

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences alimentaires
Option : Bioprocédé et Technologie Alimentaire



Réf:.....

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

MASTER

Thème

**Optimisation des paramètres de préparation
de deux tisanes traditionnelles en se basant
sur le potentiel phénolique**

Présenté par :

BARKA Dahbia & MEDJAHED Amira

Soutenu le : **24 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M^{lle}: MEKHOUKHE A

M^{me}: ADRAR S

M^{me}: AIDLI A

President

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciement

Avant toute chose on ne manquera pas de remercier ici quelques personnes sans lesquelles ce Mémoire n'aurais jamais vu le jour :

Nous tenons avant tout à remercier Dieu tout puissant de nous avoir donné la force et la volonté pour achever ce modeste travail.

*Nos remerciements, accompagnés de toute notre gratitude, vont tout d'abord à notre promotrice **Mme Adrar**, pour nous avoir encadré et diriger notre travail, et à **Mme Guendouze** pour son prestigieux soutien et sa disponibilité tout au long de la réalisation de la partie pratique.*

*Nous remercions également **Mme Mekhoukhe** d'avoir accepté de présider le jury, et nous adressons nos remerciements à **Mme Aideli** pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de faire partie du jury.*

*Nous tenon également à remercier **Khellaf Abd El Malek** doctorant à l'université de Bejaia de nous avoir orienté et aider dans la réalisation de ce travail*

Ne pouvons-nous empêcher d'avoir une pensée pour ceux et celles qui ont répondu présents et nous ont offert leur soutien moral dans les moments difficiles et qui étaient à nos côtés pour partager avec nous les moments de joie.

Je dédié ce travail

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chers frères Yacine et Amine

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A ma très chère cousine Lydia

Tu représentes pour moi à la fois la sœur soucieuse et l'amie que toute personne souhaite avoir.

Reçois ici l'expression de ma profonde gratitude.

A mes très chères amies : Yasmine ; Lamia ; Fayza ; Siham ; Farida

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

A ma collègue Dahbia et toute sa famille

Que dieu vous assiste.

Amira

Je dédie ce travail à

Ceux que j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très reconnaissant de les avoir et tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur port :

*«MES très **chères parents** à quoi je dois toute ma vie car ils m'ont donné pour faire de moi ce que je suis, mes parent qui sont mes pilier et sans eux rien n'a de la valeur.»*

*A mon cher fiancé«**Abd-El Malek**»qui a fait beaucoup de sacrifices pour moi .et toute sa famille.*

*A mes sœurs «**Nadjet et Noura**»*

*A mes frères «**Ibrahim et Amer**»*

A toute ma famille et tous les amis.

*Et en fin, à celle avec qui j'ai partagé ce travail «**Amira** » et toute sa famille.*

Dahbia

- **Anxiolytique** : est un médicament utilisé contre l'anxiété. Différentes molécules et différentes substances naturelles ou artificielles possèdent des effets anxiolytiques.
- **Astringentes** : désigne une capacité à contracter les muqueuses.
- **Athérosclérose** : Maladie dégénérative de l'artère ayant pour origine la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique) sur sa paroi.
- **Blennorrhée** : Maladie de l'urètre qui se produit sans flux inflammatoires.
- **Cardiovasculaire** : Relatif au cœur et aux vaisseaux sanguins.
- **Cognitives** : est le terme scientifique qui sert à désigner l'ensemble des processus mentaux qui se rapportent à la fonction de connaissance et mettent en jeu la mémoire, le langage, le raisonnement, l'apprentissage, l'intelligence, la résolution de problème, la prise de décision, la perception ou l'attention.
- **Collyres** : Liquide plus ou moins visqueux qui est utilisé comme traitement pour des conjonctivites ou des inflammations des paupières.
- **Coqueluche** : est une maladie respiratoire due à une bactérie appelée *Bordetella Pertussis*. Très contagieuse pour les personnes non immunisées.
- **Décoction** :
Action de faire bouillir des plantes dans de l'eau afin d'en extraire les principes solubles. Le liquide ou la boisson ainsi obtenue.
- **Dépuratif** : Tous ce qui purifie l'organisme, éliminer les toxines.
- **Diurétiques** : est une substance qui augmente la production d'urine qui peuvent être utilisées en cas de rétention d'eau et de symptômes qui vont généralement avec : les jambes lourdes, les sensations de gonflement ou de ballonnements.
- **Dysenterie** : est une inflammation de l'intestin qui peut être provoquée par des produits chimiques irritants, des bactéries, des protozoaires, ou des parasites.
- **Entorse** : est une lésion traumatique, touchant une articulation, et se caractérisant par une élongation ou une déchirure
- **Inflammation** : Ensemble de phénomènes réactionnels se produisant suite à la réponse des tissus conjonctifs, vascularisés, à une agression (traumatisme, infection, etc.), pouvant se manifester par divers signes (douleurs, tuméfaction, chaleur, rougeur, etc.).
- **Infusion** : Méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation végétale par dissolution dans un liquide initialement bouillant.

- **Leucorrhée** : est un écoulement non sanglant provenant de l'appareil génital féminin
- **Luxation** : désigne un déplacement d'une surface articulaire par rapport à une autre qui a pour conséquence une perte de contact articulaire entre elles.
- **Macération** : Mise en contact des parties actives, avec des solvants pendant un certain temps, à température ambiante, et sous agitation.
- **Pétale** : Chacune des parties dont est composée la corolle d'une fleur.
- **Phytothérapie** : Utilisation thérapeutique des plantes.
- **Radical libre** : Espèce chimique possédant un électron non apparié.
- **Rhume** : Inflammation des muqueuses du nez, de la gorge, des bronches.
- **Stress oxydant** : Situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques.
- **Toniques** : stimule l'activité de l'organisme.
- **Vermifuges** : Traitement médicamenteux qui tue les vers intestinaux, utilisé chez les humains et les animaux, suite d'une contamination par contact avec la terre ou par ingestion de certaines viandes mal cuites

Liste des abréviations

ANOVA: Analyse de la variance.

ARP: Puissance antiradicalaire

BSA : Bovin Serum Albumine (Sérum Albumine Bovine)

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent en Acide Gallique

EAT : Equivalent en Acide Tannique

EAC : Equivalent en Catéchine

EQ: Equivalent en Quercétine

IC 50 : Concentration Inhibitrice de 50% du radical DPPH

MS : Matière Sèche

Og : *Origanum glandulosum*

Pg : *Punica granatum*

Pp : *Prunus persica*

Rf : *Rubus fruticosus*

ROS : espèce réactive oxygénée

SDS : Sulfate Dodecyl de Sodium

TEA : Triéthanolamine

Tisane 1 : *O.glandulosum/R.fruticosus*

Tisane 2 : *P.granatum/P.persica*

Liste des figures

Figure 1 : Photographie d'un fruit du <i>Punica granatum</i>	3
Figure 2 : Photographie d' <i>Origanum glandulosum</i> Desf	5
Figure 3 : Photographie de <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	7
Figure 4 : Photographie de la partie aérienne de la Ronce.....	9
Figure 5 : Classification des polyphénols	12
Figure 6 : Structure des acides hydroxycinnamiques.....	13
Figure 7 : Structure des acides hydroxybenzoïques	13
Figure 8 : Des exemples des structures chimiques des flavonols	14
Figure 9 : Structure des tanins hydrolysables	15
Figure 10 : Structure des tanins condensés	16
Figure 11 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants	17
Figure 12 : Teneurs en humidité des échantillons.....	25
Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux de tisane 1 (Og,Rf)	27
Figure 14 : Teneurs en polyphenols totaux de tisane 2 (Pg,Pp)	28
Figure 15 : Effet de volume sur l'extraction des composés phénoliques de la tisane 1.....	29
Figure 16 : Effet du ratio échantillon/volume sur l'extraction des CP de la tisane 1.....	30
Figure 17 : Effet du volume de solvant sur l'extraction des CP de tisane 2	31
Figure 18 : Effet du ratio échantillon/volume sur l'extraction des CP de la tisane 2	32
Figure 19 : Effet de la température et la décoction sur l'extraction des CP des deux tisanes....	33
Figure 20 : Teneurs en différentes classes polyphénoliques des deux tisanes	35
Figure 21 : Pouvoir réducteur des deux tisanes	37

Liste des tableaux

Tableau I : systématique de <i>Punica granatum</i>	4
Tableau II : Systématique d' <i>Origanum glondulosum</i> Desf.....	6
Tableau III : Systématique de <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	8
Tableau IV : Systématique de <i>Rubus fruticosus</i> L.....	10
Tableau V: Pouvoir antiradicalaire (DPPH*) des deux tisanes.....	38

Remerciement**Dédicaces****Liste des abréviations****Listes des figures****Liste des tableaux****Introduction1****Synthèse bibliographique****I.Généralité sur les plantes étudiées.....3****I.1*Punica Granatum L.*.....3****I.1.1. Description botanique et répartition géographique.....3****I.1.2. Systématique.....4****I.1.3. Principes actifs et vertus thérapeutiques.....4****I.2. *Origanum glandulosum* Desf.....5****I.2.1. Description botanique et répartition géographique.....5****I.2.2. Systématique.....6****I.2.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques.....6****I.3.*Prunus persica* (L.)7****I.3.1. Description botanique et répartition géographique.....7****I.3.2. Systématique.....8**

I.3.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques.....	8
I.4. <i>Rubus fruticosus</i> L.....	9
I.4.1. Description botanique et répartition géographique.....	9
I.4.2. Systématique.....	10
I.4.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques.....	10
II. Tisane.....	10
II.1. les méthodes de préparation de tisane à base des plantes médicinales.....	11
III. Composés phénoliques et activité antioxydante.....	12
III.1. Définition des polyphénols.....	12
III.2. Classification des polyphénols.....	12
III.2.1. Acides phénoliques.....	13
III.2.2. Flavonoïdes.....	14
III.2.3. tanins.....	15
IV. Activité antioxydante.....	16
IV.1. Les radicaux libres.....	16
VI.2. Stress oxydatif.....	16
IV.3. Les antioxydants.....	17

Partie pratique

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal.....	19
---------------------------------	-----------

I.1. Echantillonnage et test d'humidité.....	19
I.2. Préparation des échantillons (Séchage, broyage et tamisage).....	19
II. Optimisation des paramètres de préparation de deux tisanes.....	20
II.1. Effet du rapport échantillon/échantillon sur la teneur en polyphénols totaux.....	20
II.2. Effet du rapport échantillon/solvant sur la teneur en polyphénols totaux.....	20
II.3. Effet de la température sur la teneur en polyphénols totaux.....	20
III. Dosage des composés phénoliques.....	21
III.1. Dosage des polyphénols totaux.....	21
III.2. Dosage des flavonoïdes.....	21
III.3. Dosage des flavanols.....	22
III.4. Dosage des tannins totaux.....	22
III-5-Dosage des tanins condensés (Proanthocyanidines).....	22
IV. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	23
IV.1. Pouvoir réducteur.....	23
IV.2. Pouvoir antiradicalaire (DPPH).....	23
V. Analyse statistique.....	24
Résultats et discussions	
I. Taux d'humidité.....	25

II. Optimisation des paramètres de préparation des deux tisanes : Og/Rf et Pg/Pp.....	26
II.1. Détermination des rapports optimums Og/Rf et Pg/Pp.....	26
II.1.1. La tisane 1 : Og/ Rf.....	26
II.1.2. La tisane 2: Pg/Pp.....	28
II.2. Détermination du rapport échantillon/solvant optimum pour préparer chaque tisane	29
II.2.1. La tisane 1 : Og/ Rf2.....	29
II.2.2. La tisane 2 : Og/ Rf.....	31
II.3. Détermination de la température optimale pour préparer chaque tisane.....	33
III. Dosage des composés phénoliques.....	35
IV. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	37
IV.1. Pouvoir réducteur.....	37
IV.2.Pouvoir antiradicalare (DPPH).....	38
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	
Annexes	
Glossaire	
Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Dans l'antiquité, certaines plantes étaient vénérées pour des vertus qu'on leur avait reconnues. L'homme s'est toujours soigné par ces plantes de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes, car personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissaient, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir, ou tout au moins soulager un état maladif ou des troubles organiques (Zenasni, 2014).

En effet, la plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs très divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante: qui doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit (prédateurs, microorganismes, pathogènes, etc...) (Kansole, 2009) ; pour se défendre, elle élabore diverses substances appelées métabolites secondaires (Naczka et Shahidi, 2004).

Les métabolites secondaires prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Muthu et al., 2006; Arora et al., 2013).

L'Algérie est l'un des pays disposant d'un important réservoir de plantes médicinales et phytothérapeutiques qui doivent être valorisées pour leur exploitation dans différents usages, notamment la fabrication de médicaments. Plus de 3164 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 7,9% endémiques restent très peu explorées sur le plan phytochimique, comme sur le plan pharmacologique (Krisknaiah et al., 2011).

Dans ce contexte, deux tisanes traditionnelles constituées de mélange de deux plantes chacune, ont fait l'objet de la recherche des meilleurs paramètres d'extraction des composés phénoliques, une méthode classique qui prend en considération facteur par facteur a été effectuée. Une évaluation de l'activité antioxydante avec deux méthodes (DPPH et le pouvoir réducteur) ainsi que le dosage des différentes classes polyphénoliques (polyphénols totaux,

tanins totaux, tanins condensés, flavonoïdes et flavonols) sont réalisés sur les tisanes optimisées. Les tisanes ainsi étudiées sont :

- Tisane 1 : *Origanum glandulosum* / *Rubus fruticosus*.
- Tisane 2 : *Punica granatum* / *Prunus persica*.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les plantes étudiées

I.1 *Punica granatum L*

I.1.1. Description botanique et répartition géographique

La grenade est le fruit du grenadier (*Punica granatum*), cette dernière est cultivé depuis 5000 à 6000 ans. Son nom est dérivé du latin « granatum » qui signifie « fruit à grain » (**QA international collectif, 1996**).

Le grenadier est un petit arbre à port arbustif des régions méditerranéennes qui peut atteindre 6 m de haut. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. La grenade est une grosse baie ronde, de la taille d'une grosse orange, à écorce dure et coriace (**Benoit, 2013**) qui a été appréciée à l'époque pour ses propriétés vermifuges, mais aussi pour sa pulpe désaltérante et son aptitude à se conserver et à résister aux chocs (**Calinet al., 2005**).

Le grenadier est fortement représenté au Moyen-Orient, sa terre d'origine. Ainsi, on le trouve fréquemment en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie, et en Inde. Il est aussi beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc. On le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, et en Bulgarie . De même en Amérique, la culture du grenadier reste très sporadique. Il est présent en Californie, dans l'Utah, en Alabama, Louisiane et Floride (**Wald, 2009**).



Nom vernaculaire français : grenadier

Nom vernaculaire anglais : pomegranate

Nom Vernaculaire arabe : romane

Nom vernaculaire kabyle : reman

Figure01 : Photographie d'un fruit du *Punica granatum L*.

I.1.2. Systématique

La classification de *Punica granatum* décrite par **Quezel et Santa(1963)** est présentée dans le tableau I.

Tableau I : systématique de *Punica granatum L.*

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae
Gere	Punica
Espère	<i>P.granatum L</i>

I.1.3. Principes actifs et vertus thérapeutiques

A partir de la fin du XIX^{ème} siècle l'écorce du fruit du grenadier «*malicorium*» et les fleurs connues pour être toniques et astringentes, sont employées, en usage interne, pour traiter la diarrhée et la dysenterie quand la période d'irritation est dissipée, ainsi que dans les hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie la leucorrhée et la blennorrhée (**Guillaume et Mach, 1987**).

On se sert également de ces écorces et fleurs, en usage externe, sous forme de gargarismes, afin de soigner le gonflement atonique des amygdales ainsi que la chute du rectum. L'œdème des extrémités et les engorgements articulaires à la suite d'entorse ou de luxation (**Cazin, 1868**). L'écorce est également riche en substances antimicrobiennes et antioxydantes, protège le fruit des prédateurs et des agressions du rayonnement solaire (**Curtayet al.,2008**).

La grenade correspond à l'écorce et aux membranes blanches, qui sont une source très importante de composés bioactifs tels les polyphénols, les flavonoïdes, les ellagitanins, les proanthocyanidines qui présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne et la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, cerebro-vasculaires et certains cancers (**Menaet al.,2011**).

La grenade est très sucrée, par contre la présence d'acide citrique la rend également acidulée. Elle est très juteuse, est aussi une source non négligeable de vitamine C qui contribue à la santé des os, des cartilages, des dents et des gencives. De plus, elle protège contre les infections, favorise l'absorption du fer contenu dans les végétaux et accélère la cicatrisation. Ce fruit fournit aussi de nombreuses vitamines du groupe B, et plus particulièrement de la vitamine B6 (Wald, 2009).

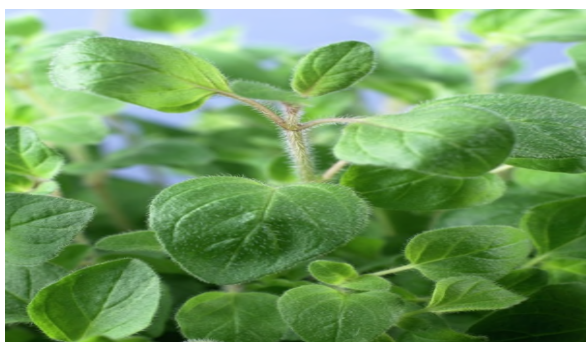
***1.2. Origanum glandulosum* Desf**

1.2.1. Description botanique et répartition géographique

L'origan est communément utilisé à travers le monde pour définir un arôme et une saveur épicée. Ce nom commun recouvre en réalité une soixantaine d'espèces. La majorité d'entre elles appartient aux familles botaniques des *Lamiaceae* et des *Verbenaceae* (Kintzios, 2002).

L'espèce *Origanum glandulosum* est une plante herbacée à tiges toutes dressées, rameuses souvent rougeâtres, persistantes de 30 à 60 cm de haut. Les feuilles sont opposées, ovales à elliptiques, courtement pétiolées, de petites taille (0,5 à 2,5 cm de long sur 0,5 à 1 cm de large) entières, de couleur grise feutrée car recouvertes de poils sur les deux faces (Boullard, 2001).

Les espèces du genre *Origanum* sont principalement distribuées sur le pourtour du bassin méditerranéen, dont près de 80 % exclusivement présents dans l'Est méditerranéen (Skoula *et al.*, 2002). Quatre espèces sont restreintes à l'Ouest méditerranéen et trois sont endémiques de la Libye. Certaines sont assez rares, comme *O. minutiflorum*, espèce endémique de Turquie limitée à une aire de distribution à l'ouest du massif du Taurus (Suhaj, 2006).



Nom vernaculaire français : Origan

Nom vernaculaire anglais : Oregano

Nom vernaculaire arabe : Zaàthar

Nom vernaculaire kabyle : Zaàthar

Figure02 : Photographie d'*Origanum glandulosum* Desf.

I.2.2.Systématique

La classification de cette plante décrite par **Quezel et Santa(1963)**est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Systématique d'*Origanum glandulosum* Desf.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylidones
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Origanum
Espèce	<i>Origanum glandulosum</i> Desf

I.2.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques

Les espèces d'origan sont d'une grande importance économique comme une épice. Ils sont également utilisés en médecine traditionnelle pour traiter les troubles de santé. Cependant, des études ont montré l'intérêt des plantes de ce genre en raison de leur effet antimicrobien (**Sözmenet al., 2012**).Cytotoxique (**El Babiliet al., 2011**), insecticide (**Traboulsiet al., 2002**) et antioxydant (**Lagouriet al., 1993 ; El Babili et al.,2011**).

Ses effets sont dus principalement aux tanins et aux substances amères de la plante ainsi qu'à son huile essentielle. Les plantes médicinales qui présentent cette combinaison de substances actives sont excellentes contre les affections de l'estomac et de l'intestin et les ballonnements. L'origan a une action désinfectante sur le système digestif et stimule simultanément la production de sucs digestifs. Elle est également indiquée en cas de diarrhées(**Mahmoudi, 1990**)

Les vertus de l'origan sont bien connues et appréciées dans les tisanes, sirops et bonbons contre la toux. Une décoction de l'origan utilisée en gargarisme apaise les maux de gorge et les inflammations de la bouche et du pharynx. Il est également employé dans le

traitement de l'asthme, de la coqueluche et de la bronchite. Les feuilles fraîches de l'origan mâchées apaisent également les maux de dents. Les bains de l'origan ont des effets bénéfiques en cas de refroidissement et de rhumatismes. L'origan pris en infusion, additionné à l'eau de bain ou à une huile de massage ou appliquée en compresse a une action relaxante en cas de maux de tête, de nervosité, d'irritabilité et de troubles de la menstruation (**Erdogan et Belhattab, 2010**).

I.3. *Prunus persica* (L.) Batsch

I.3.1. Description botanique et répartition géographique

Le pêcher est un petit arbre fruitier pouvant atteindre au maximum 6 m. Ses feuilles sont étroites pointues, lisses, vertes, finement dentées (**Yanishlieva-Maslarova et al., 2001**). L'épiderme des fruits est soit lisse ou pubescent, de couleur jaune-vert ou rouge avec tous les intermédiaires possibles et des rayures (**Bretonneau et al., 1991**).

Le pêcher est très fréquemment cultivé (**Bezanger-Beauquesne et al., 1990**), largement distribué dans le monde dans les régions tempérées, donne de bons résultats lorsque les sols peu calcaires et bien drainés (**Michel, 1984**). Le pêcher est originaire de la Chine sa culture date plus de 4000 années (**Bouhadida et al., 2008**).



Nom vernaculaire français : Pêcher

Nom vernaculaire anglais : Peach

Nom vernaculaire arabe : El-khouk

Nom vernaculaire kabyle : El-khoukh

Figure 3 : Photographie de *Prunus persica* (L.) Batsch.

I.3.2.Systématique

La systématique de *Prunus persica* est présentée dans le tableau III.

Tableau III : Systématique de *Prunus persica* (L.) Batsch (Laterne et Lespinasse, 2008 ; El Debbagh, 2016).

Règne	Végétal
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Sous famille	Amygdaloideae
Genre	Prunus
Espèce	<i>Prunus Persica</i>

I.3.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques

En étudiant la composition chimique des feuilles de *P. persica*, elle dispose en éléments minéraux tels Calcium, Manganèse, Magnésium, Phosphore, Potassium, Azote et Zinc (Michel, 1984). Les composés phénoliques majoritaires retrouvés dans ses feuilles sont l'acide férulique et l'acide *p*- coumarique (Liakopoulos *et al.*, 2001).

Les composés phénoliques représentent les principes source de la capacité antioxydante de la pêche, ils sont connus pour améliorer la stabilité des lipoprotéines de basse densité (LDL) à l'oxydation, ce qui contribue à la prévention de l'athérosclérose et de certaines maladies crâniennes (Drogoudi *et al.*, 2007). La pêche est une source de fibres alimentaires (Leontowicz *et al.*, 2002).

Le fructose contenu dans la pêche a un effet bénéfique sur la santé gastro-intestinale, car il favorise la croissance des bifidobactéries et lactobacilles dans le gros intestin qui représente la flore bénéfique. La pêche est un fruit peu sucré, riche en sorbitol, ce sucre alcool présente

des effets bénéfiques en matière de santé dentaire et de diététique. La pêche peut donc être consommée par les diabétiques(Lacoste, 2006)

I.4. *Rubus fruticosus* L

I.4.1. Description botanique et répartition géographique

La ronce commune mesure en moyenne 4 m de hauteur. Il s'agit d'une plante vivace, semicaducet épineuse. Les feuilles sont vertes portant trois lobes, garnies de poils épars sur les deux faces. Elles comportent cinq folioles souvent plissées et finement dentées. La fleur se trouve construite selon le schéma propre à cette famille: Cinq pétales roses ou presque blanches, cinq sépales verts sur le dos, étalées et concaves et de nombreuses étamines plus courtes que les styles ou les égalant à peine. Les fruits sont des grappes de baies noires(Bruzzese *et al.*,2000).

L'espèce est présente sur tout l'hémisphère nord, des régions tempérées aux régions froides, du bord de mer balayé par les embruns au bord des glaciers à 2300 mètres d'altitude. Le Mûrier sauvage s'est acclimaté en Amérique et en Australie. Il pousse surtout dans les haies et les forêts (Iserin, 2001).



Nom vernaculaire français : Ronce commune, Ronce des haies, Ronce, Mures sauvages;

Nom vernaculaire anglais : Blackberry;

Nom vernaculaire kabyle : Inigel

Nom vernaculaire arabe : Tût el Ullayq.

Figure 04 : Photographie de la partie aérienne de *Rubus Fruticosus*.

I.4.2.Systématique

D'après **Bock (2013)**, la classification de la Ronce est présentée dans le tableau IV.

Tableau IV : Systématique de *Rubus fruticosus* L.

Règne	Plante
Sous règne	Tracheobionta
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	Rubus
Espèce	<i>Rubus fruticosus</i> L

I.4.3.Principes actifs et vertus thérapeutiques

Les feuilles du murier sont couramment utilisées en phytothérapie car elles possèdent de nombreuses vertus, en effet celles-ci sont un excellent antidiabétique, dépuratif, astringentes, et donc souvent utilisées dans le traitement des inflammations de la gencive, des ulcères de la cavité buccale et de la toux. Elles sont dotées aussi de propriétés anti diarrhéiques, diurétiques et anti hémorroïdaires (**Zia-Ul-Haq et al., 2014**). D'après **Riaz et al, (2011)**, la mûre dispose également d'un pouvoir anxiolytique par dépression du système nerveux central. Ce dernier est plus élevé dans les fruits et il est minime dans les tiges. En plus de ces activités, l'étude menée par **Gomar et al, (2014)** met en évidence un effet protecteur des difficultés cognitives.

II. Tisane

La tisane est un moyen très accessible de profiter des bienfaits de la phytothérapie. Elle consiste à extraire les composés aromatiques des plantes par différentes méthodes de préparation telles que la macération, la décoction ou l'infusion de matériel végétal (fleurs fraîches ou séchées, tiges, racines, feuilles) généralement dans de l'eau chaude (**Odile et Danielle, 2004**).

II.1. Les méthodes de préparation des tisanes à base des plantes médicinales

Pour préparer des tisanes, il faut avoir une connaissance des propriétés des plantes et leurs utilisations médicales (phytothérapie de la plantes, les molécules actives, les maladies).

a) Décoction

La décoction consiste à faire bouillir la plante dans l'eau pendant 5 à 15 minutes, puis à filtrer le liquide obtenu (le décocté). Cette technique est adaptée aux parties dures et compactes (bois, écorces, tiges, racines) qui ne délivrent leurs principes actifs que sous l'action prolongée de la chaleur.

b) Infusion

L'infusion consiste à verser de l'eau bouillante sur les plantes ; après 5 à 10 minutes dans un récipient couvert, l'ensemble est filtré pour donner l'infusée. L'infusion est adaptée aux parties des plantes délicates : feuilles, fleurs, sommités fleuries. Les infusions sont bues ou quelque fois utilisées en usage local (gargarismes, collyres) ou en usage externe (bains, lotions).

c) Macération

C'est une solution obtenue en traitement, pendant un temps plus ou moins long, une plante par l'eau froide pour en obtenir les principes solubles (selon les cas, de quelques heures à plusieurs jours par fois plusieurs semaines) (**Muanda, 2010**).

III. Composés phénoliques

III.1. Définition des polyphénols

Au sens strictement chimique du terme, les « polyphénols » devraient se restreindre aux structures qui comportent au moins deux groupements phénoliques, quel que soit le nombre de groupes hydroxyles qu'ils portent chacun (Quideau *et al.*, 2011).

Ce sont des métabolites secondaires des plantes (Garcia-Salas *et al.*, 2010 ; Ryu *et al.*, 2016; Tiwari *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2017), représentent la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) (Serrano *et al.*, 2010) et jouent également un rôle dans la protection des plantes contre les agressions pathogènes (Drewnoski *et al.*, 2000; Zem et Fernandez, 2005).

III.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros, 2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Selon Manach *et al.* (2004), les polyphénols sont répartis en plusieurs classes comme l'indique la figure 5

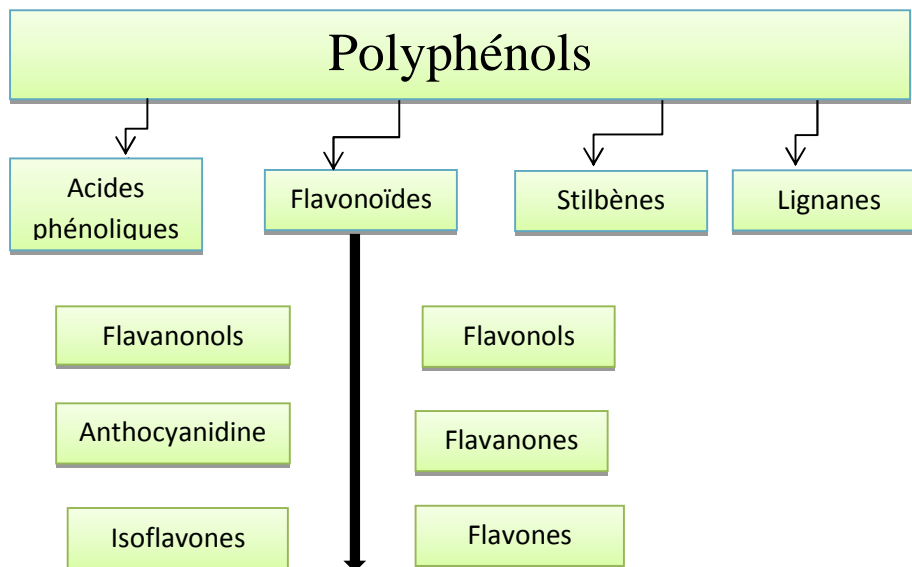


Figure 5: Classification des polyphénols (Manach *et al.*, 2004)

III.2.1. Acides phénoliques

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 2009). Les acides phénoliques se scindent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques, et les acides hydroxycinnamiques (Han et al., 2007).

a) Les acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque, qui ont une structure générale de base de type (C6-C1) (figure 6). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Macheix et al., 2005).

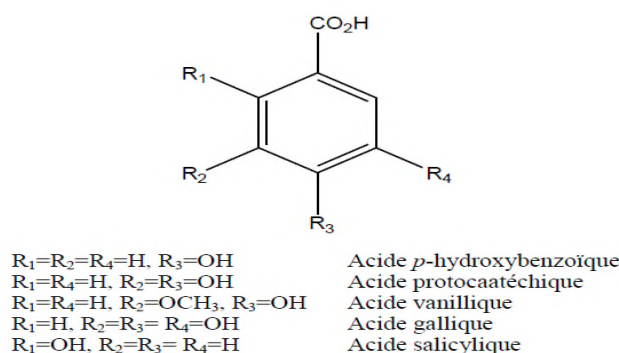


Figure 6: Structure des acides hydroxybenzoïques (Macheix, et al., 2005).

a) Les acides hydroxycinnamiques (phénylpropanoïdes)

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique, qui ont une structure générale de base de type (C6-C3) (figure 7). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (Acide vanillique, Acide gallique) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

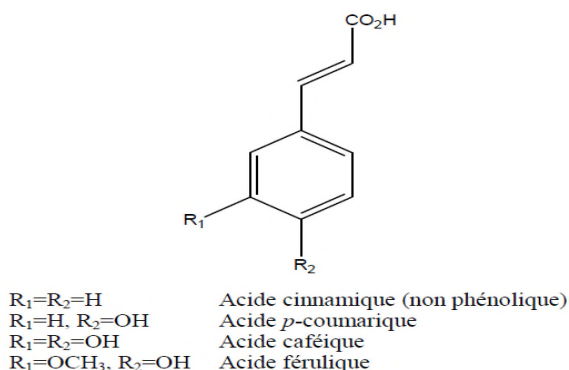


Figure 7 : Structure des acides hydroxycinnamiques (Chanforan, 2010)

III.2.2.Flavonoïdes

Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (**Edenharder et Grünhage, 2003**) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (**Yao et al., 2004**).

Ces molécules ont un rôle importantes dans la santé humaine, grâce à leurs divers propriétés biologiques importantes (pouvoir antioxydant, inhibition de la peroxydase lipidique, activité anti-inflammatoire...ect.Elles sont utilisées en bactériologie, pharmacologie et en médecine (**Alcarazetetal., 2000 ;Rodriguez-Vaquero et al.,2007**).

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, lesisoflavones et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle. (**Sadasivamet al., 2003**).

➤ Les flavanols

Les flavonols sont caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C3 (**figure8**). Ils sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal, leur couleur varie du blanc au jaune, elles sont essentiellement représentées par la quercétine, le kaempférol et la myricétine. (**Fraga, 2009**).

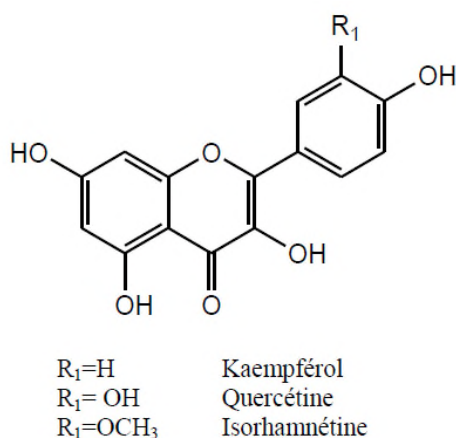


Figure8: Des exemples des structures chimiques des flavonols(**Fraga,2009**).

III.2.3. Tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, localisés dans les vacuoles, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (**Aguilera-Carboet al.,2008**) . Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant, très répandu dans le règne végétal. Les tanins peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés. (**RouxetCatier,2007**).

a) Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (figure 9) sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides : l'acide gallique pour le groupe des gallotanins et l'acide ellagique pour le groupe des ellagitanins, leur hydrolyse par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (**Ghestem et al., 2001**).

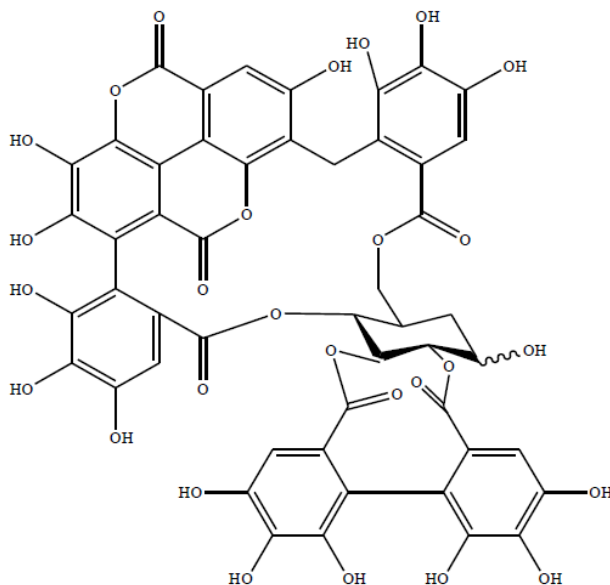


Figure 9: Structure des tanins hydrolysables (**Ghestem et al., 2001**).

b) Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines. Les tanins condensés (figure 10) sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-

oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A (Wollgast et Anklam, 2000 ; Dykes et Anklam , 2006).

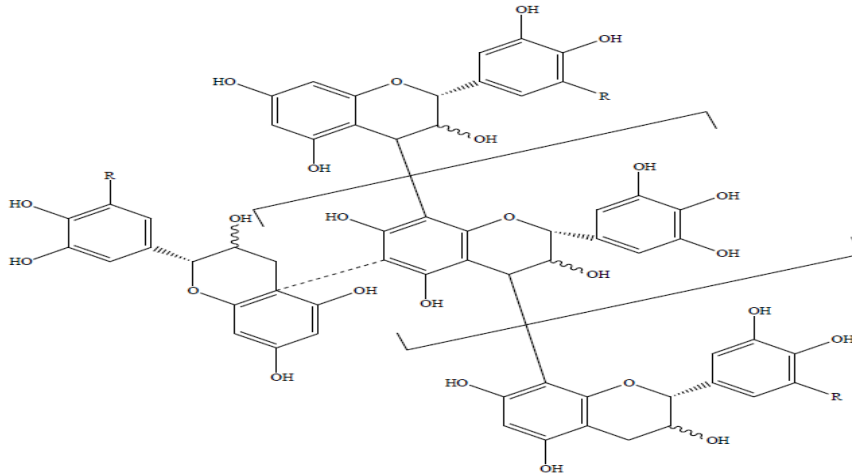


Figure 10 :Structure des tanins condensés. (JarrigeetRuckebusch,1995).

IV. Activité antioxydante

IV.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron célibataire qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de radicaux libres est normale et ne constitue pas une situation pathologique en soi. En effet, elle joue un rôle dans certaines voies de signalisation.

De plus, il existe divers systèmes permettant d'éliminer les ROS et de rétablir la balance oxydative. Ces systèmes peuvent être des enzymes d'origine endogène (catalase par exemple) ou de simples molécules d'origine exogène (vitamine E par exemple) (Florence,2016).

IV.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre production de radicaux libres et espèces anti-oxydantes en faveur de la production de radicaux libres ou espèces réactives oxygénées. Ceci est induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant (Florence, 2016).Le stress oxydant est l'un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies

plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

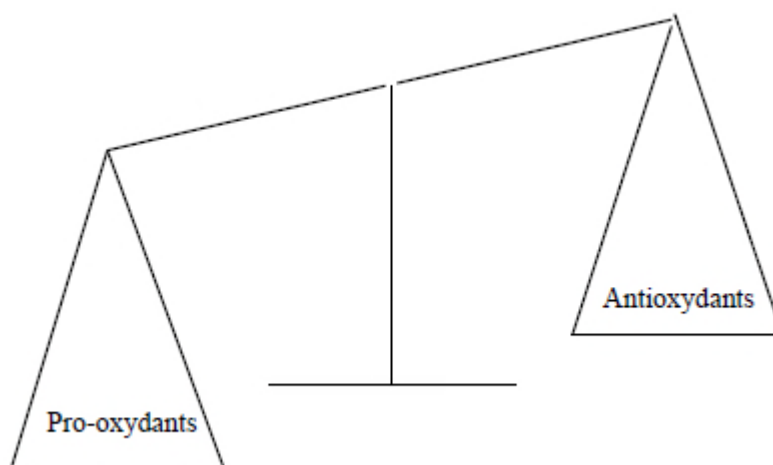


Figure 11 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants (**Papazianet al.,2008 ; Cristopheet al., 2011 ; Florence, 2016**).

IV.3. Les antioxydants

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (**Al-Mamaryet al.,2002 ; Boyd et al., 2003 ; Karouet al., 2005**). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Vansant, 2004**), capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. (**Hellal, 2011**).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que le substrat. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol(**Yaacoub, 2009**).

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres et chélater les ions des métaux de transition est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres et aux positions desgroupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques (**Rice-Evans et al., 1996 ;Daietal.,2010**).

En ce qui concerne le pouvoir antioxydant des flavonoïdes vis-à-vis des radicaux libres, il est dû à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (**Sandharet *al.*, 2011**). Les flavonoïdes exercent aussi des effets antioxydants par la chélation des ions métalliques (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires (**Van Acker *et al.*, 1996 ; Verdant *al.*, 2011**).

Des données scientifiques suggèrent que les antioxydants réduisent le risque de maladies chroniques tels que le cancer et les maladies cardiaques (**Yasameenet *al.*, 2017**).

PARTIE

PRATIQUE

MATÉRIEL
ET
MÉTHODES

I. Matériel végétal

I.1. Echantillonnage et test d'humidité

Quatre plantes sélectionnées sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle locale à savoir, *Punica Granatum*, *Origanum glandulosum*, *Prunus Persica*, *Rubus fruticosus*. Les fruits du grenadier sont cueillis à partir des arbres cultivés et les feuilles des trois autres plantes ont été collectées dans leurs habitats ou elles se développent d'une manière sauvage. Les échantillons ont été collectés dans des endroits loin de tout impact de pollution. L'échantillonnage a été réalisé d'une manière aléatoire à partir de plusieurs arbres et arbustes (annexe 1).

Afin de déterminer la teneur en humidité, juste après la récolte, une dessiccation à été réalisée à 103°C pendant 4 heures dans une étuve (Doymaz *et al.*, 2004). La teneur en eau est calculée à partir de la formule suivante :

$$\text{La teneur en eau (\%)} = [(M_f - M_s) / M_f] \times 100$$

M_f : Matière fraîche (g).

M_s : Matière sèche (g).

I.2. Préparation des échantillons (Séchage, broyage et tamisage)

Les feuilles des plantes et les écores de fruit des grenades ont été choisies, nettoyées et débarrassées de la poussière et d'autres impuretés, puis ont été séchées à l'étuve, réglée à 40°C.

Les feuilles et les écores séchées, de chaque plante, ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique (Techwood), puis sont soumises à un tamisage à l'aide d'un tamiseur, seules les fractions dont le diamètre inférieur à 0,5mm a été utilisé pour l'extraction.

Les poudres obtenues sont conservées à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des bocaux en verre opaques, préalablement séchés à l'étuve, pour des utilisations ultérieures.

II. Optimisation des paramètres de préparation de deux tisanes

II.1. Effet du rapport échantillon/échantillon sur la teneur en polyphénols totaux

En se basant sur l'utilisation et les effets thérapeutiques des tisanes traditionnelles préparées à base des plantes étudiées, deux mélanges composés de deux plantes ont été réalisées comme suit : *O.glandulosum* / *R.fruticosus* (tisane 1) et *P.granatum* / *P.persica* (tisane 2).

Pour déterminer le rapport échantillon/échantillon optimum pour donner le maximum de composés phénoliques, pour chaque tisane, les rapports suivants ont été testés: 25/75, 50/50 et 75/25 (mg/mg), avec fixation du ratio échantillon/solvant, du temps et de la température d'extraction à 100mg/30mL, 10 min et 100°C, respectivement.

II.2. Effet du rapport échantillon/solvant sur la teneur en polyphénols totaux

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée en utilisant les mélanges déterminés précédemment, en faisant varier le ratio échantillon/solvant de 100/20, 100/35, 100/65, 100/75, 100/100, 100/150 et 100/200 (mg/mL) pour la tisane 1 et de 100/50, 100/75, 100/100, 100/150, 100/200, 100/250, et 100/300 (mg/mL) pour la tisane 2, avec fixation du temps et de la température d'extraction à 10 min et 100°C, respectivement.

Pour confirmer les résultats obtenus dans la présente étape, le volume a été fixé aux optimums retrouvés en variant la quantité de chaque mélange comme suit : 10/35, 70/35, 100/35, 130/35 et 160/35 (mg/ml) pour la tisane 1 et de 40/250, 70/250, 100/250, 130/250, 150/250, 160/250 et 170/250 pour la tisane 2 avec fixation du temps et de la température d'extraction à 10 min et 100°C, respectivement.

II.3. Effet de la température sur la teneur en polyphénols totaux

Les composés phénoliques des deux mélanges de plantes étudiés sont extraits en faisant varier la température d'extraction : 60, 80, 100°C sous forme d'infusion et une extraction sous forme de décoction en fixant le temps d'extraction à 10min et d'autres paramètres aux optimums déterminés dans les étapes précédentes.

III. Dosage des composés phénoliques

III.1. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_2O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). L'intensité de la couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (**Ribèreau-Gayon, 1968 ; Lapornik, 2005**).

La méthode de dosage des composés phénoliques totaux utilisée est celle de Folin Ciocalteu rapportée par **Medouni-Adrar et al. (2015)**, elle consiste à mélanger 200 μ l d'extrait avec 1500 μ l du réactif de Folin- Ciocalteu (dilué au 1/10). Après 3 min, 1500 μ l de carbonate de sodium (6%) sont additionnés. Le mélange est laissé à température ambiante pendant 30 min et L'absorbance est mesurée à 760 nm. Une courbe standard est réalisée avec l'acide gallique dans les mêmes conditions que le dosage des échantillons. Les résultats sont rapportés en mg équivalent de l'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). (**Annexe 3.1**).

III.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode colorimétrique de **Lamaison et Carnat, (1991)** rapportée par **Bahorun et al, (1996)**. Cette méthode est basée sur la formation de complexes jaunâtres suite à la chélation de métaux Al^{3+} , utilisés sous forme de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), par les groupements OH. La coloration ainsi formée est proportionnelle au taux de flavonoïdes dans le mélange (**Ribèreau-Gayon, 1968**).

1ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ (0,1 M), à 2% est additionné à 1 ml d'extrait. Le mélange est vigoureusement homogénéisé et laissé reposer pendant 15 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances des échantillons sont lues au spectrophotomètre à 455nm. Les résultats sont rapportés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). (**Annexe 3.2**).

III.3. Dosage des flavanols

La méthode rapportée par **kumuran et Karunakaran (2007)** est utilisée pour estimer la teneur en flavonols : 0,5ml de chlorure d'aluminium (2%) et 0,75ml d'acétate de sodium sont ajoutés à 0,5ml d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440nm. Le contenu en flavonols est exprimé en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche (mg EQ/gMS) par référence à une courbe d'étalonnage (**Annexe 3.3**).

III.4. Dosage des tanins totaux

Dans la présente étude, nous avons utilisé le protocole de précipitation des protéines (BSA) proposé par **Hagerman et Butler (1978)**, pour estimer le contenu en tanins totaux.

Cette méthode qui utilise la Sérum Albumine Bovine (BSA), est basée sur l'aptitude de précipiter les protéines tanins formant ainsi un complexe insoluble tanins-BSA. Ce précipité une fois dissout dans la solution alcaline (SDS/TEA), forme un complexe ion ferrique-polyphénols de couleur bleu-vert-violacée.

1ml de solution BSA est ajouté à 1ml de solution extrait. Après 24 heures d'incubation à 4°C, une centrifugation est réalisée à 4000 rpm pendant 15min. le culot récupéré est dissout dans 2 ml de la solution SDS/TEA pendant 15 min, puis additionné de 0,5 ml de chlorure de fer (FeCl₃) à 0,1%. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement avant d'être laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 15min.

Les absorbances des échantillons sont lues à 510nm ; les résultats sont rapportés en mg équivalent d'acide tannique par g de matière sèche (mg EAT/g MS). (**Annexe 3.4**).

III-5-Dosage des tanins condensés (Proanthocyanidines)

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide selon le protocole décrit par **Mélo et al. (2006)**. Cette méthode est basée sur la capacité de vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré.

500µl de la solution de vanilline (4%) et 250µl d'HCl sont ajoutées à 350µl d'extrait. Après incubation pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 500 nm.

Le contenu en tanins est exprimé en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS). (**Annexe 3.5**).

IV. Evaluation du pouvoir antioxydant

IV.1. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur du molybdate d'ammonium repose sur la réduction du molybdate sous la forme Mo^{6+} à la forme Mo^{5+} par des substances organiques antioxydantes. En milieu acide, il y a formation d'un complexe phosphate- Mo^{5+} qui se traduit par une coloration verte et dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Bougatef et al., 2009**).

La détermination de l'activité antioxydante en utilisant le molybdate d'ammonium est réalisée selon la méthode décrite par **Silici et al. (2010)**. Un solvant réactif, formé de phosphomolybdate d'ammonium, phosphate de sodium et d'acide sulfurique a été utilisé (**Annexe 2**).

2ml du solvant réactif sont ajoutés à 200 μl d'extrait. Après incubation au bain-marie à 90°C pendant 1H30 min. l'absorbance a été mesurée à 695 nm. Les résultats sont déterminés en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**annexe 4.1**) et sont exprimés en mg EAG/g MS.

IV.2. Pouvoir antiradicalaire (DPPH)

Le piégeage du radical stable DPPH \cdot est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante (**Sundararajan et al., 2006 ; Ferreira et al., 2007 ; Blanc et al., 2011**).

Le radical DPPH \cdot entre en réaction avec des agents réducteurs donneurs d'atome d'hydrogène qui sont capables de réduire ce radical (**Hinneburg et al., 2006 ; Hubert, 2006 ; Subhasree et al., 2009 ; Coelho et al., 2010**). Les substances qui sont en mesure d'effectuer cette réaction peuvent être considérée comme des antioxydants et donc des piègeurs de radicaux (**Amarowicz et al., 2004 ; Hinneburg et al., 2006; Mathew et Abraham, 2006**).

Pour chaque extrait, cinq dilutions ont été préparées dans du méthanol (1,93 à 9,67 mg/L). 2 mL de chaque dilution ont été ajoutés à 0,15 mL d'une solution méthanolique de DPPH^{*} (10⁻³M) et maintenu dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 min. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 517 nm par rapport à un témoin préparé sans extrait (Blois, 1958).

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = (\text{Abs}_{\text{contr}} - \text{Abs}_{\text{séch}} / \text{Abs}_{\text{contr}}) 100$$

Dont :

Abs_{contr} : Absorbance du contrôle

Abs_{séch} : Absorbance de l'échantillon

V. Analyse statistique

Tous les tests ont été effectués en triple. Les moyennes et les écarts types sont calculés avec Excel de Microsoft Office 2010.

Une analyse statistique est faite par l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur avec une comparaison multiple des moyennes (Test Fisher LSD) à l'aide de logiciel STATISTICA 5.5 Fr.

RÉSULTATS
ET
DISCUSSION

I. Taux d'humidité

Les résultats de la figure 12 ont montré des taux d'humidité relativement élevés avec des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différents échantillons.

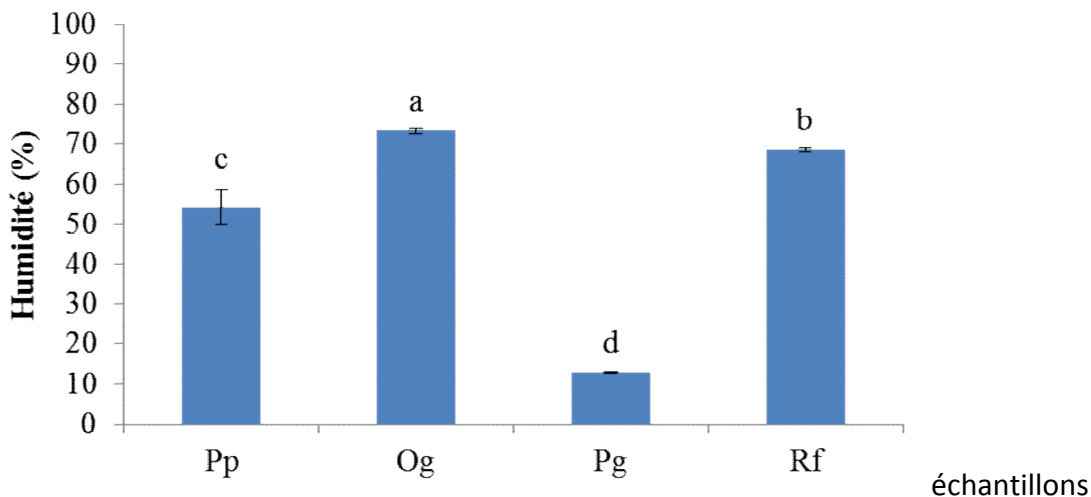


Figure 12 : Teneurs en humidité des échantillons

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d$.

Les feuilles de l'*O. glandulosum* (Og) présentent le taux d'humidité le plus élevé $73,42 \pm 0,63\%$ suivi par *R. fruticosus* (Rf) avec une teneur de $68,62 \pm 0,005 \%$ et *P. persica* (Pp) avec un taux de $54,31 \pm 0,04 \%$, les écorces de *P. granatum* (Pg) montrent le taux le plus faible $13,01 \pm 0,17\%$.

Le séchage des plantes surtout ayant un taux d'humidité élevé, est recommandé avant l'étape d'extraction qui généralement ne peut être réalisé aussitôt après la collecte des échantillons. Plusieurs raisons expliquent le recours à l'élimination d'eau ; d'après **Ribéreau Gayon (1968)**, l'eau présente une source de dégradation des polyphénols par le phénomène d'oxydation.

II. Optimisation des paramètres de préparation des deux tisanes : Og,Rf et Pg,Pp

L'extraction des composés phénoliques est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction utilisée, la taille des particules, le temps et la température d'extraction. Ainsi, les composés phénoliques des plantes sont souvent un mélange des différentes classes des polyphénols qui sont soluble dans le système d'extraction utilisé (Naczk et Shahidi, 2006 ; Chirinos *et al.*, 2007).

L'objectif de l'étape d'extraction des composés phénoliques à partir de la matrice végétale est de libérer ces composés à partir des structures vacuolaires où elles se trouvent, par la rupture des tissus végétaux ou par le phénomène de diffusion (Chaalal, 2013).

II.1. Détermination des rapports optimums des échantillons Og/Rf et Pg/Pp

Afin de déterminer les rapports optimums, des extractions de composés phénoliques des différents échantillons ont été réalisées.

II.1.1. La tisane 1 : échantillon Og/ Rf

La teneur en polyphénols totaux des différents ratios échantillon/échantillon est présentée dans la figure 13.

L'étude statistique montre des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différents mélanges, excepté l'extrait de Og/Rf : 25/75 (%/%) et l'extrait de Rf (100%) qui présentent des teneurs en composés phénoliques similaires ($p > 0,05$) et les plus élevées.

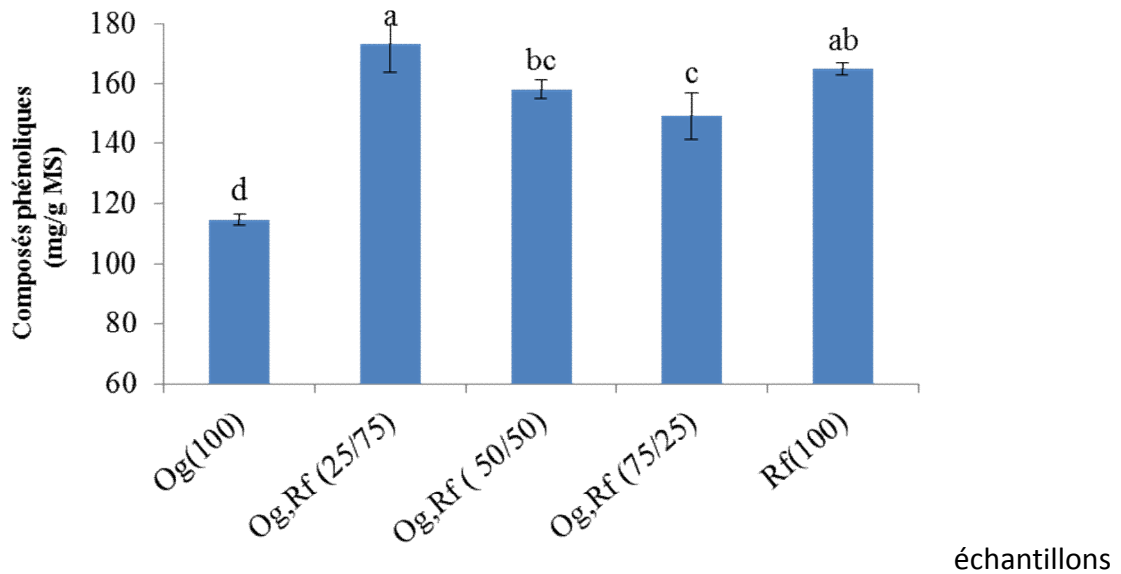


Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux de tisane 1 échantillon (Og,Rf).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c$.

Les résultats obtenus montrent clairement que *R. fruticosus* est l'espèce la plus riche en composés phénoliques, avec une teneur de $164,70 \pm 1,95$ mg EAG/ g MS, en comparaison à l'*O. glandulosum* ($114,71 \pm 1,90$ mg EAG/ g MS), ce qui explique la teneur la plus élevée obtenue dans le mélange de ratio 25/75 ($173,21 \pm 9,63$ mg EAG/g MS). En deuxième position se retrouve les deux autres mélanges avec des teneurs en polyphénols statistiquement similaires ($p > 0,05$). Suite à ces résultats, pour préparer une tisane du mélange d'Og et Rf donnant un maximum de polyphénols, le mélange Og,Rf : 25/75 a été choisi.

Dans une étude effectuée par **Skерget et al. (2005)** et **Rodriguez-Meizoso et al. (2006)**, sur les extraits de feuilles d'*Origanum glandulosum* ont obtenus des teneurs en polyphénols totaux de 186 mg et 182 mg EAG/ g MS respectivement, ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés dans la présente étude, la différence et peut être due à la méthode d'extraction qui est réalisée avec des solvants différents. En effet, plusieurs travaux montrent que l'éthanol et le méthanol, comme solvants d'extraction, donnent des rendements en polyphénols plus important en comparaison au solvant aqueux (**Chaalal et al., 2013 ; Dahmoune et al., 2013 ; Medouni-Adrar et al., 2015**).

II.1.2. La tisane 2: échantillon Pg/Pp

La teneur en composés phénoliques totaux des différents ratios échantillon/échantillon est présentée dans la figure 14.

L'étude statistique montre des différences significatives ($p < 0,05$) entre les teneurs en composés phénoliques des différents extraits, sauf pour les extraits Pg et pg/Pp qui présentent des teneurs statistiquement similaires ($p < 0,05$). L'ordre ainsi obtenu est comme suite : Pg/Pp (75/25 : %/%) > Pg/Pp (50/50 : %/%) > Pg/Pp (25/75 : %/%) > Pg (100%) > Pp (100%).

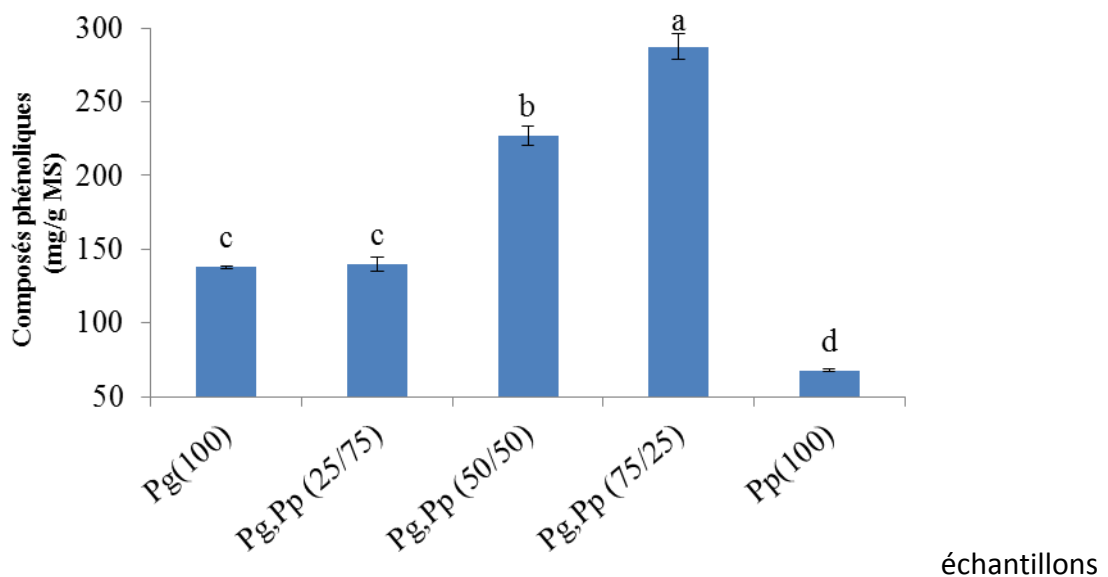


Figure 14 : Teneurs en polyphenols totaux de tisane 2 échantillon (Pg,Pp).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d$.

Nous remarquons clairement que *P.granatum* est plus riche en composés phénoliques que *P.persica* avec des teneurs (138.02 ± 0.92 , 67.85 ± 0.96 mg EAG/ g MS) respectivement.

Il est important de souligner, que les teneurs en composés phénoliques totaux les plus élevées sont obtenues quand les deux plantes sont mélangées, en comparant aux extraits lorsqu' ils sont préparés seuls. En effet, l'extrait obtenu à partir du mélange Pg,Pp (75/25) présente une teneur 2 fois plus importante que celle enregistrée dans l'extrait de Pg (100%) et presque 4 fois plus que celle notée dans l'extrait Pp (100%). Sachant que, le principe de dosage des composés phénoliques repose sur le même principe d'évaluation du pouvoir

réducteur, nous pouvons suggérer que ces observations peuvent être expliquées par l'apparition d'un effet synergique entre les composés phénoliques, des deux plantes, à réduire l'acide phosphotungstique et l'acide phosphomolybdique du réactif de Folin-Ciocalteu. En effet, plusieurs auteurs supposent l'existence d'un effet synergique, pour réduire le fer ferrique en fer ferreux, entre les constituants présents dans les extraits (**Philpott *et al.*, 2004 ; Tachkittirungrod *et al.*, 2007 ; Bourgou *et al.*, 2008**).

Il est à noter aussi que, plus le mélange des deux plantes est enrichi en Pp, plus le contenu phénolique total est élevé cela peut être expliqué par le fait que l'extrait de Pp est plus riche en Polyphénols totaux par rapport à l'autre. Ainsi, le rapport optimum choisi dans le cas de la tisane Pg/Pp est : 75/25 (%/%).

II.2. Détermination du rapport échantillon/solvant optimum pour préparer chaque tisane

II.2.1. La tisane 1: échantillon Og, Rf

Les résultats de dosage des composés phénoliques des extraits à différents ratios échantillon/ volume sont présentés dans la figure 15.

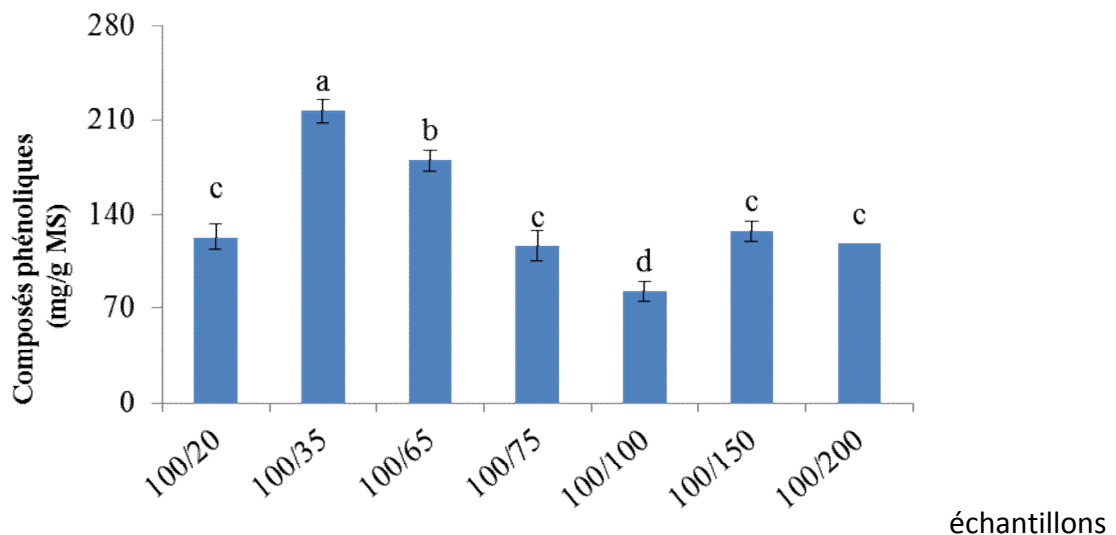


Figure 15: Effet de volume sur l'extraction des composés phénoliques de la tisane 1 échantillon (Og,Rf).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d$.

Après l'analyse statistique des données expérimentales, les meilleurs volumes d'extraction de composés phénoliques de mélange Og,Rf est 100/35 ml avec une teneur en polyphénols totaux de $248,15 \pm 9,8$ mg EAG/g MS à un $p < 0,05$.

La figure 16 illustre les résultats de l'effet du rapport échantillon/volume dont le volume a été fixé à 35 ml (volume optimum fixé suivant les résultats obtenus).

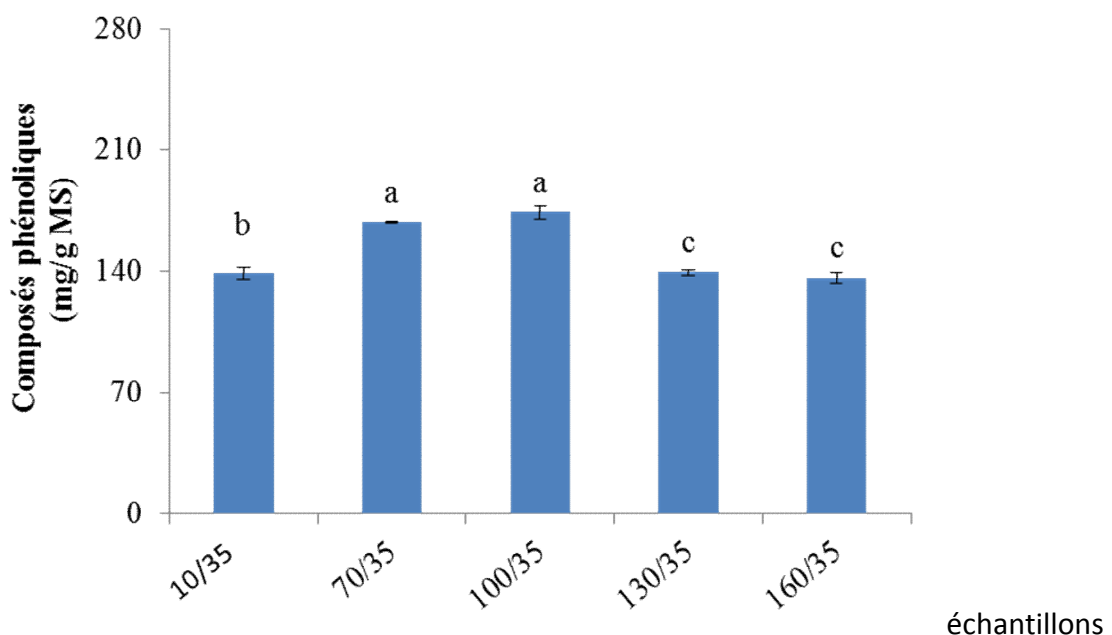


Figure 16 : Effet du ratio échantillon/volume sur l'extraction des composés phénoliques de la tisane 1(Og, Rf).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c$.

L'analyse statistique indique des différences non significatives ($p > 0,05$) entre les rapports 70/35 et 100/35 (mg/ml) avec des teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, suivis par le rapport 10/35 (mg/ml) et en dernier se trouve les deux rapports 130/35 et 160/35 avec des teneurs similaires statistiquement ($p > 0,05$).

II.2.2. La tisane 2: échantillon Pg,Pp

Les résultats de dosage des composés phénoliques des extraits à différents ratios échantillon/solvant sont présentés dans la figure 17.

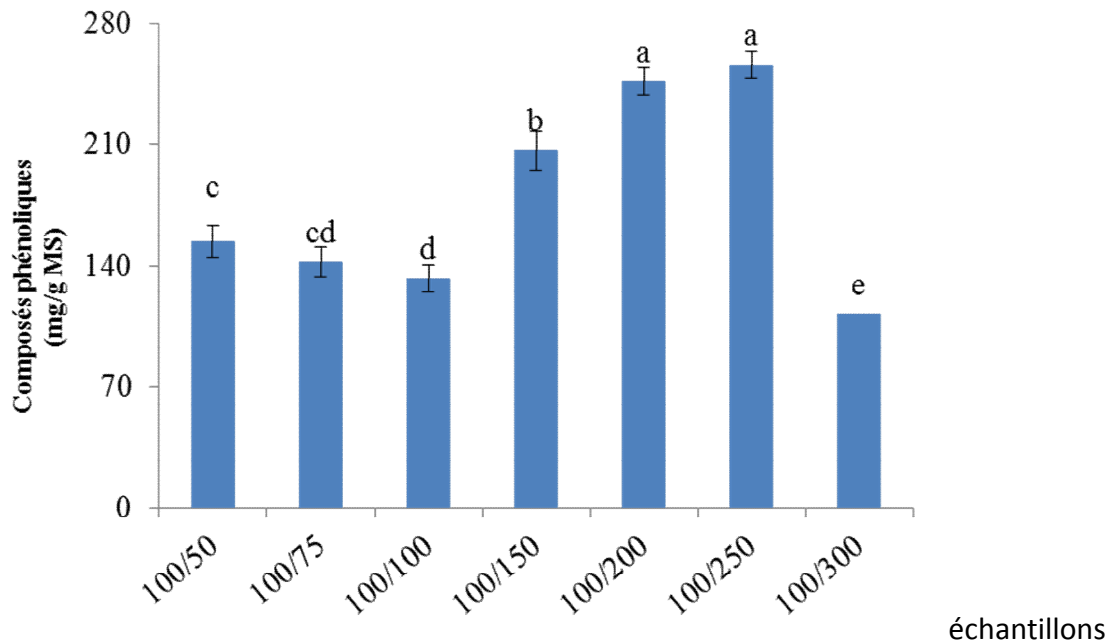


Figure 17 : Effet du volume de solvant sur l'extraction des composés phénoliques de tisane 2 (Pg,Pp).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d > e$.

L'étude statistique montre que le rapport échantillon/volume a un effet significatif ($p < 0,05$) sur la teneur en composés phénoliques des extraits. La teneur la plus élevée est obtenue avec les ratios 100mg/200ml et 100mg/250ml ($250,54 \pm 2,38$ et $279,64 \pm 1,48$ mg EAG/g MS, respectivement) avec des différences non significatives ($p > 0,05$), suivi par le ratio 100mg/150ml.

Afin de confirmer ces résultats et de faire le bon choix entre les deux volumes qui ont donné les meilleurs rendements en polyphénols totaux, la détermination de la quantité d'échantillon, nécessaire pour le volume choisi dans la présente étape, a été effectuée, les résultats sont illustrés dans la figure 18.

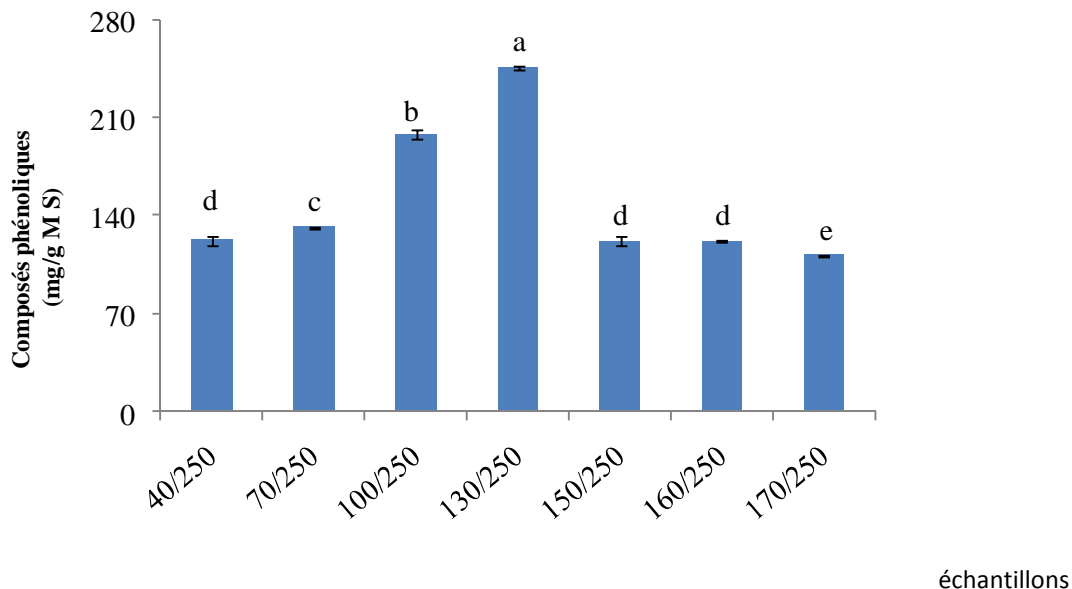


Figure 18 : Effet du ratio échantillon/volume sur l'extraction des composés phénoliques de la tisane 2 (Pg,Pp).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d > e$.

Nous remarquons, quel que soit l'échantillon en question, que le contenu phénolique augmente avec l'augmentation du volume du eau, ou en diminuant la masse de l'échantillon, cela peut être expliqué par le phénomène de la diffusion (gradient de concentration entre l'échantillon et le solvant d'extraction), en effet, le volume du solvant élevé augmente le transfert de masse entre l'échantillon et le volume, ce qui traduit par conséquent l'augmentation de la teneur en composés phénoliques dans l'extrait. C'est résultats sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs (**Bachir bey et al., 2013 ; Chaalal et al., 2013 ; Medouni-Adrar et al., 2015**).

Le volume nécessaire pour extraire la même quantité d'échantillon diffère d'une matrice végétale à une autre. Le volume du eau est plus important dans le cas du mélange Pg/Pp par rapport à l'Og/Rf. D'autres rapports échantillon/solvant ont été trouvés par **Jerez et al. (2006)** ont montré teneur élevée en composés phénoliques d'extrait d'écorce de pin est obtenue avec un ratio solide/liquide de 100mg/5ml. Cependant, **Fan et al. (2008)**, ont rapporté que le ratio échantillon/ solvant 100mg/32ml est le meilleur pour l'extraction des composés phénoliques

de la pomme de terre, ce dernier est proche de celui trouvé dans le présent travail pour l'échantillon Og,Rf.

Quant à la diminution de la teneur en composés phénoliques, observée à 100/300, 100/100 et 100/75 (mg/ml) pour la tisane 2, et aussi dans le cas du rapport 10/35 (mg/ml) pour la tisane 1, peut être expliquée par la dilution très élevée de l'extrait et il fallait concentrer l'extrait afin de déterminer la concentration la plus probable. Cette hypothèse, est confirmée par les résultats de la détermination des quantités optimums nécessaires pour les volumes choisis, dans la présente étape, afin de maximiser le contenu phénolique.

Ainsi, la présente étude indique que les ratios 130mg/250ml (Og,Rf) et 100mg/35 ml (Pg,Pp) augmentent le transfert de masse entre l'échantillon et le solvant, ce qui traduit par conséquent l'augmentation de la teneur en composés phénoliques dans l'extrait.

II.3. Détermination de la température optimale pour préparer chaque tisane

L'étude de l'effet de la température sur l'extraction des composés phénoliques des échantillons étudiés, a été analysée, les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 19.

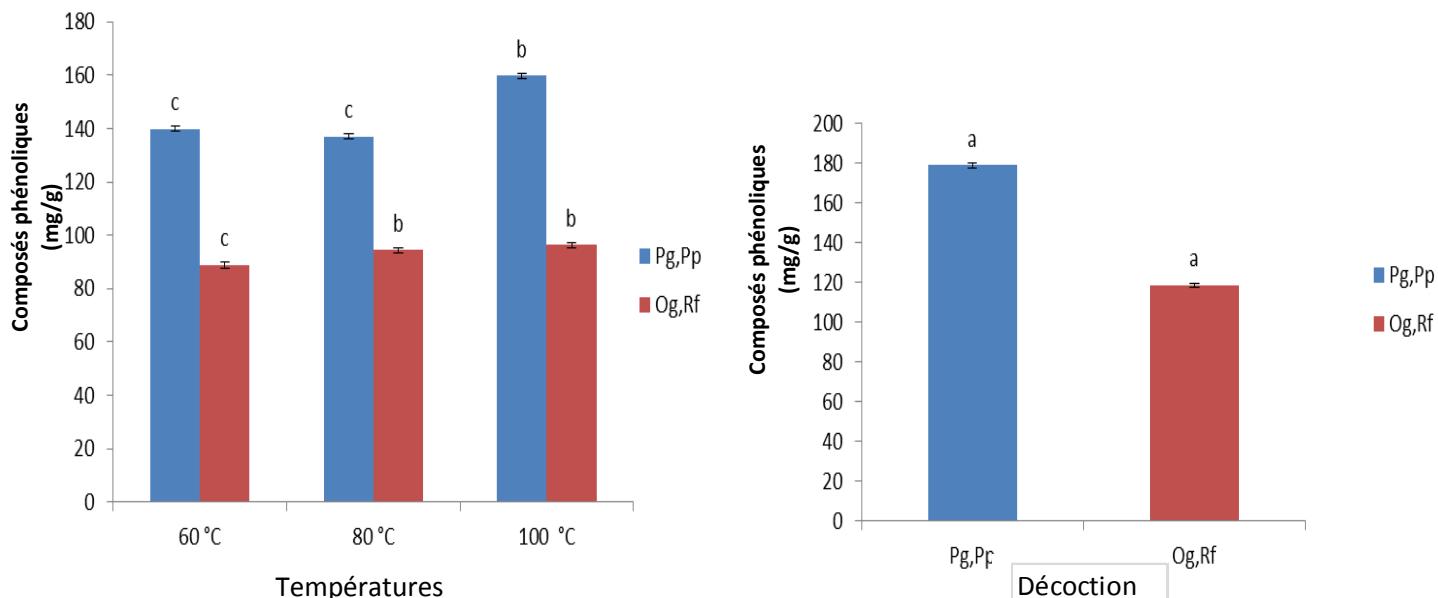


Figure 19 : Effet de la température et décoction sur l'extraction des composés phénoliques de deux tisanes (Og,Rf) et (Pg,Pp).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d$ pour la tisane 2 ; $a' > b' > c' > d'$ pour la tisane 1.

L'efficacité de l'extraction des composés phénoliques des deux tisanes sont significativement influencées par la température, selon les résultats obtenus, la teneur en composés phénoliques augmente de $88,76 \pm 1,30$ à $118,60 \pm 1,17$ mg EAG/g MS et de $139,75 \pm 7,04$ à $178,85 \pm 2,67$ mg EAG/g MS pour la tisane 1 (Og,Rf) et la tisane 2 (Pg,Pp) respectivement, avec l'augmentation de température d'extraction de 60 à 100°C, et une extraction meilleure a été notée lorsque l'extraction est faite par une décoction (100°C/10min).

Selon **Escribano-Bailon et Santos-Buelga (2003)**, l'augmentation d'extraction des composés phénoliques à partir des écorces des agrumes avec l'élévation de la température est due d'une part à la perméabilité des parois cellulaires et d'autre part, à l'augmentation de la force de pénétration du solvant.

Plusieurs travaux ont montré que l'extraction des composés phénoliques est favorisée par l'augmentation de la température, **Shi et al. (2003)** ont constaté, que 65 ° C est la meilleure température pour l'extraction des composés phénoliques à partir de graines de raisin, alors que **Pinelo et al. (2005)** ont indiqué que 50° C est la meilleure température pour l'extraction à partir de pellicule de raisin, et **Al-farsi et lee (2008)** utilisaient 45 ° C comme température optimale pour les graines des dattes.

Néanmoins, une température élevée peut entraîner la décomposition de certains composés phénoliques (**Wettasinghe et Shahidi, 2001 ; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005**).

III. Dosage des composés phénoliques

Les résultats obtenus par le dosage des composés phénoliques sont illustrés dans la figure 20.

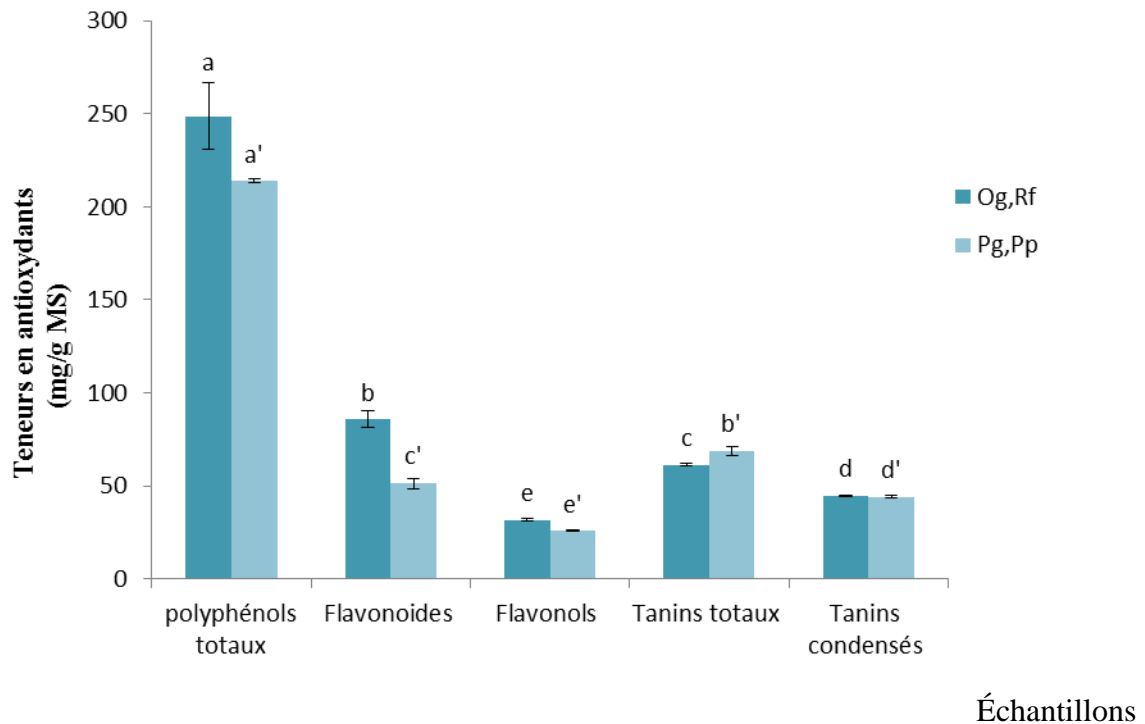


Figure 20: Teneurs en différentes classes polyphénoliques des deux tisanes (Og,Rf) ;(Pg ,Pp).

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b > c > d > e$ pour la tisane 1 ; $a' > b' > c' > d' > e'$ pour la tisane 2.

A l'issue des dosages effectués, il s'est avéré que les échantillons étudiés renferment des teneurs non négligeables en composés phénoliques. La teneur enregistrée par la tisane Og,Rf en polyphénols totaux est de $248,76 \pm 18,05$ mg EAG/g MS, suivis par les flavonoïdes avec une teneur de $85,72 \pm 4,36$ mg EC/g MS dont les flavonols représentent 37 % des flavonoïdes avec une teneur de $31,85 \pm 0,48$ mg EQ/g MS, enfin les tanins totaux qui représentent une teneur de $61,42 \pm 0,25$ mg EAT/g MS dont les tanins condensés présente 72 % des tanins totaux avec une teneur de $44,51 \pm 0,48$ mg EC/g MS.

Concernant les résultats du dosage des composés phénoliques de la tisane Pg,Pp, révèlent une concentration en polyphénols totaux de $213,73 \pm 1,08$ mg EAG/ g MS, suivi par les tanins totaux avec une teneur de $68,78 \pm 0,53$ mg EAT/g MS dont les tanins condensés représentent 65% des tanins totaux ($44,18 \pm 2,61$ mg EC/g MS), en dernier les flavonoïdes avec une teneur $51,33 \pm 2,82$ mg EC/g MS, dont les flavonols représentent 50% des flavonoïdes avec une teneur de $25,81 \pm 0,40$ mg EQ/g MS.

La composition en composés phénoliques diffère d'une espèce à une autre, et d'un mélange à un autre. La diversité structurale des composés phénoliques conduit à la variabilité des propriétés physico-chimiques ce qui rend la comparaison entre les données difficile. Dans une étude effectuée par **Bourgou et al. (2016)** sur l'espèce *Euphorbia helioscopia*, ont obtenu une teneur en polyphénols totaux de 24,2 mg EAG/g MS, tandis que **Bonnaillie et al. (2012)** ont obtenus une teneur plus élevée en polyphénols totaux d'extrait méthalonique de l'espèce *Arachis hypogaea* ($143,5 \pm 2,1$ mg EAG/g MS). Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées dans la présente étude. Ces écarts sont tout à fait justifiés, en effet, il s'agit des espèces végétales différentes.

Concernant les tanins, ils représentent 25 % et 30 % de la teneur totale en polyphénols totaux pour les tisanes 1 et 2, respectivement. Ces différences sont expliquées par plusieurs facteurs, **Mehanso et al. (1987)**, ont montré que les concentrations en tanins varient largement au sein de la même espèce végétale selon le cultivar, l'âge de la plante, les caractéristiques du site de croissance. Selon **Makkar et al. (1998)**, les tannins condensés augmentent avec la maturation des feuilles.

D'autre part, les flavonoïdes représentent 35% et 25 % de la teneur totale en polyphénols totaux pour les tisanes 1 et 2, respectivement. **Donzo et al. (2015)**, ont démontré que la teneur en flavonoïdes totaux des écorces de tronc d'*Uapaca togoensis*, est rapportée 84 mg/100 MS, **Brahmi et al. (2013)** ont obtenu des teneurs élevées en flavonoïdes chez deux variétés d'olive; 98,40 mg QE/100 g à 377,06 mg QE/100 g, obtenue à partir des feuilles de la variété chemlali et de 119.28 mg QE/100 g à 147.96 mg QE/100 g pour la variété nebjmel.

Les teneurs trouvées par les auteurs cités ci-dessus sont largement supérieures à celle enregistrées dans la présente étude. Ces différences peuvent être expliquées par l'appartenance des échantillons à des espèces végétales différentes ce qui rend la comparaison difficile.

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement à la composition phénoliques des extraits (**Hayouni et al., 2007**), les facteurs biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques), la nature du sol et le type du microclimat et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes (**Atmani et al. 2009**).

IV. Evaluation du pouvoir antioxydant

IV.1. Pouvoir réducteur

La réduction du molybdate est un paramètre très important dans l'évaluation de l'activité antioxydants des plantes, elle se base sur la réduction du molybdène (MO_{VI}) en (MO_V) par les antioxydants présents naturellement dans les plantes, ce qui engendre la formation d'un complexe vert (phosphate / MO_V) (**Mcanalley et al., 2003**). Les résultats obtenus dans la figure 21 montrent que les plantes analysées ont la capacité de réduire le molybdène.

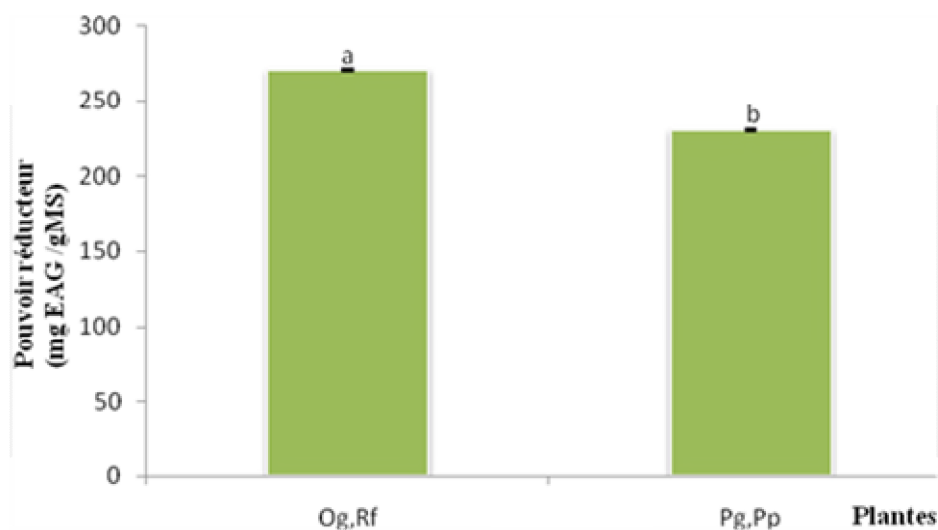


Figure 21 : Pouvoir réducteur des deux tisanes.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b$.

Le pouvoir réducteur exprimé en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg/g MS) enregistré est de $270,43 \pm 0,45$ et $230,42 \pm 0,38$ mg /g MS pour les tisanes Og,Rf et Pg,Pp, respectivement.

Il est clair que la tisane préparée à base de mélange Og,Rf exerce un pouvoir réducteur plus élevé que la tisane préparée à base du mélange de Pg,Pp, cela est du vrai semblablement à sa teneur élevée en polyphénols totaux par rapport à l'autre. En effet, de nombreux travaux contribuent le pouvoir réducteur aux composés phénoliques constituant les plantes (**Ribeiro et al., 2008 ; Li et al., 2009 ; Fabri et al., 2009**). Ces résultats concordent avec plusieurs études menées sur l'évaluation de cette activité. En effet, plusieurs auteurs ont déterminé des coefficients de corrélations élevés et significatifs entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante, déterminée par le pouvoir antiradicalaire, le pouvoir réducteur ou par d'autres tests tels que la méthode au ferrothiocyanate, ABTS, etc. (**Ribeiro et al., 2008 ; Oke et al., 2009 ; Slusarczy et al., 2009**).

IV.2. Pouvoir antiradicalaire (DPPH*)

Afin d'évaluer l'activité antiradicalaire, la méthode au diphenyl-picrylhydrazyl est utilisée. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (**Molyneux, 2004**).

La concentration qui a piégé 50% (IC_{50}) de radical libre DPPH* ainsi que la puissance antiradicalaire ($ARP=1/IC_{50}$) de chaque tisane ont été déterminées, les résultats sont montrés dans le tableau (V).

Tableau V: Pouvoir antiradicalaire (DPPH*) des deux tisanes.

Les plantes étudiées	IC ₅₀ en mg/ ml	ARP
Tisane 1 (Og,Rf)	$0,045 \pm 0,002^b$	$22,24 \pm 0,025^a$
Tisane 2 (Pg,Pp)	$1.236 \pm 0,005^a$	$0.809 \pm 0,049^b$

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant ; $a > b$ dans chaque colonne.

Le tableau (V) montre nettement que la tisane Og,Rf ne nécessite pas une concentration élevée pour piéger 50% du radical libre DPPH en comparaison à la tisane préparée à base de Pg,Pp. les IC_{50} ainsi enregistrées sont de $0,045 \pm 0,002$ et $1,236 \pm 0,005$ mg/ml pour les tisanes Og,Rf et Pg/Pp, respectivement. Par conséquent, la tisane préparée à base du mélange de plante Og,Rf possède un pouvoir antioxydant plus important que la deuxième tisane. Ces résultats sont dus probablement à leurs composition en polyphénols, la tisane Og,Rf est plus riche en polyphénols taux, et à la capacité de ces derniers à donner des électrons et des protons.

Bouhaddouda (2016), a montré que l'extrait méthanolique d'*Origanum glandulosum* a une très forte activité antioxydante sur les radicaux DPPH* avec une $IC_{50} = 0,025$ mg/ml, cette concentration est légèrement plus faible que celle trouvé dans la présente étude dans le cas de la tisane Og,Rf. Cependant une concentration plus élevée a été notée de 0,62 mg/ml, dans une étude tunisienne sur l'extrait méthalonique de cette plante (**Béjaoui et al., 2013**).

D'autre part, **Hemayet et al. (2012)** ont rapporté pour l'extrait éthalonique de *P.granatum* une concentration de $0,023 \pm 0,062$ mg/ml qui piège ce radical. Cette concentration est nettement plus faible (ce qui signifie une activité antiradicalaire plus élevée) que celle enregistrée dans la présente étude dans le cas de la tisane préparée à base du mélange de plantes Pg,Pp.

Les différences retrouvées entre les résultats de la présente étude et les résultats des chercheurs cités ci-dessus, peuvent être expliquée par la différence du matériel végétal utilisé pour l'extraction des antioxydants ; en effet, le matériel utilisé dans le présent travail est sous forme d'un mélange. Aussi, la méthode d'extraction en terme de solvant d'extraction ne peut pas être exclus.

CONCLUSION

Conclusion

La présente étude est focalisée sur l'optimisation des paramètres de préparation de deux tisanes traditionnelles à base des mélanges de plantes étudiées *O.glandulosum*/*R.fruticosus* (tisane 1) et *P.granatum* / *P.persica* (tisane 2).

L'optimisation de l'extraction des composés phénoliques des tisanes préparées est réalisée en testant plusieurs facteurs : ratio échantillon/échantillon, échantillon/volume de l'eau et la température d'extraction. L'évaluation de l'activité antioxydante ainsi que le dosage de différentes classes polyphénoliques sont effectuées pour les deux tisanes optimisées.

Les paramètres appropriés pour une meilleure extraction des composés phénoliques des deux tisanes étudiées sont les suivants:

➤ **Tisane 1** (*Origanum glandulosum* /*Rubus fruticosus*):

- Le ratio échantillon/échantillon à 25/75 (mg/mg), avec une teneur en polyphénols totaux de $173,21 \pm 9,63$ mg EAG/g MS ;
- Le ratio échantillon/volume de l'eau à 100/35 (mg/ml), avec une teneur en polyphénols totaux de 217,13 mg EAG/g MS ;
- Une extraction type décoction à 100°C / 10 min, avec une teneur en polyphénols totaux de 118,60 mg EAG/g MS).

➤ **Tisane 2** (*Punica granatum* / *Prunus persica*) :

- Le ratio échantillon/échantillon à 75/25 (mg/mg), avec une teneur en polyphénols totaux de 287,50 mg EAG/g MS ;
- Le ratio échantillon/volume 130/250 (mg/ml), avec une teneur en polyphénols totaux de 246,56 mg EAG/g MS ;
- Une extraction type décoction à 100°C / 10 min, avec une teneur en polyphénols totaux de 178,85 mg EAG/g MS)

Le dosage de composés phénoliques des deux mélanges après optimisation révèle des teneurs non négligeables en antioxydants.

A la lumière de ces résultats, les extraits des plantes étudiés se distinguent par des teneurs élevées en polyphénols totaux. Pour la tisane (1) la teneur en flavonoïdes est plus

importante que celle des tanins totaux tandis que la tisane (2) possède une teneur des flavonoïdes moins faible par rapport aux tanins totaux.

Le pouvoir antioxydant pour les deux tisanes est estimé par deux méthodes : le pouvoir antiradicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur utilisant le molybdate d'ammonium, les résultats de la présente étude ont permis de conclure que les extraits de plantes étudiées possèdent une activité antioxydante importante.

En perspectives, il est important d'optimiser les paramètres étudiés en se basant sur leurs effets thérapeutiques pas seulement sur leur contenu phénolique et de faire des tests *In vivo*.

Les résultats obtenus nous mènent à viser loin et à ouvrir des horizons pour réaliser la valorisation des extraits de plantes étudiées, exploiter ses polyphénols dans le domaine thérapeutique, et de l'intégrer dans des formulations pharmaceutiques.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Aguilera.C A., Augur C., Prado.B L .A., Favela.T E., et Aguilar C. N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Appl Microbiol Biotechnol.* 78: 189-199.

Alcaraz,L.E., Blanco,S.E., Puig, O.N., Tomas,F.etFerretti,F.H.(2000).Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Journal of Theoretical Biology*, **205**:231-240.

Al-Mamary M., Al-Meerri A. and Al-Haboui M. (2002) .antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research.* **22**: 1041-1047.

Arora, P., Wu, C., Khan, A.M., Bloch, D. B., Davis-Dusenbery, B. N., Ghorbani, A (2013). Atrial natriuretic peptide is negatively regulated by microRNA-425. *J Clin Invest* 123, 3378–3382.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., et Debbache N. (2009).Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* 112: 303-309.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazinmethanol extracts of *Phyllanthus* species from India. *Lebens-Wiss Technol.* 40:344-352.

Balasundram N., Ai T.Y., Sambanthamurthi R., Sundram K. etSamman S. (2005).Antioxidant properties of palm fruit extracts *Asia Pac J Clin Nutr*, 4 (4):319-324.

Béjaoui A., Boulila A.,et Boussaid M.(2013). Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare subsp. glandulosum Desf.* from Tunisia. *J. Med. Plants Res.* **7**: 2429-2435.

Benoit Bock.(2013).Tela Botanica : Base de données Nomenclature de la flore en France. *BDNFF*, 4p.

Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. et Trotin F. (1990). Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. MALOINE, Paris. pp : 92-296.

Boros, B., Jakabova.,Dorneyi, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F.,Felingera, A. (2010).Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, **1217**: 7972–7980.

Bougatef , A., Hajji , M ., Balti ,R .,Lassoued , I., Triki-Ellouz , Y.,Nasri , M.,2009.Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *food chem* 114:1198-1205.

Bouhaddouda N. (2016) Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*.p109.

Bouhadida M., Casas A.M., Gonzalo M.J, Arus P., Moreno M.A. et Gogorcena Y. (2008). Molecular characterization and genetic diversity of *Prunus* rootstocks. *Scientia Horticulturae*. Article in press.

Boullard B. (2001). Plantes médicinales du monde: Réalités & Croyances. Ed. ESTEM. Paris. pp : 141-430.

Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., et Marzouk B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, 331 : 48–55.

Bourgou S., Serairi R. F., Medini R., et Ksouri. (2016) Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia, **28** : 2286-5314.

Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco. Science & Nutrition*. **4**(6):7p.

Bozin B., Mimica Dukie N., Simin N., et Anackov G (2008). Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J Agri Food Chem* 54: 1822-1828.

Bretonneau J., Fauré Y. (1991). Atlas d'arboriculture fruitière. Volume III Pêcher-prunier-cerisier-abricotier-amandier. 3^{ème} Edition. TEC & DOC-LAVOISIER. Paris. ISBN : 2-85206-737-4.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} ed. Paris : Tec & Doc Lavoisier.

Bruzzese E., Mahr E., Faithfull I. (2000). Blackberry, *Rubus fruticosus* aggregate, best practice management guide for environmental weeds. Ed. CRC for weed Management Systems. 7p.

Calin Sanchez Angel et Carboneli Banaching Angel A. (2005). La grenade cultivée en Espagne. Punicalogine anti-oxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les aliments fonctionnels du fruit. Livre. Natural antioxydant granatum+ et université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.

Cazin F.J. (1868). Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées. Editions de l'Envol. **1189**. Pages 497-501.

Chaalal M. (2013). Etude de quelques propriétés antioxydantes et biologiques des graines de la figue de barbarie. P43.

Chaalal M., Louaileche H., Touati N., Bachir Bey M. (2013). Phytochemicals, in vitro antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three prickly pear varieties: A comparative study. **49**: 386-391.

Chanfron, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université D'AVIGNON et des PAYS de VAUCLUSE..

Chirinos R., RogezH.,Campos D., Pedreschi R . etLarondelle Y.(2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua(*Tropaeolumtuberosum* Ruiz &Pavon) tubers .*Separation and Purification Technology*,55,217-225.

Christophe, P. & Christophe S. (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Edition Springer, p 84.

Clémentine Bonnaillie., Mathieu Salacs., Elena Vassiliova., et IlonkaSaykova.(2012) Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea L.*),7 : 35-45

Curtay, J.P; Jacob, L ; Jung, R.R; et Kaplan, M. (2008).Jus de grenade fermenté, la grenade, "aliment-plus" un nouvel outil puissamment cardiovasculaire et anti-cancer dans l'arsenal de la nutrithérapie. Macro pietteur (EDS), Paris, 73p.

CushnieT.P.Tim., et Andrew J. Lamb. (2005). Antimicrobialactivity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26:343-356.

Dahmoune F., Spigno G., Moussi K., Remini H., Cherbal A., Madani K.(2014).Pistacialentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction,61: 31–40.

Dai, J. &Mumper, R. J. (2010).Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules*15(10), 7313-52.

Donzo M., Sarr A., Diop M., Samb A., BasseneE., et Barrym.S.(2015)Dosage des flavonoïdes totaux et détermination du pouvoir antioxydant dans l'extrait brut des écorces de tronc de *Uapacatogoensis*(Aub. et Léan.) ,8: 11 – 18.

Drewnowski A.et Gomez-Carneros C.(2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: areview. *American Journal of Clinical Nutrition* (72): 1424-1435.

Drogoudi P.D., Tsipouridis C. (2007).Effects of cultivar and rootstock on the antioxydant content and physical characters of clignstone peaches. *Scientia Horticulturae* 115: 34-39.

Dykes, L.et Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants.*Journal of cereal Sciences* 44, 236 - 241.

Edenharder, R et Grünhage, D.(2003).Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium*TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.

El Babili F., Bouajila J., Souchard J.P., Bertrand C., Bellvert F., Fouraste I., Moulis C. et Valentin A. (2011). Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *J. Food Sci.* 76(3): C512-C518.

Erdogan O.I., Belhatab R., (2010). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Ind. Crop. Prod.* 32: 566–71.

Escribano-Bailon M. T., et Santos-Buelga C. (2003). Polyphenol extraction from foods In "Method in polyphenol analysis". *Journal of Royal Society of Chemistry*, 1-16.

Fabri R.L., Nogueira M.S., Braga F.G., Coimbra E.S., et Scio E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects *Bioresource Technology*, 100:428–433.

FERREIRA, A R., MATA A.T., PROENC C., SERRALHEIRO M.L.M., NOGUEIRA J.M.F., ARAUJO, M.E.M., 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* 103: 778-786.

Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-11.

Florence Boyer. (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses. *Médecine humaine et pathologie. Université de la Réunion. Food Chemistry*, 103:381–388.

Fraga, C. G. (2009). Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. John Wiley & Sons Edition, pp 5-13.

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, vol.15.n° 12, pp.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4:162-169.

Gomar A., Hosseini A., Mirazi N. (2014). Preventive effect of *Rubus fruticosus* on learning and memory impairment in an experimental model of diabetic neuropathy in male rats. *PharmaNutrition*. 2 (4): 155–160.

Guillaume G et Mach Chieu. (1987). Pharmacopée et médecine traditionnelle chinoise - Plantes chinoises, plantes occidentales. Edition Présence. 701-617 et 618.

Hagerman A. E. et Butler L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agricultural and Food Chemistry*, 26(4) : 809 - 812.

Han X., Shen T., Lou H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. 8(9), 950-988.

Hayouni EA., Abedrabba M., Bouix M., et Hamdi M (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercuscoccifera*L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry* **105**: 1126-1134.

Hemayet H., Tanzir A ., Md. Sariful Islam Howlader., Shubhra K D., Arpona H., Arif A., et Rajan S. (2012). In-vitro Antioxidant Potential from the Leaves of *Punica granatum* Linn. Grown in Bangladesh .**2**(3): 160-166.

Hubert A J. 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. école doctorale des Sciences Ecologiques. Vétérinaires. Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments 74.

Iserin P.(2001). Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparation, soin.Larousse. Londres.335p.

Jarrige, R. &Ruckebusch, Y. (1995). Nutrition des ruminants domestiques : Ingestion et digestion. Editions Quae, p 57.

KANSOLE M(2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundiaopposstavahl* et *Orthosiphonpallidusroyle* ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Karou D., Dicko M. H., Simpore J., Yameogo S; Sanon S. and Traore A.S.(2005).Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **106**: 119-133.

Kintzios S. E. (2002). Profile of the multifaceted princr of the herbs. *Oregano:the genera Origanum and Lippia*. Edited by Spiridon E. Kintzios, Taylor & Francis2002, 3–8.

Kouri G., Tsimogiannis D., Bardouki H., et Oreopoulou v. (2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative food Science and Emerging Technologies*, 8,155-162

Krishnaiah, D. ;Sarbatly, R. ; Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant Species.*Food and Bioproducts Processing* 89: 217–233.

KÜÇÜK M., KolaylıS., KaraogluS., Baltacı C., et Candan F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia.*Food Chemistry*, 85:663-640.

Kumaran A and Karunakaran R.J. (2007).In vitro antioxidant activities of lavégétation. *Pl. Med. Phytother*, **25**: 12 - 16.

Lacoste S. (2006).Les aliments qui guérissent .Edition LEDUCS.S. Paris .ISBN :2-8489-9084-8.

Lagouri V., Blekas G., Tsimidou M., Kokkini S. & Boskou D. (1993) Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **197**:20-23.

Lamaison J.L et Carnat A. (1991). Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. en fonction de composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod*. pp : 1-40.

Leontowicz H., Gorinstein S., Lojek A., Leontowicz M., Milan C., Soliva-Fortuny R., Parkd Y.S., Jung S.T., Trakhtenberg S., Martin-belloso O. (2002). Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *Journal of nutritional biochemistry* **13**: 603-610.

Li H., Wang X., Li Y., Li P. et Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, **112**: 454–460.

Liakopoulos G., Stavrianakou S. et Karabourniotis G. (2001). Analysis of Epicuticular Phenolics of *Prunus persica* and *Olea europaea* Leaves: Evidence for the Chemical Origin of the UV-induced Blue Fluorescence of Stomata. *Annals of Botany*, **87**: 641-648.

Lim T. K. (2012). *Edible Medicinal and Nomo-Medicinal Plants*. Springer. **4**: 544-554.

Ling L.T., Yap S., Radhakrishnan A.K., Subramaniam T., Cheng H.M. et Palanisamy U.D. (2009). Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant. *Food Chemistry*, **113**:1154–1159.

Liu J.R., Ye Y., Tilin., Wang Y.W., et Chi-chung Peng. (2013). Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan. *Food Chemistry*, **139**:938-943.

M., Cazin J.C. et Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch Drug Research*, **46**: 1086 –1108.

Macheix, J.-J., Fleuriet, F. & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, p 134.

Mahmoudi Y. (1990). *La thérapie par les plantes communes en Algérie*. Ed. Palais du livre, Blida. 150 p.

Makkar H.P.S., et Becker K. (1998). Do tannins in leaves of trees and shrubs from Africa and Himalayan regions differ in level and activity? *Agroforestry Systems*, **40**: 59-68.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **79** : 727–47.

Mcanalley S., Koepke C.M., L E L., Vennum E., Mcanalley R. et Mcanalley B. (2003). In vitro methods for testing antioxidant potential: A Review. *GlycoScience & Nutrition*, **4(2)**:1-9.

Medouni-Adrar S., Boulekbache-Makhlouf L., Cadot Y., Medouni-Harounec L., Dahmoune F., Makhoukhe A., et Madani K. (2015). Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. *Industrial Crops and Products* **77** : 123–132.

Mehanso H., Butler L.G. et Carlson D.M. (1987). Dietary tannins and salivary proline rich proteins: Interaction, induction and defense mechanisms. *Annual Review of Nutrition*, **7**: 423-440

Melo E., Lima V.L.A.G. et Maciel M.I.S. (2006). Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoids in common. Fruit and vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology*. **9**(2):89-94.

Mena, P., Garcia-Viguera C., Navarro-Rico, J., Moreno, D., Bartual, J., Saura D., Marti, N. (2011). Phytochemical characterization for industrial use of pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars grown in Spain. *J. Sci Food Agric.* **91**, 1893–1906.

Muanda F.N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, université Paul Verlaine, Metz. France.

Muller R.F., Berger B. & Yegen O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2262– 2266.

Muthu C, Ayyanar M, Raja N, Ignacimuthu S (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **2**: 43 doi: 10.1186/1746-4269-2-43.

Nacz M. et Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**, 1523-1542

Nacz M., et Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**: 95-111.

Oke F., Aslim B., Ozturk S., et Altundag S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. *Food Chemistry*, **112**: 874-879.

Papazian, L. et Roch, A. (2008). Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, Edition Springer, p 153.

Philpott M., Gould K.S., Lim C. et Ferguson L.R. (2004). In situ and in vitro antioxidant activity of sweet potato anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, **52**: 1511–1513.

QA international collectif. (1996). L'encyclopédie visuelle des aliments .livre. Quebec Amérique (EDS), Singapour, 685p.

Quezel, P. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (2 volumes), CNRS, Paris, 1170 p.

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységou, L.(2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*. **50** : 586–621.

Riaz M., Mansoor A., Najmur R. (2011). Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus*. University of Karachi, Karachi-75270. Pakistan. **5** (24): 5920-5924.

Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M., et Schieber A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110:620–626.

Ribereau-Gayon P. (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. *In* : Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod*. pp : 1-40.

Rice-Evans C.A; Miller N.J. & Paganga G.(1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, **20** (7) :933-956.

Rodriguez-Vaquero, M .J., Alberto ,M.R. et Manca de Nadra, M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, **8** :93-101.

Roux, D. et Catier, O. (2007). Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. Wolters Kluwer France Edition, p 74.

Sadasivam, S. et Thayumanavan, B. (2003). Molecular host plant resistance to pests. Volume 96 de Books in soils, plants and the environment. CRC Press, p221.

Sarni-Manchado, P et Cheynier, V. (2006). Structures phénoliques et goût. *In*

Serrano M., Zapata P-J., Castillo S., Guillén F., Martínez-Romero D. et Valero D., (2010). Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. *Food Chemistry*. **118**: 497-503.

Shahidi F., Janitha P.K. et wanasundara P.D. (1992). Phenolic antioxidant, Critical previous term Reviews next term. *Food Science and Nutrition*, 32, 67-103.

Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou, Kokkini S., Lanaras T. et Arsenakis M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. *J. Agric. Food*. **44**: 1202-1205.

Skoula M. & Harborne J. B. (2002). The taxonomy and chemistry of *Origanum*. *Oregano: the genera Origanum and Lippia*. Edited by Spiridon E. Kintzios, Taylor & Francis 2002, 67–108.

Slusarczyk S., Hajnos M., Skalicka-Wozniak K. et Matkowski A. (2009). Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. *Food Chemistry*, 113: 134–138.

Sözmen F., Uysal B., Köse E.O., Aktaş O., Cinbilgel I. et Oksal B.S. (2012). Extraction of the essential oil from endemic *Origanum bilgeri* P.H. Davis with two different methods: comparison of the oil composition and antibacterial activity. *Chem. Biodivers.* **9**(7):1356-63.

Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19** :531–537.

Sundararajan Parimalakrishnan., Akalanka Dey., Anton Smith., Arul Gana Doss., Manavalan Rajappan et Sridhar Natarajan (2007). Etudes of anticancer and antipyretic activity of *Bidens pilosa* whole plant.

Tachakittirungrod S., Okonogi S., et Chowwanapoonpohn S. (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, **103** :381–388.

Teucher E., Anton R. et Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris. pp :147-313.

Traboulsi A.F ; Taoubi K ; El-Haj S. ; Bessiere J.M. & Rammal S. 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.* **58** : 491–495.

Vansant G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

Wald Elodie. (2009). Le grenadier *Punica granatum* : Plante historique et évolution thérapeutique récentes. Université Henri Poincaré. p 158.

Wettasinghe M., Shahidi F., Amarowicz R., et Abou-Zaid MM. (2001). Phenolic acids of defatted seeds of borage (*Borago officinalis* L.). *Food Chemistry*, **75**: 49–56.

Wollgast, J. et Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* **33**, 423 - 447.

Yaacoub R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. L'intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 0048. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).

Yanishlieva-Maslarova N.V. et Heinonen I.M. (2001). Natural antioxidants, Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. In « Antioxidants in food Practical applications ». Ed. CRC Press LLC, North and South America. pp: 210-249.

Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R. (2003). *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*; **87**: 73–83.

Yasameen Al-Majedy; Ahmed Al-Amiery; Abdul Amir Kadhum; Abu Bakar Mohamad., (2017) Antioxidant Activity of Coumarins, *Sys Rev Pharm* **8**(1):24-30.

Zem T-L. etFernondez M-L. (2005).Cardioprotective effects of dietary polyphenols.The Journalof Nutrition. **135**: 2291-229.

Zenasni L.(2014).Etude des polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioidescoses* et d' *Origanum compactum*Benth et de genre Nepta et évaluation de leur propriétés antibactérienne.

Zia-Ul-Haq M., Riaz M., Vincenzo De Feo., Hawa Z. E. Jaafar., Marius Moga (2014). Rubus Fruticosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses.Molecules.

ANNEXES

Annexe 1 : Matériel végétal utilisé

Plante	Lieu de la collecte	Partie Utilisée
<i>Prunus persica</i>	Kherrata (Bejaia)	Feuille
<i>Rubus fruticosus</i>	Kherrata(Bejaia)	Feuille
<i>Punica Granatum</i>	Bejaia	Écorces de fruits
<i>Origanum glandulosum</i>	Bejaia	Feuille

Annexe2 : Préparation des solutions utilisées pour le dosage

Manipulation	Réactifs	Préparations
Polyphénols totaux	folin-Ciocalteu (1/10) carbonate de sodium (6%)	1ml de folin+ 9 ml d'eau distillée 6g de Na ₂ CO ₃ +100 ml d'eau distillée
Préparation de solvant réactif	-Phosphate de sodium -Molybdate d'amonium -Acide sulfurique	0.436 g de phosphate de sodium+0.494 g de molybdate d'amonium dissoudre dans l'eau distillée + 3.3ml d'acide sulfurique
Préparation de solvant DPPH	-DPPH	19.7 mg de DPPH dissout dans 100ml de méthanol
Tanins totaux	-Solution de BSA -Tampon acétate à pH =4.9 -Solution SDS -Solution de chlorure de fer (FeCl ₃)	0.05gde BSA/50ml de tampon Acide acétique à 0.20M Chlorure de sodium à 0.1 7M pH ajusté à 4.9 0.25g de SDS dissout dans 1.25ml de TEA et Compléter à 25ml d'eau distillée 0.08 mg de FeCl ₃ à 0.01 M dissout dans 50ml d' HCl à 0.01M
Tanins Condensés	-Vanilline (4%) -HCl concentré	1g de vanilline M=152.15 dissout dans 25ml de méthanol.
Flavonoïdes	Solution dechlorure d'aluminium(AlCl ₃ à 2%)	2g de (AlCl ₃) dissout dans 100ml d'eau distillée
Flavonols	-Solution dechlorured'aluminium(Alcl ₃ à 2%) -Solution d'acetate de sodium 5%	2g de (Alcl ₃) dissout 100ml de methanol 5gde dissoutdans 100ml d'eau distillée.

Annexe 3 : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des polyphénols

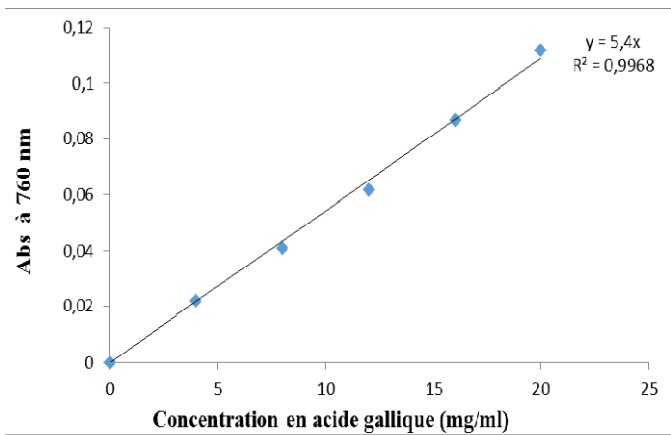


Figure 1 : Courbe étalon pour le dosage des polyphénols totaux

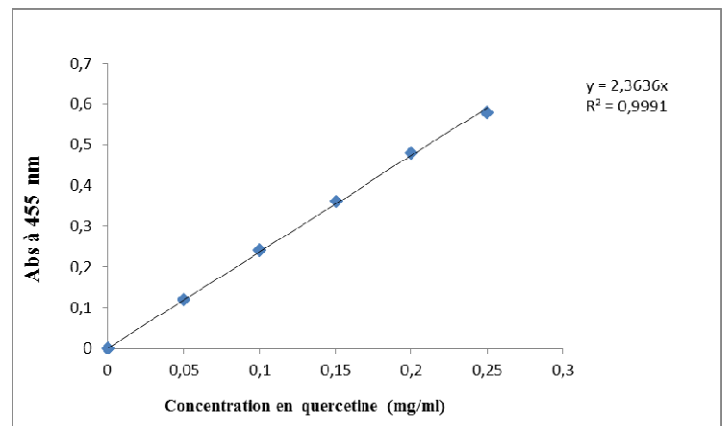


Figure 2 : Courbe étalon pour le dosage des flavonoïdes

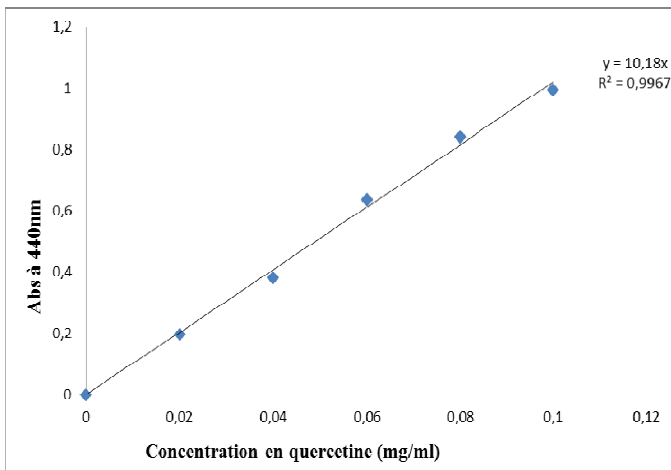


Figure 3 : Courbe étalon pour le dosage des flavonols

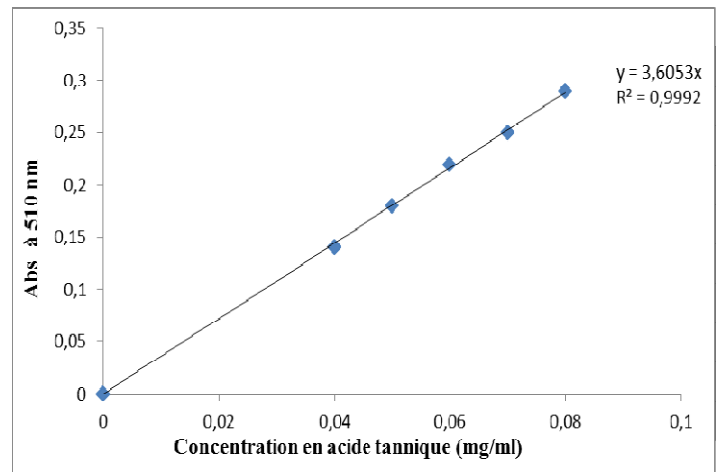


Figure 4 : Courbe étalon pour le dosage des tannins

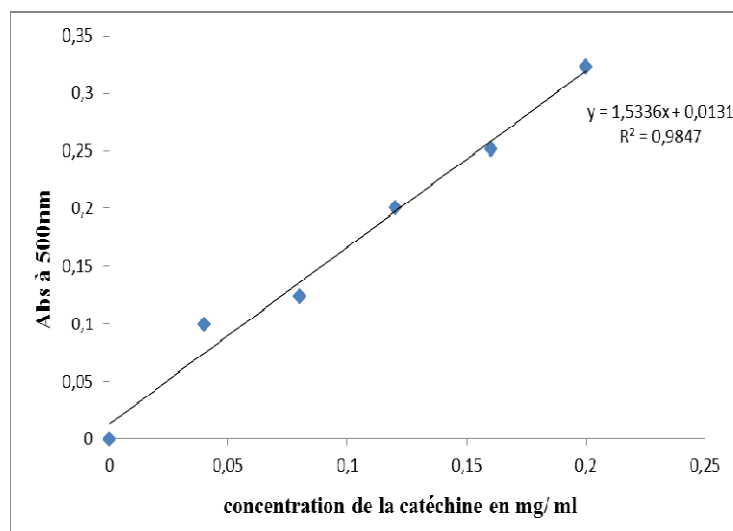


Figure 5 : Courbe étalon pour le dosage des tannins condensé

Annexe 4 : Courbes d'étalonnages utilisées pour déterminer des équivalents d'antioxydants

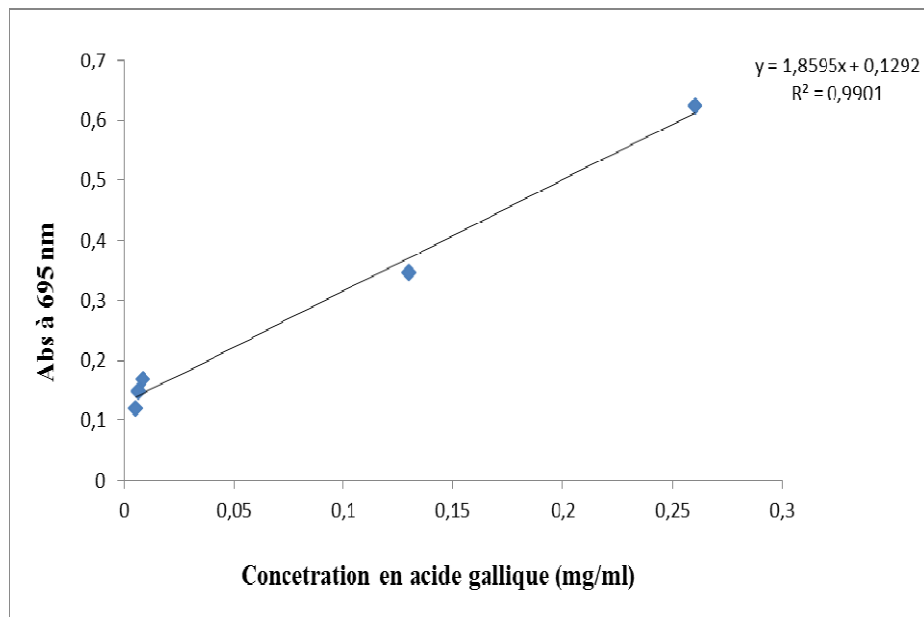


Figure 1 : Pouvoir réducteur en fonction de la concentration de l'acide gallique (mg/ml)

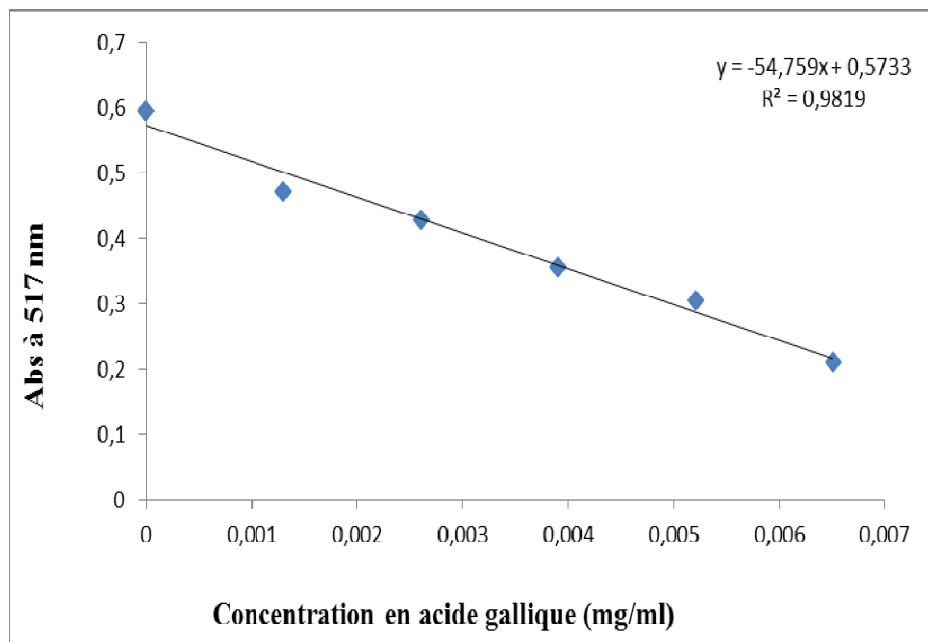


Figure 2 : Activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'acide gallique (mg/ml)

Résumé

Les polyphénols sont des molécules bioactives, sujet d'intérêt scientifique, grâce à leurs activités biologiques diverses. Cette étude a pour objectif d'optimiser les paramètres de préparation de deux tisanes préparées à base de mélange de deux plantes chacune ; tisane 1 : *Rubus fruticosus* / *Punica granatum* et tisane 2 : *Origanum glandulosum* / *Prunus persica*). Les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques des deux tisanes étudiées sont les suivantes : le rapport échantillon/échantillon est de 25/75 et 75/25 (mg/mg) pour les tisanes 1 et 2, respectivement. Le rapport échantillon/eau est de 100 /35 et 130/250 (mg/ml) pour les tisanes 1 et 2, respectivement. L'extraction type décoction à 100°C / 10 min avec des teneurs en polyphénols totaux de $248,76 \pm 18,06$ et de $213,73 \pm 1,08$ mg EAG/g MS pour les tisanes 1 et 2, respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante avec deux méthodes (DPPH et pouvoir réducteur) ainsi que le dosage de différentes classes polyphénoliques ont été effectuées sur les deux tisanes optimisées. Les résultats montrent que les tisanes étudiées renferment des teneurs non négligeables en différentes classes polyphénoliques avec une puissance antioxydante importante.

Mots clés : préparation de tisanes, mélange de plantes, polyphénols, activité antioxydante.

Abstract

The polyphenols are bioactive molecules, subject of scientific interest, thanks to their various biological activities. This study aims to optimize the parameters of preparation of two herbal teas prepared from a mixture of two plants each; herb tea 1: *Rubus fruticosus*/*Punica granatum* and herb tea 2: *Origanum glandulosum*/*Prunus persica*). The best conditions of extraction for the phenolic compounds of two herb teas studied are as follows: the sample report/sample is of 25/75 and 75/25 (mg/mg) for herbal teas 1 and 2, respectively. The sample report /water is of 100 /35 and 130/250 (mg/ml) for herbal teas 1 and 2, respectively. The typical decoction extraction with 100°C/10 min with total polyphenols contents of 248.76 ± 18.06 and 213.73 ± 1.08 Mg EGA/g ms for herbal teas 1 and 2, respectively. The evaluation of the antioxidant activity with two methods (DPPH and reduction) as well as the dosage of different polyphenolic classes were performed on the two optimized herbal teas. The results show that the teas studied contain high contents in different polyphenolic classes with a high antioxidant.

Key words: Preparation of herbal teas, plant mix, polyphenols, antioxidant activity.