 mL de la solution à tester avec 5 mL d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser reposer la solution 30 minutes à 21°C.

✓ **Réaction de Bornträger** : En milieu alcalin aqueux (NH_4OH), les anthracénosides donnent à la solution une teinte vive variant, selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangé rouge au violet pourpre plus ou moins violacé.

Résumé :

Ce travail consiste en une étude des caractéristiques physico chimiques de *Ferula communis* L. (apiacées), une plante aromatique et médicinale de la région de Tlemcen. Plusieurs paramètres physicochimiques (Indices d'acide, d'iode, de saponification, de peroxyde, d'ester, la densité, indice de réfraction et la miscibilité à l'ethanol) de l'huile essentielle de la partie aérienne obtenue par hydrodistillation, ont été déterminés. Par chromatographie en phase gazeuse, 9 composés ont été identifiés dont le alpha pinène et (Z) beta ocimène à 9.3% chacun.

Pour L'estimation du pouvoir antioxydant de huile essentielle, de l'hydrolat et des extraits (aqueux, méthanolique, tanins, acétate d'éthyle, n-butanol), deux méthodes différentes ont été choisies à savoir : le test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) et le test du piégeage du radical libre DPPH ; les résultats montrent que les extraits d'acétate d'éthyle, n-butanol et les tanins sont les plus actifs alors que l'huile essentielle et l'hydrolat sont les moins actifs.

Abstract :

This work consists in studying the physico-chemical characteristics of *Ferula communis* L. (apiaceae), an aromatic and medicinal plant in the Tlemcen region. Several physicochemical parameters (acid, iodine, saponification, peroxide, ester, density, refractive index and miscibility with ethanol) of the essential oil of the aerial part obtained by hydrodistillation, Have been determined. By gas chromatography, 9 compounds were identified, including alpha pinene and (Z) beta ocimene at 9.3% each.

For the estimation of the antioxidant power of essential oil, hydrolate and extracts (aqueous, methanolic, tannins, ethyl acetate, n-butanol), two different methods were chosen, namely the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) and the free radical trapping test DPPH; The results show that the extracts of ethyl acetate, n-butanol and the tannins are the most active while the essential oil and the hydrolate are the least active

ملخص:

هذا العمل ينطوي على دراسة الخصائص الفيزيائية الكيميائية ل الفريولاكميونس (خيمية)، وهو نبات عطري وطبي من منطقة تلمسان.

العديد من المعلمات الفيزيائية (حمض مؤشرات واليود والتصبين، استر بيروكسيد، والكثافة، معامل الانكسار وامتزاج مع الإيثانول) للزيت الاساسية التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير بالبخار استنتجناهم عن طريق الفصل اللوني بامتزاز الغازات. تم تحديد 9 مركبات ،. المكونات الرئيسية هي الفا بينان و بيتا اوسيمان(9.3 لكل منهما)

بالنسبة للنشاط المضاد للاكسدة للزيت الاساسية و حلالية المائية و المستخلصات (المائية , خلات الاثيل, ن بوتانول, العفص و المتانوليك) استخدمنا طريقتين مختلفتين هما : اختبار لتقدير الجذور الحرة و الحديديك لتخفيض الطاقة المضادة للأكسدة و اظهرت النتائج ان أن مستخلصات خلات الإيثيل، ن بيوتانول والعفص هم الاكثر نشاطا.في حين أن الزيت العطري وحلالة مائية هي الأقل نشاطا.