



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université de Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la
Vie

Département : Biologie des organismes vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Option : Biotechnologie des plantes médicinales

Thème

Comparaison des taux de certains principes actifs chez *Thymelaea hirsuta* L.
stockée et fraîche

Présenté par :
Tiba Asma
Araar Fatiha

Devant le jury

MAA Seghier.Hanene	Université de Tébessa	Président
MAA Hioun Soraya	Université de Tébessa	Rapporteur
MAA Mehalaine.Souad	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 31/05/2016

Note :..... Mention :.....

DEDICACES

Avant tout je dois remercier "ALLAH" le tout puissant de m'avoir donné le courage et la force pour la réalisation ce travail.

Je dédie ce modeste mémoire :

*A l'air de ma vie et la lumière de mes yeux ma mère **ASSIA** et mon père **MAHMOUDE** qui ont consacré toute leur vie pour mon bonheur sans rien attendre de retour. Merci mes chers parents pour toutes les valeurs humaines que vous m'avez enseignées.*

*A mon chère marie **HADI** qui ma soutenu pour ma réussite et bonheur. merci pour la patience, le courage et les efforts que vous m'avez donnée pendant tout l'année*

*A mes chères sœurs : **INES, BOUCHRA** et la pousse de la famille **DJOURI** et mes frères : **TAHER** et **ALLA** merci pour votre présence, aide et amour.*

A ma grande mère

*A toute la famille **ARAAR** et **SOUAHI***

*A ma deuxième famille **MAMA KHAYRA**, oncle **ZOUBIR, MOHAMED, NABIL, BADIS, GHZALA** et son mari et ses enfants **MARIEM, ILYES***

*A toute la famille **BASSET** spécialement mes tantes : **MASOUDA, LWIZA, WANASAA** et leurs familles*

*A ma chère amie et binôme **ASMA***

*A mes amies et collègues de la promotion **BTPM 2016** spécialement **HADJER, WARDA** et **LATIFA***

fatîha

DEDICACES

*Je remercie tout d'abord **ALLAH** tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

Ce modeste travail est le fruit d'une longue recherche durant toute une année et s'il n'y avait pas des personnes pour m'aider je ne pourrais pas finir pour cela le dédie à :

A mes grands parents

A ma mère, mon Deuxième Souffle, qui m'a mis au monde, veillé sur moi, et qui a su me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour durant toutes ces années qui m'a encouragé et qui a veillé à ce que je réussisse à mes études,, qui m'a permis de donner le meilleur de moi-même et me surpasser. Je t'aime aujourd'hui plus qu'hier mais bien moins que demain. Que Dieu te Garde pour nous.

A Mon très agréable père, qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de moi. Je t'aime papa.

Je n'oublie pas aussi mon frère : Kamel ,Ilyes et Aimen., mes chères sœur Belkise ,aya.

À toute ma famille TIBA proche ou éloignée

*A mon binôme : Fatiha * ftouh**

A toutes mes chères amies : Nabila, Wided ,Ghalia ,Warda, Latifa, Fatima, Samira, Yamina, et À tous mes amies d'université et À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université

ASMA



Remerciements

On remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à :
Mme Hioun Soraya notre promoteur, pour son aide, ses orientations et sa patience.*

Les membres de jury:

Mme Seghier. H,

Et Mme Mahalaine. S

Pour leurs efforts et temps consacré à la lecture de cette contribution scientifique.

*Merci à tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin
Monsieur Hadjla. A et tous les enseignants de notre spécialité BTM,
et département de Biologie.*

Sans oublier le personnel du laboratoire,

Nos collègues de promotion (2015-2016).



Résumé

Thymelaea hirsuta est une plante médicinale qui présente de multiples possibilités d'utilisations dans la médecine traditionnelle et moderne. Delà, l'objectif de ce travail est de contribuer à l'étude de certains principes actifs de cette plante.

Plusieurs comparaisons ont été effectuées pour les composés phénoliques (Les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tanins condensés et en dernier les anthocyanes), entre les parties végétales (feuilles et tiges), entre des échantillons stockés et récents, en utilisant des concentrations différentes du mélange d'extraction (éthanol/eau)

La comparaison entre les différentes valeurs des principes actifs des parties végétales ainsi que le stockage indique qu'en majorité les teneurs sont élevés chez les tiges que les feuilles, et les récentes que les stockées.

Il est à noter que les résultats des solutions d'extraction sont variables avec de meilleures valeurs pour la concentration 100% suivie par 50% selon le principe actif.

Mots clés: principe actif, *Thymelaea hirsuta*, stockage, solution d'extraction, Composés phénoliques, flavonoïdes, tanins condensés, anthocyanes.

يعتبر نبات المثان من النباتات الطبية ذات الاستخدامات المتعددة في المجال الطبي سواء التقليدي أو الحديث، وبالتالي فإن الهدف من هذا العمل هو المساهمة في دراسة بعض المواد الفعالة المتضمنة في هذه النباتات.

تضمنت الدراسة إجراء العديد من المقرنات بين مختلف المركبات الفينولية (مجموع البوليفينول، الفلافونويدات، الدبغيات، والانتوسيان) في كل من السيقان والأوراق وذلك لعينات مخزنة وأخرى تم قطفها هذا العام وذلك باستعمال محاليل ذات تراكيز مختلفة من أجل الاستخلاص.

أظهرت مقارنة الأجزاء النباتية (السيقان، الأوراق) المخزنة والجديدة في أغلب الحالات أن قيم المواد الفعالة تكون عالية عند السيقان من الأوراق وكذلك العينات الجديدة من المخزنة.

كما تجدر الإشارة إلى أن تركيز محلول الاستخلاص يبقى متغير تماما ومن ضمن النتائج المتحصل عليها أفضل تركيز هو 100 % ويليها 50%.

الكلمات المفتاحية: المادة الفعالة، المثان، التخزين، محلول الاستخلاص، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، الدبغيات، الانتوسيان.



Sommaire

Table des matières

Remerciements

Résumé.....I

الملخص..... II

Table des matières III

Liste des tableauxVI

Liste des figuresVII

Listes des abréviationsVIII

Introduction1

Partie 1 : Synthèse Bibliographique

1 Métabolites secondaires3

1.1 Généralités3

1.2 Les composés phénoliques3

1.2.1 Les flavonoïdes6

1.2.2 Les tanins6

1.2.2.1 Les tanins hydrolysables7

1.2.2.2 Les tanins condensés7

1.3 Les terpénoïdes7

1.4 Les alcaloïdes8

1.5 Activités biologiques des métabolites secondaires8

2. Facteurs influant sur les teneurs des principes actifs des plantes9

2.1 Les condition du stockage9

2.1.1 L'humidité9

2.1.2 La lumière9

2.1.3 La température9

Table des matières

2.2 Effets d'autres facteurs sur les principes actifs des plantes	10
3 La plante médicinale d'étude : <i>Thymelaea hirsuta</i>	10
3.1 Description botanique de la plante	10
3.2 Place dans la Systématique	11
3.3 Distribution géographique	13
3.4 Optimum écologique	13
3.4.1 Caractéristiques climatiques de Thymelaceae	13
3.4.2 Caractéristique du sol de Thymelaceae	14
3.5 Composition et propriétés biologiques	14
3.6 Utilisations Traditionnelles des Thymelaceae	15

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Description de la zone d'étude	18
2. Matériel végétal	19
3. Etude des polyphénols	19
3.1. Extraction	19
3.2. Rendement de l'extrait brut	19
3.3. Estimations quantitatives	20
3.3.1. Dosage des polyphénols totaux	20
3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	20
3.3.3. Dosage des flavonoïdes aglycones	21
3.3.4. Dosage des Tanins condensés	21
3.3.5. Dosage des anthocyanes totaux	21
4. Analyse statistique	22

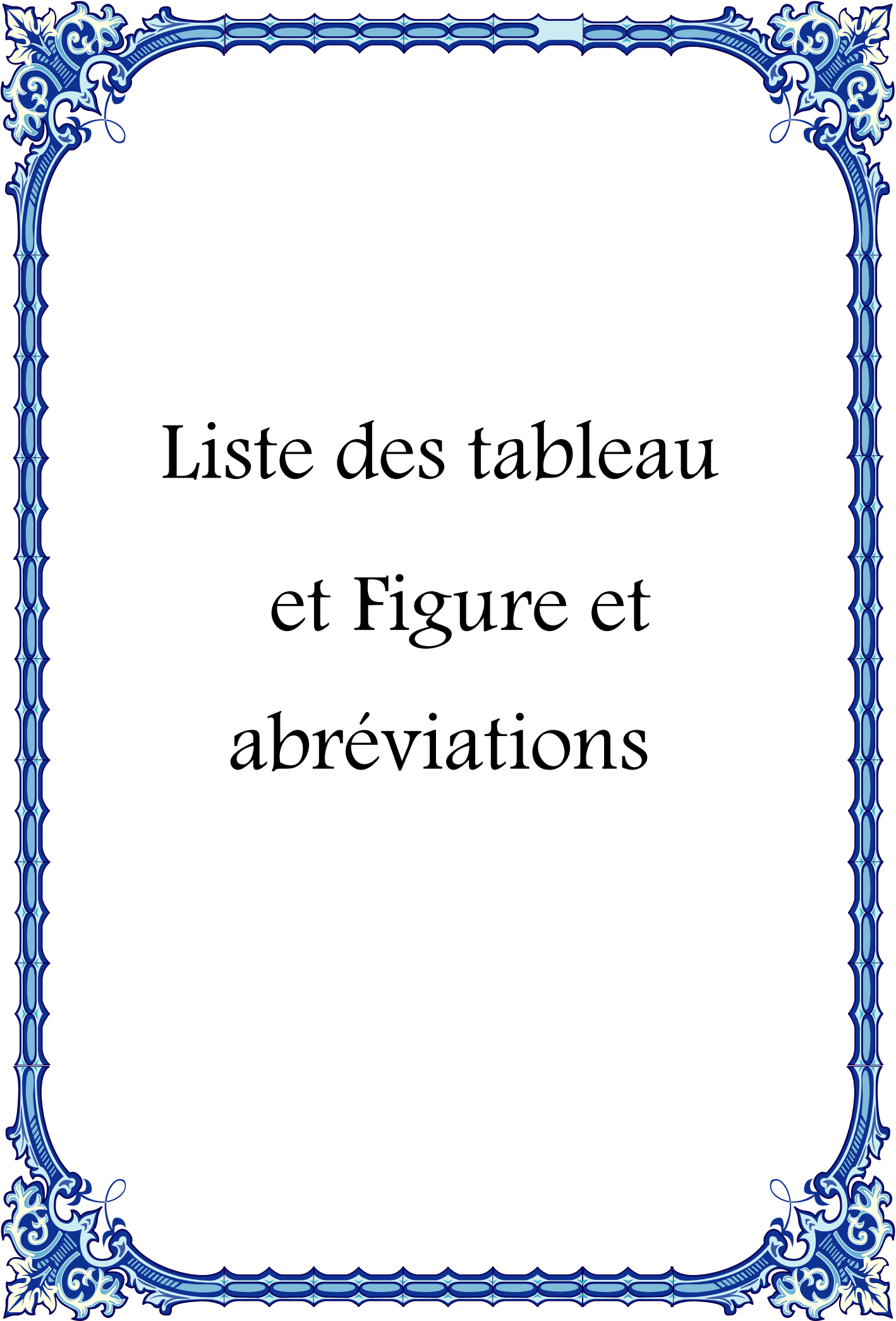
Partie 3 : Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	24
2. Dosages spectro photométriques	25
2.1 Teneurs en polyphénols totaux avant l'évaporation	25
2.2 Teneurs des polyphénols totaux après évaporation	27

Table des matières

2.3 Teneurs en flavonoïdes	28
2.4 Dosage des Flavonoïde aglycones	29
2.5 Dosage des Tannin condensés	31
2.6 Teneurs des anthocyanes	33
Discussion et conclusion	36
Références bibliographiques	40

Annexes



Liste des tableaux
et Figures et
abréviations

Liste des Tableaux

Tableaux N°	Titre	page
1	Principales classes de composés phénolique (Harbone, 1989 et Macheix ,1990)	3
2	Principales activités biologiques de certains principes actifs	8
3	Quelques données chimiques sur le genre <i>Thymelaea</i>	15
4	Analyse de variance des rendements en composés phénoliques de <i>Thymelaea hirsuta</i>	23
5	Analyse de la variance des composés phénoliques avant évaporation de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre son état, parties végétale et extraction.	24
6	Analyse de la variance des composés phénoliques après l'évaporation de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre son état, parties végétale et extraction	26
7	Analyse de la variance des Flavonoïdes de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre son état, parties végétale et extraction	27
8	Analyse de la variance des flavonoïdes aglycones de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre échantillons stockés et récents , parties végétale et volumes d'extraction.	29
9	Analyse de la variance des tanins condensé de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre échantillons stockés et récents, parties végétale et volumes d'extraction.	30
10	Analyse de la variance des Anthocyanes de <i>Thymelaea hirsuta</i> entre échantillons stockés et récents, parties végétale et volumes d'extraction.	32

Liste des Figures

Figure N°	Titre	Page
1	Principaux composés phénoliques des végétaux (Ribreau, 1968)	4
2	Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963)	5
3	Exemple des composants terpéniques (FAYE <i>et al.</i> , 1997)	7
4	<i>Thymelaea hirsuta</i> (Tiba et Araar ,2016)	12
5	Carte de répartition géographique des Thymelaceae (Heywood ,1996)	13
6	Caractéristiques climatiques de la famille Thymelaceae (Julve, 2015)	14
7	Caractéristique du sol de la famille Thymelaceae (Julve, 2015)	14
8	Carte géographique du site d'étude Bir el-Ater (wilaya de Tébessa)	17
9	Rendements des composés phénoliques en extrait sec de <i>Thymelaea hirsuta</i> chez les plantes stockées et récentes au niveau des branches et des feuilles à différents concentrations d'extraction.	22
10	Teneurs en polyphénols totaux des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction éthanol/eau avant évaporation	24
11	Teneurs en polyphénols totaux des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction après évaporation.	25
12	Teneurs moyennes en flavonoïdes des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction .	27
13	Teneurs en flavonoïdes aglycones (moyenne) des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction. (moy ± Et).	28
14	Teneurs en tanins condensée des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction. (moy ± Et).	30
15	Teneurs en anthocyanes des deux parties végétales (feuilles et branches) récentes et stockées aux différents concentrations d'extraction (moy ± Et).	31

Liste des abréviations

Fig : figure

Tab : tableaux

THs : Les tannins hydrolysables

MC : :matière sèche

T.hirsuta : Thymelaea

moy : moyenne

Et : Ecartype

Pv : parti végétale

NS : nom significatifs



Introduction

Introduction:

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, des métabolites dits secondaires. Ces composés sont utilisés par les plantes pour diverses fonctions adaptatives. Ces métabolites sont situés dans les classes, des polyphénols, des alcaloïdes et des terpénoïdes.

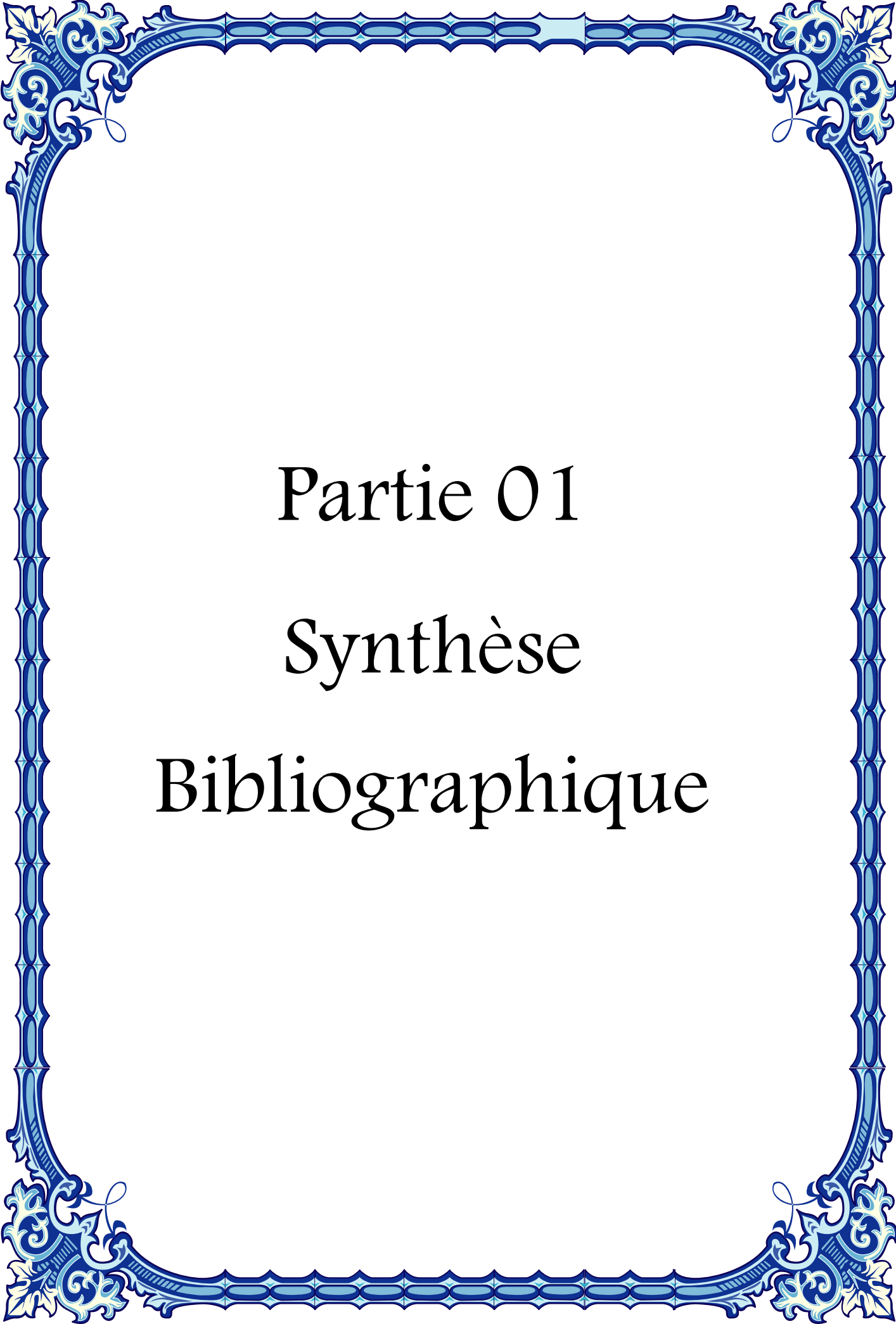
De nombreuses études ont prouvé la bioactivité de ces molécules, citant les activités antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydant, anti-inflammatoire...etc ; dont l'usage des plantes renfermant ces métabolites dans diverses domaines thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires. Cette large gamme d'utilisation des métabolites secondaires implique leur identification. Cette dernière nécessite un trajet de procédure, commençant par l'extraction de des métabolites à partir de matériel végétale, séparation et purification de ces métabolites et enfin leur identification structurale.

Ces molécules sont ou peuvent être particulièrement sensible à l'action des différentes conditions de stockage du végétal comme l'humidité, la température et d'autres facteurs comme les produits chimiques.

L'élément de base de notre étude est le taxon *Thymelaea hirsuta L.* selon les quelques études faites sur cette plante, celle-ci est riche en composés phénoliques, classés en différents groupes tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins , les lignines...etc.

Notre recherche s'est principalement axée sur les quantités présentes des composés phénoliques au niveau de deux parties végétales (tiges et feuilles) à différentes concentrations d'extraction (éthanol/eau), ainsi que la comparaison de nos échantillons de l'année avec des échantillons de poudre végétale de *Thymelaea hirsuta* de la même population stockés pendant trois ans au laboratoire en conditions ambiantes.

Notre travail est reparti en trois parties, initié par une revue bibliographique où nous rapportons des données générales sur les métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, tanins et anthocyanes), sur l'espèce étudiée et l'effet du stockage sur les principes actifs. La seconde partie rapporte les méthodes analytiques utilisées et en dernier lieu les résultats obtenus ainsi que leur discussion et terminé par une conclusion.



Partie 01

Synthèse

Bibliographique

1. Métabolites secondaires

1.1 Généralités

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (**Hopkins, 2003**). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (**Raven *et al.*, 2000**).

De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures et sont répartis en trois grandes familles chimiques: les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Gobbi et khebbaz, 2014**).

1.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols présentent une structure très variée, il existe des molécules de structure simples de forme phénolique avec un cycle benzénique sur lesquels sont fixés des groupements hydroxyles: les acides coumarique, OH-coumarique, caféique, ferrulique, cinnapique (**Eberhard *et al.*, 2005 ; Stalikas, 2007**). Il existe également des composés plus complexes qui sont les flavonoïdes et les anthocyanes. Leur structure est toujours constituée de cycle benzénique plus ou moins substitués par des groupements OH (**Macheix *et al.*, 2006**).

Selon **Ribereau-Gayon (1986)**, les principaux composés phénoliques ne se trouvent pas à l'état libre mais sous forme d'esters ou d'hétérosides (Tab 01 et Fig 01).

Tableau 01 : Principales classes des composés phénoliques

(Harbone, 1989 ; Macheix *et al.*, 1990)

Squelette carboné	Classe
C_6	Phénols simples
$C_6 - C_1$	Acides hydroxybenzoïques
$C_6 - C_3$	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
$C_6 - C_4$	Naphtoquinones
$C_6 - C_2 - C_6$	Stilbènes
$C_6 - C_3 - C_6$	Isoflavonoïdes, Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanones • Flavanols
$(C_6 - C_3)_2$	Lignanes
$(C_6 - C_3)_n$	Lignines
$(C_{15})_n$	Tanins

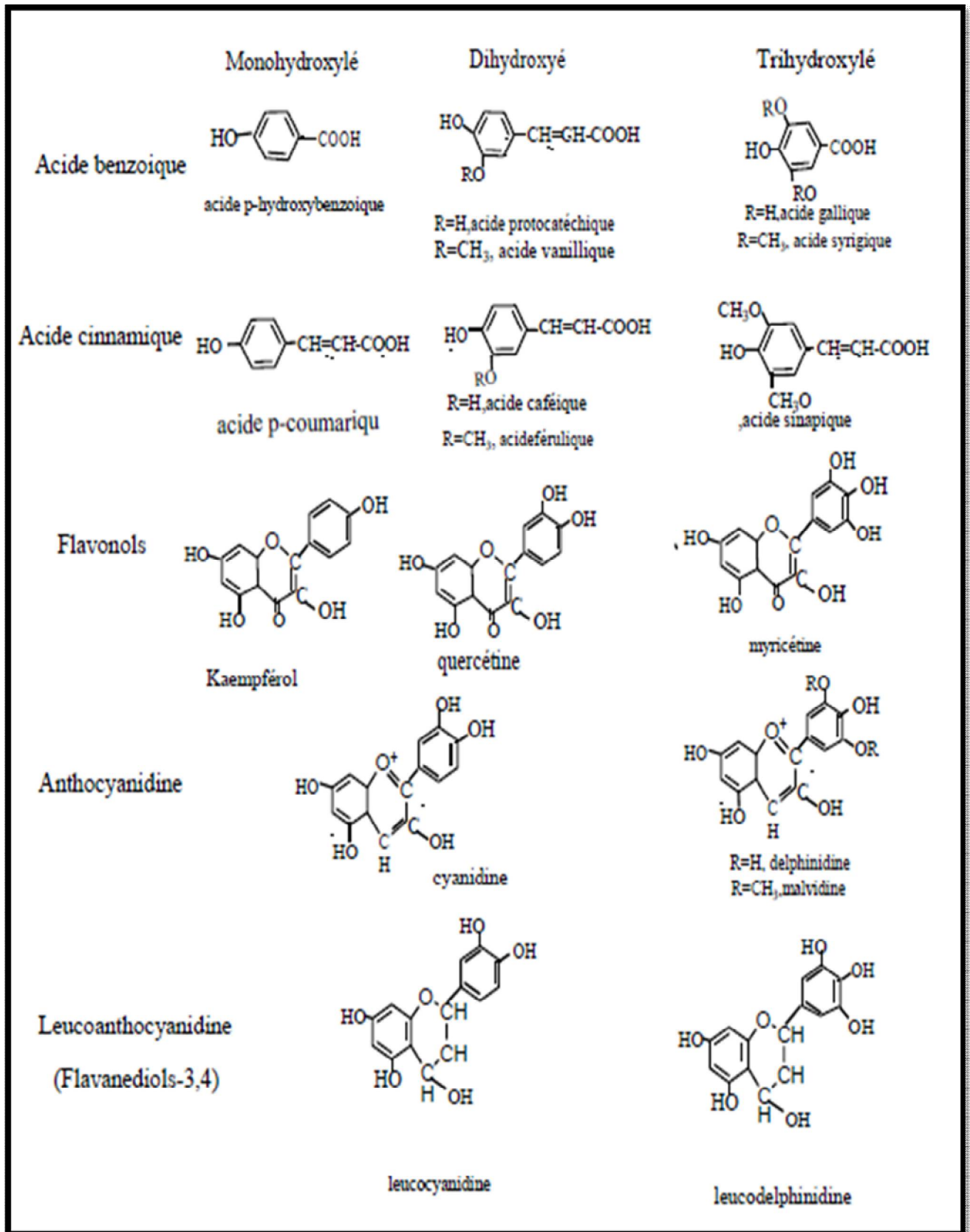


Figure 01: Principaux composés phénoliques des végétaux (Ribereau-Gayon, 1986)

1.2.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées (Stobiec, 2000). Ils sont des composés phénoliques et interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines (Judd *et al.*, 2002). Les flavonoïdes hétérosidiques sont hydrosolubles et solubles dans les alcools (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques en C6 (A et B) relié par une chaîne en C3 (Fig 02) (Bruneton, 1993). La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes (Fig 01) qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Medic *et al.*, 2004).

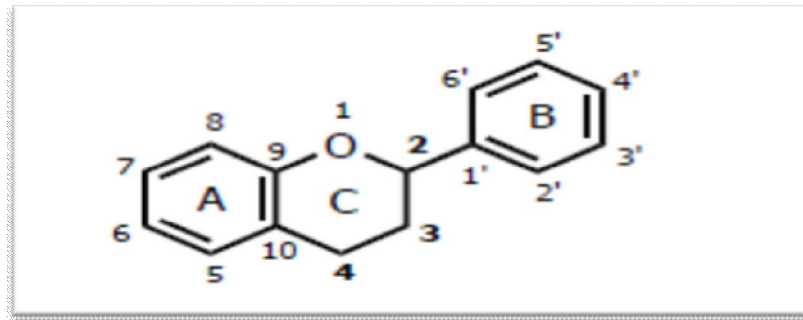


Figure 02: Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963)

1.2.2 Les tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, de masse moléculaire comprise entre 500-3000 (Manach *et al.*, 2004). Ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible, cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Zimmer et Cordesse, 1996). Parmi les caractéristiques des tanins le goût d'astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche. Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections fongiques et bactériennes, les insectes et les animaux herbivores (Hagerman, 1992). Les tanins sont divisés en deux groupes hydrolysables et condensés.

1.2.2.1 Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des oligo- ou polyesters d'un sucre, en général le glucose, et de molécules d'acide-phénol (**Mueller-Harvey, 2001**). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol : les tanins galliques possèdent un acide gallique, alors que les tanins éllagiques ont un acide hexahydroxyphénique (**Hagerman, 1992**). Les tanins éllagiques sont obtenus suite à un couplage oxydatif entre les molécules d'acide gallique (Fig 03) (**Chung et al., 1998**).

1.2.2.2 Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (**Alilou, 2012**). Les chaînes de polymères comptent de 2 à 20 unités environ avec une diversité structurale selon l'endroit de l'hydroxylation (**Perrony, 2005**).

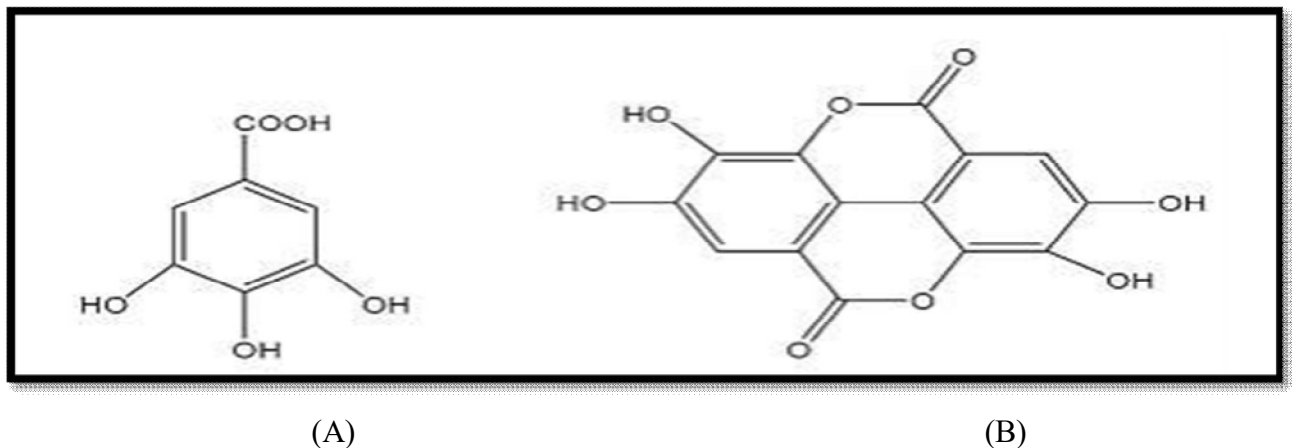


Figure 03 : Exemple de composés tannique , acide gallique (A) et ellagique (B)(**Faye et al ., 1997**)

1.3 Les terpénoïdes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une unité simple à cinq atomes de carbone nommée isoprène (**Hellal, 2011**). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne, ainsi que dans les divers modes d'assemblage (**Conolly et Hills, 1992**). La formation de structures cycliques, l'addition de fonction comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Seenivasan, 2006**)

1.4 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogène. Leurs caractéristiques communes sont la présence d'au moins un atome d'azote et leur forte activité biologique (**Schaueberg et Paris, 2005**). L'atome d'azote accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution (d'où leur nom d'alcaloïde) (**Hess, 2002**). Dans leur grande majorité, les alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelque composé azoté aliphatique (non cyclique) comme la mescaline et la colchicine soient parfois classés dans les alcaloïdes. Globalement on a recensé quelque 10.000 alcaloïdes dans à peu près 20 pour 100 des plantes à fleurs essentiellement des dicotylédones herbacées (**Ziegler et Facchini, 2008**).

1.5 Activités biologiques des métabolites secondaires

Les principes actifs des plantes sont doués d'activités diverses, probablement du à leur diversité structurales, (Tab 02) englobe les activités biologique des différents principes actifs les plus importantes (**Thomas, 2011**).

Tableau 02 : Principales activités biologiques de certains principes actifs

métabolites secondaires	Activités biologiques	Références
Les polyphénols	Anticarcinogènes, antimutagènes, antioxydant, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux	(Babar et al.,2007), (Gomez-Caravana et al., 2006).
Les flavonoïdes	Anticarcinogènes, antimutagènes, antioxydants, un rôle de défense contre les prédateurs et les Pathogènes	(Stobieck et al., 2006)
Anthocyanes	Antioxydants colorants	(Longo et Vasapollo, 2006)
Les tanins	Digestibilités des protéines, anti tumoral	(Kansole, 2009)
Les alcaloïdes	Interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux	(Hopkins, 2003).

2. facteurs influents sur les teneurs des principes actifs des plantes

Au cours d'un stockage prolongé, les méthodes et les conditions de conservation doivent permettre d'éviter toute modification de la nature des plantes (vermine, moisissures, micro-organismes) afin de préserver l'intégrité de leurs propriétés actives (**Balz, 1986**). La qualité des plantes aromatiques ou médicinales en dépend, c'est une étape importante dans la garantie des propriétés des plantes étudiées ou utilisées (**Hahlbrock *et al.*, 1995**).

2.1 Les condition de stockage

Le métabolisme phénolique est particulièrement sensible à l'action des différents facteurs externes (**Dinelli *et al.*, 2006**) tels que l'humidité, la lumière et la température, ces facteurs peuvent accélérer les processus de fermentation ou d'oxydation de certains constituants végétaux (**Rhodes *et al.*, 1981**).

2.1.1 L'humidité

Le stockage des plantes réduit leurs contenus en phénols totaux et en tanins condensés ainsi que leur capacité à précipiter les protéines (**Makkar, 2000**). Cette action est proportionnelle au taux d'humidité (**Kumar, 2003**). Des travaux indiquent que le stockage des feuilles fraîches, pendant un jour, réduit leur teneur en phénols totaux, en tanins condensés. Après cinq jours de stockage, ces valeurs atteignent, 89% et 83%. Après dix jours, l'inactivation des tanins est totale et atteint les 100% (**Aganga et Tshwenyane, 2003**). L'humidité peut influencer aussi la composition chimique d'une huile essentielle (**Morin *et al.*, 1985**), suite à des dégradations enzymatiques (**Bruneton, 2009**).

Comme favorisé, le développement des moisissures et des micro-organismes peut provenir de la plante elle-même, d'une mauvaise aération du lieu de conservation.

2.1.2 La lumière

La conservation à la lumière peut provoquer des transformations sous l'influence des ultraviolets qui oxydent rapidement les produits volatils comme les huiles essentielles (**Morin *et al.*, 1985 ; Hahlbrock *et al.*, 1995**).

2.1.3 La température

La température est également un facteur de régulation de l'expression du métabolisme phénolique, souvent en interaction avec la lumière. Ainsi, un abaissement de la température associé à un traitement lumineux adéquat induit fréquemment une accumulation des

anthocyanes et peuvent provoquer des perturbations des métabolites phénoliques (**Rhodes et al., 1981**). Les huiles essentielles sont des substances facilement inflammables (**Koedam, 1982**), il est important pour le transport et le stockage de connaître la température à laquelle l'huile essentielle peut s'enflammer au passage d'une flamme ou d'une étincelle (**Balz, 1986**).

2.2 Effets d'autres facteurs sur les principes actifs des plantes

Selon **Ammar et al. (2005)**, l'extraction avec les solvants organiques aqueux (acétone 30%, méthanol 50%, éthanol 40%) enlève approximativement 70% des tanins. Il est de même pour la réduction de la teneur en tanins des feuilles de chêne par utilisation de substances alcalines, celle-ci varie entre 70 et 90%, l'hydroxyde de sodium (0,05 M) étant le plus efficace, suivi du carbonate de sodium (0,05 M) et du bicarbonate de sodium (0,1 M). La diminution du taux de tanins par ce type de traitement résulte de l'oxydation des groupes phénoliques par l'oxygène présent dans l'air (**Ammar et al., 2004**).

Une autre approche de détannification consiste en la biodégradation des tanins par des moisissures, telles que : *Sporotricum pulverulentum*, *Ceriporiopsis subvermispora* et *Cyathus steroreus* (**Madrid et al., 2002**).

3. La plante médicinale d'étude : *Thymelaea hirsuta*

3.1 Description botanique de la plante

Thymelaea hirsuta est une plante de la famille Thymelaceae appelée aussi passerine hirsute ou « Metnan » en arabe (Fig 04).

Plante vivace, arbustive susceptible d'atteindre 2-3 mètres de hauteur, à feuilles très petites densément imbriquées, coriaces ovoïdes aiguës, glabres en dessous, pubescentes-laineuses en dessus ainsi que les tiges (**Polumin et Huxley, 1971**). Fleurs 2-5 au sommet des rameaux à calice rapidement caduque, jaunâtre, polygame. La plante porte sur des pieds différents soit des fleurs unisexuées soit des fleurs hermaphrodites. Les fruits sont des baies glabres, consommées par les animaux (dispersion zoochore). La floraison va d'octobre à avril, c'est une plante entomogame.

3.2 Place dans la Systématique

La classification botanique classique de *Thymelaea hirsuta* donnée par **Denelle et Puech (1985)**

Règne	Végétal
Embranchement	Phanérogames
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Ordre	Malvales
Famille	Thymelaceae
Genre	<i>Thymelaea</i>
Nom Latin.	<i>Thymelaea hirsuta</i> (L)Endel

Noms vernaculaires

Nom français : Passerine hérissée, Passerine hirsute, *Thymelaea hirsute*

Nom anglais : Hairy *Thymelaea*

Nom arabe : Mitnan, Metnan, Methnane, Matnan el akhdar

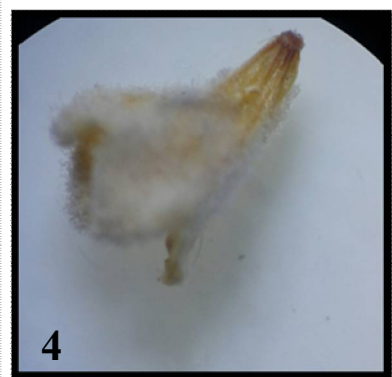
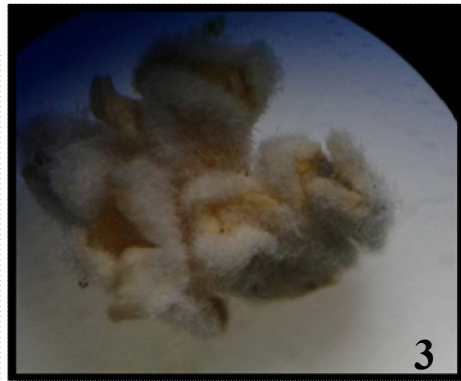


Figure 4 : *Thymelaea hirsuta* (Tiba et Araar ,2016).

Photo 1 : Plante fleurie

Photo 2 : Feuille

Photo 3 : Inflorescence mâle

Photo 4 : Fleur femelle

Photo 5 : Fleur mâle

Photo 6 : Tige fleurie

3.3 Distribution géographique

Le genre *Thymelaea* comprend 20 espèces que l'on trouve autour de la Méditerranée (**Lauber et Wagner, 2000**), et jusqu'en Asie centrale et le Pakistan. Son aire de distribution est essentiellement circumméditerranéenne (sud de l'Europe, sud-ouest de l'Asie, Afrique du Nord) (Fig 07). Elle s'étend cependant à l'ouest au littoral atlantique du sud de l'Espagne, du sud du Portugal et du Maroc nord-occidental. En Afrique du Nord, la limite sud de son aire coïncide à peu près exactement avec la bordure du Sahara (**Borris et al., 1988**).



Figure 5 : Carte de répartition géographique des Thymelaceae (**Heywood ,1996**).

3.4 Optimum écologique

3.4.1 Caractéristiques climatiques de Thymelaceae

Les membres de famille Thymelaceae sont répandus dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids (**Borris et al., 1988**).

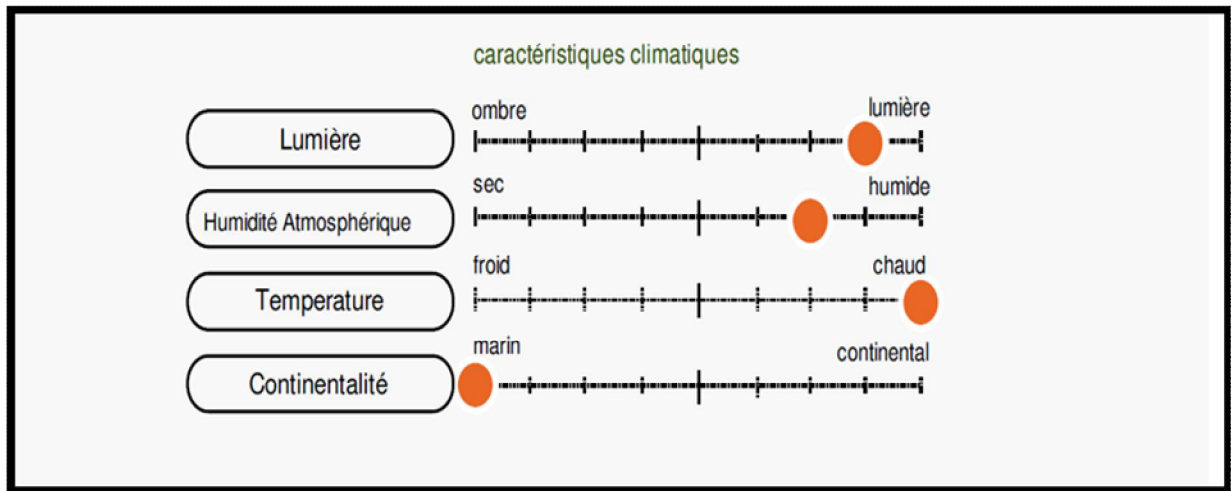


Figure 06 : Caractéristiques climatiques de la famille Thymelaceae (Julve, 2015)

3.4.2 Caractéristiques du sol de Thymelaceae

Parmi les différentes caractéristiques de sol chez la famille Thymelaceae est riche en nutriment et tolérant à salinité, pauvre en matière organique (Julve, 2015) cette espèce abonde en méditerranée dans les stages bioclimatique arides, elle croit sur les dunes et rochers maritimes (Polumin et huxley, 1971).

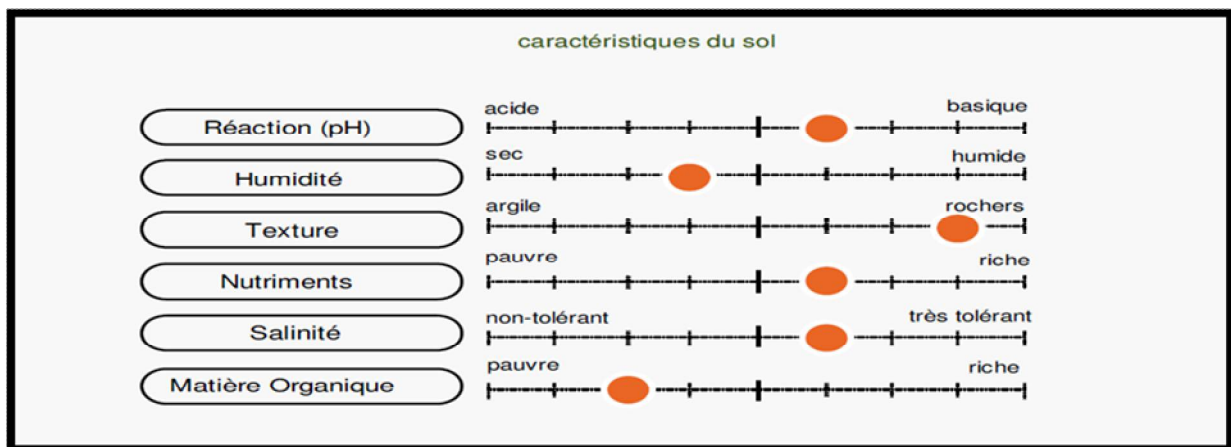


Figure 7 : Caractéristique du sol de la famille Thymelaceae (Julve, 2015)

3.5 Composition et propriétés biologiques

Les extraits de cette plante possèdent des effets antimélanogène dus aux daphnanes (Lauber et Wagner, 2000), Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés antiseptique, hypoglycémique, anti-hypertension, contre les affections de la peau (dermatoses). Plusieurs travaux sur la compositions chimique ont été effectués sur *Thymelaea hirsuta*, Le tableau 3 présente un récapitulatif de ces composés (Dohou et al., 2001)

Tableau 3 : Quelques données chimiques sur le genre *Thymelaea*. (Dohou *et al.*, 2001)

Organes étudiés	Molécules extraites	Références
feuilles	thyméol ((C ₃ H ₂ O) _n)	Saleh <i>et al.</i> , 1965
feuilles	stigmastérol, β-sitostérol, alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆	Gharbo <i>et al.</i> , 1970
feuilles	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar <i>et al.</i> , 1977
feuilles	tiliroside (3- <i>p</i> - coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)	Ismail, 1978
feuilles	lupéol, β-sitostérol, phytol, β-amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980
feuilles et brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol	Saenz de Buruaga, 1980a Rizk <i>et al.</i> , 1984
graines	protéines	Sammour et Sharaf, 1988
feuilles et brindilles	gnidicine, gniditrine, genkwadaphnine, 12- <i>O</i> - heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7-époxyrésiniféronol- 9,13,14-orthobenzoate et 12- <i>O</i> - butényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol- 9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane	Brooks <i>et al.</i> , 1990
racines	daphnorétine (éther de dicoumaryl)	Abou-Karam <i>et al.</i> , 1998
feuilles	tanins	El-Beheiry, 2000

3.6 Utilisations Traditionnelles des Thymelaceae

Les Thymelaceae sont utilisés pour la préparation d'une gamme très étendue de troubles, tels que vésicant et pour le traitement des maladies de la peau (**Tubery, 1968**). Les bases de l'utilisation de ces plantes dans le traitement d'autres maux, tels que morsures de serpents, piqûres de scorpions, malaria et affections ophtalmiques, ne sont pas claires (**Ren, 1978**). L'usage officinal interne de la plante, sous forme de décoction, comme remède

purgatif, anti-rhumatismal ou anti-syphilitique, était abandonné depuis longtemps (**Bhakuni et al., 1969**). Seules subsistaient des indications externes sous forme d'emplâtres ou de pommades rubéifiantes ou vésicantes, à présent caduques (**Matsui et al., 1967**).



Partie 02

Matériel et Méthodes

1. Description de la zone d'étude

La région de Bir el-Ater (arabe *بئر العاتر*) est une commune de la wilaya de Tébessa, située à 87 km au sud de Tébessa, elle est caractérisée par un climat subaride, avec un régime continental avec deux saisons très nette ; un hiver froid et rigoureux et un été où les températures peuvent dépasser 45°C.

Cette est liée par la route nationale N°16, elle s'inscrit entre les coordonnées suivantes : 34°43'N et 8°00'E. Les coordonnées du lieu spécifique de récolte sont : latitude 3,93 Km, longitude 1063m par GPS (Global Positioning system : géo localisation par satellite)

Bir el-Ater est limitée comme suit : au nord par la commune Elougla, El malha et Safsaf, au Sud par la commune Negrine, à l'Ouest par la frontière tunisienne et à l'Est par la commune Telidjane. (Fig. 08)

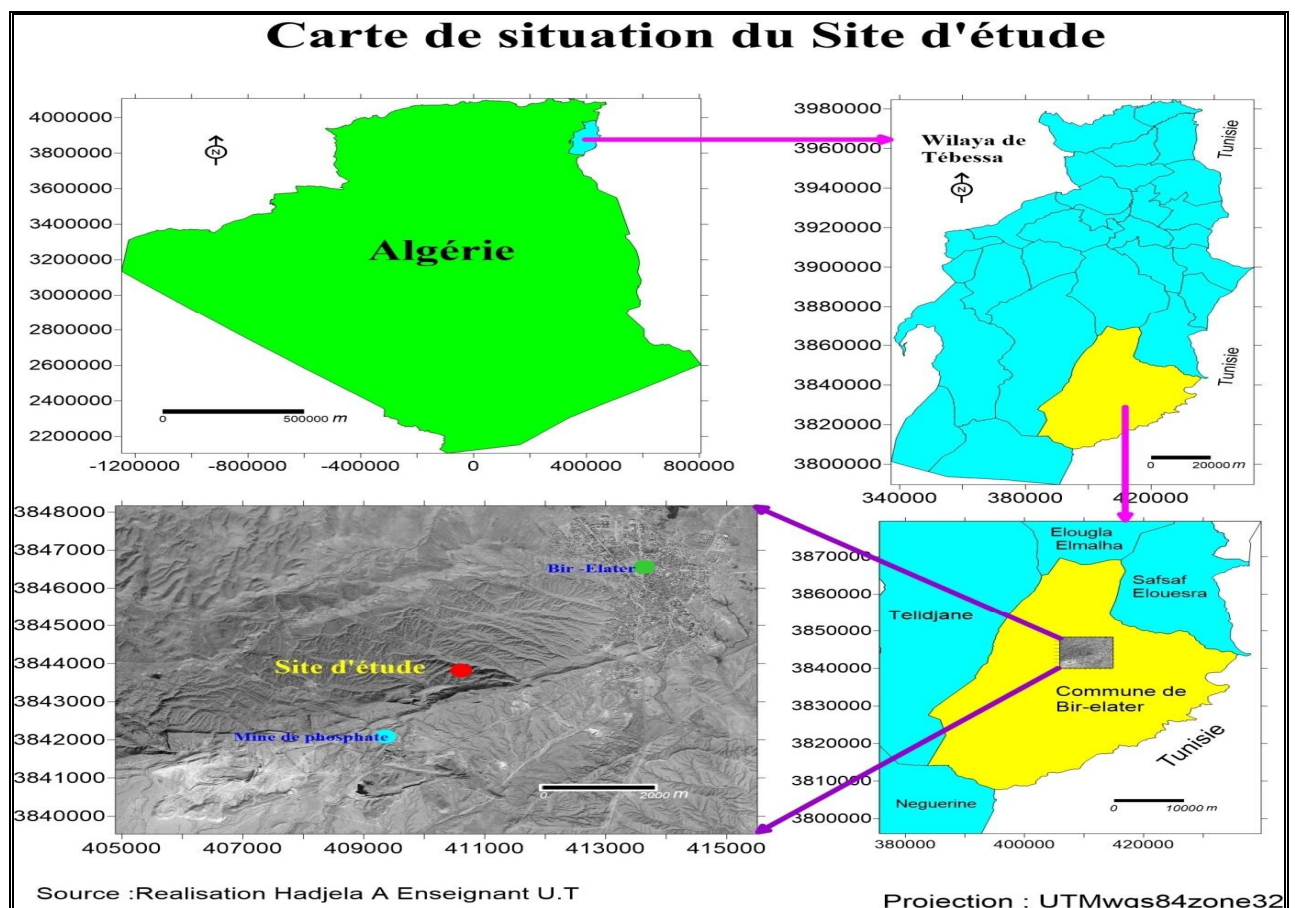


Figure 08 : Carte géographique du site d'étude Bir el-Ater (wilaya de Tébessa)

2 .Matériel végétal

Thymelaea hirsuta est une plante pérenne qui a été récoltée en deux périodes distinctes, en décembre 2012 par Azizi (2013) pour les plantes stockées, et en décembre 2015 pour les plantes récentes.

Après la récolte, le matériel végétal est séparé en plusieurs parties (feuilles, fleurs et tiges) puis séché à l'ombre et à l'air libre .

Après le séchage le matériel végétal est broyé finement, pour les feuilles et les tiges (0,5mm) avec un broyeur IKA(MF 10 basic) pour être ensuite utilisés dans les analyses .

Les plantes stockées (2012) ont subit la même procédure de broyage .

3. Etude des polyphénols

3.1. Extraction

Les polyphénols, classe de molécules hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. Ainsi, le solvant qui a été choisi pour notre étude est le éthanol qui présente une polarité moyenne, et l'eau dont la polarité est la plus élevée.

L'extraction est faite par un mélange éthanol /eau (v/v) (30 :70), (50 :50), (70 :30) et (100%) pour 2 g de poudre de végétal, pendant 72 heures avec renouvellement du solvant chaque 24 heures et agitation de temps à autre. Chaque 24h on récupère le macéra de chaque échantillon séparément.

Les macéras des 3 jours pour chaque échantillon sont réunis puis filtrés par du tissu mousseline. Les filtrats sont évaporés à sec dans l'étuve à 58°C.

Le résidu sec est repris dans 10 ml de méthanol, après une décantation de toute une nuit on récupère la phase limpide qui va subir différents dosages.

Pour chaque échantillon quatre à six répétitions ont été utilisées.

3.2 Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R(\%) = (Me/Mv) \times 100$$

R % : Rendement en %.

M e : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

M v : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998).

3.3. Estimations quantitatives

3.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (**Wong *et al.*, 2006**).

Les propriétés colorimétriques de réactif de Folin-Ciocalteu sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction –OH des phénols (**Catalano *et al.*, 1999**). Ce réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_4$ qui est réduit par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène MO_8O_3 , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée.

De chaque extrait 200 μ l (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation, 800 μ l de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75 g/l) a été ajoutée. Le mélange est agité puis incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre UV-Vis à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (0-200) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (μ g EAG/mg) (**Wong *et al.*, 2006**) (annexe1).

3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) citée par (**Djeridane *et al.*, 2006**) et (**Boudiaf, 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm.

1 ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisé par un standard étalon la catechine g/l(**Annexe1**)

3.3.3. Dosage des flavonoïdes aglycones

Le dosage différentiel des flavones et des flavonols est effectué en se basant sur les propriétés chélatantes d'AlCl₃ à 1 % en solution dans l'éthanol 95. La mesure de la densité optique est effectuée au spectrophotomètre UV-visible entre 380 et 460 nm, après 10 min. (**Jay et al., 1975**).

3.3.4. Dosage des Tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. 400µl de chaque extrait, est ajouté à 3 ml d'une solution méthanolique à 4% de vanilline, ensuite on a ajouté 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après 15 mn de réaction, l'absorbance est lue à 550nm. Les blancs sont préparés en remplaçant le réactif par le mélange méthanol-acide, les tubes sont maintenus à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est lue à 500 nm.

La concentration des tanins condensés est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide tannique 1g/l (**Annexe1**).

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de l'acide tannique par milligramme d'extrait.

3.3.5. Dosage des anthocyanes totaux

Les anthocyanes totaux ont été définis selon la méthode différentielle de pH (**Giusti et Wrolstad, 2001**) grâce au fait que la structure des anthocyanes subit une transformation réversible lors d'un changement de pH qui se manifeste par des spectres d'absorption différents.

Les extraits sont mis dans deux solutions tampon :

- ✓ une solution de chlorure de potassium 0.025 M à pH 1.0
- ✓ une solution d'acétate de sodium 0.4 M à pH 4.5.

Après 15 min d'incubation à température ambiante, l'absorption des deux extraits a été mesurée à 496 et 700 nm.

La teneur en anthocyanes totaux est donnée en mg de pelargonidine-3-glucoside (Pg-3-glu)/g masse sèche (MS); elle a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Anthocyanes totaux [mg Pg-3-glu/g MS]} = A * M * F * V * 1000 / \epsilon * d * Q$$

A = absorbance [-] $\rightarrow A = (A_{\lambda 496} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{\lambda 496} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 4.5}}$

M = masse molaire de l'anthocyane prédominant dans l'échantillon [g/mol]

F = facteur de dilution

V = volume de l'extrait [l]

ϵ = coefficient d'absorption molaire de l'anthocyane prédominant dans l'échantillon [L/cm* mol^{-1}]

d = largeur de la cuvette [cm]

Q = quantité du végétal (g)

Le coefficient d'absorption molaire appliqué est égal à 15600 L/cm* mol^{-1} (Giusti et Wrolstad, 2001) et le poids moléculaire équivaut à 433.2 g/mol pour le pelargonidine-3-glucoside (Giusti *et al.*, 1999.)

4. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traités par une analyse de la variance par le biais du logiciel Statistica 10. Le test de tukey est utilisé lorsque les différences sont significatives.



Partie 03

Résultats

1. Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction à partir de la plante *T.hirsuta* à différentes concentrations d'extraction éthanol/eau chez les tiges et les feuilles sont exprimés en pourcentage de la matière sèche (%MS) (Fig 07).

D'après notre expérimentation, les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les concentrations d'extraction 100% et 70%. Les rendements des plantes récentes sont plus élevés que ceux des plantes stockées pour les deux parties végétales (tiges et feuilles) de *T.hirsuta*, avec un meilleur rendement pour les feuilles de l'année d'étude.

Les différentes concentrations d'extraction éthanol/eau ainsi que les parties végétales influent considérablement les rendements (très hautement significatifs). Certaines interactions comme les parties végétales avec la concentration d'extraction sont très hautement significatives (Tab 04 et Annexe 02). De ces résultats nous constatons que l'extraction alcoolique pour les tiges donne les meilleurs rendements d'extraction par rapport aux mélanges hydroalcooliques.

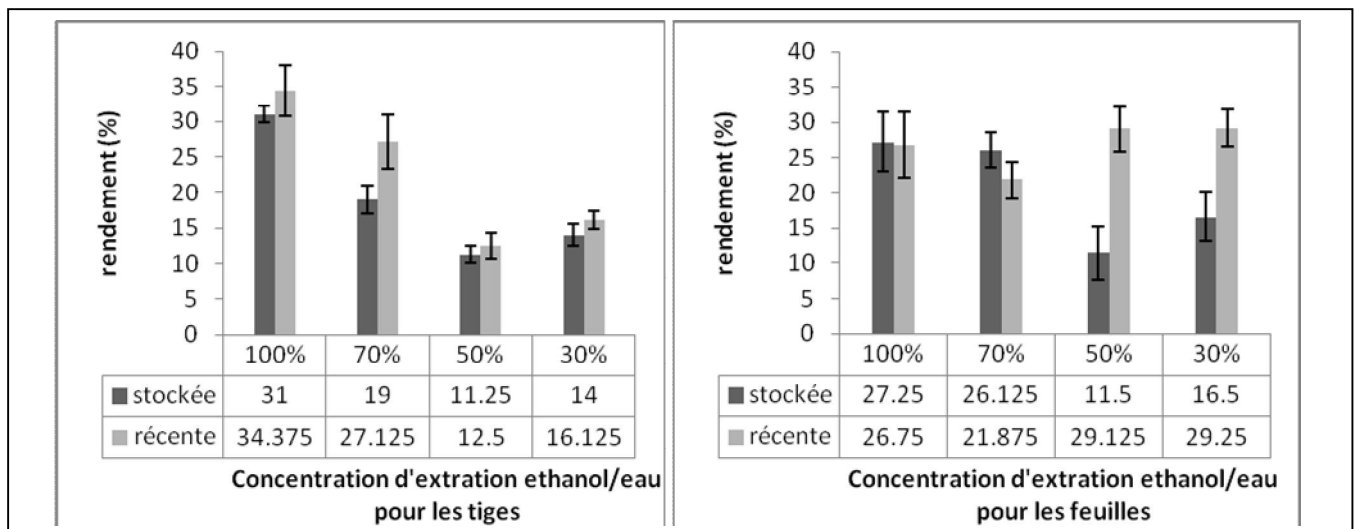


Figure 9 : Rendements d'extraction de *T.hirsuta* chez les plantes stockées et récentes au niveau des tiges et des feuilles à différentes concentrations d'extraction éthanol/eau. (moy ± Et).

Tableau 04 : Analyse de variance des rendements d'extraction chez *T.hirsuta* .

Effet	SC	ddl	MC	F	
Extraction	1140,34	3	380,11	10,949	***
Partie végétale	558,25	1	558,25	16,080	***
état	120,38	1	120,38	3,467	NS
Extraction*PV	602,09	3	200,70	5,781	***
Extraction*état	225,92	3	75,31	2,169	NS
PV*état	6,77	1	2,77	0,195	NS
Extraction*PV*état	751,49	3	250,50	7,215	***
Erreur	2777,37	80	34,72		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

Le test de Tukey pour les parties végétales montre deux groupes distincts tiges et feuilles , et trois groupes pour les concentrations d'extraction avec en tête la concentration 100% et en dernier lieu la concentration d'extraction 30% .

Les interactions mettent en évidence que la concentration d'extraction et l'état de la plante, à la concentration 100% stocké a un meilleur rendement par rapport aux autres, et elle est très faible à 50% stocké le mettant en un groupe à part, tous les autres sont des intermédiaires (**Annexe 03**).

2. Dosages spectrophotométriques

2.1 Teneurs en polyphénols totaux avant l'évaporation

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des différents extraits pour les polyphénols totaux avant l'évaporation des extraits après récupérations des macéras) sont représentés ci-dessous (**Fig 10**).

Dans cette composition nous notons que les tiges des échantillons stockés sont quantitativement plus riches en composés phénoliques que les tiges récentes à 100% (59.63 et 49.49 mg EAG/g) et 50% (72.79 et 59.55 mg EAG/g), cependant le contraire est enregistré pour 70% et 30%. Les teneurs constatées pour les feuilles stockées vis à vis des feuilles récentes aux mêmes concentrations d'extraction 100% (55.44 et 56.17 mg EAG/g)

et 50% (59.10 et 74.01 mg EAG/g) sont à l'inverse des tiges. L'analyse de la variance (**Tab 05**) des composés phénoliques avant évaporation a montré des différences très hautement significatives, seulement entre les concentrations d'extraction et aussi pour l'interaction totale (**Annexe 02**). Le test de tukey met en évidence différents groupes pour les concentrations 50 %, 100% et 70%, 30%.

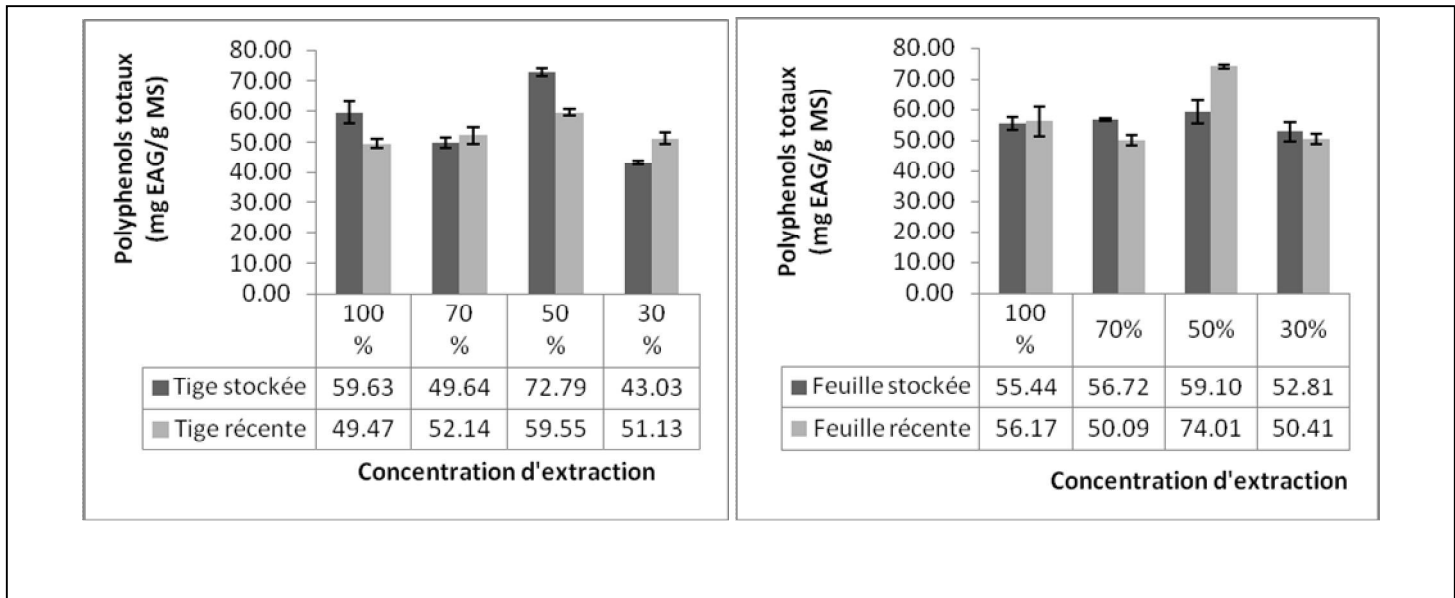


Figure 10 : Teneurs en polyphénols totaux des deux parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau avant évaporation (moy ± Et).

Tableau 5 : Analyse de la variance des composés phénoliques avant évaporation de *T.hirsuta* entre état, parties végétale et extraction.

Effet	SC	ddl	MC	F	
Extraction	393814	3	131271	18,306	***
Partie végétale	2444	1	2444	0,341	NS
état	13623	1	13623	1,900	NS
Extraction*PV	28060	3	9353	1,304	NS
Extraction*état	30289	3	10096	1,408	NS
PV*état	19468	1	19468	2,715	NS
Extraction*PV*état	86272	3	28757	4,010	***
Erreur	573675	80	7171		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

2.2 Teneurs des polyphénols totaux après évaporation

Les résultats du dosage des polyphénols totaux après évaporation à différentes concentrations d'extraction sont représentés dans la figure 11. D'après les résultats obtenus, les plantes fraîches (feuilles et tiges) ont des teneurs légèrement plus élevées que les plantes stockées. Les feuilles semblent avoir plus de polyphénols totaux que les tiges.

Le tableau 06 de l'analyse de la variance montre des différences très hautement significatives aussi bien pour les concentrations d'extraction que les parties végétales. La seule interaction très hautement significative dégagées par cette analyse est entre les concentrations d'extraction et parties végétales. Le test de Tukey montre pour les parties végétales deux groupes distincts tiges et feuilles, de même pour les concentrations d'extraction où la concentration 100% a un rendement supérieur à la concentration d'extraction 30% (**Annexe 03**).

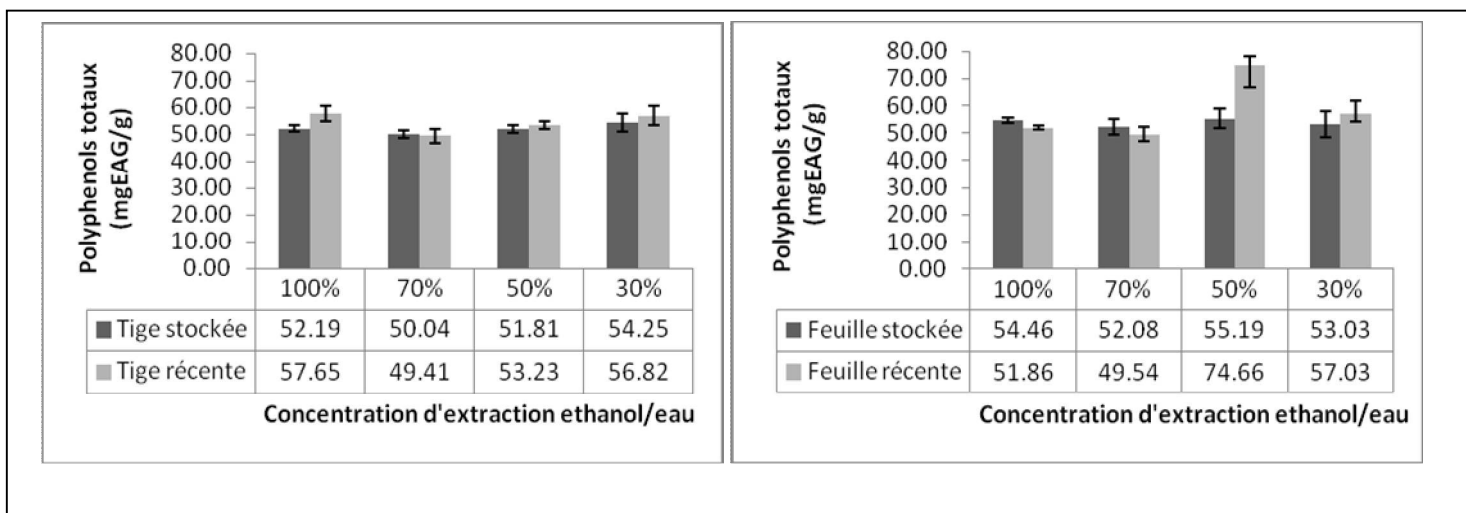


Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux des parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau après évaporation. (moy ± Et).

Tableau 06 : Analyse de la variance des composés phénoliques après évaporation de *T.hirsuta* entre état, parties végétales et extraction.

Effet	SC	ddl	MC	F	
Extraction	149352	3	49784	12,345	***
Partie végétale	25648	1	25648	6,360	***
état	3493	1	3493	0,866	NS
Extraction*PV	93571	3	31160	7,734	***
Extraction*état	7633	3	2544	0,631	NS
PV*état	996	1	996	0,247	NS
Extraction*PV*état	38344	3	12781	3,169	**
Erreur	322611	80	4033		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

2.3 Teneurs en flavonoïdes

La figure 12 enregistre les teneurs en flavonoïdes des deux parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau. D'après les résultats obtenus, les plantes récentes ont des teneurs en flavonoïdes légèrement supérieures ou égales aux plantes stockées aux niveaux des feuilles et tiges.

Les teneurs en flavonoïdes sont en général plus élevées chez les feuilles que les tiges. Les concentrations d'extraction dosage mettent en évidence des valeurs plus élevées en flavonoïdes à l'éthanol pure (100%), suivie des concentrations d'extraction 50%, 30% et en dernier lieu 70% pour les deux parties végétales.

Le tableau 07 de l'analyse de la variance a montré des réponses significatives à très hautement significatives pour tous les effets à l'exception des parties végétales.

La Concentration d'extraction 100% est bien mise en évidence par rapport aux autres par le test de Tukey. De même pour les tiges récentes par rapport à l'ensemble (**Annexe 03**).

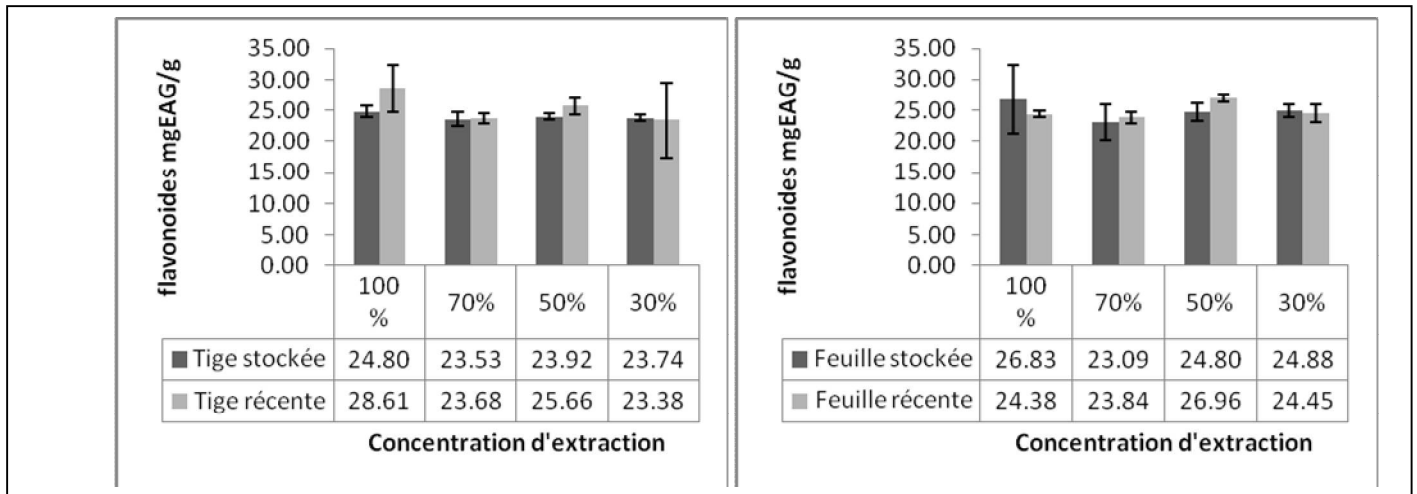


Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes des parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau (moy ± Et).

Tableau 07 : Analyse de la variance des Flavonoïdes de *T. hirsuta* entre état, parties végétales et extraction.

Effet	SC	ddl	MC	F	S
Extraction	10066	3	3355	19,63	***
Partie végétale	134	1	134	0,79	NS
état	1082	1	1082	6,33	**
Extraction*PV	2041	3	680	3,98	*
Extraction*état	1693	3	564	3,30	*
PV*état	1056	1	1056	6,18	**
Extraction*PV*état	4900	3	1633	9,56	***
Erreur	13672	80	171		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

2.4. Teneurs des Flavonoïde aglycones

Le dosage des flavonoïdes aglycones et leur lecture sur plusieurs longueurs d'onde de 380 à 460 nm avec un intervalle de 20 nm ont permis de faire une moyenne de ce paramètre pour chaque échantillon. Les valeurs moyennes des Flavonoïdes aglycones sont exprimées en mg /g MS et montre d'après la figure 13 que les tiges récentes ont des teneurs plus élevées

que les tiges stockées notamment pour les échantillons de 70% avec respectivement 28.6 et 29.37 mg /g MS ; il est de même pour les feuilles récentes ont des valeurs plus élevées que les stockées .

L'étude statistique (**Tab 08**) montre que les concentrations d'extraction ont une différence très hautement significative et une différence significative pour les parties végétales . Le test de Tukey enregistre pour les tiges et feuilles deux groupes distincts. Les concentrations montrent un groupe pour 100% et 70%, le deuxième groupe est composé de 70%, 50% et 30%. Les interactions sont très variables (**Annexe 03**).

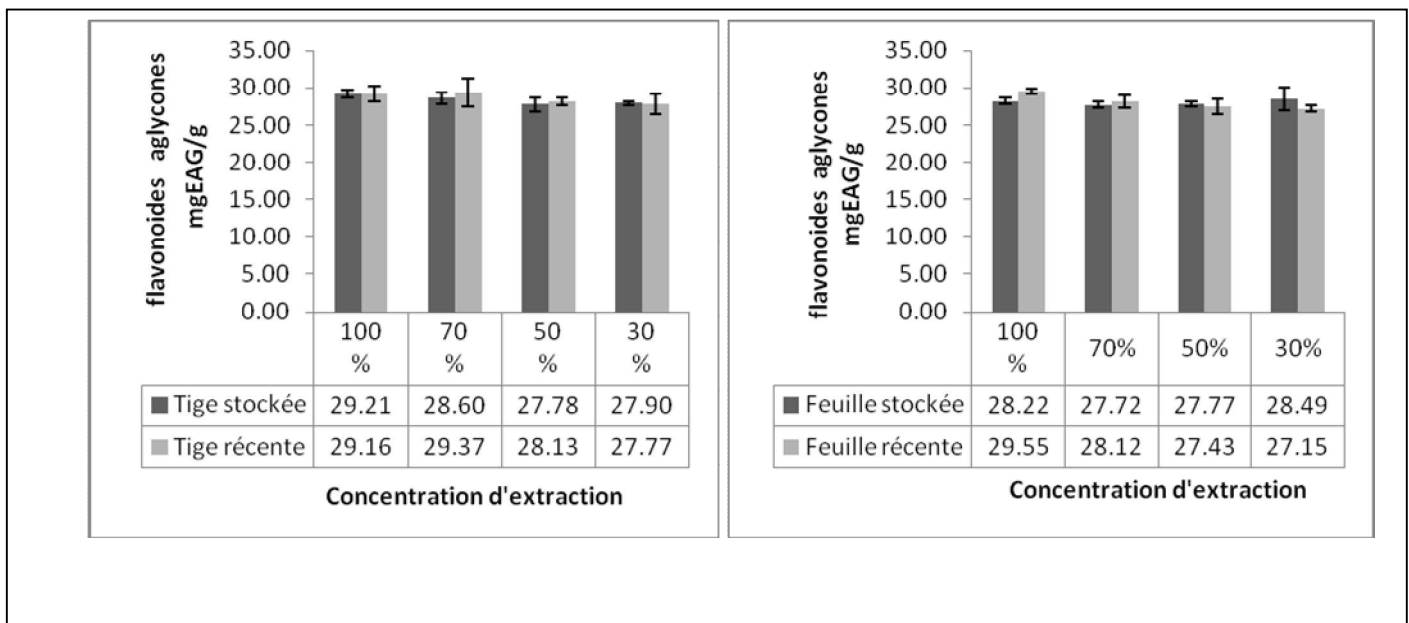


Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes aglycones des parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau. (moy ± Et).

Tableau 08 : Analyse de la variance des flavonoïdes aglycones de *T.hirsuta* entre, échantillons stockés et récents, parties végétales et concentrations d'extraction.

Effet	SC	ddl	MC	F	S
Extraction	2565	3	855	9,96	***
Partie végétale	461	1	461	5,38	*
état	39	1	39	0,45	NS
Extraction*PV	359	3	120	1,39	NS
Extraction*état	743	3	248	2,88	*
PV*état	32	1	32	0,37	NS
Extraction*PV*état	555	3	185	2,15	NS
Erreur	6866	80	86		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

2.5 Teneurs des Tannin condensés

Les résultats de la figure 14 montrent que les teneurs des tanins condensés sont plus élevées chez les feuilles que les tiges.

Ainsi, selon ces résultats les teneurs en tanins condensés sont quasiment plus élevées chez les plantes stockées que les plante récentes aussi bien pour les tiges que la plus part des échantillons de feuilles.

Le dosage des tanins condensé montre que la teneur la plus élevés est celle de la concentration d'extraction 100%, suivie par le concentration 50%, la teneur la plus faible est celle à 30%.

D'après le tableau 09 les résultats sont très hautement significatifs pour tous les effets à l'exception de l'interaction concentration d'extraction et parties végétales (**Annexe 03**). Le test de Tukey pour les parties végétales montre deux groupes différents tiges et feuilles. Il est de même pour les concentrations d'extraction où chaque concentration est bien spécifique dans l'ordre suivant 100, 50, 70 et 30%. Les échantillons récents sont supérieurs aux stockés. Les meilleurs échantillons sont pour les concentrations 100% et 70% (tous paramètres confondus) (**Annexe 03**).

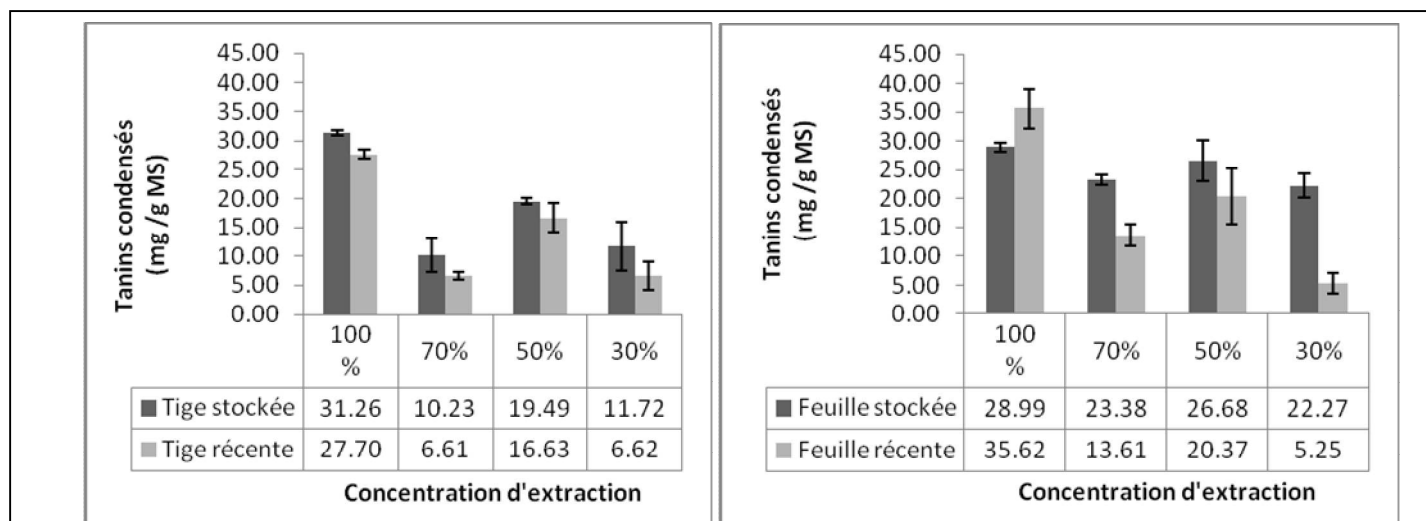


Figure 14 : Teneurs en tanins condensés des parties végétales (feuilles et tiges) récentes et stockées aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau (moy ± Et).

Tableau 09 : Analyse de la variance des tanins condensés de *T. hirsuta* entre, échantillons stockés et récents, parties végétales et concentrations d'extraction.

	SC	ddl	MC	F	S
Extraction	5568,27	3	1856,09	107,597	***
Partie végétale	790,10	1	790,10	45,802	***
état	649,75	1	649,75	37,666	***
Extraction*PV	171,79	3	57,26	3,319	*
Extraction*état	494,30	3	164,77	9,551	***
PV*état	47,84	1	47,84	2,774	NS
Extraction*PV*état	395,65	3	131,88	7,645	***
Erreur	1380,03	80	17,25		

*** Très hautement significatif. ** hautement significatif. * significatif. NS non significatif

2.6 Teneurs en anthocyanes

La figure 15 enregistre les teneurs en anthocyanes des deux parties végétales (feuilles et tiges) aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau pour les échantillons de l'année.

Les teneurs en anthocyanes sont en général plus élevées chez les tiges que les feuilles. Les concentrations d'extraction indiquent que la teneur en anthocyanes est variable .

L'analyse de la variance est très hautement significative pour tous les effets aussi bien entre parties végétales que concentrations d'extraction que l'interaction chez les échantillons stockés (**Tab 10**). Le test de Tukey pour les parties végétales montre deux groupes tiges et feuilles. Il est de même pour les concentrations d'extraction avec des groupes différents en tête 70% et en dernier 30%.

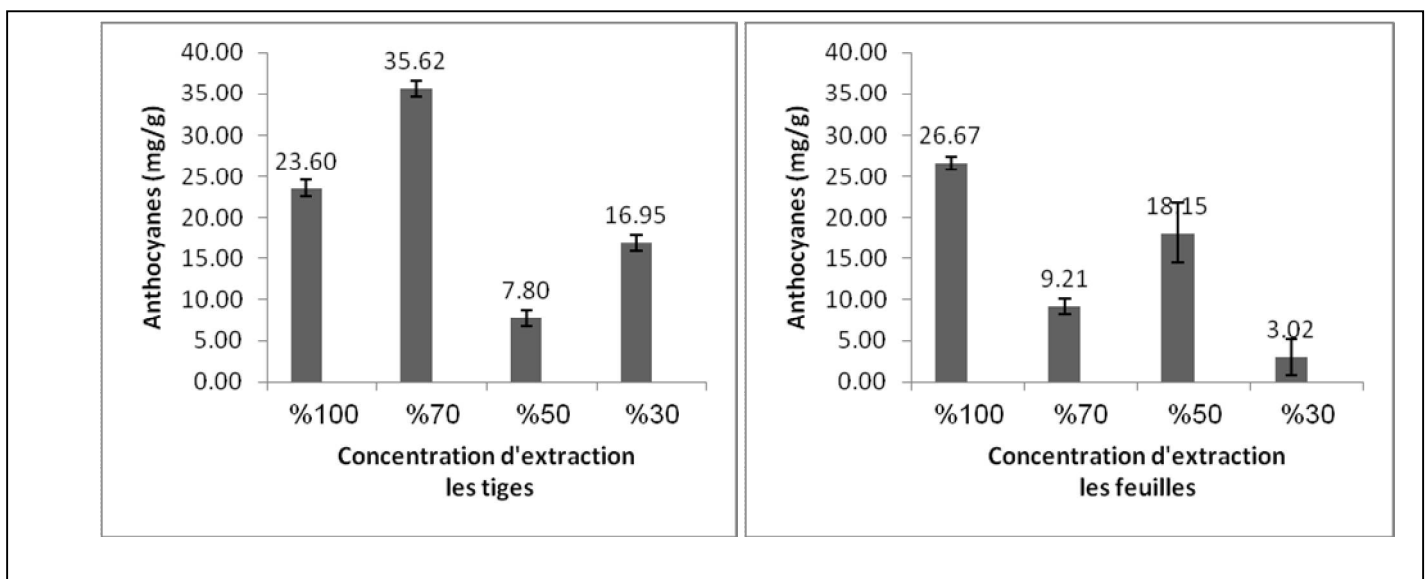
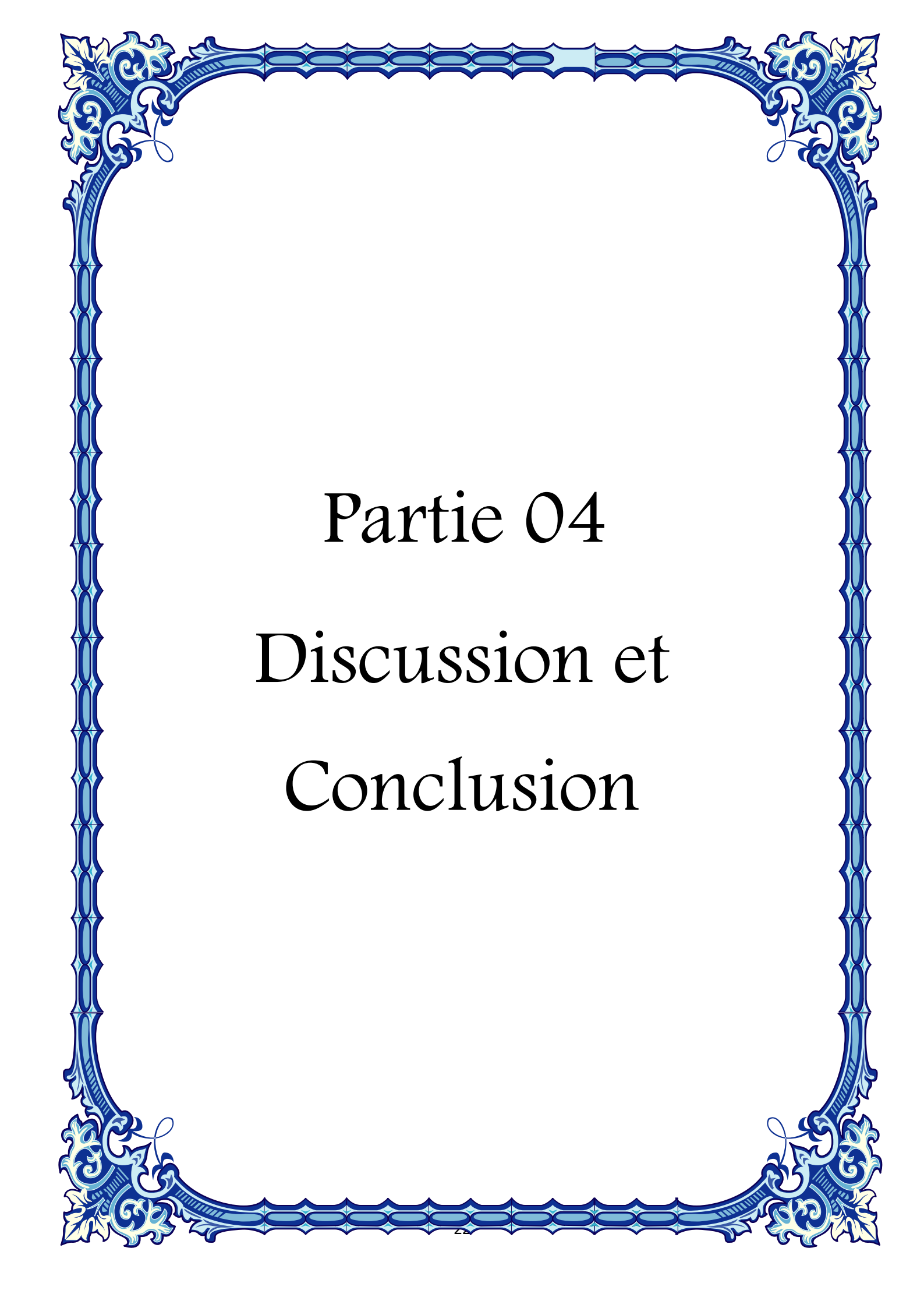


Figure 15 : Teneurs en anthocyanes des parties végétales (feuilles et tiges) aux différentes concentrations d'extraction éthanol/eau pour les échantillons de l'année (moy ± Et).

Tableau 10 : Analyse de la variance des Anthocyanes de *T.hirsuta* entre parties végétales et concentrations d'extraction chez les échantillons l'année.

Effet	SC	ddl	MC	F	S
Partie végétale	258,570	1	258,570	1551,42	***
Extraction	922,000	3	307,333	1844,00	***
PV* Extraction	1290,829	3	430,276	2581,66	***
Erreur	2,667	16	0,167		



Partie 04

Discussion et
Conclusion

Dans cette expérimentation plusieurs essais ont été menées en parallèle dont le but essentiel est d'obtenir les valeurs les plus élevés en polyphénols chez la plante médicinale *T.hirsuta*, et ceci par le biais de plusieurs comparaisons. Les comparaisons effectuées sont entre échantillons récents et stockés (état de la plante), entre les concentrations d'extraction éthanol/eau à utiliser et une autre comparaison entre les feuilles et les tiges.

Les résultats obtenus pour les rendements après extraction montrent une nette supériorité des plantes récentes qui sont plus élevés que ceux des plantes stockées pour les deux parties végétales (tiges et feuilles) de *T.hirsuta*, avec un meilleur rendement pour les feuilles de l'année d'étude (récente). Les rendements montrent aussi que l'extraction alcoolique notamment pour les tiges donne les meilleurs résultats d'extraction par rapport aux mélanges hydro-alcooliques. La comparaison des rendements avec les résultats de la bibliographie est très variable il dépend de la méthode d'extraction, du volume d'extraction, du mélange, des solvants utilisés et aussi de la provenance de la plante. Donc la comparaison est fragmentée selon les travaux trouvés. Selon les résultats de l'année précédente, la comparaison montre pour le volume éthanol/eau 70% que le rendement est deux fois supérieur à nos résultats mais qui confirment la supériorité des tiges par rapport aux feuilles de l'année en tenant compte que la plante a une autre provenance (Bekkaria)(**Berrah et Guattal, 2015**).

D'après **Ahmedna et Goktepe (2006)** et **Francisco (2009)** les rendements sont très variables selon le traitement préalable de la matière première et il est nécessaire d'effectuer une étude systématique sur le potentiel d'extraction.

Les teneurs en polyphénols avoisinent les 50 mg EAG/g MS avec un maximum de 70 mg EAG/g MS avec de meilleures teneurs pour les tiges ; les échantillons stockés et récents sont variable selon le volume d'extraction. Le volume d'extraction 50% montre les teneurs les plus importantes. Les teneurs avant et après récupération du rendement sans quasiment les mêmes. Il apparaît que le mélange de l'eau avec l'éthanol donne une meilleure extraction. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (**Sripad et al., 1982**) par modulation de la polarité du solvant organique (**Mohammedi et Atik, 2011**). Selon **Poncet-Legendre et al.(2003)**, l'éthanol pur est meilleur solvant que l'eau. L'éthanol solubilise correctement les composés phénoliques moyennement polaires et peut entraîner aussi des substances lipophiles résiduelles. L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycolyses et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé. D'autre part,

l'augmentation de l'eau dans le système de solvant d'extraction (0-50 % éthanol) fait extraire en quantité importante les composés non phénoliques comme les glucides et les protéines, susceptibles de polymériser avec les composés phénoliques ce qui conduit à la formation des complexes colloïdaux qui ne sont pas détectés par le test utilisé, Ce qui corrobore nos résultats.

Les résultats obtenus pour les teneurs en flavonoïdes sont en général plus élevées chez les feuilles que les tiges. Les résultats de **Bouhadjera (2005)** appuient les nôtres en montrant que les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties de la plante avec une dominance importante dans les feuilles. Cependant, d'après **Ouda Amri et al. (2014)** les teneurs en flavonoïdes chez les tiges sont plus élevées que celles des feuilles.

La comparaison de l'état des plantes a montré une teneur en flavonoïdes des plantes récentes légèrement supérieures ou égales aux plantes stockées pour les deux parties végétales (feuilles et tiges) avec des valeurs comprises entre 24 et 28 mg/g Ms. Les travaux de **Akrout et al. (2011)** sur *T. hirsuta* est de 36,8 mg/g Ms pour un volume d'extraction de 50% éthanol. Cependant une décoction de 10% ne donne que 3.16 et 2.61 mg/g Ms de flavonoïdes et 61.12 et 93 mg EAG/g MS en polyphénols respectivement pour les feuilles et les tiges (**Ouda-Amari et al., 2014**). Des études montrent que *T. hirsuta* est riche en acides phénoliques et en flavonoïdes. La 2-vicénine (6,8-di-C-β-D-glucopyranosylapigénol) a été trouvée dans les feuilles de *T. hirsuta*, avec 6 mg/g d'anthocyanidols pour les feuilles de *T. hirsuta*, valeur semblable à celle obtenue chez les feuilles de *T. lythroides* (5,8 mg/g). La richesse de la plante en flavonoïdes, produits naturels antioxydants, peut expliquer le fait qu'elle possède différentes propriétés pharmacologiques, surtout pour les parties aériennes (**Nawwar et Ishak, 1977**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga, 2003**). Le stockage des feuilles fraîches, pendant un jour, réduit les teneurs en phénols totaux d'après **Ammar et al. (2005)**, ce qui corrobore nos résultats.

Les tanins condensés montrent que les teneurs sont quasiment plus élevées chez les plantes stockées que les plantes récentes et sont plus élevées chez les feuilles que les tiges avec une bonne extraction à l'éthanol 100% et en deuxième lieu 50%. Selon **Ammar et al. (2005)** le stockage des feuilles pendant un jour, réduit les teneurs en tanins condensés contrairement à nos résultats.

La teneur des tanins condensés est plus faible que les autres composés flavonoïques puisque' ils se retrouvent dans différents organes chez les végétaux. On les retrouve en quantité plus élevée surtout dans les racines et les rhizomes, dans l'écorce et dans les graines, et enfin on les retrouver en quantité faibles dans les feuilles, les tiges et les fleurs (**Jones *et al.*, 2000**). En comparaison avec nos résultats les teneurs des flavonoïdes et des tanins condensés de notre essai ne sont pas si différents.

Sur la base de nos résultats en polyphénols, flavonoïdes, tanins, anthocyanes, les volumes d'extraction 100% et 50% ont été les meilleurs systèmes d'extraction. Le dosage des anthocyanes n'a pas été effectué sur l'ensemble des échantillons par manque d'extraits. Les teneurs en anthocyanes obtenues montrent des valeurs plus élevées chez les tiges avec un volume d'extraction éthanol/eau variable. Il est noté que les échantillons n'ont pas subi d'affrontements d'où les fortes valeurs inhabituels pour cette plante. Les résultats de **Berrah et Guattal (2015)** sont plus explicite avec des teneurs en anthocyanes plus faible représentant 11% des flavonoïdes obtenus pour un volume d'extraction de 70%, après affrontements ce qui semble logique vu que les anthocyanes font partie des 15 familles qui composent les flavonoïdes.

L'extraction des composés polyphénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De cette étude, il ressort que la macération par l'éthanol et par l' eau sont efficaces mais d'autres solvants pourraient être utilisés pour de meilleures techniques d'extraction des polyphénols. En général les feuilles contiennent plus de polyphénols de préférence non stockées. Ces résultats feront l'objet d'un suivi pour mieux extrapoler l'effet du stockage dans le temps et la meilleure extraction possible pour cette plante par différents solvants.



Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- **Aganga A.A. and Tshwenyane S.O. 2003.** Feeding Values and Anti-Nutritive Factors of Forage Tree Legumes. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (3) : 170-177.
- **Akrout A ; Alarcon Gonzalez L ; El Jani H ; Campra Madrid P.(2011).** antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology* 49 : 342–347
- **Alilou H. 2012.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC. Thèse de Doctorat en sciences. Université Ibn Zohr. Agadir, Maroc. p 215.
- **Ammar H., Lopez S., Gonzalez J.S., Ranilla M.J. 2004.** Seasonal variation in the chemical composition and *in vitro* digestibility of some Spanish leguminous shrubs species. *Animal Feed Science and Technology*, 115 : 327-340.
- **Ammar H., López S. and González J.S. 2005.** Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. *Animal Feed Science and Technology*, 119. : 323–331
- **Babar ali M., Hahn E.J., Paek k.Y., 2007-** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molécules*. **12**: 607-621 .
- **Balz R. 1986.** Les huiles essentielles et comment les utiliser. Sante Hygiene Parfums Cuisine.Ed: Imprimerie du Crestois, Eygluy-L'escoulin, 152 p.
- **Berrah R ; Gattal B.(2015).** Etude de quelques composés phénoliques de *Thymelaea hirsuta* et leur activité antioxydante.Mémoire Master Biologie.Tebessa.51p.
- **Boudiaf K. 2006.** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- **Bouhadjera K., 2005.**Thèse contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. Et *Aristida pungens* L. un- abou bekr belkaid.
- **Bhakuni D.S., Dhar, M.L., Dhar M.M., Dhawan B.N., Mehrotra B.N. (1969).** Screening of Indian plants for biological activity : Part II. *Indian J. Exp. Biol.* **8** :250-262.
- **Borris R.P., Blaskó G., Cordell G.A. 1988.** Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae. *J. Ethnopharmacol.* 24 : 41-91
- **Bruneton J. 2009.** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. 3e édition, Technique & Documentation, Paris, Pp. 654-655.

Références Bibliographiques

- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier, 1120p.
- **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition. Édition Tec et Doc .Paris, France. Pp 3.
- **Catalano L., Franco, I., DE Nobill, M., Andeita, L. 1999.** Polyphenols in olive mill waste waters and their depuration plant effluents: a comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica*, 43 : 193-205.
- **Chung KT., Wong TY., Wei CI., Huang YW and Lin Y. 1998.** Tannins and human health: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6) : 421-64.
- **Connolly JD., Hills R.A. 1992.** dictionnaire of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156p.
- **Dean F M. 1963.** Natural occurring Oxygen Ring Compounds. Ed : Butterworth, Londres 123p
- **Denelle N., Puech S. 1985** Etude caryosystematique de *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. (Thymelaeaceae) dans deux stations du littoral mediterraneen français (Camargue etAlberes). *Taxon*, 34(4), 611-616
- **Dinelli G., Bonetti A., Minelli M., Marotti I., Catizone P. et Mazzanti A. 2006.** Content of flavonols in italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry* (99).Pp 105-114.
- **Djeridane A., Yous, M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97 : 654-660.
- **Dohou N., N. GmiraA, L. Doumi, & M. Hmamouchi. 2001** Valorisation des sous produits de plantes médicinales endémiques de la région du gharb: cas de l'espèce de *Thymelaea lythroides*. Premier congrès de l'AMPEPM: «Plantes médicinales: biologie et santé». 01-03 novembre 2001. Université Ibn Tofail. Faculté des Sciences de Kénitra 45p.
- **Eberhard .T ., Robert A ., Amelise L. 2005.** plante aromatique ,épice aromatique,condiments et huils essentielles.Tec et Doc .Lavoisier,Paris France .Pp 6-8 .
- **Faye O., Lo M., Gaye O. 1997.** Connaissances et circuits thérapeutiques relatifs au paludisme en zone rurale Sénégalaise. *Médecine tropicale* ; 57 : 161-164
- **Francisco M.L.L.D., Resurreccion A.V.A. 2009.** Total phenolics and antioxidant capacity of heattreated peanut skins. *J. Food Comp. Anal.*, , 22, 16-24.

Références Bibliographiques

- **Giusti M., Rodriguez-Saona L. E., Wrolstad R. E. 1999.** Spectral characteristics, molar absorptivity and color of pelargonidin derivatives, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4631-4637.
- **Giusti M., Wrolstad R. E. 2001.** Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Units F1.2.1- F1.2.13
- **Giordani R. Kaloustian J, 2006.** Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques *J Phytothérapie* Numéro 3, Pp121-124
- **Gobbi R et Khebbaz, W.2014.** Tracabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux .2p.
- **Gomez-Caravaca A.M., Gomez-romero M., Arraez-Roman D., Segura Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., 2006-** Advances in the analysis of phenolic compounds in Products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1220-1234
- **Hagerman A.E. 1992.** Tannin protein interactions. In: *Phenolic compounds in food and their effects on health : Analysis, occurrence and chemistry*, HO, LEE et HUANG . Ed :American chemical society, Washington DC, Pp 236-247.
- **Hahlbrock K., Scheel D., Logemann E., Nurnberger T., Parniske M., Reinold S., Sacks W-R. et Schmelzer E. 1995.** Oligopeptide elicitor-mediated defense gene activation in cultured parsley cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92 : 4150-4157.
- **Harbon JB. (1989).** General procedures and measurement of total phenolics. In: *Harborne JB. plant phenols-Academie, Press. Loudres*. Pp 1-28.
- **Harborne JB. 1998.** *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. ISBN : 203-214.
- **Hellal Z. 2011.** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.
- **Hess M. 2002.** *Alkaloids, Nature's Curse or Blessing* 1ère édition. Ed. Wiley- VCH, New York. USA. 297p
- **Heywood V.H. (1996).** *Les Plantes à Fleurs*. Editions Nathan, Paris. Pp. 159-160.
- **Hopkins W. 2003.** Assimilation du carbone et productivité in : *physiologie végétale traduction*. 2^{ème} Ed américaine par serge Rambour. p515

Références Bibliographiques

- **Jay M., j.F.gonnet ,Ewollenweber, B.Voirin . 1975.** sur l'analys quntitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxonomique .phytochemistry 14 : 1605-1612.
- **Jones R.M ; Meyer J.H.F ;Bechaz M .and Stoltz M.A.2000.** an approach to screening potential pastures species for condensed tannin activity .animal feed science and technology ,85 : 269-277
- **Judd Walter S., Campbell Christopher S., Kellogg Elizabeth A., Stevens Peter.2002.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université. Pp 84-87 ,396-399.
- **Kansole M.M.R. 2009.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin).
- **Koedam A. 1982.** World Crops: Production, Utilization, Description. Pp 7 – 229.
- **Kumar R. 2003.** Anti-nutritional factor, the potential risks of toxicity and methods to alleviate them. www.Fao.org/DOCREP/0031T0632E10.htm
- **Lauber K., Wagner, G. 2000.** *Flora Helvetica – Flore Illustrée de Suisse*. Editions Paul Haupt, Berne, Pp. 662-664.
- **Longo L, Vasapollo G. 2006.** Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries, *Food Chemistry* :.226–231.
- **Madrid J., Megías M.D. and Hernández F. 2002.** *In vitro* determination of ruminal dry matter and cell wall degradation, and production of fermentation end-products of various byproducts. *Anim. Res.*, 51 :189 –199.
- **Macheix J-J ., Fleuriet A et Sarni- Manchado P. 2006** .composés phénoliques dans la plante.structure . Biosynthèse, répartition et roles et cheynieV.Les polyphenoles en agroalimentaire .Edition technique et documentation, Lavoisier, Pp1-27 .
- **Macheix J-J ,fleuriet A et Billot U .1990.**fruit phenolics.CRC .Press Inc. Boca Raton Florida .387p .
- **Makkar H.P.S. 2000.** Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation ofnutritional quality of feed resources. Animal Production and Health Section Joint FAO/IAEA Division International Atomic Energy Agency Vienna (Austria).
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remezy C.and Jimenez L. 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *J.Am. Clin. Nutr.* 79 (5) : 727-747.
- **Matsui A.S., Rogers, J., Wood, Y.K., Cutting, W.C. 1967.** Effects of some natural products on fertility in mice. *Med. Pharm. Exp.* 16, 414-424.

Références Bibliographiques

- **Medic Sanic M., jasprica I., Smolcic Bubalo A., and Mornar A. 2004.** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croatica chemica acta*. p361-366 .
- **Mohammedi Z ; Atik F. 2011.** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.* Vol. 2 : 609-615.
- **Morin P, C. Gunther, L., Peyron, H. Richard. 1985.** Bulletin de la Societe Chimique de France. 5. 921p.
- **Mueller-Harvey I. 2001.** Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology* 91 : 3-20.
- **Nawwar (M.A.M.), Ishak (M.S.), El Sherbieny (A.E.D.A.), Meshaal (S.A.)** Flavonoids of *Reaumuria mucronata* and *Thymelaea hirsuta*. - *Phytochemistry*, 1977, **16(8)** : 1319-1320.
- **Ouda Amri N ; Bouzouna M ; Berkani A et Lotmani B.2014.** phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of thymelaea hirsuta L .*Asian Pac J trop dis* ;4(2) : 104-109.
- **Peronny S., 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta). Thèse de doctorat, 151p.
- **Polumin O., huxley A., 1971.** Fleurs du bassin méditerranéen .Fernand nathan Ed :Paris
- **Poncet-Legrand C., Cartalade D., Putaux,J.L., Cheynier V., Vernhet A. 2003** Flavan-3-ol Aggregation in Model Ethanolic Solutions: Incidence of Polyphenol Structure, Concentration, Ethanol Content, and Ionic Strength. *Langmuir*, , **19(25)** : 10563–10572.
- **Price M.L.,S.Van Soyoc and L.G.butler .1978.** A critical evaluation of the vanillin reaction as An assay for tannic in sorghum grain .*J.agric. food chem*, 26 : 1214-1218.
- **Raven H ., Evert .T., Eichhorn S.E .2000 .**Biologie végétale ,6^{ème} édition ,traduit par jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de charles .Marie EVARD.De Boeck université paris .944p
- **Ren C.P. 1978.** Long-acting analgesic antidyne in anal operations. *Nat. Med. J. China* **4**, 158-159.
- **Rhodes M-J-C., Woollorton L-S-C. et Hill A-C. 1981.** Changes in phenolic metabolism in fruit and vegetable tissues under stress. Academic Press, Londres.Pp 193-220.

Références Bibliographiques

- **Ribereau-Gayon P, 1986** .Les composés phénoliques des végétaux .Edition Dumoud .paris
- **Schauenberg P., Paris F., 2005**. Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396p
- **Seenivasan P. 2006**. In vitro antibacterial activity of som plant essential oils. *Jornal of complementary and alternative medicine*. Vol. (9) : P 6-39.
- **Sripad G ., Prakash V ., Narasinga Rao M.S . 1982** Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci*. Vol. 4 : 145-152.
- **Stalikas C.D.2007** .Extraction ,séparation and détection Méthods for acids and flavonoids Reviu .j .sep .Sci . 30 : 3268-3295.
- **Stobiecki M. 2000**. Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry*. Pp 237-256.
- **Stobiecki M. A. Skiryecz, L. Kerhoas, P. Kachlicki, D. Muth, J. Einhorn, AND B. Mueller., 2006**. Roeber, Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS, *Metabolomics*. Pp 197-219.
- **Thomas M. 2011**. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*) thèse de doctorat. Université Toulouse
- **Tubery P.1968**. Alcohol extract of *Lasiosiphon kraussianus* plant having lymphocytic activity, for use against leprosy. Brevet, Fr. M. 6366 (CA 74, 91170x).
- **Wong J.G; Anderson R.A; Graham G.M; CHU M.C; Sauer M.V; Guarnaccia M.M ; Lobo R.A., 2006**. The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. *FertilSteril*12. p 12
- **Ahmedna Yu J., Goktepe M., Dai I., 2006**. Peanut skin procyanidins: Composition and antyoxydant activities as affected by processing. *Journal of Food composition and analysis*, , 19 :364,-371.
- **Ziegler J., Facchini P.J. 2008**. Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol*. Vol (59) :735 – 769.
- **Zimmer N. et Cordesse R. (1996)**. Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA Prod. Anim*. 9 (3) : 167-179.

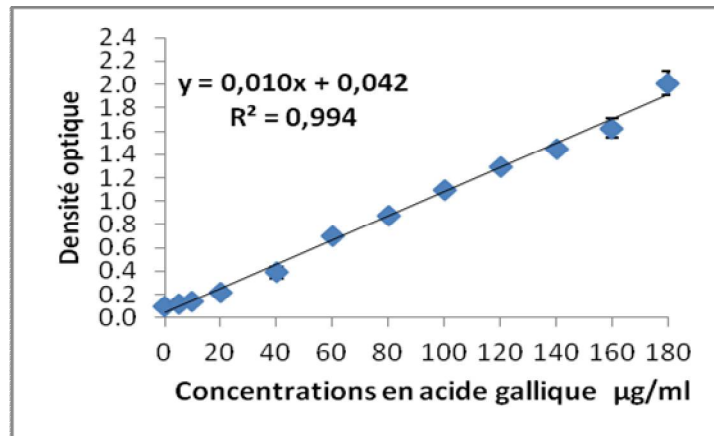


Annexes

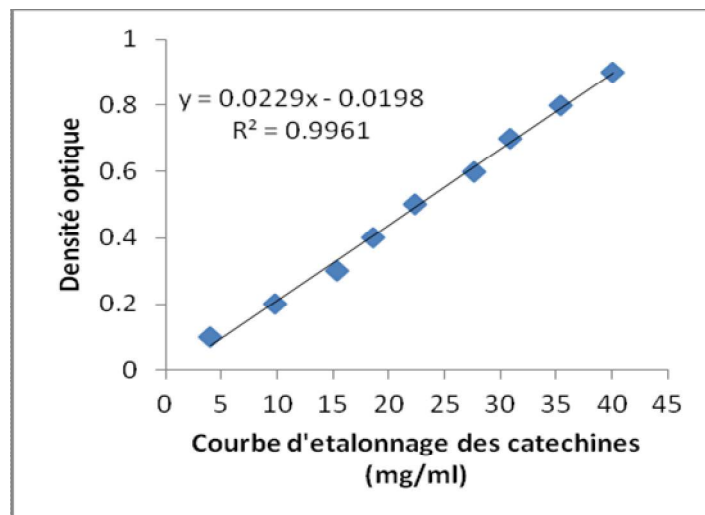
Annexes

Annexes 1 : Courbes d'étalonnages utilisées

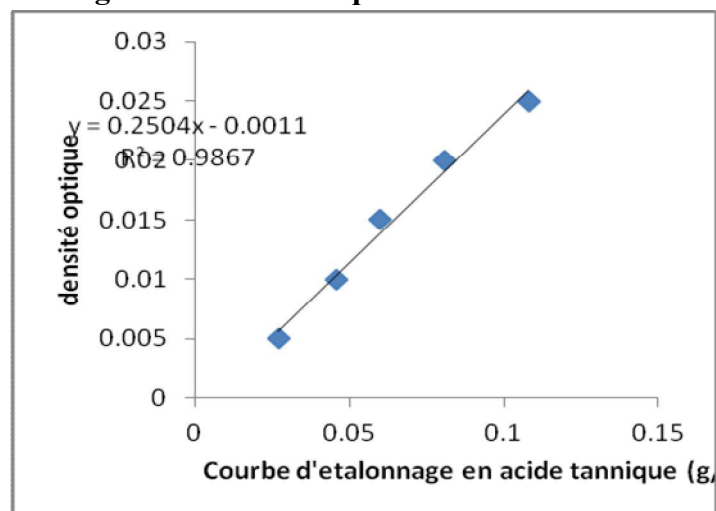
1- Droite d'étalonnages de l'acide gallique



2- Droite d'étalonnage des catéchines



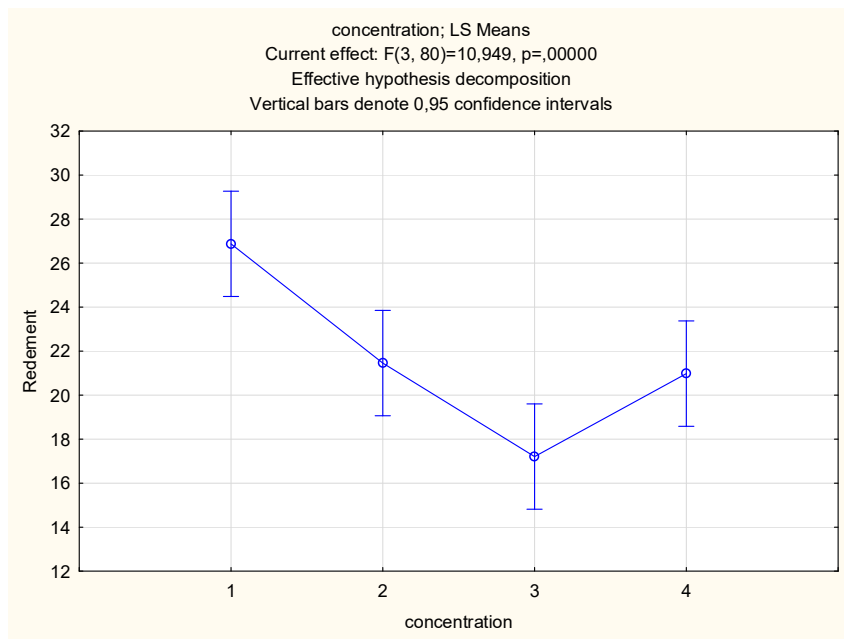
3- Droite d'étalonnage de l'acide tannique



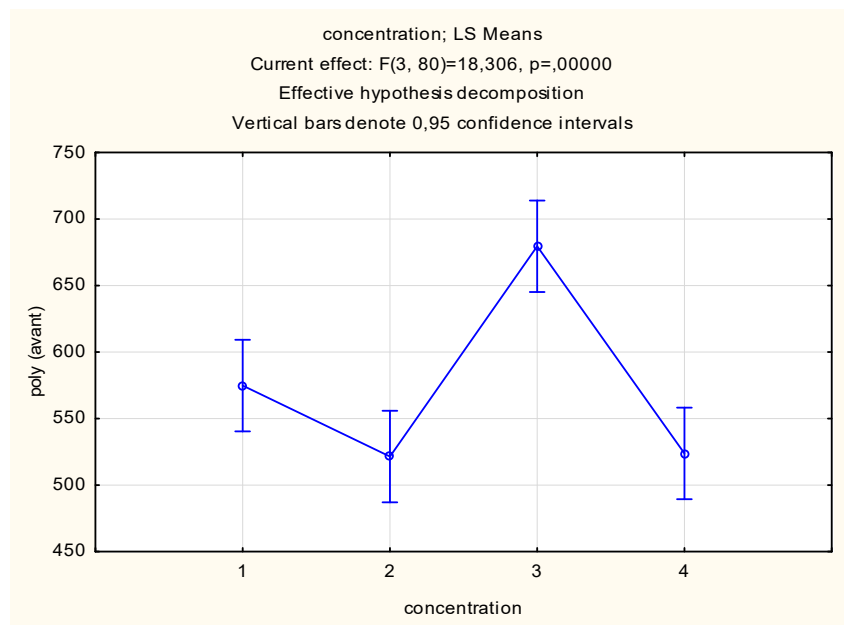
Annexes

Annexes 2 :

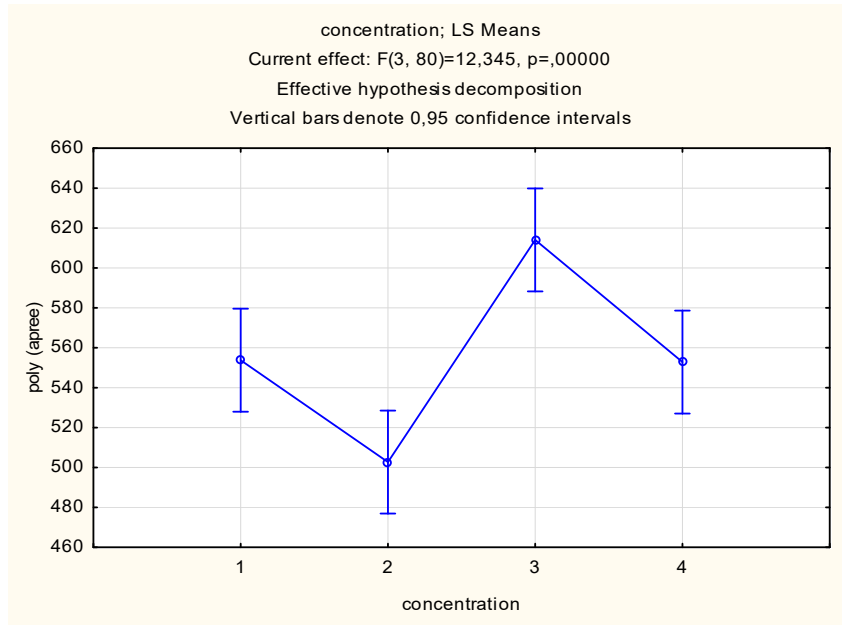
1-Rendements tous échantillons confondus en fonction du volume d'extraction



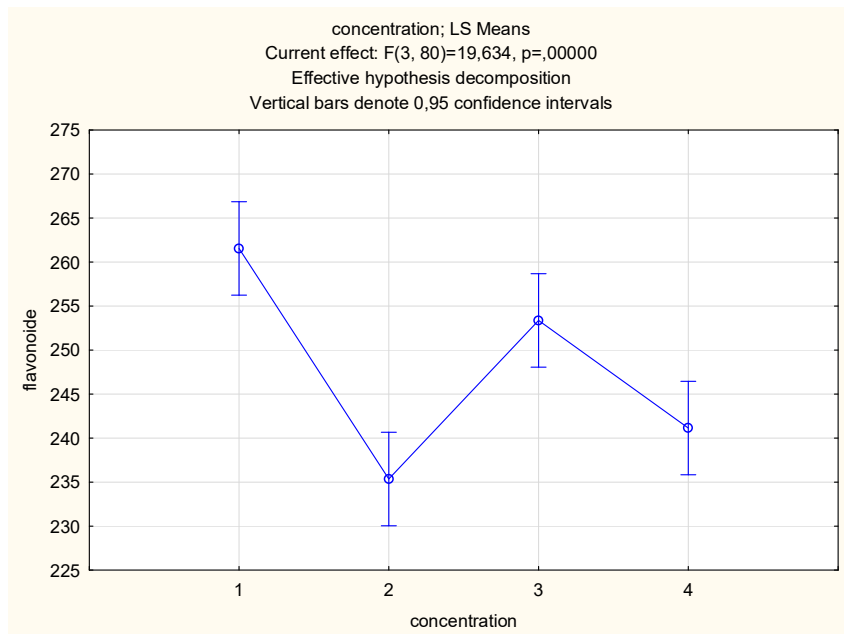
2-Polyphenols avant évaporation



3-Polyphenols après évaporation

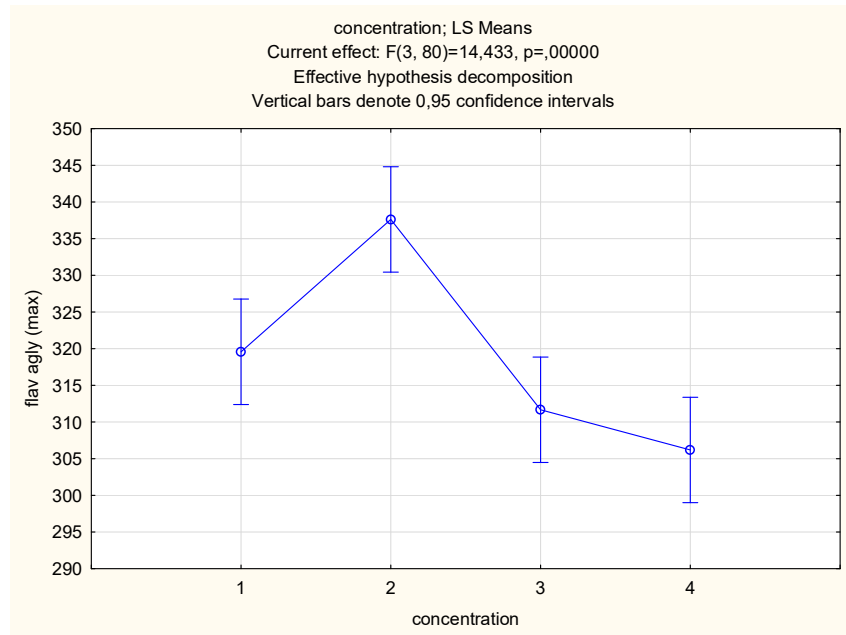


4-Flavonoïdes

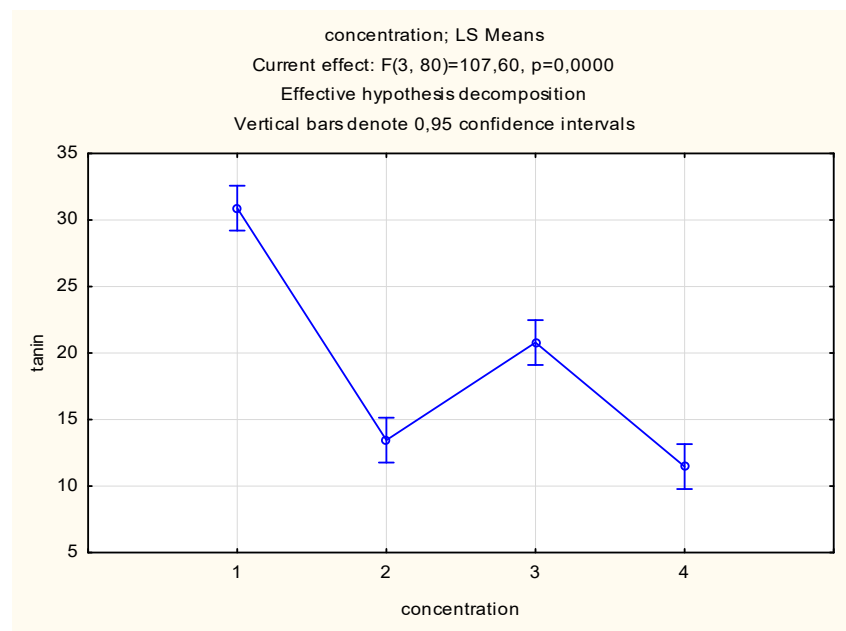


Annexes

4-Flavonoïde aglycones



5-Tanins



Concentration :

Etat :

pv :

- 1- 100%
- 2- 70/30%
- 3- 50/50%
- 4- 30/70%

- 1-stockée
- 2-récente

- 1- branche
- 2- feuille

Annexes

Annexes 3 : Comparaisons par le test de Tukey

1- Rendement $\alpha=05$

Cell No.	concentration	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			28,042	25,708	20,708	22,208	14,250	20,167	19,042	22,917
1	1	1		0,977425	0,059233	0,243919	0,000123	0,032228	0,007953	0,404904
2	1	2	0,977425		0,437521	0,828415	0,000319	0,304621	0,117148	0,940615
3	2	1	0,059233	0,437521		0,998506	0,142562	0,999999	0,997015	0,983518
4	2	2	0,243919	0,828415	0,998506		0,029224	0,989591	0,890038	0,999991
5	3	1	0,000123	0,000319	0,142562	0,029224		0,228135	0,493745	0,012259
6	3	2	0,032228	0,304621	0,999999	0,989591	0,228135		0,999783	0,945031
7	4	1	0,007953	0,117148	0,997015	0,890038	0,493745	0,999783		0,742438
8	4	2	0,404904	0,940615	0,983518	0,999991	0,012259	0,945031	0,742438	

Cell No.	etat	{1}	{2}
		20,510	22,750
1	1		0,066369
2	2	0,066369	

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	{1}	{2}	{3}	{4}
		26,875	21,458	17,208	20,979
1	1		0,010995	0,000148	0,004733
2	2	0,010995		0,067850	0,992215
3	3	0,000148	0,067850		0,127536
4	4	0,004733	0,992215	0,127536	

Cell No.	pv	{1}	{2}
		19,219	24,042
1	1		0,000246
2	2	0,000246	

Cell No.	concentration	pv	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			27,458	26,292	21,000	21,917	12,500	21,917	15,917	26,042
1	1	1		0,999723	0,142562	0,304621	0,000120	0,304621	0,000293	0,998976
2	1	2	0,999723		0,363105	0,609467	0,000123	0,609467	0,001239	1,000000
3	2	1	0,142562	0,363105		0,999945	0,015146	0,999945	0,415664	0,426543
4	2	2	0,304621	0,609467	0,999945		0,004574	1,000000	0,213066	0,677727
5	3	1	0,000120	0,000123	0,015146	0,004574		0,004574	0,845236	0,000125
6	3	2	0,304621	0,609467	0,999945	1,000000	0,004574		0,213066	0,677727
7	4	1	0,000293	0,001239	0,415664	0,213066	0,845236	0,213066		0,001736
8	4	2	0,998976	1,000000	0,426543	0,677727	0,000125	0,677727	0,001736	

Annexes

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}
				25,167	29,750	30,917	21,667	17,667	24,333	23,750	20,083	11,500	13,500	17,000	26,833	17,000	14,833	21,083	31,000
1		1	1		0,992629	0,943428	0,999631	0,691194	1,000000	1,000000	0,980131	0,011775	0,067377	0,552810	1,000000	0,552810	0,177510	0,997834	0,936717
2		1	2	0,992629		1,000000	0,570385	0,048089	0,965288	0,921686	0,268152	0,000223	0,000931	0,027170	0,999961	0,027170	0,003479	0,449058	1,000000
3		1	2	0,943428	1,000000		0,337615	0,017337	0,851486	0,755285	0,126125	0,000169	0,000350	0,009297	0,997834	0,009297	0,001091	0,243008	1,000000
4		1	2	0,999631	0,570385	0,337615		0,998271	0,999988	1,000000	1,000000	0,197727	0,552810	0,991183	0,976997	0,991183	0,813159	1,000000	0,322976
5		2	1	0,691194	0,048089	0,017337	0,998271		0,839232	0,913346	0,999997	0,904445	0,997274	1,000000	0,352612	1,000000	0,999973	0,999723	0,016061
6		2	1	1,000000	0,965288	0,851486	0,999988	0,839232		1,000000	0,996620	0,025243	0,126125	0,723898	0,999995	0,723898	0,294796	0,999849	0,839232
7		2	2	1,000000	0,921686	0,755285	1,000000	0,913346	1,000000		0,999364	0,041798	0,187419	0,826455	0,999921	0,826455	0,399538	0,999988	0,739773
8		2	2	0,980131	0,268152	0,126125	1,000000	0,999997	0,996620	0,999364		0,465993	0,851486	0,999921	0,826455	0,999921	0,973497	1,000000	0,118767
9		3	1	0,011775	0,000223	0,000169	0,197727	0,904445	0,025243	0,041798	0,465993		1,000000	0,960533	0,002296	0,960533	0,999794	0,281278	0,00167
10		3	1	0,067377	0,000931	0,000350	0,552810	0,997274	0,126125	0,187419	0,851486	1,000000		0,999631	0,016061	0,999631	1,000000	0,674433	0,000331
11		3	2	0,552810	0,027170	0,009297	0,991183	1,000000	0,723898	0,826455	0,999921	0,960533	0,999631		0,243008	1,000000	0,999999	0,997834	0,008581
12		3	2	1,000000	0,999961	0,997834	0,976997	0,352612	0,999995	0,999921	0,826455	0,002296	0,016061	0,243008		0,243008	0,051511	0,943428	0,997274
13		4	1	0,552810	0,027170	0,009297	0,991183	1,000000	0,723898	0,826455	0,999921	0,960533	0,999631	1,000000	0,243008		0,999999	0,997834	0,008581
14		4	1	0,177510	0,003479	0,001091	0,813159	0,999973	0,294796	0,399538	0,973497	0,999794	1,000000	0,999999	0,051511	0,999999		0,894976	0,001007
15		4	2	0,997834	0,449058	0,243008	1,000000	0,999723	0,999849	0,999988	1,000000	0,281278	0,674433	0,997834	0,943428	0,997834	0,894976		0,231078
16		4	2	0,936717	1,000000	1,000000	0,322976	0,016061	0,839232	0,739773	0,118767	0,000167	0,000331	0,008581	0,997274	0,008581	0,001007	0,231078	

2-Polyphénol avant :

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}
				574,80	521,48	679,53	523,85
1		1	1		0,137358	0,000417	0,167117
2		2	1	0,137358		0,000147	0,999713
3		3	1	0,000417	0,000147		0,000147
4		4	1	0,167117	0,999713	0,000147	

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}
				596,33	494,67	624,23	583,98	496,38	521,44	567,15	500,93	739,48	647,50	591,03	740,13	551,90	511,25	528,11	504,13
1		1	1		0,772188	1,000000	1,000000	0,793046	0,975208	1,000000	0,843522	0,224984	0,999548	1,000000	0,218796	0,999919	0,929217	0,989585	0,874530
2		1	2	0,772188		0,380702	0,899126	1,000000	1,000000	0,981516	1,000000	0,000469	0,144979	0,833390	0,000453	0,998354	1,000000	0,999998	1,000000
3		1	2	1,000000	0,380702		0,999977	0,403577	0,757936	0,998401	0,466718	0,584071	1,000000	0,999998	0,574518	0,981864	0,617086	0,835954	0,512797
4		1	2	1,000000	0,899126	0,999977		0,912174	0,995675	1,000000	0,941180	0,127351	0,994912	1,000000	0,123257	0,999999	0,980939	0,998742	0,957088
5		2	1	0,793046	1,000000	0,403577	0,912174		1,000000	0,985199	1,000000	0,000516	0,157301	0,851139	0,000498	0,998828	1,000000	0,999999	1,000000
6		2	1	0,975208	1,000000	0,757936	0,995675	1,000000		0,999884	1,000000	0,002699	0,428142	0,987374	0,002580	0,999999	1,000000	1,000000	1,000000
7		2	2	1,000000	0,981516	0,998401	1,000000	0,985199	0,999884		0,992221	0,051919	0,954834	1,000000	0,050022	1,000000	0,998733	0,999984	0,995310
8		2	2	0,843522	1,000000	0,466718	0,941180	1,000000	1,000000	0,992221		0,000676	0,193719	0,892652	0,000650	0,999568	1,000000	1,000000	1,000000
9		3	1	0,224984	0,000469	0,584071	0,127351	0,000516	0,002699	0,051919	0,000676		0,876561	0,178066	1,000000	0,020765	0,001329	0,004289	0,000828
10		3	1	0,999548	0,144979	1,000000	0,994912	0,157301	0,428142	0,954834	0,193719	0,876561		0,998582	0,870639	0,841455	0,298053	0,523236	0,222828
11		3	2	1,000000	0,833390	0,999998	1,000000	0,851139	0,987374	1,000000	0,892652	0,178066	0,998582		0,172842	0,999984	0,957381	0,995386	0,917041
12		3	2	0,218796	0,000453	0,574518	0,123257	0,000498	0,002580	0,050022	0,000650	1,000000	0,870639	0,172842		0,019934	0,001272	0,004095	0,000794
13		4	1	0,999919	0,998354	0,981864	0,999999	0,998828	0,999999	1,000000	0,999568	0,020765	0,841455	0,999984	0,019934		0,999974	1,000000	0,999801
14		4	1	0,929217	1,000000	0,617086	0,980939	1,000000	1,000000	0,998733	1,000000	0,001329	0,298053	0,957381	0,001272	0,999974		1,000000	1,000000
15		4	2	0,989585	0,999998	0,835954	0,998742	0,999999	1,000000	0,999984	1,000000	0,004289	0,523236	0,995386	0,004095	1,000000	1,000000		1,000000
16		4	2	0,874530	1,000000	0,512797	0,957088	1,000000	1,000000	0,995310	1,000000	0,000828	0,222828	0,917041	0,000794	0,999801	1,000000	1,000000	

Annexes

3- Polyphenols après évaporation

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	{1}	{2}	{3}	{4}
		553,78	502,71	614,04	552,83
1	1		0,033145	0,008140	0,999956
2	2	0,033145		0,000147	0,037934
3	3	0,008140	0,000147		0,006964
4	4	0,999956	0,037934	0,006964	

Cell No.	pv	{1}	{2}
		539,49	572,18
1	1		0,013762
2	2	0,013762	

Cell No.	concentration	pv	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			561,14	546,42	497,29	508,13	544,20	683,88	555,35	550,31
1	1	1		0,999192	0,226650	0,459200	0,997947	0,000343	0,999999	0,999898
2	1	2	0,999192		0,558271	0,817278	1,000000	0,000141	0,999972	1,000000
3	2	1	0,226650	0,558271		0,999897	0,615729	0,000120	0,340138	0,458992
4	2	2	0,459200	0,817278	0,999897		0,858687	0,000120	0,607800	0,732766
5	3	1	0,997947	1,000000	0,615729	0,858687		0,000135	0,999876	0,999998
6	3	2	0,000343	0,000141	0,000120	0,000120	0,000135		0,000211	0,000161
7	4	1	0,999999	0,999972	0,340138	0,607800	0,999876	0,000211		0,999999
8	4	2	0,999898	1,000000	0,458992	0,732766	0,999998	0,000161	0,999999	

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}
				521,92	600,36	574,29	518,55	500,43	494,14	520,83	495,43	556,09	532,30	652,02	715,73	542,51	568,18	530,34	570,28
1	1	1	1		0,734585	0,986949	1,000000	1,000000	0,999992	1,000000	0,999996	0,999889	1,000000	0,048571	0,000251	1,000000	0,996250	1,000000	0,994067
2	1	1	2	0,734585		0,999997	0,672960	0,333796	0,239821	0,715111	0,257500	0,997680	0,887227	0,988533	0,138102	0,967875	0,999947	0,863673	0,999978
3	1	2	1	0,986949	0,999997		0,976785	0,809959	0,703753	0,984152	0,726912	1,000000	0,998709	0,746802	0,019466	0,999955	1,000000	0,997865	1,000000
4	1	2	2	1,000000	0,672960	0,976785		1,000000	0,999999	1,000000	0,999999	0,999651	1,000000	0,037296	0,000219	0,999999	0,992266	1,000000	0,988408
5	2	1	1	1,000000	0,333796	0,809959	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,977093	0,999953	0,008060	0,000161	0,998680	0,890691	0,999979	0,865886
6	2	1	2	0,999992	0,239821	0,703753	0,999999	1,000000		0,999995	1,000000	0,943587	0,999577	0,004540	0,000157	0,994046	0,807161	0,999774	0,773853
7	2	2	1	1,000000	0,715111	0,984152	1,000000	1,000000	0,999995		0,999998	0,999836	1,000000	0,044624	0,000240	1,000000	0,995220	1,000000	0,992562
8	2	2	2	0,999996	0,257500	0,726912	0,999999	1,000000	1,000000	0,999998		0,952267	0,999718	0,005108	0,000157	0,995491	0,826316	0,999854	0,794582
9	3	1	1	0,999889	0,997680	1,000000	0,999651	0,977093	0,943587	0,999836	0,952267		0,999999	0,402534	0,003861	1,000000	1,000000	0,999997	1,000000
10	3	1	2	1,000000	0,887227	0,998709	1,000000	0,999953	0,999577	1,000000	0,999718	0,999999		0,103257	0,000474	1,000000	0,999797	1,000000	0,999600
11	3	2	1	0,048571	0,988533	0,746802	0,037296	0,008060	0,004540	0,044624	0,005108	0,402534	0,103257		0,930037	0,198379	0,634204	0,090141	0,674060
12	3	2	2	0,000251	0,138102	0,019466	0,000219	0,000161	0,000157	0,000240	0,000157	0,003861	0,000474	0,930037		0,001103	0,011523	0,000413	0,013817
13	4	1	1	1,000000	0,967875	0,999955	0,999999	0,998680	0,994046	1,000000	0,995491	1,000000	1,000000	0,198379	0,001103		0,999997	1,000000	0,999992
14	4	1	2	0,996250	0,999947	1,000000	0,992266	0,890691	0,807161	0,995220	0,826316	1,000000	0,999797	0,634204	0,011523	0,999997		0,999617	1,000000
15	4	2	1	1,000000	0,863673	0,997865	1,000000	0,999979	0,999774	1,000000	0,999854	0,999997	1,000000	0,090141	0,000413	1,000000	0,999617		0,999283
16	4	2	2	0,994067	0,999978	1,000000	0,988408	0,865886	0,773853	0,992562	0,794582	1,000000	0,999600	0,674060	0,013817	0,999992	1,000000	0,999283	

Annexes

4- Flavonoides

$\alpha=05$

Cell No.	etat	{1}	{2}
		244,50	251,21
1	1		0,013980
2	2	0,013980	

Cell No.	concentration	pv	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			267,05	256,05	236,07	234,63	247,94	258,81	235,63	246,65
1	1	1		0,449613	0,000122	0,000121	0,013102	0,781215	0,000121	0,006172
2	1	2	0,449613		0,007883	0,003293	0,793768	0,999585	0,006055	0,647330
3	2	1	0,000122	0,007883		0,999995	0,349601	0,001471	1,000000	0,499894
4	2	2	0,000121	0,003293	0,999995		0,213779	0,000622	1,000000	0,332826
5	3	1	0,013102	0,793768	0,349601	0,213779		0,464284	0,303447	0,999998
6	3	2	0,781215	0,999585	0,001471	0,000622	0,464284		0,001120	0,319024
7	4	1	0,000121	0,006055	1,000000	1,000000	0,303447	0,001120		0,445741
8	4	2	0,006172	0,647330	0,499894	0,332826	0,999998	0,319024	0,445741	

Cell No.	concentration	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			258,18	264,93	233,10	237,61	243,61	263,13	243,10	239,18
1	1	1		0,909015	0,000377	0,005554	0,129012	0,982387	0,103567	0,013976
2	1	2	0,909015		0,000121	0,000167	0,003525	0,999977	0,002576	0,000276
3	2	1	0,000377	0,000121		0,989890	0,508595	0,000125	0,571955	0,946037
4	2	2	0,005554	0,000167	0,989890		0,949444	0,000304	0,968422	0,999991
5	3	1	0,129012	0,003525	0,508595	0,949444		0,010324	1,000000	0,990875
6	3	2	0,982387	0,999977	0,000125	0,000304	0,010324		0,007674	0,000704
7	4	1	0,103567	0,002576	0,571955	0,968422	1,000000	0,007674		0,995665
8	4	2	0,013976	0,000276	0,946037	0,999991	0,990875	0,000704	0,995665	

Cell No.	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}
			240,00	253,34	249,00	249,08
1	1	1		0,003811	0,088322	0,084189
2	1	2	0,003811		0,658639	0,671666
3	2	1	0,088322	0,658639		0,999997
4	2	2	0,084189	0,671666	0,999997	

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	{1}	{2}	{3}	{4}
		261,55	235,35	253,37	241,14
1	1		0,000147	0,141324	0,000149
2	2	0,000147		0,000186	0,422341
3	3	0,141324	0,000186		0,009329
4	4	0,000149	0,422341	0,009329	

Annexes

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}
				248,03	286,07	268,33	243,78	235,32	236,82	230,87	238,39	239,22	256,65	248,00	269,62	237,42	233,84	248,79	244,52
1		1	1		0,000430	0,355775	1,000000	0,945253	0,981282	0,644290	0,995755	0,998419	0,998747	1,000000	0,258217	0,988801	0,877315	1,000000	1,000000
2		1	2	0,000430		0,588623	0,000178	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145	0,000146	0,017172	0,000426	0,708078	0,000145	0,000145	0,000567	0,000191
3		1	2	0,355775	0,588623		0,106908	0,003624	0,007067	0,000531	0,013855	0,019570	0,972892	0,353283	1,000000	0,009167	0,001866	0,421547	0,135461
4		1	2	1,000000	0,000178	0,106908		0,998992	0,999902	0,937956	0,999996	1,000000	0,939631	1,000000	0,068612	0,999968	0,994128	0,999999	1,000000
5		2	1	0,945253	0,000145	0,003624	0,998992		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,276717	0,946278	0,002030	1,000000	1,000000	0,914606	0,997448
6		2	1	0,981282	0,000145	0,007067	0,999902	1,000000		0,999987	1,000000	1,000000	0,395829	0,981747	0,003977	1,000000	1,000000	0,966449	0,999670
7		2	2	0,644290	0,000145	0,000531	0,937956	1,000000	0,999987		0,999750	0,999144	0,070107	0,647110	0,000339	0,999955	1,000000	0,572050	0,906496
8		2	2	0,995755	0,000145	0,013855	0,999996	1,000000	1,000000	0,999750		1,000000	0,539660	0,995892	0,007988	1,000000	1,000000	0,990775	0,999981
9		3	1	0,998419	0,000146	0,019570	1,000000	1,000000	1,000000	0,999144	1,000000		0,618734	0,998478	0,011420	1,000000	0,999996	0,996058	0,999997
10		3	1	0,998747	0,017172	0,972892	0,939631	0,276717	0,395829	0,070107	0,539660	0,618734		0,998697	0,935674	0,448816	0,183861	0,999577	0,962385
11		3	2	1,000000	0,000426	0,353283	1,000000	0,946278	0,981747	0,647110	0,995892	0,998478	0,998697		0,256155	0,989111	0,879070	1,000000	1,000000
12		3	2	0,258217	0,708078	1,000000	0,068612	0,002030	0,003977	0,000339	0,007988	0,011420	0,935674	0,256155		0,005192	0,001048	0,313803	0,088534
13		4	1	0,988801	0,000145	0,009167	0,999968	1,000000	1,000000	0,999955	1,000000	1,000000	0,448816	0,989111	0,005192		1,000000	0,978534	0,999875
14		4	1	0,877315	0,000145	0,001866	0,994128	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999996	0,183861	0,879070	0,001048	1,000000		0,828227	0,988132
15		4	2	1,000000	0,000567	0,421547	0,999999	0,914606	0,966449	0,572050	0,990775	0,996058	0,999577	1,000000	0,313803	0,978534	0,828227		1,000000
16		4	2	1,000000	0,000191	0,135461	1,000000	0,997448	0,999670	0,906496	0,999981	0,999997	0,962385	1,000000	0,088534	0,999875	0,988132	1,000000	

5-Flavonoides aglycones

$\alpha=05$

Cell No.	pv	{1}	{2}
		284,94	280,56
1	1		0,023070
2	2	0,023070	

Cell No.	concentration	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
			287,18	293,69	281,59	287,44	277,76	277,80	281,94	274,62
1		1		0,674289	0,816272	1,000000	0,214000	0,218816	0,861400	0,028113
2		1	2	0,674289		0,039629	0,717075	0,001718	0,001782	0,051038
3		2	1	0,816272	0,039629		0,779798	0,971196	0,972921	1,000000
4		2	2	1,000000	0,717075	0,779798		0,186528	0,190898	0,829549
5		3	1	0,214000	0,001718	0,971196	0,186528		1,000000	0,953534
6		3	2	0,218816	0,001782	0,972921	0,190898	1,000000		0,955965
7		4	1	0,861400	0,051038	1,000000	0,829549	0,953534	0,955965	
8		4	2	0,028113	0,000184	0,593180	0,023154	0,990903	0,990129	0,530288

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	{1}	{2}	{3}	{4}
		290,43	284,51	277,78	278,28
1		1		0,128240	0,000194
2		2	0,128240		0,099752
3		3	0,000194	0,064723	
4		4	0,000246	0,099752	0,997693

Annexes

6-Tanins

$\alpha=001$

Cell No.	concentration	etat	{1} 30,123	{2} 31,660	{3} 16,804	{4} 10,106	{5} 23,085	{6} 18,497	{7} 16,998	{8} 5,9353
1	1	1		0,984690	0,000120	0,000120	0,002104	0,000120	0,000120	0,000120
2	1	2	0,984690		0,000120	0,000120	0,000180	0,000120	0,000120	0,000120
3	2	1	0,000120	0,000120		0,004060	0,008946	0,973469	1,000000	0,000120
4	2	2	0,000120	0,000120	0,004060		0,000120	0,000214	0,002786	0,228220
5	3	1	0,002104	0,000180	0,008946	0,000120		0,136088	0,012764	0,000120
6	3	2	0,000120	0,000120	0,973469	0,000214	0,136088		0,986774	0,000120
7	4	1	0,000120	0,000120	1,000000	0,002786	0,012764	0,986774		0,000120
8	4	2	0,000120	0,000120	0,000120	0,228220	0,000120	0,000120	0,000120	

Cell No.	concentration	pv	{1} 29,477	{2} 32,305	{3} 8,4198	{4} 18,490	{5} 18,061	{6} 23,521	{7} 9,1708	{8} 13,763
1	1	1		0,707691	0,000120	0,000120	0,000120	0,016134	0,000120	0,000120
2	1	2	0,707691		0,000120	0,000120	0,000120	0,000156	0,000120	0,000120
3	2	1	0,000120	0,000120		0,000121	0,000124	0,000120	0,999849	0,045156
4	2	2	0,000120	0,000120	0,000121		0,999997	0,073032	0,000129	0,112716
5	3	1	0,000120	0,000120	0,000124	0,999997		0,037385	0,000147	0,196363
6	3	2	0,016134	0,000156	0,000120	0,073032	0,037385		0,000120	0,000123
7	4	1	0,000120	0,000120	0,999849	0,000129	0,000147	0,000120		0,135332
8	4	2	0,000120	0,000120	0,045156	0,112716	0,196363	0,000123	0,135332	

Cell No.	etat	{1}	{2}
		21,753	16,549
1	1		0,000117
2	2	0,000117	

Cell No.	pv	{1}	{2}
		16,282	22,020
1	1		0,000117
2	2	0,000117	

Cell No.	concentration	{1}	{2}	{3}	{4}
		30,891	13,455	20,791	11,467
1	1		0,000147	0,000147	0,000147
2	2	0,000147		0,000147	0,352573
3	3	0,000147	0,000147		0,000147
4	4	0,000147	0,352573	0,000147	

Cell No.	concentration	pv	etat	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}
				31,260	27,695	28,986	35,624	10,234	6,6060	23,375	13,605	19,495	16,627	26,675	20,367	11,723	6,6183	22,273	5,2523
1	1	1	1		0,981049	0,999862	0,901640	0,000145	0,000145	0,097569	0,000145	0,000624	0,000147	0,862709	0,002041	0,000145	0,000145	0,027209	0,000145
2	1	1	2	0,981049		1,000000	0,093015	0,000145	0,000145	0,908641	0,000161	0,069173	0,001585	1,000000	0,170395	0,000145	0,000145	0,652368	0,000145
3	1	2	1	0,999862	1,000000		0,308495	0,000145	0,000145	0,596594	0,000145	0,014224	0,000324	0,999832	0,042641	0,000145	0,000145	0,291127	0,000145
4	1	2	2	0,901640	0,093015	0,308495		0,000145	0,000145	0,000364	0,000145	0,000145	0,000145	0,028504	0,000145	0,000145	0,000145	0,000182	0,000145
5	2	1	1	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145		0,977794	0,000196	0,988777	0,019201	0,370451	0,000145	0,005956	0,999999	0,978463	0,000452	0,773374
6	2	1	2	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145	0,977794		0,000145	0,229271	0,000220	0,006953	0,000145	0,000167	0,737951	1,000000	0,000145	1,000000
7	2	2	1	0,097569	0,908641	0,596594	0,000364	0,000196	0,000145		0,009810	0,960217	0,282859	0,990903	0,996472	0,000719	0,000145	1,000000	0,000145
8	2	2	2	0,000145	0,000161	0,000145	0,000145	0,988777	0,229271	0,009810		0,513274	0,996300	0,000202	0,279760	0,999987	0,231729	0,040180	0,058197
9	3	1	1	0,000624	0,069173	0,014224	0,000145	0,019201	0,000220	0,960217	0,513274		0,997920	0,195201	1,000000	0,109822	0,000222	0,998529	0,000159
10	3	1	2	0,000147	0,001585	0,000324	0,000145	0,370451	0,006953	0,282859	0,996300	0,997920		0,006697	0,970914	0,792600	0,007072	0,585839	0,001037
11	3	2	1	0,862709	1,000000	0,999832	0,028504	0,000145	0,000145	0,990903	0,000202	0,195201	0,006697		0,393355	0,000146	0,000145	0,895577	0,000145
12	3	2	2	0,002041	0,170395	0,042641	0,000145	0,005956	0,000167	0,996472	0,279760	1,000000	0,970914	0,393355		0,041352	0,000167	0,999985	0,000145
13	4	1	1	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145	0,999999	0,737951	0,000719	0,999987	0,109822	0,792600	0,000146	0,041352		0,741248	0,003311	0,350182
14	4	1	2	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145	0,978463	1,000000	0,000145	0,231729	0,000222	0,007072	0,000145	0,000167	0,741248		0,000145	1,000000
15	4	2	1	0,027209	0,652368	0,291127	0,000182	0,000452	0,000145	1,000000	0,040180	0,998529	0,585839	0,895577	0,999985	0,003311	0,000145		0,000145
16	4	2	2	0,000145	0,000145	0,000145	0,000145	0,773374	1,000000	0,000145	0,058197	0,000159	0,001037	0,000145	0,000145	0,350182	1,000000	0,000145	

