

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A. MIRA-Bejaia**

*Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie.*  
*Département de Microbiologie.*  
*Filière des Sciences biologiques.*  
*Spécialité de Biotechnologie Microbienne.*



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme  
**MASTER**

*Thème*

**Caractérisation physicochimique d'un mélange *Ficaria verna* et  
huile d'olive vierge**

Présenté par :  
**AMRANE Sylia et BENKHARFALLAH Dassylia**

Soutenu le : 15/09/2021

Devant le jury composé de :

Mr. BETTACHE A.	Professeur	Président
Mme. KERAMANE B.	MCB	Examinatrice
Mme. LAINCEUR F.	MCA	Promotrice
Mme. ARKOUB W.	MCA	
Mr. MAUCHE A.	Chef Service	Co-promoteur

**Année universitaire : 2020/2021**

# Remerciements

**E**n préambule à ce mémoire, nous souhaiterions adresser tous nos remerciements aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons notamment à exprimer notre profonde gratitude et vif remerciement à notre promotrice Mme. LAINCEUR F. maître de conférences A au Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Béjaïa pour l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et pour son soutien précieux.

A Mme. Arkoub maître de conférences A au Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Béjaïa pour ses conseils, ses compétences et sa gentillesse qui nous a permises de bien mener ce travail.

Nous tenons également à remercier tout particulièrement les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et de leur patience à la lecture de ce qui constitue notre première arme :

**Mr. BETTACHE A.** Professeur au Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Béjaïa, de nous avoir fait l'honneur d'être président du jury.

**Mme. KERAMANE B.** Maître de conférences A au Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Béjaïa d'avoir bien voulu faire partie du membre de jury.

Nous sommes vraiment reconnaissantes à toutes les personnes qui nous ont accordés un peu de leur temps.

Un grand merci s'adresse à tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également aux ingénieurs de laboratoire génie biologique, nous vous remercions pour votre aide, votre bienveillance et votre accueil chaleureux.

Aux membres des différents laboratoires du complexe CEVITAL pour leur soutien et leur rigueur.

*Dassyliya & Syyliya*

# Dédicaces

Nous dédions notre travail à la lumière de nos jours, la source de nos efforts, la flamme de nos cœurs, à nos chères mamans, l'exemple de soutien, d'amour, de sincérité et de bienveillance, celles qui étaient qui sont et qui seront toujours là pour nous encourager et nous soutenir bons que nous soyons ou mauvais.

A nos papas, exemple de respect, d'honnêteté et de responsabilité. Nous tenons à honorer les hommes qu'ils sont.  
Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices qu'ils ont déployés pour notre éducation et notre formation.

A nos chers frères et sœurs qui nous ont soutenus avec leurs encouragements et leurs aides, auxquels nous souhaitons beaucoup de réussite et tout le bonheur du monde.

A notre chère collègue et amie Imene, qui a partagé les moments de joie ainsi que les moments de peine tout au long de ce parcours.

A nos meilleures amies, Mayssa et Nawel en témoignage de l'amitié qui nous unit.

A toute notre famille et tous nos ami(e)s, ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Table de matière

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

**Introduction.....1**

## **I. Partie théorique**

**1. L'huile d'olive.....3**

**1.1. Composition chimique .....3**

**1.1.1. Fraction saponifiable .....3**

**1.1.2. Fraction insaponifiable .....4**

**1.2. Propriétés thérapeutiques.....6**

**2. La ficaire .....7**

**2.1. Classification .....7**

**2.2. Description.....7**

**2.3. Habitat.....8**

**2.4. Cycle de développement.....8**

**2.5. Morphologie des tubercules racinaires .....8**

**2.6. Composition chimique .....9**

**2.7. Effets thérapeutiques .....10**

**2.8. Toxicité .....11**

## **I. Matériels et méthodes**

1.	Matériel végétal .....	13
1.1.	Echantillonnage .....	13
1.1.	Macération des racines de <i>Ficaria verna</i> dans l'huile d'olive vierge.....	13
2.	Détermination des indices de qualités .....	13
2.1.	Indice de peroxyde .....	14
2.2.	Indice d'acide et acidité.....	15
3.	Activité antiradicalaire contre le radical DPPH.....	15
3.	Extraction des polyphénols .....	16
4.	Dosage des polyphénols totaux .....	17
5.	Modélisation et optimisation de teneur en composés phénoliques	17
<b>1. Résultats et discussions</b>		
1.	Indices de qualité de l'huile d'olive.....	20
2.1.	Acidité .....	20
1.1	Indice de peroxyde.....	21
2.	Evaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits d'huiles .....	22
3.	Dosage des polyphénols totaux de l'huile .....	23
4.	Modélisation du taux de polyphénols libérés par les racines et tubercules de <i>Ficaria verna</i> .....	24
5.	Calcul des coefficients du modèle .....	25
6.	Analyse statistique de l'équation de régression .....	26
7.1.	Vérification de la signification des coefficients par le test de Student .....	26

<b>1.1</b>	Tests de validation de l'équation de régression .....	27
<b>7.</b>	Diagramme des résidus .....	29
<b>8.</b>	Optimisation du taux de polyphénols libérés .....	30
<b>II.</b>	<b>Conclusion</b> .....	<b>34</b>

**Références bibliographiques**

**Annexes**

# Liste des tableaux

**Tableau I** : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés

**Tableau II** : Matrice des expériences du plan composite centré.

**Tableau III** : Composition en acides gras (en % des acides gras totaux) de l'échantillon d'huile d'olive (COI 2017).

**Tableau VI** : Matrice d'expériences du plan composite centré pour deux facteurs ( $k = 2$ )

**Tableau V** : Taux des polyphénols au centre du domaine d'étude.

**Tableau VI** : Valeurs des coefficients du modèle

**Tableau VII** : Valeurs de  $t_j$  calculées de chaque coefficient

# Liste des figures

**Figure 1** : Structure de tocophérols (Tsimidou, 2010).

**Figure 2** : *Ficaria verna* Huds (Klooss et al., 2016)

**Figure 3** : Coupe histologique de racine tubérisée de ficaire.

**Figure 4** : Morphologie des tubercules racinaires de *Ficaria verna*.

**Figure 5** : Photographie du Rancimat.

**Figure 6** : Principe du dosage de la capacité de piégeage des radicaux DPPH.

**Figure 7** : Résultats de l'acidité des échantillons d'huile témoin et huile mélangée avec les racines *Ficaria verna*.

**Figure 8**: Résultats de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*.

**Figure 9** : Histogramme représentant les temps d'induction des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*.

**Figure 10** : Histogramme représentant les activités antioxydantes des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*

**Figure 11** : Résultats des taux en polyphénols des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*.

**Figure 12** : Diagramme des résidus

**Figure 13** : Courbe de surface de réponses

**Figure 14** : Courbe isoréponses ou surface de niveaux

**Figure 15** : Diagramme de désirabilité.



## Liste des abréviations

**A** : Acidité

**IP** : Indice de peroxyde

**C.O.I** : Conseil Oléicole International

**LDL** : Lipoprotéine de basse densité

**ERO** : Dérivé réactif de l'oxygène

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**FID** : Détecteur à ionisation de flamme

**Méq** : Milliéquivalents

**Mmol** : Millimoles

**OSI** : Induction stabilité oxydative

**Rpm** : Tour par minute

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

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice médiane

**CCD** : Plan composite centré

## Résumé

Depuis toujours, seule ou mélangée, l'huile d'olive fut utilisée dans la médecine traditionnelle quant à ses nombreuses vertus. Afin de conserver cette habitude, nous avons opté pour l'association de celle-ci avec les racines tubérisées d'une plante thérapeutique : *Ficaria verna*. Cette étude s'est focalisée sur l'analyse de certains paramètres tels que les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux) et l'activité antioxydante de l'huile d'olive ainsi que ses caractéristiques physico-chimiques avant et après macération de la plante. L'optimisation de deux paramètres opératoires pouvant influencer la libération des composés phénoliques a été réalisée par le biais d'un plan composite centré. Le tracé des courbes iso-réponses ainsi que le diagramme de désirabilité nous ont permis d'obtenir les valeurs de la teneur en polyphénols optimales de ces deux paramètres opératoires. Les résultats des indices de qualité des différents échantillons d'huile d'olive ont permis de la classer dans la catégorie huile d'olive vierge et relèvent que l'enrichissement de l'huile d'olive par les racines tubérisées engendre une légère augmentation de la teneur en composés phénoliques ainsi qu'une amélioration de l'activité antioxydante dû à la libération des antioxydants présents dans la partie inférieure de la plante.

**Mots clés :** Huile d'olive, *Ficaria verna*, activité antioxydante, polyphénols.

### Abstract

Traditionally, alone or mixed, olive oil has been used in traditional medicine for its many virtues. In order to keep this habit, we opted for the association of this one with the tuberous roots of a therapeutic plant: *Ficaria verna*. This study focused on the analysis of certain parameters such as the content of phenolic compounds (total polyphenols) and the antioxidant activity of olive oil as well as its physicochemical characteristics before and after maceration of the plant. The optimization of two operating parameters that can influence the release of phenolic compounds was achieved through a centered composite design. The plotting of the iso-response curves as well as the desirability diagram allowed us to obtain the values of the optimal polyphenol content of these two operating parameters.

The results of the quality indices of the different samples of olive oil allowed to be classify it in the virgin olive oil category and revealed that the enrichment of olive oil by the tuberous roots generates a slight increase in the content of phenolic compounds as well as an improvement in antioxidant activity due to the release of antioxidants present in the lower part of the plant.

**Key words :** Olive oil, *Ficaria verna*, antioxidant activity, polyphenols.



## Introduction

L'huile d'olive est considérée comme un jus de fruit obtenu à partir des olives, fruits de l'olivier (*Olea europaea L.*), uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques n'ayant subi aucun traitement autres que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. (COI, 2019.)

L'huile d'olives est la plus ancienne huile connue **Pafundo et al., 2010**. L'étude de cette huile mérite une attention particulière, compte tenu de la place spécifique qu'elle occupe parmi les huiles de table, et ce pour plusieurs raisons : L'huile d'olive est très appréciée surtout pour son goût caractéristique et sa valeur socioculturelle, ses vertus diététiques et thérapeutiques **Rodrigues et al., 2018**, en plus d'avoir un niveau élevé d'acides gras insaturés, contient plusieurs composants mineurs à forte activité antioxydante, qui est potentiellement à l'origine de leurs vastes activités biologiques dans le cadre de pathologies comme le diabète, les maladies cardio-vasculaires, les cancers et les maladies neuro- dégénératives où le stress oxydatif est fortement présent parmi lesquels : les polyphénols qui sont des agents antimicrobiens et ont une grande importance dans le renforcement du système immunitaire **Rossi et al., 2017**.

Les espèces du genre *Ranunculus* sont répandues dans le milieu aquatique l'environnement, les zones humides et les prairies. Presque toutes les espèces sont considérées comme toxiques, surtout pendant la floraison, *Ficaria verna* est une plante vivace qui fleurit au début du printemps. Elle est utilisée en médecine populaire aux actions anti-inflammatoires, astringentes, antibiotiques et antihémorragiques. Les racines tubéreuses et sèches de cette herbacée sont vendues en pharmacie. Les tubercules sont riches en amidon et contiennent des saponines extraites de *Ficaria verna* et des  $\beta$ -cyclodextrine présentent une activité antioxydante même à de très faibles concentrations et pourraient être utilisés dans des formulations pharmaceutiques avec une bioactivité améliorée. Elle est utilisée pour traiter les hémorroïdes par application topique sous forme de pommade ou suppositoires **Caliskan et al., 2017**.

L'association d'une plante et d'huile d'olive est une tradition courante pratiquée par nos ancêtres sans savoir vraiment son activité biologique à part qu'elle peut être bénéfique. **Debib et al., 2018**

Le but de notre travail est de réaliser une recette médicinale traditionnelle avec des produits du territoire, la recette consiste à combiner des racines de la Ficaire implantée dans la région de Béjaïa ainsi que de l'huile d'olive commerciale, puis de déterminer les caractères

# Introduction | 1

physicochimiques de l'huile résultante et d'étudier le potentiel antioxydant des huiles témoins et ceux mélangées avec la plante. Le deuxième onglet du travail est de réaliser un plan d'expérience afin d'optimiser la bonne combinaison en temps de contact et quantité des différents constituants **Dhifi *et al.*, 2005.**

Notre travail a été structuré en trois parties, commençant par une recherche bibliographique scindée en deux chapitres, le premier chapitre comprend l'essentiel de la bibliographie sur l'huile d'olive, les critères de qualité d'huile d'olive et ses bienfaits sur la santé. Puis, un deuxième chapitre qui est réservé à la description d'une plante médicinale à vertus thérapeutiques telles que le soin des jambes lourdes et le traitement hémorroïdal. Puis vient la deuxième partie qui décrit le matériel et méthodes physico-chimiques exploitées dans le cadre de cette étude **İnci *et al.*, 2021.** Enfin, une troisième partie qui aborde les principaux résultats et discussions de l'expérimentation.

### 1. L'huile d'olive :

L'huile d'olive est considérée comme un jus de fruit obtenu à partir des olives, fruits de l'olivier (*Olea europaea L.*), uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques n'ayant subi aucun traitement autres que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration, Conformément à la norme émise par le **Conseil Oléicole International, 2019** qui propose des dénominations et des définitions ci-après :

#### ✓ L'huile d'olive vierge extra :

L'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0.8 gramme pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme.

#### ✓ L'huile d'olive vierge :

L'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées Pour cette catégorie par la présente Norme.

#### ✓ L'huile d'olive vierge courante :

L'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3.3 grammes pour 100 grammes et dont les autres caractéristiques correspondent à celles fixées pour cette catégorie par la présente Norme.

### 1.1. Composition chimique :

La composition chimique de l'huile d'olive dépend de la variété du fruit, de la région de culture et des conditions climatiques **Dhifi et al., 2005**. Les composés peuvent être classés en deux grands groupes :

- ✓ Les fractions saponifiables (triglycérides, acides gras, de 99% de l'huile **Ruiz et al., 2000**).
- ✓ Les fractions insaponifiables (de 1 à 2 % de l'huile) **Servili et al., 2004**.

#### 1.1.1. Fractions saponifiables :

##### a. Les triglycérides :

Les triglycérides sont généralement sous forme de triesters entre des acides gras et du glycérol sous la formule :  $\text{Glycérol} + 3 \text{ acides gras} = \text{triglycéride} + 3 \text{ H}_2\text{O}$

Les composants majoritaires de l'huile d'olive (95.4%) et les diglycérides ne représentent qu'environ 1-2.8 %. Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine « OOO » (40 à 60 %), la dioléopalmitine « POO » (10 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (10 à 20 %), la palmitooléolinoléine « POL » (5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %) **Malliou et al., 2018**.

### **b. Les acides gras :**

Les acides gras présents dans l'huile d'olive se trouvent sous forme d'ester de glycérol ou sous forme libre. Ce sont des monoacides linéaires à nombre pairs (majoritaires) et impairs d'atomes de carbone dont le nombre varie de 14 à 24. Avec une chaîne aliphatique soit saturée soit mono ou polyinsaturée **Khaoula Bekkar et al., 2018**

Selon l'étude de **Abaza et al., 2002**, la composition en acides gras dans les huiles d'olive distingue comme suit :

- ✓ Des acides gras saturés : acide palmitique (C16 :0), acide stéarique (C18 :0) et acide arachidique (C20 :0).
- ✓ Des acides gras monoinsaturés : acide palmitoléique (C16 :1) et acide oléique (C18 :1).
- ✓ Un acide gras di-insaturé : acide linoléique (C18 :2).
- ✓ Un acide tri-insaturé : acide linoléique (C18 :3).

### **1.1.2. Fractions insaponifiables :**

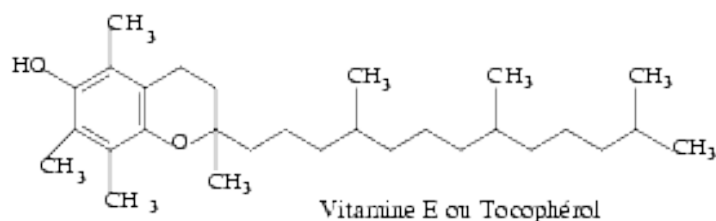
#### **a. Les stérols :**

Les stérols font partie des constituants mineurs des corps gras, ce sont des composés tétracycliques comportant 27 à 29 atomes de carbone. Ils sont présents sous forme libre (80%) et estérifiées. Ils représentent 30 à 60 % de l'insaponifiable. Dans une huile d'olive vierge, les stérols les plus trouvés sont des  $\beta$ -Sitostérol, 5-Avenastérol et Campesterol avec des pourcentages respectifs d'environ 80 à 85 %, 7 % et 2.90 à 4 % **Giuffrè et al., 2012** La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale **Temime et al., 2006**.

#### **b. Les tocophérols (vitamine E) :**

Essentielle dans l'alimentation humaine, la vitamine E est un terme général utilisé pour décrire une famille chimique de 4 formes naturelles et différentes :  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\delta$ -tocophérols **Rizvi et al., 2014** L' $\alpha$ -tocophérol prédomine, cette forme possède la plus forte activité vitaminique et est la plus active. Elle s'oppose au rancissement et la polymérisation de l'huile, et protège contre les mécanismes athérogènes. Les autres stéréo-isomères ( $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) sont présents à l'état de

traces. L'huile d'olive est une source importante en tocophérols présents sous forme libre ou estérifiée **Dugo et al., 2020**



**Figure 1** : Structure de tocophérols **Tsimidou, 2010**.

### c. Les pigments :

Les pigments colorants donnent la belle couleur jaune ou verte, la chlorophylle pour la couleur verte et le caroténoïde pour la couleur jaune. Leur proportion dépend beaucoup de la maturité des olives **Yokoyama, 2008**.

**d. Les caroténoïdes** : Les pigments caroténoïdes présents dans l'huile d'olive est le  $\beta$ -carotène (provitamine A). Son taux varie de 0.3 à 3.7 mg/kg d'huile. Le  $\beta$ -carotène est rapporté comme un puissant inhibiteur de la photooxydation de l'huile d'olive **Failla et al., 2014**

**e. La chlorophylle** : Ce pigment dont la teneur peut varier en fonction de nombreux facteurs, exerce biologiquement une action d'excitation du métabolisme, de stimulation de la croissance cellulaire, l'hématopoïèse (de la formation des cellules de sang) et d'accélération des processus de cicatrisation **Criado et al., 2008**. Exposés à la lumière, les chlorophylles acquièrent une activité pro-oxydante par formation de l'oxygène singulet.

### f. Composés phénoliques :

L'huile d'olive vierge est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénoliques naturelles. La quantité des composés phénoliques augmente généralement du stade vert au stade tacheté de maturation, puis diminue jusqu'à maturité **Franco et al., 2014**. Chaque variété d'olive doit être récoltée au moment optimal pour obtenir une huile de haute qualité avec la teneur en phénols la plus élevée. De plus, la composition phénolique résulte d'interactions multivariées complexes entre des facteurs endogènes et exogènes **Bakhouch et al., 2013**.

Si les acides gras représentent la très grande majorité de la composition de l'huile d'olive en termes de masse, les composés mineurs tels que les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la caractérisation des huiles et pour leur intérêt nutritionnel **García et al., 2003**.



Différentes familles de composés phénoliques sont présentes dans les olives et dans les huiles :

- Les secoiridoïdes Appartiennent au groupe des coumarines **Alessandra Bendini *et al.*, 2007** ils sont caractérisés par la présence d'acide élénolique et ses dérivés dans leur structure, ces composés sont le résultat d'hydrolyse des secoiridoïdes glucosides présents dans le fruit d'olive principalement l'oleuropéine, demethyloleuropéine et ligstroside .Les secoiridoïdes représentent la fraction majoritaire des polyphénols de l'huile d'olive, généralement ils sont représentés par : la forme dialdéhydrique de l'acide élénolique liée à l'hydroxytyrosol (3,4-DHPEA-EDA) ou liée au tyrosol (p-HPEA-EDA) et les isomères d'oleuropéine aglycone (3,4-DHPEA-EA) (tableau IV) **Servili *et al.*, 2009**
- Les flavonoïdes font également partie des composés majoritaires trouvés dans l'huile, il s'agit de l'apigénine et de la lutéoline **Ocakoglu *et al.*, 2009** Les phénols simples : deux sous catégories avec les alcools phénoliques et les acides phénoliques. Dans le premier groupe on retrouve l'hydroxytyrosol et le tyrosol **Bakhouch *et al.*, 2013**

### 1.2. Propriétés thérapeutiques :

Les composés phénoliques de l'huile d'olive sont largement suspectés de contribuer aux améliorations de la santé constatées après une consommation régulière d'huile d'olive. Leur structure leur permet d'avoir une action antioxydante, qui est potentiellement à l'origine de leurs vastes activités biologiques dans le cadre de pathologies comme le diabète, les maladies cardio-vasculaires, les cancers et les maladies neurodégénératives où le stress oxydatif est fortement présent **Rossi *et al.*, 2017**. Les polyphénols exercent une activité bactéricide et fongicide **Yangui *et al.*, 2009**, réduisent le risque coronarien et normalise la pression sanguine et prévoient l'athérosclérose en agissant comme piègeur de radicaux libres et préservent les LDL de l'oxydation in vitro et leur adhérence aux parois artérielles. L'hydroxytyrosol et l'oleuropéine s'opposent à la prolifération de cellules du cancer du sein en inhibant la croissance tumorale à différents niveaux **Toteda *et al.*, 2017**.L'acide oléique normalise les paramètres membranaires détériorés en cas d'hypertension, en améliorant la fluidité membranaire et l'expression de protéines impliquées dans la régulation de la pression artérielle permet également d'améliorer l'absorption intestinale de calcium et de la vitamine D **López-Miranda *et al.*, 2010**.

## 2. La ficaria

Appelée grenouillette, petite éclair, herbe aux hémorroïdes, épinards des bûcherons ou bouton d'or. *Ficaria verna* Huds (**figure 2**). (Du latin : vernus, a, um, printanier), *Ranunculus ficaria* L. Ranunculus latin vient du rana, la Grenouille, dont il est le diminutif ; c'est une plante que les anciens désignaient ainsi, et qui est peut-être ce que nous appelons la renoncule, se nommait aussi batrachion en grec batrachos signifiant aussi Grenouille) **Garnier, 1961**.



**Figure 2** : *Ficaria verna* Huds

### 2.1. Classification :

Règne : Plantae

Sous-règne : Viridaeplantae

Famille : Ranunculcea

Genre : *Ficaria*

Espèce : *Ficaria verna*. (**Inventaire National du Patrimoine Naturel**).

### 2.2. Description :

Plante herbacée de 10 à 30 cm, molle. Feuilles alternes, luisantes, en cœur renversé, crénelées (**Figure 2**). Fleurs isolées, d'un jaune doré, comprenant généralement : 3 sépales d'un vert jaunâtre, un peu bossus à la base ; 6 à 12 pétales luisants portant chacun une petite fossette nectarifère à sa base interne ; de nombreuses étamines libres jaunes ; de nombreux carpelles pubescents groupés en masse arrondie, souvent stérile ; style persistant, mais très court et non distinct ; ovaire libre ; un ovule par carpelle. Racines renflées en tubercules allongés. *Ficaria verna* est une plante vivace et toxique dans les bois de feuillus et sur les sols argileux. Elle développe des tubercules qui lui permettent de se reproduire de manière végétative. En outre, les bulbilles auxiliaires aident l'espèce à se disséminer **Garnier, 1961**.

### 2.3. Habitat :

Originnaire d'Europe, sud-ouest de l'Asie et nord-ouest de l'Afrique, quant à son habitat *Ficaria verna* se situe dans les forêts fluviales, forêts feuillus mixtes, prairies humides, le long des ruisseaux et les rivières, parcs et bords de mers. Egalement naturalisée à partir des jardins **Wolfgang, 2008.**

### 2.4. Cycle de développement

Des études ont montré que le cycle biologique de la Ficaire est sous la dépendance de la température **Bellian et al., 2020 :**

En été, la plante est au repos : il ne subsiste de l'appareil végétatif que les racines tubérisées souterraines. Le rhizome porte un bourgeon dormant.

A l'automne, a lieu le débourrement des bourgeons et la mise en place des racines absorbantes.

Dès le mois de Novembre, les premières feuilles percent le sol et la Ficaire devient visible.

Pendant l'hiver, la croissance se poursuit alors que les racines tubérisées se vidant de leurs réserves et se rident. A la sortie de cette saison, de nouvelles racines tubérisées apparaissent.

Au printemps, les feuilles synthétisent des sucres qui s'accumulent dans les nouvelles racines en cours de tubérisation. Apparaissent ensuite les bulbilles et enfin les fleurs. Peu après la floraison, l'appareil végétatif aérien meurt, ne laissant au mois de Mai que les nouvelles racines tubérisées qui assureront un nouveau cycle de végétation **Fernández Prieto et al., 2017.** Les températures agissent également au moment de la tubérisation mais de manière plus complexe. Les plus basses sont en effet nécessaires à l'induction d'une aptitude et d'une efficacité de la tubérisation. L'adoucissement des températures qui s'ensuivent est indispensable de son brusque déclenchement **Sell, 1994.**

## 2.5. Morphologie des tubercules racinaires :

Les tubercules racinaires présentent en général la morphologie des racines primaires, mais sont modifiés et agrandis pour stocker les nutriments **Rawlik et Jagodziński, 2020**. Dans la plupart des cas, un bouquet de tubercules souterrains courts est également formé et ceci est produit par une apparition continue de nouvelles racines initiales et de bourgeons dans association avec les bourgeons au repos de tubercules préexistants. Le groupe de tubercules constitué en cette façon est maintenue par le cep lorsque les parties aériennes de la plante meurent. Anatomiquement, les bulbilles et les tubercules basaux ressemblent à des racines, mais les brins vasculaires sont réduits et les cellules corticales se remplissent de grains d'amidon (**Figure 3 et 4**) **Popelka et al., 2019**.

Ainsi, la structure interne comprend des cellules de parenchyme volumineuses fonctionnant comme tissu de stockage. La taille des tubercules varie selon la saison et selon leur état de développement. Les plus petits pourraient être le résultat d'un rétrécissement pendant les processus de carbonisation ou une collecte avant l'achèvement complet des tubercules **Stefanie Klooss et al., 2016**.



**Figure 3** : Morphologie des tubercules racinaires de *Ficaria verna*.



**Figure 4** : Coupe histologique de racine tubérisée de ficaire.

## 2.6. Composition chimique

Des études chimiques sur les tubercules de *Ficaria verna* ont prouvé la présence de saponines, dans les parties aériennes des acides aminés végétaux, des éléments minéraux, vitamine C,

ainsi la présence de flavonoïdes dans les feuilles et fleurs de la ficaire a été signalée **Michal Tomczyk et al., 2002**. Ci-dessous, des généralités sur ces composés :

### 2.6.1. Les saponines

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal **Vincken et al., 2007**. Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon ». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante **Gauthier et al., 2011**. Structuralement, les saponines sont classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique **Shiraiwa et al., 1991**. Les saponines font partie des métabolites secondaires. Ce sont des composés qui servent de défense à la plante grâce à leurs formes biologiques actives et sont impliquées dans la phyto-protection antimicrobienne **Soetan et al., 2006**.

### 2.6.2. Les flavonoïdes

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes **Lhuillier et al., 2007**. Les flavonoïdes peuvent être classés en flavanones, flavones, isoflavones, anthocyanines, flavonols et flavanols **Nogata et al., 2006**. Les flavonoïdes expriment les propriétés antioxydantes par le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme **Karouche et al., 2014**.

### 2.6.3. Acide ascorbique

La vitamine C, acide L-ascorbique, est un composé organique hydrosoluble appartient aux groupes des sucres à 6 atomes et est un dérivé du D-Glucose. Elle est composée d'une fonction cétone, d'un cycle lactone, d'une fonction ène-diol et de deux fonctions alcools, mais seule la forme lévogyre forme naturelle (acide L-ascorbique) est biologiquement active **Thérien et al., 1949**.

## 2.7. Effets thérapeutiques

*Ficaria verna*, ou comme son nom vernaculaire l'indique, l'herbe aux hémorroïdes permet de soigner ces dernières, elle est utilisée en application externe uniquement.

Les tubercules ont une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle pour les traitements des hémorroïdes. L'origine de cette utilisation revient au fait que les tubercules ressemblent à la forme de ces hémorroïdes. La saponine a une activité anti hémorroïdaire, une action renforcée par les tanins astringents **Faujdar *et al.*, 2019**. En outre, elle sert à traiter d'autres troubles circulatoires, à savoir : les hémorragies et les ectasies veineuses (dilatation anormale des parois veineuses avec formation d'œdème). Cette plante aide également à soulager les sensations de jambes lourdes **Goetz, 2013**. Par ailleurs, grâce à sa richesse en vitamine C, la ficaire prévient le scorbut. Ce dernier désigne les maladies provoquées par une carence ou un déficit en vitamine C **Stefanie Klooss *et al.*, 2016**. La présence des flavonoïdes permet la diminution de l'oxydation des LDL du plasma et du sérum, ainsi que l'inhibition de l'oxydation des lipides et des protéines **Lotito et Frei, 2006**.

### **2.8. Toxicité :**

Lors de l'application cutanée de la plante fraîche ou du jus de racine, ceci provoque de l'eczéma aigu vésiculeux, lors de pansements occlusifs, des gangrènes cutanées ont été observées ainsi qu'une hépatite aiguë. Cependant, sa toxicité peut facilement être dégradée en séchant ou en chauffant la matière végétale **Yilmaz et al., 2015**.



*Matériels et  
méthodes*



Afin de compléter notre travail théorique des deux chapitres précédents, une partie pratique a été effectuée au sein du complexe CEVITAL dans les 3 laboratoires : Central, Raffinerie et celui de Recherche et Développement. Puis, une deuxième partie au laboratoire génie biologique à l'université Abderrahmane Mira de Béjaïa.

### **1. Matériel végétal**

#### **1.1. Echantillonnage**

La plante *Ficaria verna* a été collectée dans la région dans la wilaya de Béjaïa durant le mois de Mars 2021.

La plante récoltée est constituée d'une partie aérienne dont les tiges, les feuilles et les fleurs ainsi qu'une partie inférieure qui comprend les racines et les tubercules. Ces derniers ont été rincés avec de l'eau, puis séchés à l'air libre, à l'abri de la lumière. L'étape de rinçage a pour but d'éliminer toutes sortes de débris et des éléments étrangers sous les feuilles. Le séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et la prolifération des microorganismes.

#### **1.2. Macération des racines de *Ficaria verna* dans l'huile d'olive vierge :**

L'échantillon de l'huile d'olive et racines de la ficaria est préparé par la méthode traditionnelle. Après broyage manuel des racines de *Ficaria verna* à l'aide d'un mortier en verre, on mélange 25g de ces derniers avec 200 ml d'huile d'olive commerciale dans un bocal en verre fumé pour un temps de contact de 15 jours à l'obscurité et à température ambiante. Une huile témoin est préparée dans les mêmes conditions.

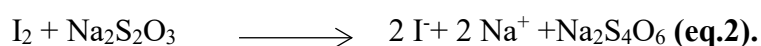
### **2. Détermination des indices de qualités**

#### **2.1. Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde est généralement exprimé en milliéquivalents (méq) d'oxygène actif par kilogramme d'huile, mais il peut également être exprimé (en unités SI) en millimoles (mmol) d'oxygène actif par kilogramme d'huile **ISO 2017**.

### ➤ Principe

Cette méthode utilise un dosage indirect des molécules de diode ( $I_2$ ) formés par réaction d'oxydo-réduction entre des ions iodures ( $I^-$ ) en excès et les hydroperoxydes présents dans l'huile. Le  $I_2$  va par la suite réagir en présence de thiosulfate de sodium ( $Na_2S_2O_3$ ) lors d'une seconde réaction d'oxydo-réduction entraînant la diminution jusqu'à l'extinction de la couleur violet-aubergine en présence d'empois d'amidon.



### ➤ Mode opératoire

Une masse d'huile de 5 g est prélevée et placée dans un Erlenmeyer de 250 ml. 12 ml de chloroforme, 18 ml d'acide acétique ainsi qu'une solution saturée d'iodure de potassium (KI) sont ajoutés. Le mélange est agité vigoureusement à la main, puis est laissé à l'obscurité pendant 1 min. 75 ml d'eau distillé sont ajoutés et quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateurs coloré. La solution est finalement dosée par le thiosulfate de sodium jusqu'à complète disparition de la couleur violet-aubergine **ISO 2017**. Un contrôle est effectué dans les mêmes conditions sans huile. L'indice de peroxyde est donné par l'expression ci-après :

$$IP = N (V - V_0) \times 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/ kg)}$$

Où :

**N** : Normalité  $Na_2S_2O_3$  (0.01N)

**V, V<sub>0</sub>** : Volume en ml de  $Na_2S_2O_3$  nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc, respectivement.

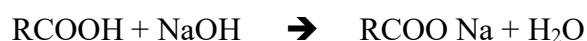
**m** : masse en gramme de la prise d'essai

## 2.2. Indice d'acide et acidité

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présent dans 1 gramme de corps gras **Tekaya et Hassouna, 2005**.

### ➤ Principe

Mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvant, puis tirage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium en présence de phénol phtaléine.



### ➤ Mode opératoire

Verser 75 ml d'éthanol dans un Erlenmeyer à 250 ml avec quelques gouttes de phénol phtaléine à 1%, après agitation énergétiquement et titrage avec la solution d'hydroxyde de potassium (la solution éthanolique tirée est à 0.1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante. Une masse de 10 g d'huile d'olive est prélevée et placée dans le mélange puis chauffée jusqu'à ébullition afin d'accélérer la réaction. La solution est finalement dosée par hydroxyde de potassium jusqu'à virement de couleur (rose pâle). Noter le volume de la chute. Effectuer un essai à blanc de la même manière. Expression conventionnelle du pourcentage d'acides gras libres. L'acidité est exprimée en pourcentage en poids d'acide oléique, elle est égale à :

$$\text{A\% (d'acide oléique)} = (V - V_0) \times (N \times M / 10 \times m)$$

Où :

**V** et **V<sub>0</sub>** : volume en ml de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon et le blanc, respectivement ;

**N** : normalité de l'hydroxyde de potassium (0,1 N) ;

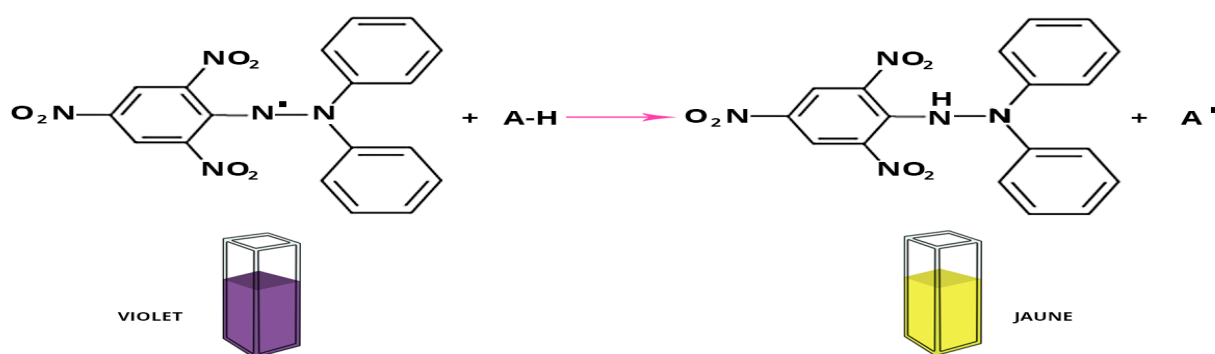
**M** : masse molaire (g/ml) de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml ;

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

## 3. Activité antiradicalaire contre le radical DPPH

### ➤ Principe

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie **Brand-Williams et al., 1995**, Ci-dessous, la figure représentant la réduction du radical libre DPPH.



**Figure 6 :** Principe du dosage de la capacité de piégeage des radicaux DPPH.

### ➤ Mode opératoire

L'effet des extraits méthanoliques des différents échantillons d'huile d'olive sur le radical DPPH est mesuré, en utilisant le protocole décrit par **Williams *et al.*, 1995** 200µl d'extrait méthanolique (dans notre cas, une série de dilution a été effectuée allant de 25µl jusqu'à 175µl d'extrait) sont ajoutés 3ml de la solution DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  mol/l) l'absorbance est mesurée à 515 nm après 30min d'incubation à l'obscurité. Les IC<sub>50</sub> ont été déterminés pour chaque extrait, est définies comme étant la concentration du substrat qui entraîne la perte de 50% de l'activité du DPPH. Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule ci-dessous :

$$\text{(\% d'inhibition du DPPH)} = \left( \frac{Ac - Ae}{Ac} \right) \times 100$$

**Ac :** Absorbance du contrôle.

**Ae :** Absorbance de l'échantillon.

## 4. Extraction des polyphénols

L'extraction des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole de Christophoridou **et Dais, 2009**. Huit grammes d'huile sont dissouts dans 8 ml methanol/ eau (80/20), le mélange a été homogénéisé au moyen d'un vortex pendant 5 minutes, les deux phases sont séparées après centrifugation à 5000 rpm pendant 10 min. La phase polaire (phase méthanolique) contenant les composés phénoliques est récupérée, tandis que la phase apolaire subit une deuxième et une troisième extraction pour récupérer la fraction phénolique restante. Le séchage des extraits est

réalisé dans l'étuve à 40 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant puis conditionné dans des flacons en verre fumé.

## 5. Dosage des polyphénols totaux

### ➤ Principe

L'analyse des composés phénoliques dans l'huile d'olive présente un grand intérêt étant donné, d'une part, leur rôle d'antioxydants naturels et, d'autre part, leur contribution à la saveur de l'huile. Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été effectué en utilisant le réactif de Folin **Toé *et al.*, 2009**. Le réactif de Folin est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleus de tungstène et de molybdène, ce qui aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de 760nm **Servili *et al.*, 2004**.

### ➤ Mode opératoire

L'estimation de la teneur en composés phénoliques a été réalisée selon la méthode au Folin utilisée par **Diabate *et al.*, 2009**. Dans des fioles de 20 ml, sont mélangés 2 ml d'extrait méthanolique, 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin. Après 3 min, 4 ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont ajoutés, ensuite ajuster à 20 ml avec de l'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, le mélange est filtré et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm. La concentration en composés phénoliques des extraits de l'huile est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (annexe) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanoliques d'huile d'olive sont exprimées en mg d'E.A.G./Kg.

## 6. Modélisation et optimisation de teneur en composés phénoliques :

Après avoir fixé à différents niveaux (tableau I) les facteurs pouvant influencer la production des composés phénoliques, une modélisation de la teneur de ces composés est réalisée par le biais d'un plan composite centré afin d'évaluer les effets d'interactions de ces facteurs et déterminer leurs optimums. Onze échantillons ont été préparés avec variation des facteurs opératoires à savoir la masse de la partie inférieure de la ficelle et le temps de macération de celle-ci dans l'huile

d'olive. La matrice d'expériences pour deux facteurs ( $k=2$ ), ( $N= N_f+ N_0+N_\alpha= 4+3+ 2(2) = 11$ ) est représentée dans le tableau II.

**Tableau I :** Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés

<b>Paramètres opératoires</b>	<b>-1.41</b>	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1.41</b>
<b>Temps (jrs)</b>	5	8	15	22	25
<b>Masse (g)</b>	25	32	50	68	75

**Tableau II :** Matrice des expériences du plan composite centré.

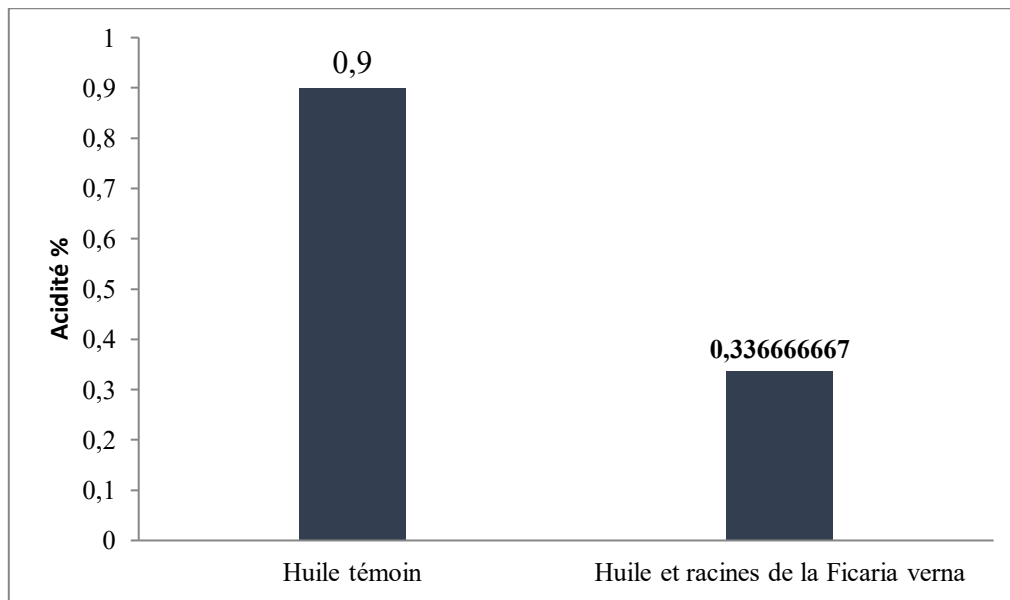
<b>Expériences</b>	<b>Temps</b>	<b>Masse</b>
<b>1</b>	8	32
<b>2</b>	22	32
<b>3</b>	8	68
<b>4</b>	22	68
<b>5</b>	15	50
<b>6</b>	<b>15</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>15</b>	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>5</b>	<b>50</b>
<b>9</b>	25	50
<b>10</b>	15	25
<b>11</b>	15	75

# *Résultats et discussion*

## 1. Indices de qualité de l'huile d'olive

### 1.1. Acidité

L'acidité est l'un des principaux critères de la qualité de l'huile d'olive, c'est un paramètre qui renseigne sur l'altération des échantillons d'huiles.



**Figure 7** : Résultats de l'acidité des échantillons d'huile témoin et huile mélangée avec les racines *Ficaria verna*.

Les résultats en pourcentage d'acidité sont exprimés dans l'histogramme ci-haut (figure 7). Les deux valeurs sont de 0,33 et 0,9 % pour huile témoin et huile en contact avec les racines tubérisées de la ficaria respectivement, ces valeurs correspondent aux normes impliquées par le **COI (2016)** pour une huile d'olive vierge. La valeur d'acidité pour les huiles en contact avec les racines tubérisées est faible (0,33 %), des différences significatives sont détectées entre les deux échantillons. Ce résultat nous indique que la présence des racines tubérisées de *Ficaria verna* diminue l'acidité de l'huile d'olive. De ce fait, les racines tubérisées de *Ficaria verna* imprégnées dans l'huile d'olive peuvent conserver cette dernière contre l'altération.

D'après **Djelloul et al., 2020** ont rapporté que l'acidité diffère d'une huile à une autre et cela selon sa variété et son origine. D'après le résultat obtenu de l'huile non mélangée (0,9%), celle-ci est plus acide que les huiles tunisiennes analysées par **Zarrouk et al, 2008**, pour lesquelles l'acidité libre est comprise entre 0,38 et 0,41% d'acide oléique. L'acidité de l'huile témoin est

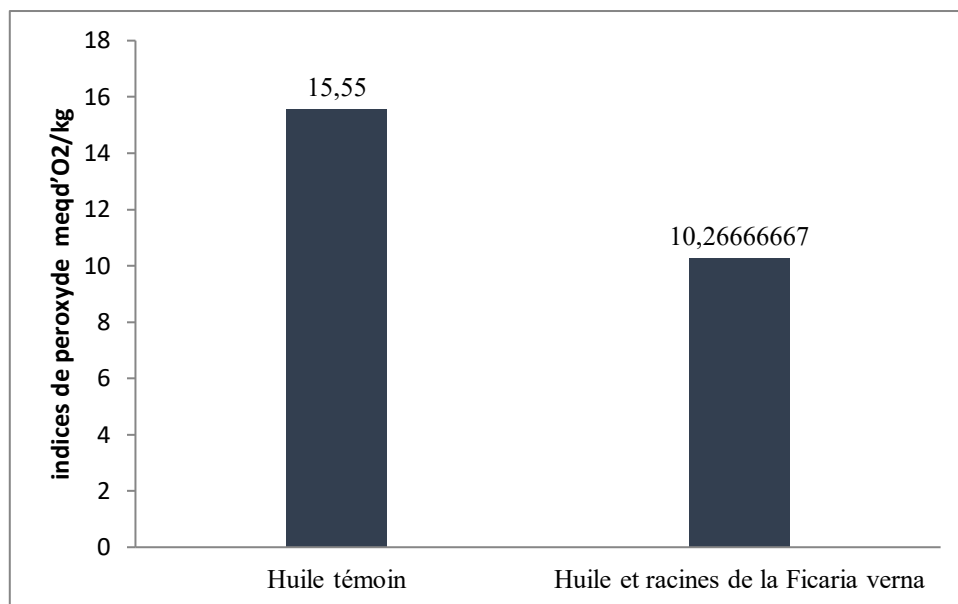


dans l'intervalle (0.77 et 9.26%) dès l'huiles de l'est algérien qui sont analysées par **Benabid et al, 2008** et sont plus acides que les huiles étudiées par **Boulfane et al, 2015**. Par contre, nos résultats sont élevés par rapport à ceux rapportés par **Laribi et al, 2011** et **Laincer et al, 2014** sur les huiles du centre et de l'est algérien qui ont notées une acidité inférieure à 0.8%.

Ces différences peuvent s'expliquer par le degré de maturité des olives et l'influence du cultivar **Boulfane et al., 2015**.

### 1.2. Indice de peroxyde

Ce paramètre nous renseigne sur l'oxydation de l'huile d'olive induisant à la formation de peroxydes qui sont des intermédiaires de la réaction d'auto-oxydation, donc la détermination de l'indice de peroxyde est approuvée pour évaluer l'entité d'oxydation primaire de l'huile selon les normes de régulation européenne **Montesano et al., 2019**.



**Figure 8 :** Résultats de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*.

Les deux échantillons présentent des indices de peroxyde (IP) de 10,26 et 15,55 meqd'O<sub>2</sub>/kg, (figure 8). Les valeurs sont dans les normes fixées par **Conseil Oléicole International 2016** le pour une huile d'olive vierge. On remarque également que l'indice de peroxyde de l'huile témoin est supérieur à celui mesuré dans l'huile mélangée aux racines tubérisées. Cependant, d'après **Boulfane et al., 2015** leurs résultats présentent des teneurs en peroxyde variant entre

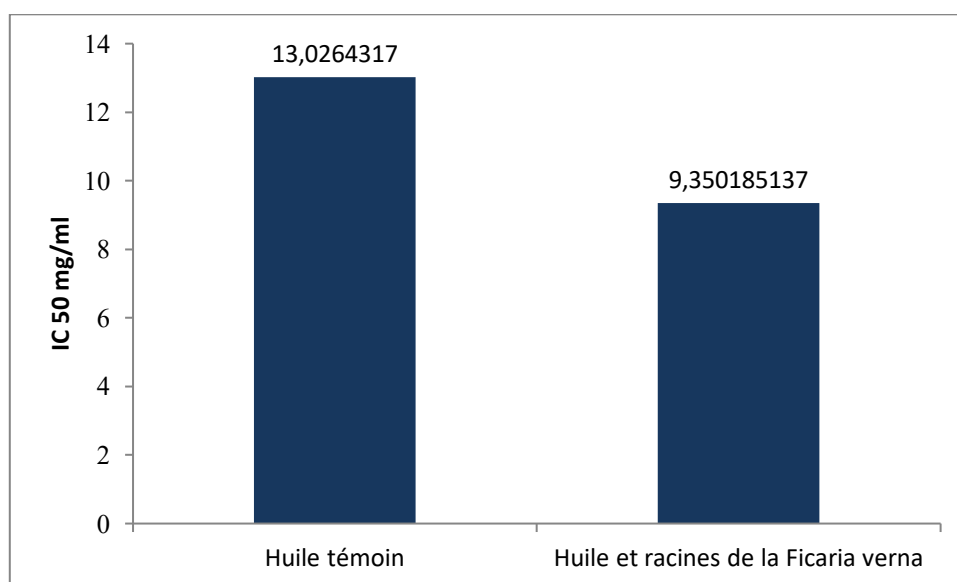
(10.96 et 18.7 meqO<sub>2</sub>/kg d'huile d'olive) de huit variétés de l'huile d'olive de la région Chaoui-Maroc ceci peut être expliqué par une faible oxydation de l'huile.

L'imprégnation des racines tubérisées dans l'huile d'olive empêche la formation de peroxydes, ce qui n'est pas le cas de l'huile seule. Nos résultats sont similaires à ceux de **Benrachou *et al.*, 2010** dont les valeurs sont comprises entre 7,86 et 11,40 meq d'O<sub>2</sub> /Kg, ceci s'explique par une oxydation moyenne de l'huile et à la présence des antioxydants qui inhibent l'initiation d'oxydation car d'après les études menées par **Michał Tomczyk *et al.*, 2002.** .

## 2. Evaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits d'huiles

Le DPPH est un radical libre stable qui est largement utilisé dans les solutions alcooliques pour une estimation du pouvoir antioxydant des phénols des huiles d'olive qui ont fait l'objet d'un intérêt éminent et qui consiste à former des liaisons hydrogènes intramoléculaires entre le groupe hydroxyle et les radicaux phénoxyliques en délivrant des atomes H et / ou des électrons (**Şahin *et al.*, 2017**) (**Vickers, 2017**).

Nos deux résultats indiquent que les extraits méthanoliques ont le pouvoir de piégeage du radical DPPH qui se traduit par des IC<sub>50</sub> les plus faibles (relation inversement proportionnelle). Les résultats sont illustrés dans la figure 10 :



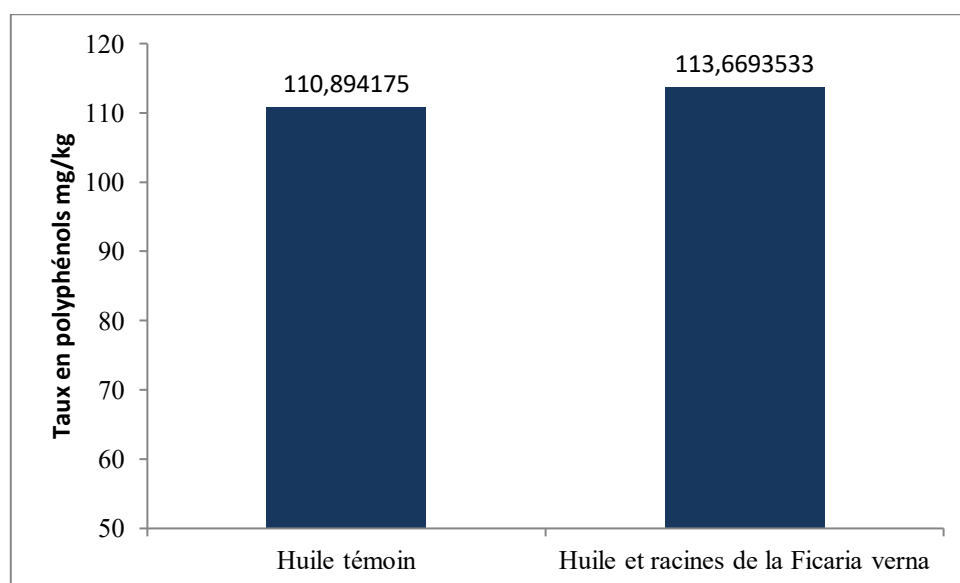
**Figure 09 :** Histogramme représentant les activités antioxydantes des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*

On remarque que l'extrait de l'échantillon macéré avec les racines tubérisées présente une bonne activité vis-à-vis du radical DPPH. Des différences significatives sont détectées entre les deux échantillons. L'échantillon macéré en présence des racines tubérisées présente les plus faibles IC<sub>50</sub> 9.35 mg/ml comparant à l'huile témoin 13.026 mg/ml démontrant l'enrichissement de cette huile en antioxydant et plus probablement en antioxydant hydrophile étant donné qu'ils sont extraits par du méthanol.

La racine de *Ficaria Verna* est riche en saponines qui sont des composés hydrophiles, six saponines connues des glycolysés et d'acide oléanolique sont isolées des tubercules de *Ranunculus Ficaria* **Marston et al., 2006**. La richesse des racines en saponines contribue à l'augmentation de l'activité antioxydante, selon l'étude de **Lim et al., 2020**. La racine de la plante *Chenopodium quinoa* riche en saponines présente de meilleures activités antioxydantes comparant à d'autres parties de la plante ce qui peut expliquer le résultat obtenu dans cette étude.

### 1. Dosage des polyphénols totaux de l'huile :

Ce sont les principaux composés responsables de la stabilité de l'huile d'olive pendant le stockage. Les teneurs en polyphénols totaux des échantillons sont présentées dans la figure, ils sont exprimés en mg équivalent acide gallique/kg d'huile d'olive.



**Figure 11** : Résultats des taux en polyphénols des échantillons d'huile témoin et huile mélangé avec les racines *Ficaria verna*.

Nos deux résultats montrent que les huiles d'olive analysées renferment des taux en polyphénols de 110,89 et 113,66 mg EAG/kg pour huile témoin et huile en contact avec les racines tubérisées de la ficaria respectivement. Nos valeurs sont comprises dans l'intervalle mesuré par **Laincer et al., 2016** dans leur étude sur les différentes variétés des huiles d'olive algériennes qui varient de 50 à 1000 mg/kg. On remarque que l'huile d'olive mélangée avec les racines tubérisées manifeste une légère augmentation en polyphénols par rapport à l'huile témoin. Aucune différence significative n'est détectée entre les deux échantillons analysés.

Peu d'études sont menées sur la composition de la plante *Ficaria verna*, d'après **Michal Tomczyk et al., 2002**. La partie aérienne de la plante est riche en flavonoïdes tandis que la partie souterraine comportant les racines sont riches en saponines, ce qui explique les résultats obtenus. La macération des racines de la plante avec huile d'olive n'enrichit pas cette dernière en polyphénols contrairement aux résultats rapportés par **Debib et al., 2018** qui ont supposé une diffusion des polyphénols de la figue sèche vers les huiles d'olive de macération au bout de 60 jours de contact.

### 3. Modélisation du taux de polyphénols libérés par les racines et tubercules de *Ficaria verna*

Dans notre présente étude, il a été décidé d'utiliser un plan d'expériences afin de modéliser et optimiser le taux de polyphénols libérés par la partie inférieure de la plante. A cet effet, un plan composite centré (CCD) a été élaboré.

Deux facteurs opératoires sont choisis, à savoir le temps de macération ( $X_1$ ) et la masse des racines et tubercules ( $X_2$ ), afin d'étudier leurs influences sur le taux de polyphénols libérés. Les résultats obtenus de ce plan sont regroupés dans la matrice des expériences présentée dans le tableau IV. Ce plan est composé de 4 essais du plan factoriel (essai 1 à 4) et de trois essais réalisés au centre du domaine (essai 5 à 7) et enfin de quatre essais du plan en étoile (essai 8 à 11).

**Tableau VI** : Matrice d'expériences du plan composite centré pour deux facteurs ( $k = 2$ )

N° essais	Temps (jrs)	Masse (g)	$X_1$	$X_2$	y (mg/Kg)	$\hat{y}$ (mg/Kg)
1	8	32	-1	-1	89,0592	70,096469

2	22	32	1	-1	123,97425	103,3254
3	8	68	-1	1	84,15922	81,267786
4	22	68	1	1	52,6164	48,038851
5	15	50	0	0	120,86109	116,24208
6	15	50	0	0	109,06	116,24208
7	15	50	0	0	119,08697	116,24208
8	5	50	-1,41	0	51,96943	63,364689
9	25	50	1,41	0	51,078765	63,364689
10	15	25	0	-1,41	80,794175	104,03285
11	15	75	0	1,41	72,4891	72,931609

**Note:** X<sub>1</sub> : Temps (jrs), X<sub>2</sub> : Masse (g)

La moyenne des 11 réponses expérimentales :  $y_{moy} = 86,83$  mg/Kg

Le nombre (n<sub>0</sub>) d'expériences au centre du domaine expérimental (masse en racines et tubercules est de 50 g et un temps de macération de 15 jours) est de 3 essais. Les teneurs des polyphénols obtenues sont rassemblées dans le tableau V suivant :

**Tableau V** : Taux des polyphénols au centre du domaine d'étude.

n <sub>0</sub>	y <sub>0</sub> (mg/Kg)
1	120.86
2	109.06
3	119.09

- La moyenne des taux de polyphénols libérés pour les trois essais au centre du domaine :

$$\bar{y} = 116.336 \text{ (mg/ml).}$$

### 3.1. Calcul des coefficients du modèle

Le calcul des coefficients de l'équation de régression s'obtient à partir du produit Suivant :

$$B = [X^T \cdot X]^{-1} \cdot [X]^T Y$$

Les résultats de ce calcul sont rassemblés dans le tableau VI ci-après :

**Tableau VI** : Valeurs des coefficients du modèle

Terme constant	Effets linéaires		Effets d'interactions et quadratiques		
	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>12</sub>	b <sub>11</sub>
116,242	0,265	-11,028	-16,614	-26,597	-13,963

## 7. Analyse statistique de l'équation de régression

### 7.1. Vérification de la signification des coefficients par le test de Student

Le test de Student permet de déterminer si parmi les coefficients du modèle, il existe des coefficients non significatifs, lesquels seront éliminés de l'équation de régression car leur influence sur la libération des polyphénols est négligeable.

Ce test consiste à déterminer :

- La variance de reproductibilité qui est estimée par celle calculée au centre du domaine expérimental :

$$S_{\text{rep}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_0} (y_i - \bar{y}_0)^2}{n_0 - 1}$$

**y<sub>i0</sub>** : Valeur du taux de polyphénols des essais au centre

**$\bar{y}_0$**  : Moyenne des essais au centre ;

**n<sub>0</sub>** : Nombre d'essais au centre ; **n<sub>0</sub>** = 3

Ainsi on aura : **S<sup>2</sup><sub>rep</sub>** = 40.492

- Pour identifier les coefficients non significatifs par le test de Student, on détermine les valeurs de t<sub>j</sub> pour chaque coefficient avec :

$$t_j = \frac{|b_j|}{S_{bj}}$$

- En ce qui concerne la variance des coefficients du modèle de second degré, on multiplie les éléments  $C_{jj}$  de la diagonale de la matrice de dispersion avec la variance

de reproductibilité comme suit (tableau VII) :

$$S_{bj}^2 = C_{jj} \cdot S_{rep}^2$$

**Tableau VII** : Valeurs de  $t_j$  calculées de chaque coefficient

Terme constant	Effets linéaires		Effets d'interactions et quadratiques		
$t_0$	$t_1$	$t_2$	$t_{12}$	$t_{11}$	$t_{22}$
31,640	0,117	4,894	5,222	9,892	5,193

En utilisant la table de Student relative à un test bilatéral (Annexe I), on détermine la valeur de  $t_\alpha$  ( $f$ ) pour le niveau de signification  $\alpha = 0,05$  et le nombre de degrés de liberté.  $f = n_0 - 1$  qui est égale à 2, soit  $t_{0,05}(2) = 4,3$ , d'après les résultats du tableau précédent, on remarque que la valeur de  $t_1$ , est inférieure à la valeur tabulée du test de Student (4.3) déduisant ainsi que le coefficient correspondant ( $b_1$ ) n'est pas significatif donc il sera éliminé de l'équation de régression.

## 7.2. Tests de validation de l'équation de régression

- **Recherche du biais**

Avant de valider le modèle postulé, nous devons vérifier l'absence du biais. Pour cela, on calcule la variance résiduelle qu'on va comparer à la variance de reproductibilité par le test de Fisher Snedecor (Ozil et al., 1997).  $F$  est donné par le rapport :

$$F = \frac{S_{rés}^2}{S_{rep}^2}$$

Avec :

$$S_{\text{rés}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - \ell}$$

La valeur calculée de la variance résiduelle pour  $N = 11$  et  $\ell = 5$  est donnée par :

$$S_{\text{rés}}^2 = 286,218.$$

Ce qui conduit à  $F = 7.068$

La valeur tabulée du test de Fisher pour le niveau de signification  $\alpha = 0,05$  et les nombres de degrés de liberté  $(N - \ell) = 6$  et  $(n_0 - 1) = 2$  est égale à 19.3 (Annexe II). Cette valeur étant supérieure à la valeur calculée, le modèle est alors considéré sans biais.

- **Test de signification de la régression**

La valeur calculée du test de Fisher est égale à :  $F = 5,479$ , alors que la valeur tabulée pour le niveau de signification = 0,05 et les nombres de degrés de liberté  $(\ell - 1) = 4$  et  $(N - \ell) = 6$  est égale à 4.53. La valeur de F calculée étant supérieure à celle tabulée (Annexe II) l'équation de régression est adéquate et le modèle est valide à 95%.

L'équation retenue pour le modèle s'écrit donc:

$$\hat{y} = 116.24 - 11.028x_2 - 16.614 x_{12} - 26.596 x_{11}^2 - 13.963x_{22}^2 \dots\dots\dots(1)$$

Le coefficient de corrélation obtenu est de :  $R^2 = 80\%$ , le model postulé est alors adéquat et explique 80% ( $R^2$ ) des variations de la réponse et peut être utilisé pour l'optimisation et la prédiction du taux des polyphénols (réponse) en fonction des facteurs étudiés.

D'après le modèle obtenu (équation 1) par l'application d'un plan composite centré, nous remarquons que le seul facteur à effet linéaire est la masse des racines et tubercules de la plante ( $X_2$ ), ce dernier exerce une influence négative sur la réponse ( $b_2 = - 11.028$ ). Le signe négatif signifie qu'en augmentant la masse de la plante de la valeur minimale (32 g) à la valeur maximale (68 g), le taux de polyphénols libérés diminue dans l'huile. Donc le taux de polyphénols libérés est important quand la masse des racines et les tubercules de la plante sont faibles.



Concernant le facteur temps ( $X_1$ ), son influence seule n'est pas significative d'après les tests statistiques ( $b_1 = + 0.265$ ), par contre il influence sur la réponse en interaction avec la masse donc il dépend de la valeur de la masse ( $b_{12} = -16.416$ ).

### 8. Diagramme des résidus

Les variations des résidus (la différence entre la valeur du taux des polyphénols expérimentale est prédite par le modèle) en fonction des valeurs prédites de la réponse est présentée dans la figure 12.

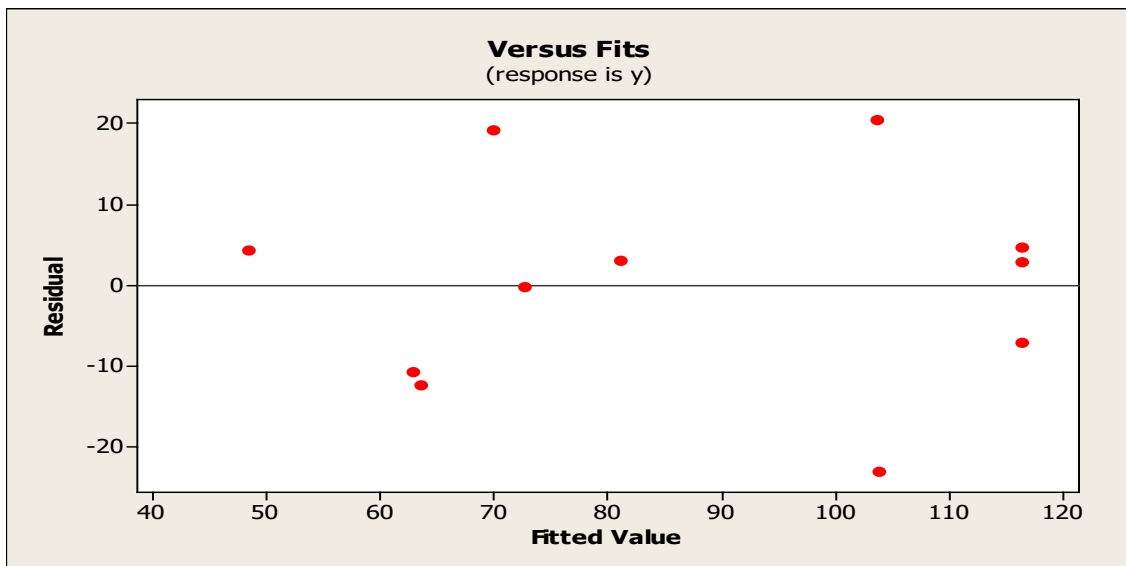


Figure 12 : Diagramme des résidus

Le diagramme des résidus ci-dessus (figure 12) ne laisse apparaître aucune relation entre les valeurs prédites et les résidus, car les points semblent être disposés aléatoirement. Ce résultat traduit l'absence d'informations dans les résidus et que tout est expliqué par le modèle de régression obtenu.

En conclusion, le modèle obtenu explique bien les résultats expérimentaux. Les tests d'évaluation le confirment (les tests statistiques et l'analyse des résidus).

### 9. Optimisation du taux de polyphénols libérés

L'étape de l'optimisation permet de déterminer les valeurs optimales des deux facteurs opératoires étudiés à savoir le temps et la masse des racines et tubercules de la plante étudiée. A cet effet, les courbes de surface de réponses (figure 13) et des isoréponses (figure 14) sont tracées à l'aide du logiciel Minitab 16.0, afin de localiser la région du domaine d'étude où l'optimum apparaît, ainsi que toutes les conditions opératoires menant à ce dernier.

La figure 14 montre que l'optimum de la réponse (taux de polyphénols) se trouve dans la zone foncée, où les réponses dans cette zone dépassent 115 mg/Kg.

Afin de déterminer les optimums des deux paramètres opératoires, le logiciel Minitab 16.0 nous a permis également de tracer le diagramme de désirabilité (figure 15). Ce diagramme montre les valeurs optimales en variables codées : pour le temps ( $X_1= 0.158$ ) et la masse ( $X_2= 0.488$ ), nous permettent d'obtenir un taux en polyphénols optimale prédit de 119.029 mg/Kg. Cet optimum figure bien également sur la figure 14 au centre de la zone vert foncé.

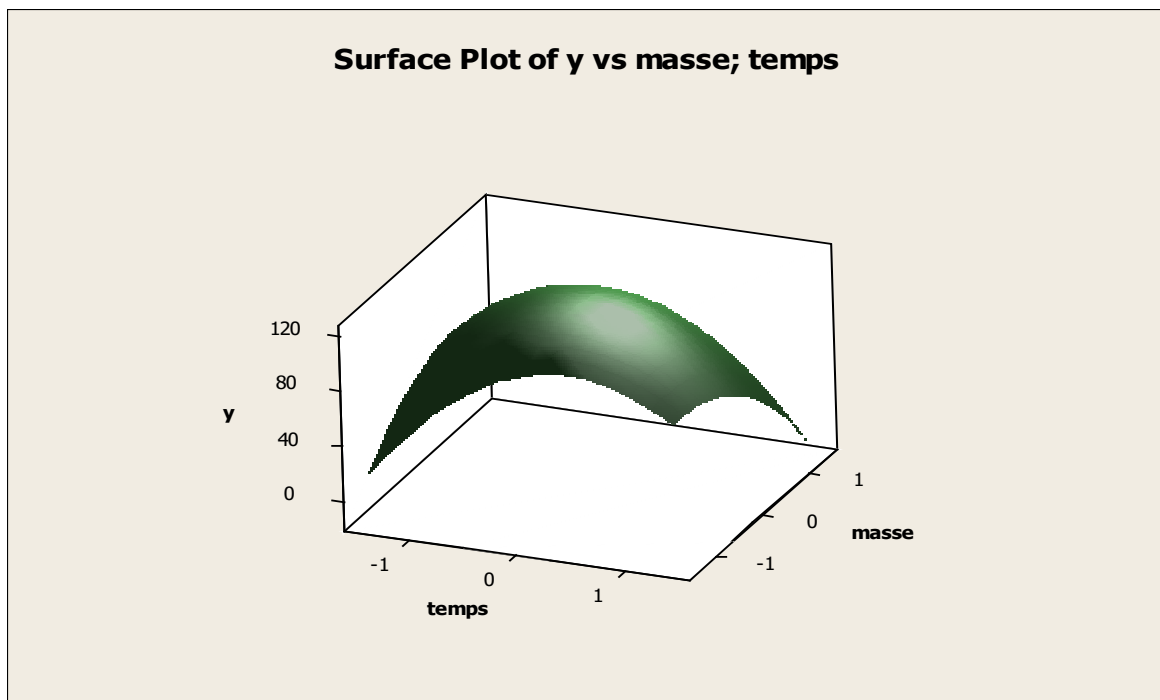


Figure 13 : Courbe de surface de réponses

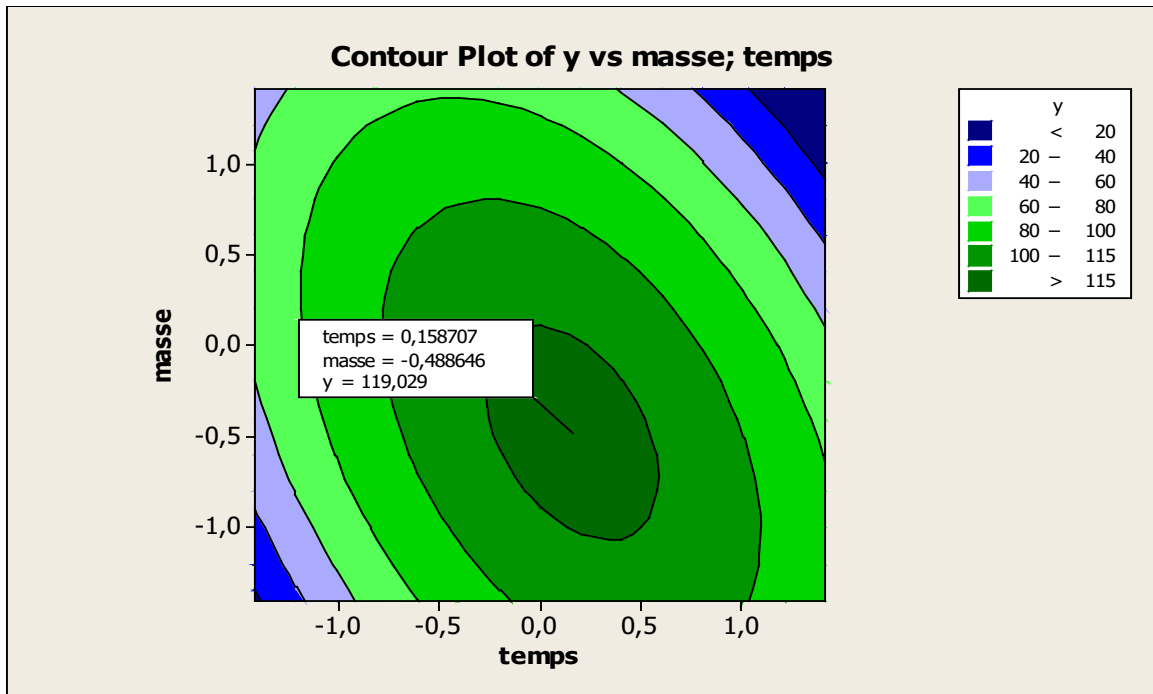


Figure 14 : Courbe isoréponses ou surface de niveaux

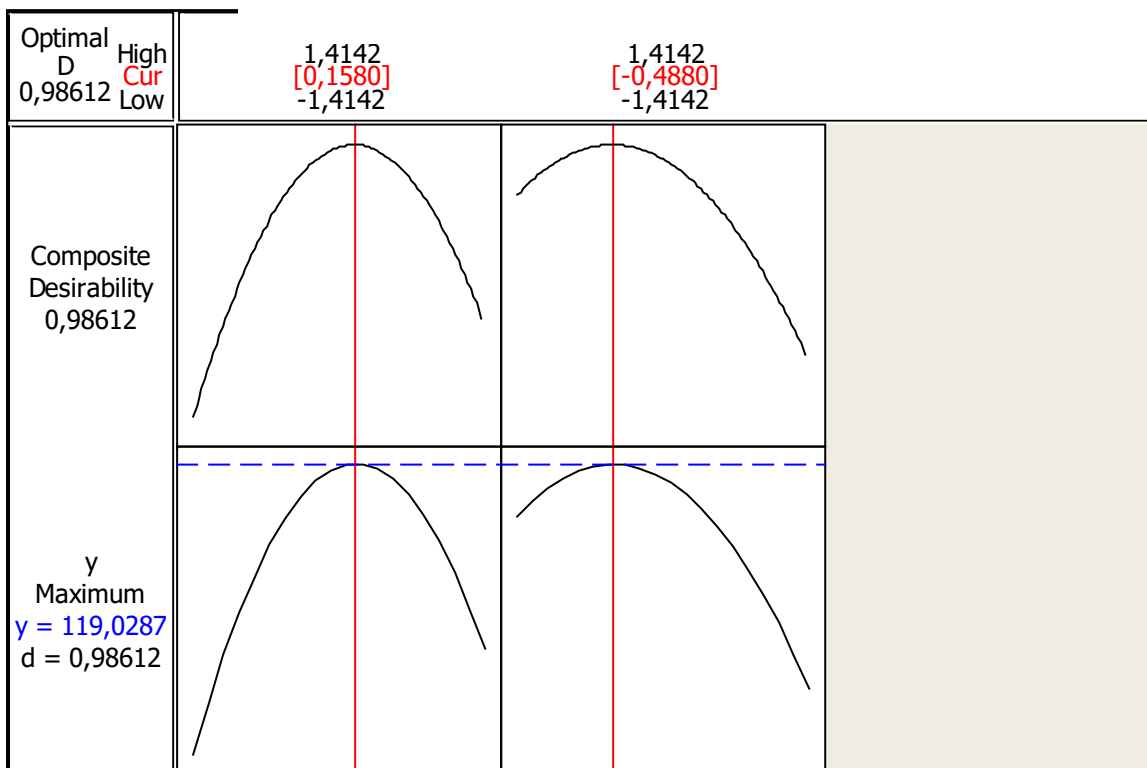


Figure 15 : Diagramme de désirabilité.

Une formule de passage permet de calculer les valeurs naturelles des facteurs à partir des variables centrées réduites obtenues par le logiciel, elle s'écrit comme suit :

$$X_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j}, \quad j=1,2,\dots,k$$

Tels que :

$$Z_j^0 = \frac{Z_{j\max} + Z_{j\min}}{2} \quad \text{et} \quad \Delta Z_j = \frac{Z_{j\max} - Z_{j\min}}{2}$$

Avec :

$X_j$  : La variable centrée réduite correspondant à la variable d'origine  $Z_j$ .

$Z_{j\min}$  et  $Z_{j\max}$  : Les niveaux inférieur et supérieur des facteurs qui constituent les frontières du domaine d'étude.

$Z_j^0$  : La valeur centrale de l'intervalle exprimée en unité courante.

$\Delta Z$  est appelé le pas.

En appliquant cette formule de passage, nous avons obtenus les valeurs suivantes des facteurs :

$X_1 = 0,158$  correspondant à un temps de contact de l'huile avec la plante de 16 jours ;

$X_2 = -0,488$  correspondant à une masse des racines et les tubercules de 50 g.

# *Conclusion*

Le but de notre travail est la détermination des caractères physicochimiques et l'activité antioxydante du mélange huile d'olive et racines de la plante *Ficaria verna*. Une recette médicinale traditionnelle avec des produits du territoire.

Les indices de qualité des différents échantillons d'huiles d'olive qui se composent de : l'acidité et l'indice de peroxyde révèlent des valeurs qui sont dans les normes fixées par le (COI, 2019) permettant de la classer dans la catégorie huile d'olive vierge. L'activité antiradicalaire contre le radical DPPH des échantillons d'huile mélangée a abouti à des résultats inférieurs à ceux du témoin démontrant l'enrichissement de cette huile en antioxydant hydrophile. Le dosage des extraits phénoliques de l'huile témoin a permis de quantifier les polyphénols totaux et d'estimer leurs teneurs à 110,89 mg EAG/kg dans l'huile témoin et 113,66 mg EAG/kg en présence des racines de la ficaria. Des différences non significatives sont signalées entre les deux échantillons supposant que d'autres antioxydants autres que les polyphénols sont responsables de l'élévation de cette activité.

Une modélisation statistique a été entreprise par le biais d'un plan composite centré en vue de déterminer l'effet de deux paramètres opératoires sur le taux de polyphénols libérés par les racines et tubercules de *Ficaria verna*, nous remarquons que le seul facteur à effet linéaire est la masse des racines et tubercules de la plante, ce dernier exerce une influence négative sur la réponse. Selon le tracé des courbes iso-réponses, il nous a été possible de délimiter la zone où l'optimum de la réponse (production de polyphénols totaux) se situe dans celle où les réponses dans cette zone-là dépassent 115 mg/Kg. Le diagramme de désirabilité nous a permis d'obtenir les valeurs optimales des facteurs étudiés, qui sont les suivantes : pour le temps ( $X_1= 0.158$ ) et la masse ( $X_2= 0.488$ ) et nous permettent d'obtenir un taux en polyphénols optimal prédit de 119.029 mg/Kg.

Enfin, afin d'approfondir cette étude, une recherche plus avancée sur la composition chimique des racines tubérisées de *Ficaria verna* est à envisager pour découvrir davantage quant à ses vertus et en raison du manque d'étude sur cette plante thérapeutique.

# *Références*

- [Pafundo *et al.*, 2010] S. Pafundo, M. Busconi, C. Agrimonti, C. Fogher, et N. Marmiroli, « Storage-time effects on olive oil DNA assessed by Amplified Fragments Length Polymorphisms », *Food Chem.*, vol. 123, n° 3, p. 787-793, déc. 2010, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.027.
- [Rodrigues *et al.*, 2018] N. Rodrigues *et al.*, « Effect of olive trees density on the quality and composition of olive oil from cv. Arbequina », *Sci. Hortic.*, vol. 238, p. 222-233, août 2018, doi: 10.1016/j.scienta.2018.04.059.
- [Rossi *et al.*, 2017] M. Rossi *et al.*, « Protection by extra virgin olive oil against oxidative stress in vitro and in vivo. Chemical and biological studies on the health benefits due to a major component of the Mediterranean diet », *PLOS ONE*, vol. 12, n° 12, p. e0189341, déc. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0189341.
- [Caliskan *et al.*, 2017] U. K. Caliskan, C. Aka, et M. G. Oz, « Plants Used in Anatolian Traditional Medicine for the Treatment of Hemorrhoid », *Rec Nat Prod*, p. 16, 2017.
- [Dhifi *et al.*, 2005] W. Dhifi, F. Angerosa, A. Serraiocco, I. Oumar, I. Hamrouni, et B. Marzouk, « Virgin olive oil aroma: Characterization of some Tunisian cultivars », *Food Chem.*, vol. 93, n° 4, p. 697-701, déc. 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.12.036.
- [İnci *et al.*, 2021] S. İnci, A. Eren, S. Kirbağ, et A. İ. Özkan, « Antimicrobial and Antioxidant effect of *Ficaria verna* Huds. », *Üzüncü İl Üniversitesi Tarım Bilim. Derg.*, p. 277-280, juin 2021, doi: 10.29133/yyutbd.823401.
- [Ruiz *et al.*, 2000] G. M. Ruiz, P. W. Fofonoff, J. T. Carlton, M. J. Wonham, et A. H. Hines, « Invasion of Coastal Marine Communities in North America: Apparent Patterns, Processes, and Biases », *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, vol. 31, n° 1, p. 481-531, nov. 2000, doi: 10.1146/annurev.ecolsys.31.1.481.
- [Servili *et al.*, 2004] M. Servili, R. Selvaggini, S. Esposto, A. Taticchi, G. Montedoro, et G. Morozzi, « Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil », *J. Chromatogr. A*, vol. 1054, n° 1, p. 113-127, oct. 2004, doi: 10.1016/j.chroma.2004.08.070.



- [Malliou *et al.*, 2018.] F. Malliou *et al.*, « The olive constituent oleuropein, as a PPAR $\alpha$  agonist, markedly reduces serum triglycerides », *J. Nutr. Biochem.*, vol. 59, p. 17-28, sept. 2018, doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.05.013.
- [Khaoula Bekkar *et al.*, 2018] « Improved stability to auto-oxidation of the olive oil by addition of citric acid Short title: Olive oil auto-oxidation and citric acid ».(consulté le sept. 12, 2021).
- [Abaza *et al.*, 2002] L. Abaza, M. Msallem, D. Daoud, et M. Zarrouk, « Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes », *Ol. Corps Gras Lipides*, vol. 9, n° 2, p. 174-179, mars 2002, doi: 10.1051/ocl.2002.0174.
- [Giuffrè *et al.*, 2012] A. M. Giuffrè, L. Louadj, M. Poiana, et A. Macario, « Composition en stérols des huiles extraites d'olives de cultivars de la province de Reggio Calabria (Sud d'Italie) », p. 8, 2012.
- [Temime *et al.*, 2006] S. B. Temime, E. Campeol, P. L. Cioni, D. Daoud, et M. Zarrouk, « Volatile compounds from Chétoui olive oil and variations induced by growing area », *Food Chem.*, vol. 99, n° 2, p. 315-325, janv. 2006, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.046.
- [Dugo *et al.*, 2020] L. Dugo *et al.*, « Determination of the Phenol and Tocopherol Content in Italian High-Quality Extra-Virgin Olive Oils by Using LC-MS and Multivariate Data Analysis », *Food Anal. Methods*, vol. 13, n° 5, p. 1027-1041, mai 2020, doi: 10.1007/s12161-020-01721-7.
- [Tsimidou, 2010] M. Z. Tsimidou, « Chapter 61 - Squalene and Tocopherols in Olive Oil: Importance and Methods of Analysis », in *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, V. R. Preedy et R. R. Watson, Éd. San Diego: Academic Press, 2010, p. 561-567. doi: 10.1016/B978-0-12-374420-3.00061-9.
- [Yokoyama, 2008.] S. Yokoyama, « Evolution of Dim-Light and Color Vision Pigments », *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, vol. 9, n° 1, p. 259-282, sept. 2008, doi: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164228.
- Failla et al., 2014** M. L. Failla, C. Chitchumronchokchai, M. G. Ferruzzi, S. R. Goltz, et W. W. Campbell, « Unsaturated fatty acids promote bioaccessibility and basolateral secretion of carotenoids and  $\alpha$ -tocopherol by Caco-2 cells », *Food Funct.*, vol. 5, n° 6, p. 1101-1112, mai 2014, doi: 10.1039/C3FO60599J.

- [Criado *et al.*, 2008] M.-N. Criado, M.-P. Romero, M. Casanovas, et M.-J. Motilva, « Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons », *Food Chem.*, vol. 110, n° 4, p. 873-880, oct. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.075.
- [Franco *et al.*, 2014] M. N. Franco *et al.*, « Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil », *Food Chem.*, vol. 163, p. 289-298, nov. 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.091.
- [Bakhouché *et al.*, 2013] A. Bakhouché, J. Lozano-Sánchez, R. Beltrán-Debón, J. Joven, A. Segura-Carretero, et A. Fernández-Gutiérrez, « Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia », *Food Res. Int.*, vol. 50, n° 1, p. 401-408, janv. 2013, doi: 10.1016/j.foodres.2012.11.001.
- [García *et al.*, 2003.] « Phenolic content of commercial olive oils | SpringerLink ».
- [Bendini *et al.*, 2007] Alessandra Bendini, « Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade ».
- [Servili *et al.*, 2009] M. Servili *et al.*, « Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure », *Inflammopharmacology*, vol. 17, n° 2, p. 76-84, avr. 2009, doi: 10.1007/s10787-008-8014-y.
- [Ocakoglu *et al.*, 2009] D. Ocakoglu, F. Tokatli, B. Ozen, et F. Korel, « Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years », *Food Chem.*, vol. 113, n° 2, p. 401-410, mars 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.057.
- [Yanguí *et al.*, 2009] T. Yanguí, A. Dhouib, A. Rhouma, et S. Sayadi, « Potential of hydroxytyrosol-rich composition from olive mill wastewater as a natural disinfectant and its effect on seeds vigour response », *Food Chem.*, vol. 117, n° 1, p. 1-8, nov. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.03.069.
- [Toteda *et al.*, 2017] G. Toteda *et al.*, « High doses of hydroxytyrosol induce apoptosis in papillary and follicular thyroid cancer cells », *J. Endocrinol. Invest.*, vol. 40, n° 2, p. 153-162, févr. 2017, doi: 10.1007/s40618-016-0537-2.

- [**López-Miranda et al., 2010**] J. López-Miranda *et al.*, « Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008 », *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, vol. 20, n° 4, p. 284-294, mai 2010, doi: 10.1016/j.numecd.2009.12.007.
- [**Garnier, 1961**] L. B.-B. E. G. D. G. Garnier, *Ressources Médicinales de la Flore Française*. Vigot frères, 1961.
- [**Fernández Prieto et al., 2017**] J. A. Fernández Prieto, M. Sanna, M. Pérez, A. Pérez-Haase, J. Molero-Mesa, et E. Cires, « Evolutionary and biogeographic relationships of related *Ranunculus* taxa: dispersal, vicariance and pseudovicariance as mechanisms of change », *Plant Ecol. Divers.*, vol. 10, n° 5-6, p. 379-387, nov. 2017, doi: 10.1080/17550874.2018.1430187.
- [**Sell, 1994**] P. D. Sell, « *Ranunculus ficaria* L. sensu lato », p. 10.
- [**Rawlik et Jagodziński, 2020**] M. Rawlik et A. M. Jagodziński, « Seasonal dynamics of shoot biomass of dominant clonal herb species in an oak–hornbeam forest herb layer », *Plant Ecol.*, vol. 221, n° 11, p. 1133-1142, nov. 2020, doi: 10.1007/s11258-020-01067-4.
- [**Popelka et al., 2019**] O. Popelka, B. Trávníček, P. Šiková, M. Jandová, et M. Duchoslav, « Natural hybridization between diploid *Ficaria calthifolia* and tetraploid *Ficaria verna* subsp. *verna* in central Europe: evidence from morphology, ecology and life-history traits », *Preslia*, vol. 91, n° 3, p. 179-212, oct. 2019, doi: 10.23855/preslia.2019.179.
- [**Stefanie Klooss et al., 2016**] S. Klooss, E. Fischer, W. Out, W. Kirleis « Charred root tubers of lesser celandine (*Ficaria verna* HUDS.) in plant macro remain assemblages from Northern, Central and Western Europe ».
- [**Michał Tomczyk et al., 2002**] M. Tomczyka, J. Gudeja and Marek Sochacki « Flavonoids from *Ficaria verna* HUDS. », *Z. Naturforsch.* 57 c, 440-444 (2002)
- [**Vincken et al., 2007**] J.-P. Vincken, L. Heng, A. de Groot, et H. Gruppen, « Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom », *Phytochemistry*, vol. 68, n° 3, p. 275-297, févr. 2007, doi: 10.1016/j.phytochem.2006.10.008.
- [**Gauthier et al., 2011**] C. Gauthier, C. Gauthier, J. Legault, M. Piochon-Gauthier, A. Pichette, « Advances in the synthesis and pharmacological activity of lupane-type triterpenoid saponins », 2011.

- [**Shiraiwa et al., 1991**] M. Shiraiwa, S. Kudo, M. Shimoyamada, K. Harada, et K. Okubo, « Composition and Structure of “Group A Saponin” in Soybean Seed », *Agric. Biol. Chem.*, vol. 55, n° 2, p. 315-322, févr. 1991, doi: 10.1080/00021369.1991.10870574.
- [**Soetan et al., 2006**] M. Soetan, M. A. Oyekunle, O. O. Aiyelaagbe, et M. A. Fafunso, « Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of Sorghum Bicolor L. Moench », *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 5, n° 23, Art. n° 23, 2006, doi: 10.4314/ajb.v5i23.56024.
- [**Lhuillier et al., 2007**] A. Lhuillier et al., « Comparison of flavonoid profiles of *Agauria salicifolia* (Ericaceae) by liquid chromatography-UV diode array detection–electrospray ionisation mass spectrometry », *J. Chromatogr. A*, vol. 1160, n° 1-2, p. 13-20, août 2007, doi: 10.1016/j.chroma.2007.03.038.
- [**Nogata et al., 2006**] Y. Nogata, K. Sakamoto, H. Shiratsuchi, T. Ishii, M. Yano, et H. Ohta, « Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species », *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 70, n° 1, p. 178-192, 2006, doi: 10.1271/bbb.70.178.
- [**Karouche et al., 2014**] Karouche, « Phytochemical, Free Radical Scavenging and Antimicrobial Activities of the Maize Stigmas, Collected of Ain Mlila (East Algeria) », 2014.
- [**Thérien et al., 1949**] M. Thérien, J. Leblanc, O. Héroux, et L. P. Dugal, « effets de l’acide ascorbique sur plusieurs variables biologiques normalement affectées par le froid », *Can. J. Res.*, vol. 27e, n° 6, p. 349-363, déc. 1949, doi: 10.1139/cjr49e-045.
- [**Faujdar et al., 2019**] S. Faujdar, B. Sati, S. Sharma, A. K. Pathak, et S. K. Paliwal, « Phytochemical evaluation and anti-hemorrhoidal activity of bark of *Acacia ferruginea* DC », *J. Tradit. Complement. Med.*, vol. 9, n° 2, p. 85-89, avr. 2019, doi: 10.1016/j.jtcme.2018.02.003.
- [**Goetz, 2013**] P. Goetz, « Synoptique des plantes à effet cardiovasculaire », *Phytothérapie*, vol. 11, n° 3, p. 181-187, juin 2013, doi: 10.1007/s10298-013-0785-7.
- [**Lotito et Frei, 2006**] S. B. Lotito et B. Frei, « Dietary Flavonoids Attenuate Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ -induced Adhesion Molecule Expression in Human Aortic Endothelial Cells: STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS AND ACTIVITY AFTER FIRST PASS METABOLISM\* », *J. Biol. Chem.*, vol. 281, n° 48, p. 37102-37110, déc. 2006, doi: 10.1074/jbc.M606804200.

- [**Yilmaz et al., 2015.**] B. Yilmaz, B. Yilmaz, B. Aktaş, O. Unlu, et E. C. Roach, « Lesser celandine (pilewort) induced acute toxic liver injury: The first case report worldwide », *World J. Hepatol.*, vol. 7, n° 2, p. 285, 2015.
- [**Tekaya et Hassouna, 2005**] I. B. Tekaya et M. Hassouna, « Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage », *Ol. Corps Gras Lipides*, vol. 12, n° 5-6, Art. n° 5-6, sept. 2005, doi: 10.1051/ocl.2005.0447.
- [**Christophoridou et Dais, 2009**] S. Christophoridou et P. Dais, « Detection and quantification of phenolic compounds in olive oil by high resolution 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy », *Anal. Chim. Acta*, vol. 633, n° 2, p. 283-292, févr. 2009, doi: 10.1016/j.aca.2008.11.048.
- [**Brand-Williams et al., 1995**] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, et C. Berset, « Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity », *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, n° 1, p. 25-30, janv. 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [**Toé et al., 2009**] L. P. Toé et al., « Decreased motivation in the use of insecticide-treated nets in a malaria endemic area in Burkina Faso », *Malar. J.*, vol. 8, n° 1, p. 175, juill. 2009, doi: 10.1186/1475-2875-8-175.
- [**Servili et al., 2004**] M. Servili, R. Selvaggini, S. Esposto, A. Taticchi, G. Montedoro, et G. Morozzi, « Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil », *J. Chromatogr. A*, vol. 1054, n° 1, p. 113-127, oct. 2004, doi: 10.1016/j.chroma.2004.08.070.
- [**Diabate et al., 2009**] S. Diabate, K. E. Konan, D. Allou, O. A. Coulibaly, et H. D. Franquville, « Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation du marquage de la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) », *Sci. Nat.*, vol. 6, n° 2, Art. n° 2, 2009, doi: 10.4314/scinat.v6i2.48665.
- [**Djelloul et al., 2020**] M. C. B. Djelloul, S. M. Amrani, P. Rovellini, et R. Chenoune, « Phenolic compounds and fatty acids content of some West Algerian olive oils », *Comun. Sci.*, vol. 11, p. e3247-e3247, juin 2020, doi: 10.14295/cs.v11i10.3247.
- [**Boulfane et al., 2015.**] S. Boulfane, N. Maata, A. Anouar, et S. Hilali, « Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc », *J. Appl. Biosci.*, vol. 87, p. 8022-8029, 2015, doi: 10.4314/jab.v87i1.5.

- [Montesano *et al.*, 2019.] D. Montesano *et al.*, « Untargeted Metabolomics to Evaluate the Stability of Extra-Virgin Olive Oil with Added Lycium barbarum Carotenoids during Storage », *Foods*, vol. 8, n° 6, Art. n° 6, juin 2019, doi: 10.3390/foods8060179.
- [Benrachou *et al.*, 2010] N. Benrachou, C. Henchiri, et Z. Djeghaba, « Caractérisation de trois huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien », *Synthèse Rev. Sci. Technol.*, vol. 22, p. 12-22, 2010.
- [Şahin *et al.*, 2017] S. Şahin, E. Sayım, et M. Bilgin, « Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil », *J. Food Sci. Technol.*, vol. 54, n° 6, p. 1721-1728, mai 2017, doi: 10.1007/s13197-017-2607-7.
- [Vickers, 2017] N. J. Vickers, « Animal Communication: When I'm Calling You, Will You Answer Too? », *Curr. Biol.*, vol. 27, n° 14, p. R713-R715, juill. 2017, doi: 10.1016/j.cub.2017.05.064.
- [Marston *et al.*, 2006] Marston, « Clarification of the Saponin Composition of Ranunculus ficaria Tubers », 2006.
- [Lim *et al.*, 2020] J. G. Lim, H.-M. Park, et K. S. Yoon, « Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.) », *Food Sci. Nutr.*, vol. 8, n° 1, p. 694-702, 2020, doi: 10.1002/fsn3.1358.
- [Laincer *et al.*, 2016] F. Laincer *et al.*, « Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of Béjaïa (Algeria) », *Food Res. Int.*, vol. 89, p. 1123-1133, nov. 2016, doi: 10.1016/j.foodres.2016.04.024.
- [30] Debib, « Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of oily macerates of Algerian dried figs (*Ficus carica* L.) », 2018.



# *Annexes*



Annexe I : Table de Student (Goupy, 1999 et Ozil 1997)

Unilatéral Bilatéral	0.01 0.20	0.05 0.10	0.025 0.05	0.01 0.02	0.005 0.01
1	3,08	6,31	12,7	31,8	63,7
2	1,89	2,92	4,30	6,97	9,92
3	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84
4	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60
5	1,48	2,02	2,57	3,37	4,03
6	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,42	1,90	2,37	3,00	3,50
8	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17
11	1,36	1,80	2,20	2,72	3,10
12	1,36	1,78	2,18	2,68	3,06
13	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01
14	1,35	1,76	2,15	2,62	2,98
15	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95
16	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92
17	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90
18	1,33	1,73	2,10	2,55	2,88
19	1,33	1,73	2,09	2,54	2,86
20	1,33	1,73	2,09	2,53	2,85
21	1,32	1,72	2,08	2,52	2,83
22	1,32	1,72	2,07	2,51	2,82
23	1,32	1,71	2,07	2,50	2,81
24	1,32	1,71	2,06	2,49	2,80
25	1,32	1,71	2,06	2,49	2,79
26	1,32	1,71	2,06	2,48	2,78
27	1,31	1,70	2,05	2,47	2,77
28	1,31	1,70	2,05	2,47	2,76
29	1,31	1,70	2,05	2,46	2,76
30	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75
40	1,30	1,68	2,02	2,42	2,70
∞	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58

## Annexe II : Table de Fisher (Goupy, 1991 et Ozil, 1997)

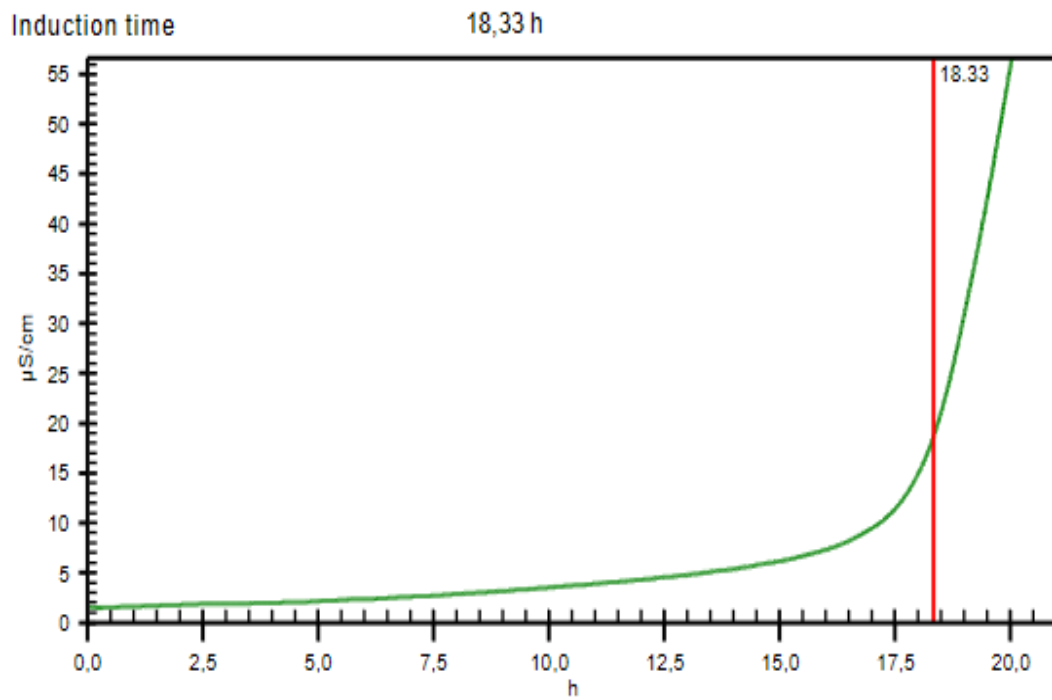
Valeurs des 95 nièmes centiles (niveaux 0.05)

F0.95 pour la distribution F

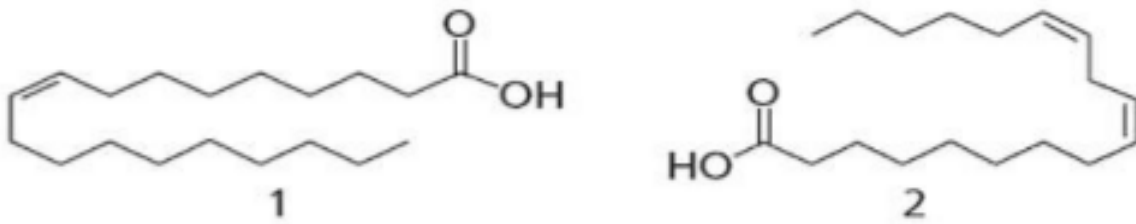
V <sub>1</sub>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	∞
→ V <sub>2</sub> ↓																
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	246	248	249	250	254
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.5	19.4	19.5
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.7	8.66	8.64	8.62	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.0	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.8	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.7	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.9	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.2	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.0

V<sub>1</sub> : Degrés de liberté au numérateurV<sub>2</sub> : Degrés de liberté au dénominateur

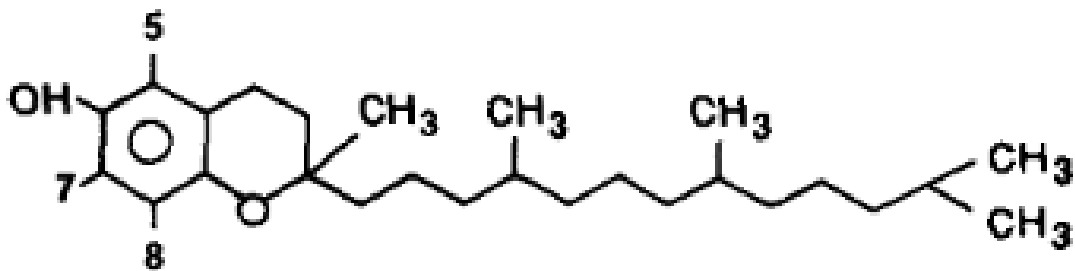
**Annexe III :** Courbe de conductivité du Rancimat (110°C, 10 l/h) d'un échantillon d'huile d'olive mélangé aux racines tubérisées de *Ficaria verna*.



**Annexe IV** : Structure des acides gras majeurs de l'huile d'olive, (1) acide oléique, (2) acide linoléique (Amanda et al., 2010).



**Annexe V** : Structure d'un tocophérol (A.P. CARPENTER, JR. et al., 1979)



Annexe VI : Structure de base des flavonoïdes (PEREZ TRUEBA *et al.*, 2003)