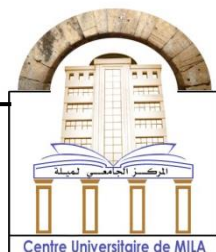


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Extraction, caractérisation et étude de l'activité antibactérienne
et anticoagulante des extraits phénoliques et des huiles végétales
extraites de *Ricinus communis* L.**

Présenté par :

- Zeghib Abir
- Boufenghour Hadjer
- Belmerabet Inass

Devant le jury :

Présidente : Bouassaba Karima	(MCB)	Centre universitaire de Mila
Examinatrice : Bouhekrit Moufida	(MCA)	Centre universitaire de Mila
Promotrice : Boukeria Sabah	(MCA)	Centre universitaire de Mila

Année Universitaire : 2021/2022



Remerciement

*On remercie avant tout **ALLAH**, le tout puissant, de nous avoir guidés toutes les années d'étude et qui nous a donné la force, la volonté, la patience et le courage pour continuer et terminer ce travail.*

*Toute notre infinie gratitude va à notre encadreur, **M^{ème} Boukeria Sabah** pour son encouragement, sa patience et ses conseils précieux, ainsi que pour son suivi pas à pas de notre travail. Tous sa nous a servis de bons guides pour la réalisation de ce mémoire, sans oublier l'ensemble des membres de jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter de juger notre travail.*

*Melle **Bouassaba Karima**, enseignante au Centre Universitaire de Mila, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance. Nous tenons à signaler que sa présence en tant que présidente nous honore.*

*Melle **Bouhekrit Moufida**, enseignant au Centre Universitaire de Mila, d'avoir accepté de juger ce travail et de nous avoir honorés par sa présence. Qu'il trouve ici toute notre gratitude.*

*Nous voudrions exprimer nos vifs remerciements à **Dr .Mirouh.H** pour ces conseils éclairés ces encouragement, ces efforts avec nous, sa gentillesse ; à tout le personnel du laboratoire Mirouh d'analyses médicales.*

*Melle **Yahia Imane**, pour leur aide, sa sympathie, et ses connaissances scientifique. qui a joué un rôle important dans la mise à profit du stage appliqué et dans l'obtention des activités nécessaire pour mener à bien ce mémoire de fin d'études.*

Un grand merci à tous les techniciennes de laboratoire de l'université de mila.

Nous remercions tous les enseignants et les enseignantes du département des sciences de la nature et de la vie de l'université de mila à qui nous présentons un grand respect pour leur modeste et leur richesse en connaissance et de nous avoir fait bénéficier de leur expérience.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À ma très chère mère « Salima », qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

À mon très cher père « Messaoud », pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

Mes dédicaces s'adressent également à mes chers frères « Ayoub et Moussa » et à mes sœurs Khawla, Asma et son Mari « Haroun »

À tous mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité

À mon binôme et mes amies « Inass et Abir », et à mes chers amis « Asma, Mimi, Laila, Sam, Djaouida, Meriem, Farida, » pour leurs aides et supports dans les moments difficiles, et à qui je souhaite plus de succès.

À tous mes amis de l'université avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie d'étude.

À Tous ceux que j'aime et je respecte.

Hadjer



Dédicace

Je dédie ce mémoire

À ma très chère mère « Naima », qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

À mon très cher père « Amor », pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

Mes dédicaces s'adressent également à ma sœur « Amani » et mes chers frères « Fouade, Oussama et Mohammed »

À ma grand-mère « Hada » et mon grand-père « Ahmed ».

À tous mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité

À mon binôme « Inass et Hadjer »

À tous mes amis de l'université avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie d'étude

À Tous ceux que j'aime et je respecte

Aliir

Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord :

*À Ma mère « **NOURA** » qu'Allah lui fasse miséricorde, j'aurais aimé qu'elle soit là maintenant, parce que sa présence me rend plus fort, mais dans mon cœur elle est plus précieuse que tous ceux qui sont présents.*

*À mon exemple de vie mon très cher père « **RABEH** » pour son sacrifice, et encouragement durant toute période de mes études ainsi qu'à ma tante « **khalti SALIHA** ».*

*Mes dédicaces s'adressent également à mes frères « **walid; Lokman et Alla Eddine** », et à tous les membres de ma famille petite et grande sans oublier mes grands-mères « **Sakhria et Dahbia** » et mon grand-père « **El Meki** ».*

*À mon cher marie : « **KARIM** » merci à encouragement dans les moments Difficiles .*

*À mon binôme et mon amie « **ABIR ET HADJER** », et à mes chères amis « Meriem , farida ,Asma ,sabah » . et à tous mes amis chacun à son nom.*

*À tous mes amis de l'université avec qui j'ai partagé les meilleurs moments de ma vie d'étude, et à tous mes collègues de **BIOLOGIES**.*

Inass



Résumé

L'objectif principal de ce travail de recherche est d'établir une étude comparative entre l'huile végétale des graines de ricin ainsi les extraits phénoliques obtenus à partir des téguments et des capsules. On a effectué également une analyse qualitative et quantitative des extraits (téguments, capsules). Cette étude concerne deux activités biologiques (anticoagulante et antibactérienne).

Le rendement d'extraction de l'huile de *Ricinus communis* L. par la méthode de pressage à froid montre que l'huile obtenue à partir des graines sans tégument est plus élevée que celui des graines avec tégument.

La détermination des indices chimiques (l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice de peroxyde) a montré certains renseignements sur la pureté et la stabilité des huiles en particulier pour l'huile de ricin sans tégument que l'huile de ricin avec tégument, sur la richesse et la nature des acides gras contenus dans les huiles. Cela implique que ces huiles contiennent une forte quantité d'acides gras avec un important poids moléculaire et que l'huile des graines sans tégument a une chaîne d'acide gras plus importante que celle des graines avec tégument et sur une bonne extraction et bonne conservation des deux huiles.

L'analyse qualitative des composés phytochimique, (Screening phytochimique) réalisé, a révélé la richesse de (tégument marron, capsule) en métabolites secondaires

Les résultats de rendement en résidu sec des téguments montrent que le rendement de l'extrait méthanolique est plus élevé que celui de l'extrait aqueux. Alors que, les capsules montrent que le rendement de l'extrait aqueux est plus important que celui de l'extrait méthanolique. Donc, le rendement est variable selon le solvant et les procédures d'extractions.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux a révélé que l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols totaux que l'extrait aqueux de chacun de nos extraits phénolique.

L'activité anticoagulante des huiles végétales et des extraits phénoliques a été également évaluée *in vitro* en utilisant le test TCK et le test TQ dans du plasma normal. Les résultats obtenus indiquent que tous les extraits testés exercent un effet qui varie d'un extrait à l'autre, cet effet plus marqué sur la voie endogène que la voie exogène.

L'évaluation de l'effet antibactérien montre que les trois bactéries utilisées (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*) sont sensibles aux antibiotiques utilisés. L'effet de l'huile de ricin avec et sans téguments (HR2, HR1) n'exerce aucune activité antibactérienne.

L'effet des extraits méthanolique et aqueux (téguments, capsules) des graines de ricin aussi n'exerce aucune activité anti bactérienne.

Mots clés : *Ricinus communis* L., tégument marron, capsule, Screening phytochimique les huiles végétales, pressage à froid, polyphénols, TQ, TCK, antibactérien, anticoagulant.

Abstract

The main objective of this research is to establish a comparative study between the vegetable oil of castor seeds and phenolic extracts obtained from integuments and capsules. A qualitative and quantitative analysis of the extracts (integuments, capsules) was also conducted. This study involves two biological activities (anticoagulant and antibacterial).

The extraction efficiency of *Ricinus communis* L. oil by the cold pressing method shows that the oil obtained from the seeds without seed coat is higher than that of the seeds with seed coat.

The determination of chemical indices (the acid index, the saponification index and the peroxide index) showed some information on the purity and stability of oils, particularly for castor oil without seed coat than castor oil with seed coat, on the richness and nature of the fatty acids contained in oils. This implies that these oils contain a high amount of fatty acids with a high molecular weight and that the oil without seed coat has a higher chain of fatty acid than that of with seed coat and on a good extraction and conservation of both oils.

Qualitative analysis of phytochemical compounds (Phytochemical screening) carried out revealed the richness of (brown integument, capsule) in secondary metabolites.

The dry residue yield results of the integuments show that the yield of the methanol extract is higher than that of the aqueous extract. While, the capsules show that the yield of the aqueous extract is more important than that of the methanol extract. Thus, the yield is variable depending on the solvent and the extraction procedures.

The quantitative assessment of total polyphenols revealed that the methanol extract is richer in total polyphenols than the aqueous extract of each of our phenolic extracts.

The anticoagulant activity of vegetable oils and phenolic extracts was also evaluated *in vitro* using the TCK test and the TQ test in normal plasma. The results obtained indicate that all the extracts tested have an effect that varies from one end to the other, this effect more marked on the endogenous route than the exogenous route.

The evaluation of the antibacterial effect shows that the three bacteria used are sensitive to the antibiotics used. The effect of castor oil with and without integuments (HR2, HR1) has no antibacterial activity. The effect of methanol and aqueous extracts (integuments, capsules) of castor seeds also exerts no anti-bacterial activity.

Keywords: *Ricinus communis* L., brown seed coat, capsule, phytochemical screening vegetable oils, cold pressing, polyphenols, TQ, TCK, antibacterial, anticoagulant.

الملخص

الهدف الرئيسي من هذا البحث هو إنشاء دراسة مقارنة بين الزيت النباتي لبذور الخروج والمستخلصات الفينولية التي يتم الحصول عليها من القشرة و الكبسولات . كما أجري تحليل نوعي وكمي للمستخلصات (القشرة و الكبسولات). تتضمن هذه الدراسة نشاطين بيولوجيين (مضاد للتخثر ومضاد للجراثيم).

اظهر مردود زيت *Ricinus communis* L من خلال طريقة الضغط البارد أن مردود الزيت بدون قشرة مرتفع من مردود الزيت بالقشرة .

أظهر تحديد المؤشرات الكيميائية (مؤشر الحمض ومؤشر التصبغ ومؤشر البيروكسيد) بعض المعلومات حول نقاء واستقرار الزيوت، لا سيما زيت الخروج بدون قشرة البذور من زيت الخروج مع القشرة البذور ، و ثراء وطبيعة الأحماض الدهنية الموجودة في الزيوت. وهذا يعني أن هذه الزيوت تحتوي على كمية عالية من الأحماض الدهنية ذات الوزن الجزيئي العالي وأن الزيت بدون قشرة البذور يحتوي على سلسلة أعلى من الأحماض الدهنية من تلك الموجودة مع قشرة البذور و دليل على الاستخراج وحفظ الجيد لكلا الزيتين.

كشف التحليل النوعي للمركبات الكيميائية النباتية (الفحص الكيميائي النباتي) الذي تم إجراؤه عن ثراء القشرة البنية و الكبسولات بالمستقبلات الثانوية.

تظهر نتائج مردود البقايا الجافة للقشرة أن محصول مستخلص الميثانول أعلى من محصول المستخلص المائي. بينما، تظهر الكبسولات أن محصول المستخلص المائي أكثر أهمية من محصول الميثانول. وبالتالي، فإن العائد متغير اعتمادًا على المذيب وإجراءات الاستخراج.

كشف التقييم الكمي لإجمالي البولي فينول أن مستخلص الميثانول أغنى في إجمالي البولي فينول من المستخلص المائي لكل من مستخلصاتنا الفينولية.

كما تم تقييم النشاط المضاد للتخثر للزيوت النباتية والمستخلصات الفينولية في المختبر باستخدام اختبار TCK واختبار TQ في البلازما العادية. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن جميع المستخلصات التي تم اختبارها لها تأثير يختلف من مستخلص إلى آخر، وهذا التأثير أكثر وضوحًا على المسار الداخلي من المسار الخارجي.

يُظهر تقييم التأثير المضاد للبكتيريا أن البكتيريا الثلاث المستخدمة حساسة للمضادات الحيوية المستخدمة. تأثير زيت الخروج مع وبدون قشرة (HR1، HR2) ليس له نشاط مضاد للبكتيريا. كما أن تأثيرا مستخلصات الميثانول والمستخلصات المائية (للقشرة و الكبسولات) لبذور الخروج لا يمارس أي نشاط مضاد للبكتيريا

الكلمات المفتاحية: *Ricinus communis* L، القشرة البنية، كبسولة، زيوت نباتية ، للفحص الكيميائي النباتي، عصر بارد، بولي فينول، TQ، TCK، مضاد للبكتيريا، مضاد للتخثر.

Table des matières

Résumé

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

Partie 1 : Synthèse bibliographique

CHAPITRE I: Etude ethnobotanique de l'espèce

1. Généralités	5
2. Nomenclature.....	5
3. Classification taxonomique	5
4. Description botanique du taxon.....	6
4.1. Une partie aérienne	6
4.1.1. Tige.....	6
4.1.2. Feuille:.....	7
4.1.3. Fleurs:.....	7
4.1.4. Fruit :	8
4.1.5. Graines	8
4.2. Une partie souterraine :.....	9
5. Distribution biogéographique de l'espèce :.....	9
5.1. La répartition mondiale:.....	9
5.2. Répartition en Algérie:.....	9
6. Exigences écologiques du taxon :.....	9
6.1. Exigences climatiques:.....	9
6.2. Exigences édaphiques	10
7. Utilisation du ricin	10
7.1. Utilisation en agriculture	10
7.2. Utilisation industrielle.....	11

7.3. Utilisation médicinale	11
8. Dernières recherches.....	12

CHAPITRE II: Les Huiles Végétales

1. Définition.....	14
2. Rôles	14
3. Composition chimique des huiles végétales	14
3.1. La fraction saponifiable	15
3.1.1. Les triglycérides	15
3.1.2. Les Acides gras	16
3.1.3. Phospholipides	18
3.2. La fraction insaponifiable	18
3.2.1. Les stérols.....	18
3.2.2. Tocophérols:.....	19
3.2.3. Les hydrocarbures	19
3.2.4. Composés phénoliques	19
4. Classement et types d'huiles végétales	19
4.1. Huiles végétales de type laurique	19
4.2. Huiles végétales de type palmitique	19
4.3. Huiles végétales ou beurre de type stéarique	19
4.4. Huiles végétales de type oléique	19
4.5. Huiles végétales de type linoléique.....	20
5. Les modes d'extraction des huiles végétales	20
5.1. L'extraction par pression	20
5.2. L'extraction par solvant volatil	21

CHAPITRE III: Les métabolites secondaires

1. Généralités	23
2. classification	23
2.1. Alcaloïdes	23
2.1.1. Alcaloïdes vrais	24
2.1.2. Proto-alcaloïdes	24
2.1.3. Pseudo-alcaloïdes	24
2.2. Les terpénoïdes et stéroïdes	24

2.2.1. Triterpènes et stéroïdes.....	25
2.2.2. Saponoside	25
2.3. Les composés phénoliques.....	25
2.3.1. La structure.....	25
2.3.2. Classification.....	26
2.3.2.1. Acides phénoliques	26
2.3.2.1.1. Acides hydroxycinnamiques	26
2.3.2.1.2. Acides hydroxybenzoïques	27
2.3.2.2. Les coumarines	27
2.3.2.3. Les lignanes et lignines.....	28
2.3.2.4. Les flavonoïdes.....	28
2.3.2.4.1. Anthocyanes.....	29
2.3.2.5. Les Tanins	30
2.3.2.5.1. Tanins hydrolysables	30
2.3.2.5.2. Tanins condensé.....	31
2.3.2.6. Les Stilibènes.....	31
2.3.2.7. Quinones.....	32
2.3.3. Les grandes lignés de la biosynthèse des polyphénols	32
2.3.4. Localisation dans la plante	33
2.3.5. Les effets des polyphénols	34
2.3.6. Le rôle de polyphénols dans la plante	34
2.3.7. L'extraction des polyphénols	35
2.3.7.1. Techniques conventionnelles.....	35
2.3.7.1.1. Macération	35
2.3.7.1.2. Extraction par Soxhlet.....	35
2.3.7.2. Nouvelles Techniques.....	36
2.3.7.2.1. Extraction assistée par ultra-sons.....	36
2.3.7.2.2. Extraction par fluide supercritique.....	36

CHAPITRE IV: Les activités biologiques

1. activité anticoagulante	38
1.1. Définition	38
1.2. Facteurs de coagulation.....	38
1.3. Voies de la coagulation	39
2. Activité Antibactérienne.....	40

2.1. Principe	41
2.2. Élément nécessaire pour réaliser l'activité	41

Partie 2 : Etude expérimentale

CHAPITRE I: Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	46
2. Méthodes	46
2.1. Extraction de l'huile végétale de Ricinus communis L.	46
2.1.1. L'extraction	47
2.1.2. Détermination des rendements en huiles végétale	48
2.1.3. Etude des Paramètres chimiques	48
2.1.3.1. Indice d'acide	48
2.1.3.2. L'indice de saponification	49
2.1.3.3. Indice de peroxyde (NF T 60-220 et ISO 3960):.....	50
2.2. Analyse qualitative des composés phytochimique (Screening phytochimique).....	51
2.2.1. Préparation des extraits	51
2.3. Extraction des polyphénols	56
2.3.1. Préparation des extraits	56
2.3.2. Détermination des rendements des composés phénolique	57
2.4. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)	58
2.5. Activité anticoagulant	59
2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques et des huiles de Ricinus communis L.	62
2.6.1. Matériels du test de l'activité antibactérienne	62
2.6.2. Activité antibactérienne.....	63

CHAPITRE II: Résultats et discussion

1. Résultats d'étude de l'huile de Ricinus communis L. :	67
1.1. Le rendement en huile des graines de ricin avec et sans tégument (HR2, HR1).....	67
1.2. Les propriétés physicochimiques des huiles obtenues :	68
1.2.1. Les caractéristiques organoleptiques.....	68
1.2.2. Les propriétés chimiques.....	68
2. Résultats et discussions des analyses qualitatives des composés phytochimiques, (Screening phytochimique).....	70

3. Rendement des résidus sec :	77
3.1. Rendement en résidu sec de téguments marron	77
3.2. Rendement en résidu sec de capsule	78
4. Dosage des polyphénols totaux des téguments marron et des capsules Ricinus communis L	78
4.1. Téguments marron	79
4.2. Capsules	80
5. résultats de l'activité anticoagulante des huiles végétales, extraites par pressage à froid et les extraits préparés	81
5.1. Huiles de Ricinus Communis L. (HR1et HR2)	81
5.2. Résultats de l'activité anticoagulante des extraits préparés :	84
5.2.1. Les extraits des téguments marron :	84
5.2.2. Les extraits des capsules	86
6. L'activité antibactérienne	89
6.1. Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et aqueux (tégument et capsule) et des huiles végétales des graines de ricin et de leurs dilutions	91
6.1.1. Effet des huiles végétales de ricin (HR1et HR2) et leurs dilutions sur les souches testées	91
6.1.2. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (méthanolique et aqueux) des téguments et des capsules de ricin et de leurs dilutions	92

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius ;
% :	Pourcentage ;
°K:	Kelvin;
µl :	Microlitre ;
Abs:	Absorbance ;
ATCC:	American Type Culture Collection;
C :	Carbone ;
CN10 :	Gentamicine ;
CP :	Capsule ;
D¹/₂:	Dilution ¹ / ₂ ;
DMSO:	Dimethylsulfoxyde;
DO:	Densité optique;
EAG/g.MS :	Equivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche ;
ERO:	Espèces réactives oxygénés ;
Es :	Extrait sec ;
Ex aq :	Extrait aqueux ;
Ex méth :	Extrait méthanolique ;
FCR :	Folin Ciocalteu ;
g :	Gramme ;
h :	Heure;
min :	Minute;
s :	Seconde ;
HR1 :	Huile de graine de ricin sans tégument ;
HR2 :	Huile de graine de ricin avec tégument ;

IA :	Indice d'acide ;
IP :	Indice de peroxyde ;
IS :	Indice de saponification ;
ISO :	Organisation internationale de normalisation ;
Kg :	Kilogramme ;
kHz :	Kilohertz ;
L :	Litre ;
M Pa:	Mégapascal;
m :	Mètre ;
mg :	Milligramme;
MH:	Muller-Hinton;
ml :	Millilitre;
nm :	Nanomètre
N :	Normalité ;
pH:	Potentiel hydrogène ;
PP:	Les polyphénols ;
PPP:	Plasma pauvre en plaquettes;
rpm:	Rotation par minute;
SXT25:	Trimethoprim-sulfamethoxazole
TCK:	Temps de céphaline- kaolin ;
TM :	Tégument Marron ;
TP:	Taux de prothrombine ;
TQ:	Temps de Quick;
v/v:	Volume par volume ;

Liste des tableaux

Tableau 1 : Facteurs de la coagulation plasmatique	38
Tableau 2 : Les tests de screening phytochimique.....	53
Tableau 3 : Liste des souches bactériennes étudiées.	63
Tableau 4 : Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition	65
Tableau 5 : Les caractéristiques organoleptiques de deux huiles de <i>Ricinus communis</i> L.....	68
Tableau 6 : Paramètres chimiques de l'huile de ricin HR1 et HR2.....	68
Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits éthanoliques des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.....	70
Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) en présence des deux antibiotiques.....	89
Tableau 9 : Résultats de l'activité antibactérienne des Témoins négatifs.	90
Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits brut des huiles végétales de ricin et leurs dilutions ($\frac{1}{2}$).	91
Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits phénoliques brut des téguments et des capsules et leurs dilutions ($\frac{1}{2}$).	93

Liste des figures

Figure 1 : La plante de <i>Ricinus communis</i> L.....	6
Figure 2 : Les feuilles de <i>Ricinus communis</i> L.	7
Figure 3 : Inflorescence en panicule terminal chez le ricin ; Fleurs femelles apicales et fleurs mâle basales.....	7
Figure 4 : Structure du fruit triloculaire	8
Figure 5 : Graine entière avec sa caroncule au sommet	9
Figure 6 : Structure de ricin	12
Figure 7 : Structure générale d'une huile végétale. R1, R2, R3 désignent des chaînes d'acides gras	14
Figure 8 : Constituants des huiles végétales	15
Figure 9 : Les triglycérides	16
Figure 10 : Les acides gras saturés	17
Figure 11 : Métabolisme des acides gras poly -insaturés des séries oméga-3 (n-3) et oméga-6(n-6) (Solinas, 1992).....	18
Figure 12 : Squelettes de base des triterpènes	25
Figure 13 : Structure du noyau phénol	26
Figure 14 : Les principaux acides phénoliques	27
Figure 15 : Formation d'une coumarine	27
Figure 16 : Structure des lignanes, a, b et c structure des alcools formant les lignanes et les lignines ; d et e exemples de lignanes	28
Figure 17 : Squelette de base des flavonoïdes	29
Figure 18 : Structure de quelques classes de flavonoïdes	29
Figure 19 : Structure générale des anthocyanes	30
Figure 20 : Structures chimiques typiques des tanins	31
Figure 21 : Structures chimiques typiques des tanins	31
Figure 22 : Structures chimiques des stilbènes	32
Figure 23 : Représentation simplifiée de la voie de biosynthèse des polyphénols végétaux	33
Figure 24 : Les fonctions des composés phénoliques.	34
Figure 25 : Cascade de la coagulation dans la voie endogène et la voie exogène	40
Figure 26 : Matériel végétal	46
Figure 27 : Décorticage et concassage des graines de ricin	47
Figure 28 : Extraction de l'huile de ricin	48
Figure 29 : poudre de capsule	51

Figure 30 : poudre de tégument marron.....	51
Figure 31 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait éthanolique.	52
Figure 32 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait méthanolique.	56
Figure 33 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait aqueux.	57
Figure 34 : Protocole de dosage des polyphénols totaux	59
Figure 35 : étapes de préparation d'un pool plasmatique	60
Figure 36 : étapes de la voie endogène (TCK)	61
Figure 37 : Les étapes de la voie exogène (TQ)	62
Figure 38 : Rendement des huiles de <i>Ricinus communis</i> L.....	67
Figure 39 : Résultats de test composés phénoliques des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	71
Figure 40 : Résultats de test des saponosides des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	71
Figure 41 : Résultats de test des flavonoïdes des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	72
Figure 42 : Résultats de test des glycosides des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	72
Figure 43 : Résultats de test des coumarines des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	73
Figure 44 : Résultats de test des quinones libres des téguments marron et Capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	73
Figure 45 : Résultats de test des anthraquinones des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	74
Figure 46 : Résultats de test des stérols des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	74
Figure 47 : Résultats de test des alcaloïdes des téguments marron et capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	75
Figure 48 : Résultats de test des tanins des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	75
Figure 49 : Résultats de test des triterpènes et stéroïdes des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	76

Figure 50 : Résultats de test des Anthocyanes des téguments marron et des capsules de <i>Ricinus communis</i> L.	76
Figure 51 : Rendement en résidu sec des téguments marron.	77
Figure 52 : Rendement en résidu sec de capsule.....	78
Figure 53 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	79
Figure 54 : teneur en polyphénol totaux pour téguments marron.	79
Figure 55 : teneur en polyphénol totaux pour capsules.....	80
Figure 56 : Capacité anticoagulante de l'huile de <i>Ricinus communis</i> L.de (HR1 et HR2) vis-à-vis de la voie endogène.	82
Figure 57 : Capacité anticoagulante de l'huile de <i>Ricinus communis</i> L. (HR1 et HR2) vis-à-vis de la Voie exogène.	83
Figure 58 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dilué) des téguments vis -à- vis de la voie endogène TCK.	84
Figure 59 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dilué) des téguments marron vis -à- vis de la voie exogène TQ.....	85
Figure 60 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) de capsule vis -à- vis de la voie endogène TCK.	86
Figure 61 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) des capsules vis -à- vis de la voie exogène TQ.	87
Figure 62 : effet d'huile HR1 et HR2 et leurs dilutions de ricin sur les bactéries testées	92
Figure 63 : effet des extraits méthanoliques (capsules et téguments) sur les bactéries étudiées	94
Figure 64 : effet des extraits aqueux (capsules et téguments) sur les bactéries étudiées	94

Introduction générale



Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base des plantes connaît un succès croissant. Ainsi, d'après les estimations, 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle **(OMS, 2012)**

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits synthétisés par les plantes elles-mêmes appelés métabolites secondaires. De nombreux métabolites secondaires essentiellement des polyphénols **(Buchanan et al. , 2000)** , représentent l'un des groupes les plus importants du fait qu'ils aient une faible toxicité et de nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaire**(Gurib-Fakim,2006)**.

Les polyphénols sont aussi connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain. Ils sont utilisés dans la chimiothérapie et dans le traitement de plusieurs types de cancer **(Manach et al, 1996)**

Les huiles végétales extraites des plantes médicinales (**ricin**, soja, colza, tournesol, argan, arachide, etc...) ont de nombreuses utilisations. La plus importante est qu'elles sont un produit alimentaire et qu'elles sont utilisées pour la préparation et l'assaisonnement des aliments. Les huiles ont également d'importants usages externes, par exemple dans les cosmétiques et pour l'onction thérapeutique.

Le *Ricinus communis* L. ou ricin est un arbrisseau d'origine tropicale de la famille des Euphorbiacées. Actuellement peut être cultivé à n'importe quel endroit du monde **(Pierre. Bertrand ,2004)**. Le ricin a été utilisé dans le traitement de nombreuses maladies. Ainsi, l'huile de ricin entre dans la composition de nombreux traitements purgatifs ou laxatifs. En usage externe, elle est exploitée en cosmétique comme crèmes solaires et crèmes antirides (Polvèche, 1996).

L'objectif principal de ce travail de recherche est d'établir une étude comparative entre l'huile végétale des graines de ricin ainsi les extraits phénoliques obtenus à partir des téguments marron et des capsules. On a également effectué un criblage phytochimique pour mettre en évidence la présence ou l'absence de quelques groupes chimiques dans l'extrait éthanolique des téguments marron et des capsules . Puis on a réalisé une quantification des polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique et aqueux des téguments marron et des capsules. Cette étude concerne également deux activités biologiques (anticoagulantes et antibactériennes).

- ❖ La première partie du manuscrit porte sur une synthèse bibliographique qui renferme quatre chapitres.

D'abord une étude botanique de l'espèce étudié : *Ricinus communis* L. a été réalisé.

- puis une étude générale sur les huiles végétales
- ensuite nous avons cité les métabolites secondaires, en particulier les composés phénoliques.
- enfin nous nous sommes tournés vers une étude bibliographique générale sur les activités biologiques réalisées dans notre étude.

❖ La deuxième partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres :

- Le premier chapitre concerne le matériel et les différentes méthodes utilisées pour l'extraction et l'étude des paramètres physicochimiques des huiles (avec et sans téguments marron) on a également effectué une analyse qualitative des composés phytochimiques des extraits éthanoliques (tégument, capsule), puis l'extraction des composés phénoliques , ensuit l'évaluation quantitative des polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique et aqueux des téguments et des capsules.

Enfin on a réalisé une étude comparative entre les différents extraits obtenus (huiles et extraits phénoliques) concernant leurs effet anticoagulante par les deux voie (endogène, exogène), ainsi que l'étude de l'effet antibactérienne vis-à-vis de trois souches référentielle (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*).

- Le deuxième chapitre comporte les différents résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, on a terminé par une conclusion générale et perspectives.

Partie 1 :

Synthèse bibliographique



CHAPITRE I:
Etude ethnobotanique de
l'espèce



1. Généralités

Le nom générique *Ricinus* signifie « tique » en latin : la graine est ainsi nommée parce qu'elle a des marques et une bosse qui la fait ressembler à certaines tiques (**Ramprasad et Bandopadhyay, 2010**).

Ricinus communis L. fait partie de la famille des Euphorbiacées comportant 8100 espèces, cette plante est le seul représentant du genre *Ricinus* qui est un arbre à grandes feuilles palmées (**Witchard, 1997; Paul et Tanigoshi, 1999 ; Malathi et al, 2006 ; Ledent et Mairesse, 2008**).

euphorbiacée vient du genre le plus important de la famille, *Euphorbia*, lui-même dédié par le roi Juba II de Mauritanie à son médecin Euphorbos au 1er siècle avant Jésus Christ, et conservé par Linné. D'aspect très variable, les plantes de cette famille se caractérisent essentiellement par leur latex blanc, irritant la peau, collant et épais avec un fruit à trois loges (**Lagnika, 2005**).

2. Nomenclature

Anglais: Castor plant, castor oil plant, Palma Christi (**Leo et al, 2009**).

Brésil: Carrapateira, mamona ou mamoneira). (**Hadj Benrezig, 2016**).

Mexique : Huiguerilla (**Adolfo et Heinrich, 2005**).

France: Ricin (**Guergour, 2011**).

Niger : Karoua (**Hammiche et Maiza, 2006**).

Nom arabe : Wriwra, Kran'k, Tazartûchan, Wararû, Wrûri, Wayrûrû , Khareoua, Sakta ou ameskouta (graine) L'huile de ricin étant : Zit al kharwaa en arabe ou encore appelée huile de castor, huile de palma-christi, huile de carapal ou carapat(**Hadj Benrezig, 2016**).

Nigeria: selon les régions au Nigeria la plante plusieurs appellations : "Zurman" (en Hausa), "Laraa" (en Yoruba), "Ogilisi" (en Igbo), " Kpamfinigulu " (en Nupe), "Jongo" (en Tiv), et "Eraogi " (en Bini) (**Sule et Sani, 2008**).

Pakistan: Arand.

Inde: Erandah, Amudam, Erandi ou Arand (**Guergour, 2011**).

3. Classification taxonomique :

- **Règne :** Plantae
- **Embranchement :** Spermatophyte (plante à graine) (**R. Alloune Et Al. 2012**).
- **Sous-embranchement :** Angiosperme (Magnoliophyta : Plantes à fleurs).

- **Classe** : Magnoliopsida .
- **Sous-classe**: Rosidae.
- **Ordre**: Euphorbiales.
- **Famille**: Euphorbiaceae.
- **Genre** : Ricinus (N'guessan et al, 2009).
- **Espèce**: *Ricinus communis* L.

4. Description botanique du taxon

Le ricin est une euphorbiaceae herbacée ou arborescente, annuelle ou vivace suivant les conditions climatiques (Bruneton, 2009), pouvant atteindre 7 m et plus (figure01) (Saoula et Afif, 2016), une cellule diploïde de ricin possède un nombre chromosomique égal à $2n = 2x = 20$ (Harrys, 1980 ; Karl et Dan, 1965).

Il possède deux parties:

4.1. Une partie aérienne : possédant

4.1.1. Tige

Dressée, robuste, rameuse avec des branches a nœuds visibles et cicatrices annulaires, généralement glauques, parfois vertes ou rouges, un peu fistuleux, bien Unie, ronde, lisse, ramifiée seulement dans le haut (figure 01) (Couplan et styner, 2000).



Figure 1 : La plante de *Ricinus communis* L.

4.1.2. Feuille:

Les feuilles sont longuement pétiolées, palmées, lobées (5 à 9 lobes), caduques et de couleur vert foncé parfois tracées de rouge pourpré (figure 2) (WAN, 2006).



Figure 2 : Les feuilles de *Ricinus communis* L.

4.1.3. Fleurs:

Chez le ricin il y a présence de fleurs mâles et des fleurs femelles (figure 03) qui sont monoïques et rameuses, les fleurs males staminées se trouvent dans la partie inférieure de l'inflorescence, alors que les fleurs femelles pastillées se trouvent dans la partie supérieure, les fleurs femelles sont couronnées par trois stylets rouges (William *et al*, 1967).

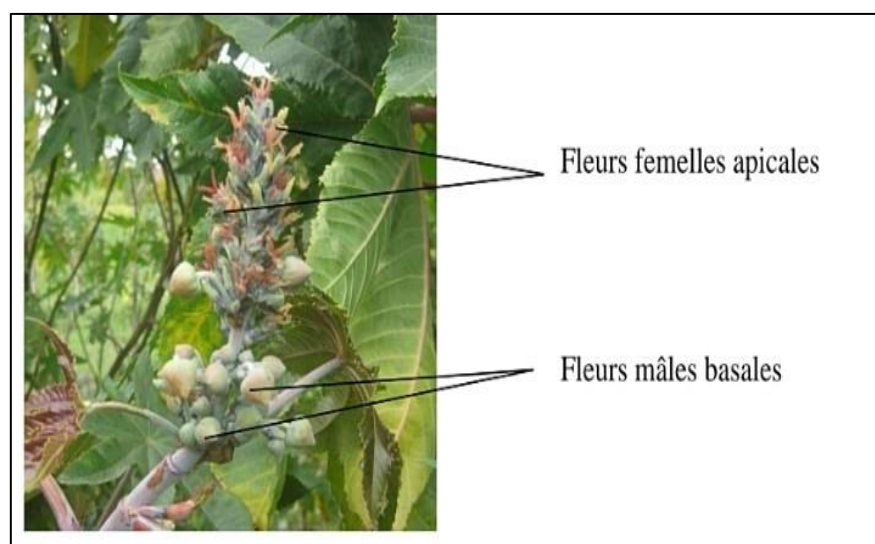


Figure 3 : Inflorescence en panicule terminal chez le ricin ; Fleurs femelles apicales et fleurs mâle basales (Ghnimi ,2015).

4.1.4. Fruit :

le fruit est une capsule tricoque (figure04) émousée , verdâtre ,profondément rainurée ,de moins d'un pouce de long ,avec les proéminences de l'ovaire qui deviennent pointues ,faible ,des épines étalées,3-loculaire , déhiscentes de manière lociticide et septicidaire en 6 valves (Manpreet R et al,2012).

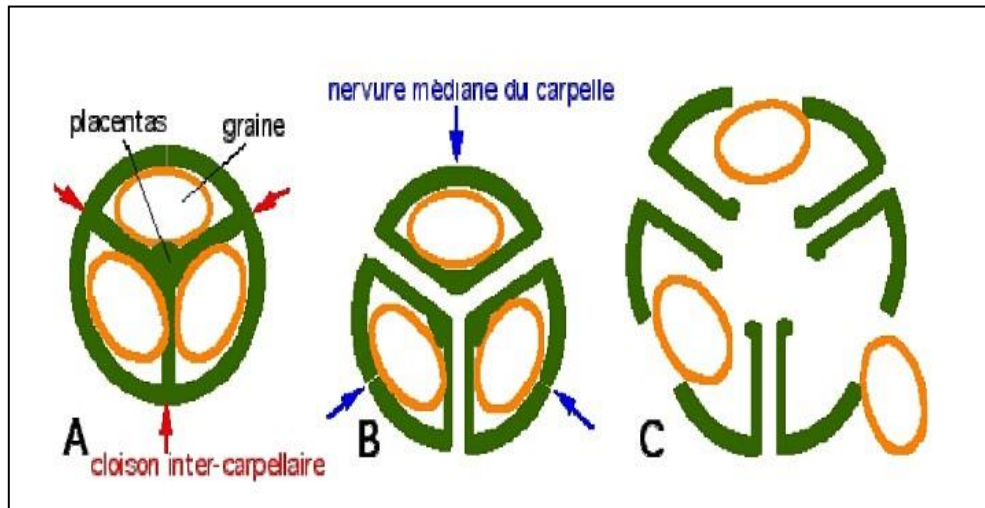


Figure 4 : Structure du fruit triloculaire (Prat et al, 2005).

A: L'ouverture est complexe.

B : les trois carpelles se séparent par trois fentes situées au niveau des cloisons (septum) intercarpellaires (**déhiscence septicide**) formant trois coques.

C : les trois coques séparées s'ouvrent par trois fentes situées au niveau de leur nervure médiane (**déhiscence loculicide**), ce qui permet la libération des graines (Prat et al, 2005).

4.1.5. Graines

Sont contenues dans chacune des loges du péricarpe, ont presque la forme d'un haricot moyen, sont piriformes, ovoïdes, allongées ou plates (Little et Wadsworth, 1974) de 8 à 15 mm de long de 5 à 7mm de large (figure 05). Elle présente une ligne saillante sur la face ventrale (Chaa et Ziane Cherif ,2019), luisantes marbrées de gris rougeâtre et de blanc. A l'intérieur de la graine se trouve une amende oléagineuse qui est très toxique (Little et Wadsworth, 1974).



Figure 5 : Graine entière avec sa caroncule au sommet (photos personnelle, 2022).

4.2. Une partie souterraine :

Possédant une racine pivotante puissante à racines latérales marquées (Guergour, 2011).

5. Distribution biogéographique de l'espèce :

5.1. La répartition mondiale:

L'origine du *Ricinus communis* L. est l'Afrique tropicale, il est développé en tant que plante ornemental dans diverses régions de l'Asie, l'Amérique du Nord, l'Afrique et l'Europe (Aslania et al, 2007).

Il est répandu en Inde et en Chine qui sont les deux premiers producteurs du ricin dans le monde (FAO, 2007). Cette plante est cultivée dans la plupart des régions tropicales et subtropicales sèches de même que dans de nombreuses régions tempérées dotées d'un été chaud. Il se naturalise facilement et pousse dans de nombreux endroit comme plante rudérale adaptée aux contraintes des milieux parfois hostiles aux autres végétaux. (Polvèche, 1996).

5.2. Répartition en Algérie:

Le ricin pousse librement dans le lit des oueds du littoral, sur des hauts plateaux et atlas, très abondant dans la zone saharienne (Trochain, 2016).

6. Exigences écologiques du taxon :

6.1. Exigences climatiques:

- ❖ Le ricin a pu s'acclimater spontanément dans les régions tropicales et subtropicales mais il préfère des pluviométries assez élevées (450 – 1000 mm) pour compléter son cycle de développement (Déthiollaz, 2003).

- ❖ La répartition géographique du ricin dans le monde indique qu'il tolère une grande variabilité des conditions climatiques sauf pour les très basses températures. En effet, vingt-quatre heures à 2 °C suffisent pour inhiber la germination. Cependant, un bon démarrage de la germination à des températures supérieures à 15°C est observé (**Polvèche, 1996**).
- ❖ Les conditions climatiques ont été résumées selon (**Rousset, 2008**). comme suit :
 - **Température** : entre 20 et 30°C.
 - **Humidité** : en dessous de 80%, idéale autour de 65%.
 - **Altitude** : Entre 300 et 1500 m (**Hadj Benrezig, 2016**).

6.2. Exigences édaphiques :

Les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol sont dites conditions édaphiques (**Rousset et al, 2008**).

- ❖ La plante est exigeante et fatigue le sol.
- ❖ Elle demande une bonne topographie, la pente maximale ne doit pas dépasser 12%, et une bonne exposition au soleil.
- ❖ Il lui faut des sols argileux siliceux ou siliceux-argileux profonds, fertiles et bien drainés. Les sols alluvionnaires sont excellents pour cette plante.

Le pH idéal se trouve entre 6 et 7. La production n'est pas bonne dans des sols humides et pauvres (**Rousset, 2008**).

7. Utilisation du ricin

7.1. Utilisation en agriculture :

- (**Sharma et al, 1991**) ont montré que le ricin peut être utilisé comme un insecticide efficace, ainsi l'utilisation du ricin dans la lutte contre les termites (fourmis blanches) qui endommagent le bois de *Mongifera indica* et *Pinus longifolia*.
- D'autres recherches ont montré que le ricin peut être utilisé comme larvicide. Ainsi les extraits aqueux des feuilles et des graines présentent des effets toxiques sur les larves de moustiques *Culex pipiens*. Ces extraits peuvent être utilisés comme des biocides naturels (**Ghnimi et al, 2014**).

7.2. Utilisation industrielle

Le pouvoir lubrifiant de l'huile de ricin est excellent et durable dans le temps. Elle permet d'améliorer les performances mécaniques. Toutefois, elle ne présente pas une bonne résistance aux températures élevées (**Polvèche, 1996 ; Alexander et al, 2008**) .

L'huile de ricin déshydratée, est employée dans l'industrie de peinture et de vernis, la fabrication d'un éventail des produits sophistiqués comme les fibres en nylon, lubrifiants démonteur de gicleur, fluides hydrauliques, plastiques, le simlicuir, fabrication d'optique défibres, prothèses à l'épreuve des balles en verre et d'os et comme antigel pour des carburants et des lubrifiants utilisés dans des fusées d'avion(**Benali et Djaber, 2015**).

7.3. Utilisation médicinale

- **L'huile de ricin**

L'huile de ricin entre dans la composition de nombreux traitements purgatifs ou laxatifs. En usage externe, elle est exploitée en cosmétique comme crèmes solaires et crèmes antirides. En dermatologie, elle est utilisée pour le soin des durillons, des kystes et de certaines de plaies ouvertes (**Polvèche, 1996**).

- **Les feuilles**

Recommandées contre l'inflammation et les affections du foie (effet hépatoprotecteur, laxatifs et diurétiques (**Chaa et Ziane Cherif ,2019**).

- **Les racines**

Les racines sont utiles dans le traitement du diabète "effet hypoglycémiant" (**Poonam et al, 2008 ; Rao et al, 2010**) et présentent un effet antibactérien (**Sharma et al, 2013**).

Elles sont utiles également pour les maladies nerveuses et les affections rhumatismales.

Selon (**Ilavarasan et al, 2005**) l'extrait méthanolique des racines montre une activité anti-inflammatoire importante contre des inflammations aiguës et chroniques chez les rats.

- **Graines**

Les graines de *Ricinus communis* L. ont été employées dans différentes parties du monde comme cathartique, un émétique et pour le traitement de la lèpre et de la syphilis. Certaines femmes en Inde et Corée ont pris les graines de ricin, comme moyens contraceptifs (**Abdulazim et al, 1998**).

8. Dernières recherches:

- De plus, ces dernières années, la recherche a montré que la ricine, toxine qui caractérise le ricin, s'avère active contre certaines cellules cancéreuses. Cette glycoprotéine, largement étudiée, est formée par deux chaînes polypeptidiques A et B reliées par un pont disulfure. La chaîne A forme la partie toxique quant à la chaîne B, elle permet à la toxine de se fixer à la surface d'une cellule en se liant à une molécule de sucre ou galactose. Ainsi, une fois la chaîne A entrée à l'intérieur de la cellule, elle bloque la synthèse des protéines ce qui conduit à la mort cellulaire. Il est à noter que la chaîne A sans la chaîne B ne peut pas pénétrer à l'intérieur d'une cellule et la chaîne B sans la chaîne A n'a aucune action toxique d'où l'importance du pont disulfure (Olsnes et Kozlov, 2001) (figure6).

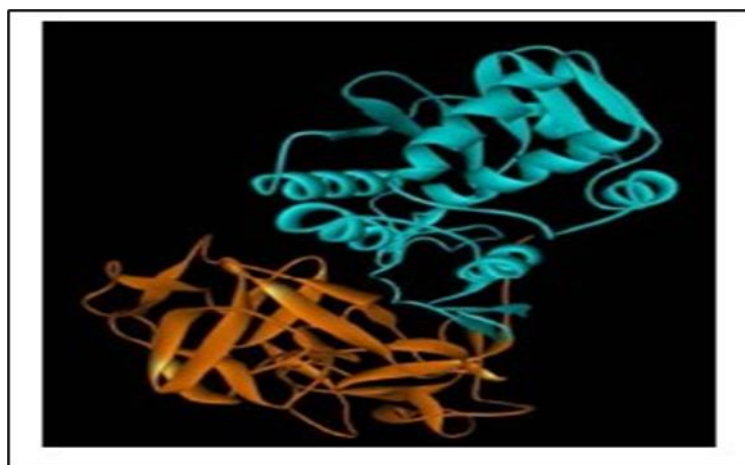


Figure 6 : Structure de ricin (Olsnes et Kozlov, 2001).

Chaîne A = bleu chaîne B = orange.

Déthiollaz (2003) montre que le ciblage des tumeurs par la ricine permet de détruire les cellules cancéreuses sans endommager les cellules saines du patient. Donc il s'agit d'une véritable " torpille " qui permettrait d'atteindre les cellules cancéreuses métastasées ou de pénétrer à l'intérieur des tumeurs solides inopérables.

CHAPITRE II:
Les Huiles Végétales



1. Définition

Les huiles végétales pures sont des huiles produites à partir des plantes oléagineuses par pression, extraction ou procédés comparables, brutes ou raffinées, mais sans modification chimique (**Ramiliarisoa, 2008**) (figure 07).

Elles sont constituées essentiellement par des triglycérides mais on y trouve aussi d'autres composés non triglycéridiques tels que les stérols, les tocophérols, les hydrocarbures, les alcools gras, les acides libres ainsi que des faibles quantités de matières odorantes, des pigments (carotène), des mono glycérides, des diglycérides et de l'eau (**Ramanamihaja, 2007**).

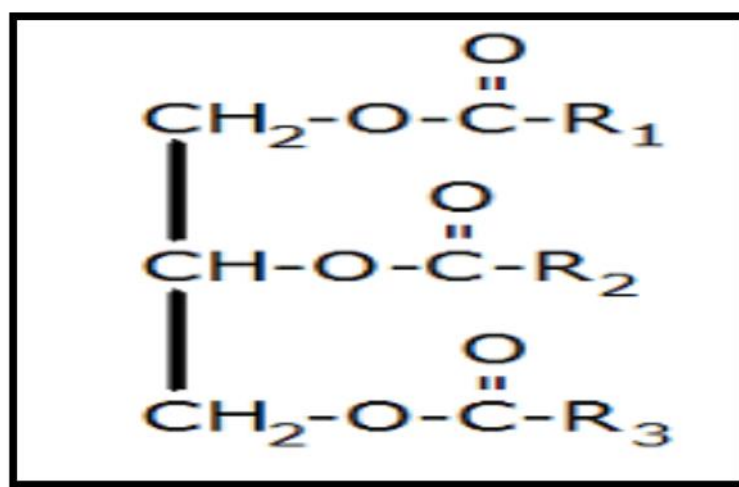


Figure 7 : Structure générale d'une huile végétale. R1, R2, R3 désignent des chaînes d'acides gras (**Barka ,2016**).

2. Rôles

Les huiles végétales fixes peuvent contribuer notablement, en fonction de leurs compositions en acides gras, à améliorer l'équilibre global de la part lipidique d'une alimentation. Elles remplissent, comme les corps gras en général (**Combe et Castera ,2010**) Elles sont une source d'énergie, une source d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles (**Legrand, 2010**).

3. Composition chimique des huiles végétales

Les huiles végétales sont composées d'une grande variété de constituants et leurs compositions chimiques sont représentées par des fractions appelées fractions saponifiable (98-99%) et insaponifiable (1-2%) (figure 08). Les triglycérides sont largement majoritaires et représentent au moins 95% du poids des huiles brutes et 98% du poids des huiles raffinées.

D'autres constituants naturellement présents en plus faible quantité, sont dits constituants mineurs (1à5%) (**Boutayeb, 2013**).

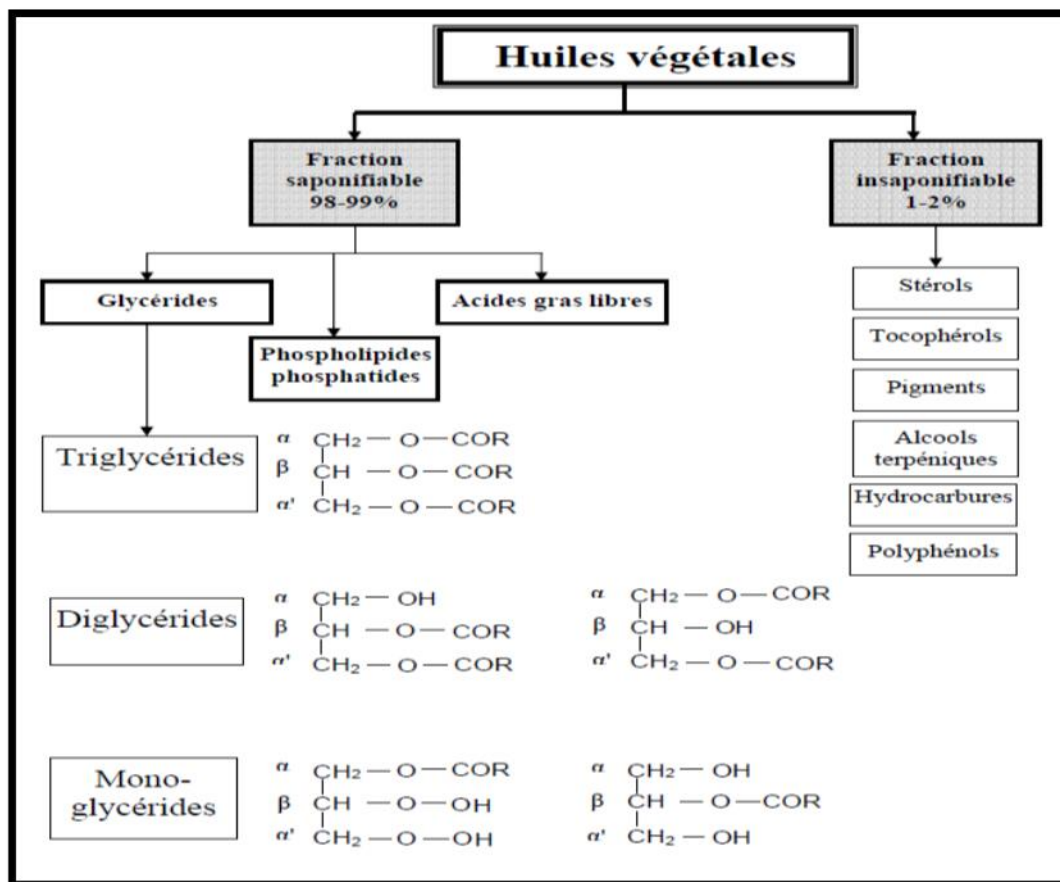


Figure 8 : Constituants des huiles végétales (Boutayeb, 2013).

3.1. La fraction saponifiable

Cette fraction est formée de deux constituants, les glycérides qui renferment en majeure partie des triglycérides ainsi que des acides gras (**Chaa et Ziane Cherif, 2019**).

3.1.1. Les triglycérides

Ces triglycérides résultent de la combinaison d'une molécule de trialcool (glycérol) avec trois molécules d'acides gras (figure 09). Chaque molécule d'acides gras (R-COOH) possède une fonction acide ($-\text{COOH}$) qui peut réagir par estérification avec l'un des trois fonctions alcool ($-\text{OH}$) du glycérol pour former un triester (triglycéride) (**Gossa et Mekchiche, 2014**).

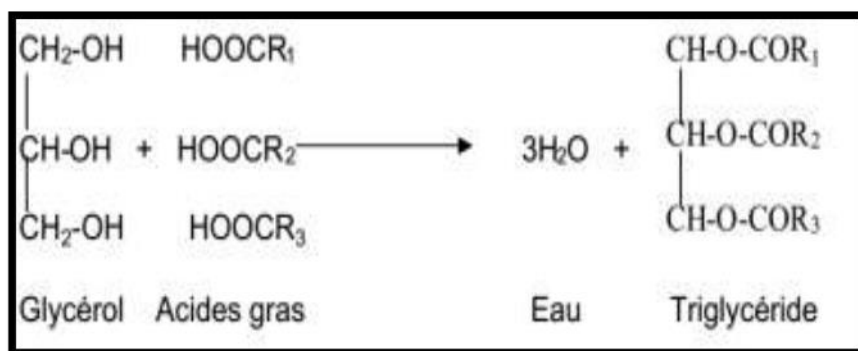


Figure 9 : Les triglycérides

Les acides gras (R1, R2 et R3) peuvent être identiques ou différents (**Desagher ; 1998**).

3.1.2. Les Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne carbonée, ce sont des constituants des graisses et des lipides membranaires. Ces composés peuvent être saturés, ou insaturés, hydroxylés ou ramifiés (**Weil ,1996**).

La fonction acide carboxylique réagit avec les alcools et les amines pour former des esters et des amides, c'est sous cette forme combinée qu'ils existent dans les aliments (**Frenot et al.2001**).

Les acides gras sont classés selon le nombre d'atome de carbone et d'insaturation présents dans leur structure ce qui leurs confèrent des propriétés différentes.

On peut classer les acides gras en trois grands groupes qui diffèrent entre eux par la longueur de la chaîne carbonée consécutive et par le type de liaisons (simples ou doubles) entre les atomes de carbone de cette chaîne.

➤ Les acides gras saturés

Ils ont pour formule générale : $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_n \text{COOH}$

Dans les huiles, les acides gras les plus fréquemment rencontrés sont l'acide palmitique et l'acide stéarique. Les acides gras saturés ayant un nombre de carbone supérieur à 10 sont solides et assez stables à la température ambiante (figure 10) (**Weil ,1996**). La libre rotation autour de chacune des liaisons carbonées rend ces molécules extrêmement flexibles (**Reginald, 2001**).

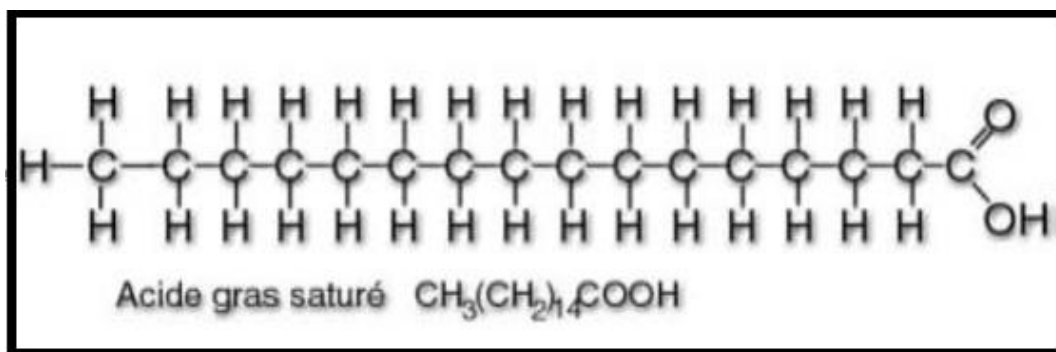
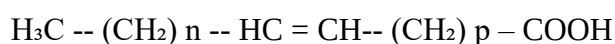


Figure 10 : Les acides gras saturés (Boulghiti et Hachemi, 2020).

➤ **Les acides gras insaturés:**

Ils sont fluides à température ambiante et sont classés en deux catégories :

- **Les acides gras mono-insaturés:** On parle d'acide gras mono-insaturé lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison et sa formule chimique est :



Et la position de la première double liaison peut s'exprimer à :

- ✓ soit en partant du carboxyle (1er carbone) ; le symbole est Δ
- ✓ soit en partant du méthyl (dernier carbone) ; le symbole est oméga ω

(Mezouagh, 2016).

- **Les acides gras polyinsaturés:** Ce sont des acides qui contiennent plusieurs insaturations et qui se distinguent les uns des autres par le nombre et la position de l'insaturation. Il existe deux familles d'acides gras polyinsaturés essentiels, nommés n-3 (ou oméga-3) et n-6 (ou oméga-6) par rapport à la position de la dernière double liaison et à C terminale. Deux acides gras sont à l'origine de ces familles. Il s'agit de l'acide α -linoléique, le précurseur des oméga-3 et l'acide linoléique qui est le précurseur de la famille des oméga-6 (figure 11) (Bouزيد, 2019).

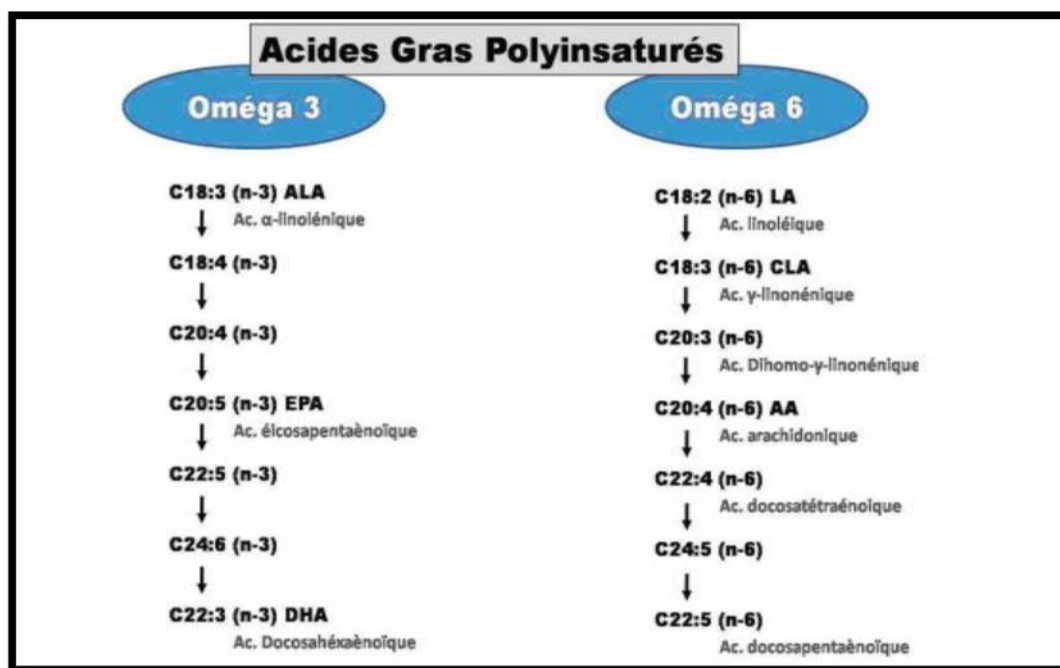


Figure 11 : Métabolisme des acides gras poly -insaturés des séries oméga-3 (n-3) et oméga-6(n-6) (Solinas, 1992).

3.1.3. Phospholipides

Ce sont des esters de glycérol dont une fonction alcool est naturellement estérifiée par une molécule d'acide phosphorique, elle-même associée à une amine ou un sucre. Ces molécules sont dites amphiphiles, car, elles possèdent un pôle hydrophile et un pôle lipophile et ont donc des propriétés émulsifiantes (Chibane et Hideur,2015).

3.2. La fraction insaponifiable :

Les huiles végétales contiennent aussi des constituants non glycéridiques et des lipides complexes appelés « constituants mineurs ». La teneur de ces constituant est très faible représentent 1 à 2 % de la masse d'huile et renferment principalement des (Boulghiti et Hachemi, 2020) :

3.2.1. Les stérols

Les stérols sont des alcools tétracycliques en C27, C28 et C29 comprenant au moins un groupement hydroxyle "OH" dans la plupart des cas sur le carbone 3 selon l'origine biologique on peut classer les stérols en quatre répartitions, les stérols animaux (Zoo stérols), stérols végétales (Phytostérols), stérols des champignons inférieurs (Mycostérols) et les stérols des algues ces composés sont naturellement présents dans les huiles (Jahouach ,2002).

3.2.2. Tocophérols:

Le terme « tocophérol » recouvre en fait plusieurs composés (α-tocophérol, β-tocophérol, γ-tocophérol). Présents dans les huiles végétales alimentaires, ils assurent la protection vis-à-vis de l'oxydation (antioxygènes). L'α-tocophérol est la vitamine E. Parmi les huiles végétales, les huiles riches en acides gras polyinsaturés (maïs, colza, tournesol, soja) sont celles qui sont susceptibles d'apporter le plus de tocophérols totaux (**Wolff, 1968**).

3.2.3. Les hydrocarbures

Les hydrocarbures présents dans les huiles végétales sont à chaînes linéaires ou cycliques, saturées ou insaturées. Le représentant essentiel des hydrocarbures est le squalène (C₃₀H₅₀) 4 (polyterpène). On distingue aussi parmi les hydrocarbures insaturés les caroténoïdes dont les α, β et γ-carotènes (**Boulghiti Et Hachemi ,2020**).

3.2.4. Composés phénoliques :

Ces constituants, encore appelés « biophénols », sont des substances naturelles aux importantes propriétés antioxydantes, présentes dans les huiles d'olive vierges (**Evrard, 2007**).

4. Classement et types d'huiles végétales :

En général, on peut classer les huiles végétales en différents types.

4.1. Huiles végétales de type laurique

Les huiles de type laurique qui contiennent principalement de l'acide laurique en C₁₂ et myristique en C₁₄. Ce sont des huiles saturées regroupant dont l'indice d'iode est compris entre 5 et 30 (**Ramiliarisoa , 2008**).

4.2. Huiles végétales de type palmitique

Les huiles de type palmitique qui contiennent plus de 25% d'acide palmitique.

(**Rakotonindrainy, 2007**). Ces huiles sont des huiles semi concrètes, dans ce groupe on peut trouver les huiles de palme.

4.3. Huiles végétales ou beurre de type stéarique

Les huiles végétales ou beurre de type stéarique sont les beurres du karité, de cacao, etc... (**Rakotonindrainy, 2007**).

4.4. Huiles végétales de type oléique

Ce sont des huiles fluides dont les indices d'iode sont compris entre 80 et 110. Ces huiles contiennent peu d'acide linoléique (**Ramiliarisoa , 2008**).

4.5. Huiles végétales de type linoléique

Elles sont en général semi siccative, dans ce cas on regroupe les huiles de coco, de tournesol, coton, etc... Ainsi, les acides gras les plus fréquents dans les huiles végétales sont : palmitiques, stéarique, oléique, linoléique et linolénique (**Rakotonindrainy, 2007**).

Le tableau suivant montre la structure des acides gras les plus fréquents dans les huiles végétales. Chaque carbone de la chaîne carbonée peut avoir deux atomes d'hydrogène. L'acide gras est saturé si tous les atomes d'hydrogène sont en place, si deux carbones adjacents manquent d'atomes d'hydrogène, un point d'insaturation est créé, s'il y a plus d'une double liaison dans la chaîne, l'acide gras est polyinsaturé (**Aboubacar, 2007**).

Tableau 10 : Acides gras contenus dans les huiles végétales comestibles. [26] [28] [29]

Acides gras	Nombre d'atome de Carbone	Formule	Classe
Palmitique	C16	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH	Saturé
Stéarique	C18	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	Saturé
Oléique	C18 :1	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	Insaturé
Linoléique	C18 :2	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -COOH	Polyinsaturé
Linolénique	C18 :3	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	Polyinsaturé

5. Les modes d'extraction des huiles végétales :

Selon la nature des matières premières, on a plusieurs types de modes d'extraction. Dans cette étude, on considérera surtout l'extraction par solvant volatil et l'extraction par pression (**Jaonaritiana, 2019**).

5.1. L'extraction par pression

Cette méthode d'extraction est utilisée surtout pour les produits qui contiennent plus de 10 % de matière grasse, car 7 à 8 % d'huile restent dans les tourteaux. Cette séparation de la phase

solide et liquide peut se faire à partir de n'importe quelle machine ou système mécanique possédant des parois avec un fond perforé sur lequel on exerce une pression (**Louni ,2009**).

Parmi les méthodes d'extraction, les presses hydrauliques et à vis constituent le procédé le plus utilisé aussi bien au niveau artisanal qu'industriel.

Cette technique permet de séparer, d'une part, l'huile et d'autre part, un résidu solide ou tourteau de pression appelé « expeller » (**Jaonaritiana ,2019**).

L'extraction mécanique à froid communément appelée pression à froid est sûrement la méthode d'extraction des huiles végétales la plus utilisée (**Site 01**).

5.2. L'extraction par solvant volatil

Elle consiste à “dissoudre” l'huile contenue dans les graines (généralement broyées pour obtenir un maximum de surface spécifique) par un solvant. On obtient alors du miscella. Le solvant est ensuite chassé de l'huile par distillation du miscella. On opère surtout en continu et à contre- courant, pour obtenir un rendement d'extraction très élevé (**Ramanamihaja ,2007**).

Les solvants utilisés sont des hydrocarbures tels que l'hexane, des alcools (éthanol, isopropanol) des chlorés (trichloréthylène) ou de l'acétone.

CHAPITRE III:
Les métabolites secondaires



1. Généralités

Le Les métabolismes secondaires une des originalités majeurs des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées .en effet ,à cote des métabolisme primaire classique (glucide ,protides , lipides ,acides nucléique) ,ils accumulent fréquemment des métabolites « secondaire » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisable par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Machiex et al ,2005**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**). Il sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peeking et al., 1987**).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Merghem, 2009**).

Ainsi leur concentration dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**).

Ils existent plus de 200 000 métabolites secondaires identifiées (**Vermerris et al., 2006**), appartiennent à 3 classes principales qui sont les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, appelés aussi composés phénoliques (**Wuyts, 2006**).

2. classification

Ils existent plus de 200 000 métabolites secondaires identifiées (**Vermerriset al.,2006**), appartiennent à 3 classes principales qui sont les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, appelés aussi composés phénoliques (**Wuyts, 2006**).

2.1. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (**Dellile, 2007**).

Les alcaloïdes possèdent au moins un atome d'azote hétérocyclique qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre). (**Nowitz et Bottet, 2000 ; Larousse, 2001**).

Ils présentent des réactions communes de précipitation, ils sont détectés par des réactions de précipitation (capacité de se combiner avec des métaux), représentant un groupe fascinant de produits naturels. Ils constituent un des plus grands groupes de près de 10000 à 12000 structures (**Stöckigt et al, 2002**).

Chez le végétal, les alcaloïdes existent sous la forme soluble, de sels (citrate, malate, tartrate, méconate, isobutyrate, benzoate) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins. Leur nom se termine toujours par « ine ». (**Nowitz et Bohttet, 2000 ; Larousse, 2001**).

Selon **Beddou, 2015** on distingue généralement les types d'alcaloïdes suivants :

2.1.1. Alcaloïdes vrais

Dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.

2.1.2. Proto-alcaloïdes

Qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.

2.1.3. Pseudo-alcaloïdes

Présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Les alcaloïdes les plus courants : Alcaloïdes pyrrolizidiniques, les alcaloïdes tropaniques, les alcaloïdes quinoléiques (**Biri et Lezbache, 2019**).

2.2. Les terpénoïdes et stéroïdes :

Issus des mêmes précurseurs, et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, tels les acétogénines, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétylCoA ou le malonylCoA (**Krief, 2003**).

Le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes : monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀) et tétraterpènes (C₄₀) (Krief, 2003).

2.2.1. Triterpènes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles. Ce sont des métabolites secondaires dont l'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel est majeur (**Krief, 2003**) (figure 12).

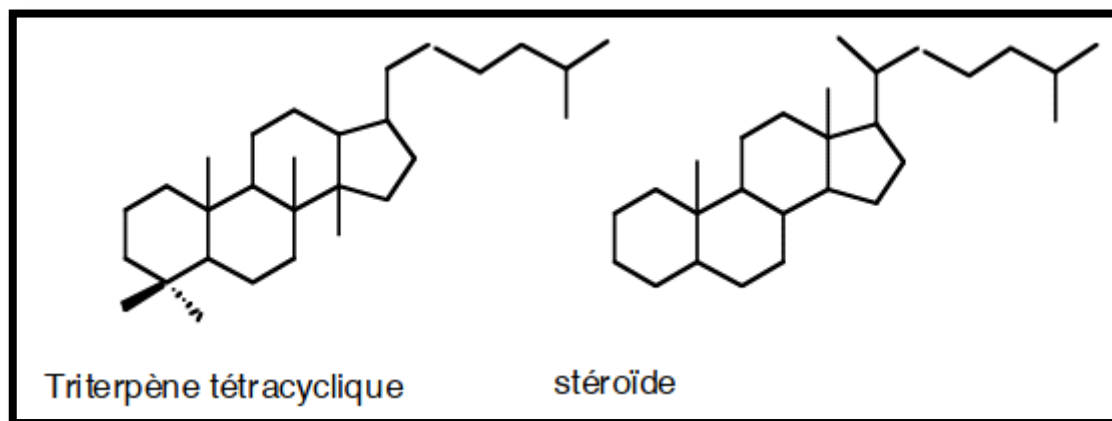


Figure 12 : Squelettes de base des triterpènes (**Krief, 2003**).

2.2.2. Saponoside

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponosides doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponosides existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpenoides (**Wang et Weller, 2006**).

2.3. Les composés phénoliques.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. (**Macheix et al., 2005**). Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories: les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (**Dacosta, 2003**).

2.3.1. La structure

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 13), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

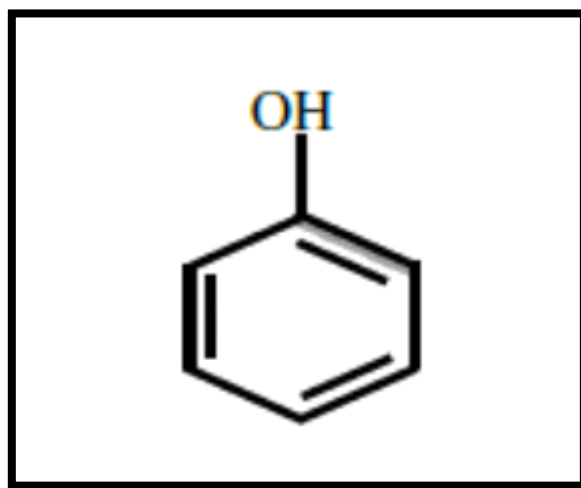


Figure 13 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

2.3.2. Classification

Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes suivant la complexité du squelette de base (noyau C6), le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation...etc.) et enfin suivant les molécules auxquelles ils sont associés (glucides, lipides, protéines, autres métabolites). Les formes les plus simples sont représentées par deux principaux groupes dont dérivent de nombreux composés: les acides hydroxycinnamiques et les flavonoïdes. Les formes complexes quant à elles, sont pour la plupart issues de la condensation de certaines formes simples et renferment, entre autre, les tannins et les lignines (Macheix *et al.*, 2005).

2.3.2.1. Acides phénoliques :

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En photochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Benhammou, 2011).

2.3.2.1.1. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (figure 14). Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules.

Les acides cinnamiques sont retrouvés dans les plantes sous forme d'esters d'acides quiniques, acide shikimique et acide tartrique. Par exemple, l'acide chlorogénique est l'ester de l'acide caféique et l'acide quinique (Macheix *et al.*, 2005).

2.3.2.1.2. Acides hydroxybenzoïques

Les acides phénoliques en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (**Bruneton, 1999**). Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique (**Saidi, 2019**) (figure 14).

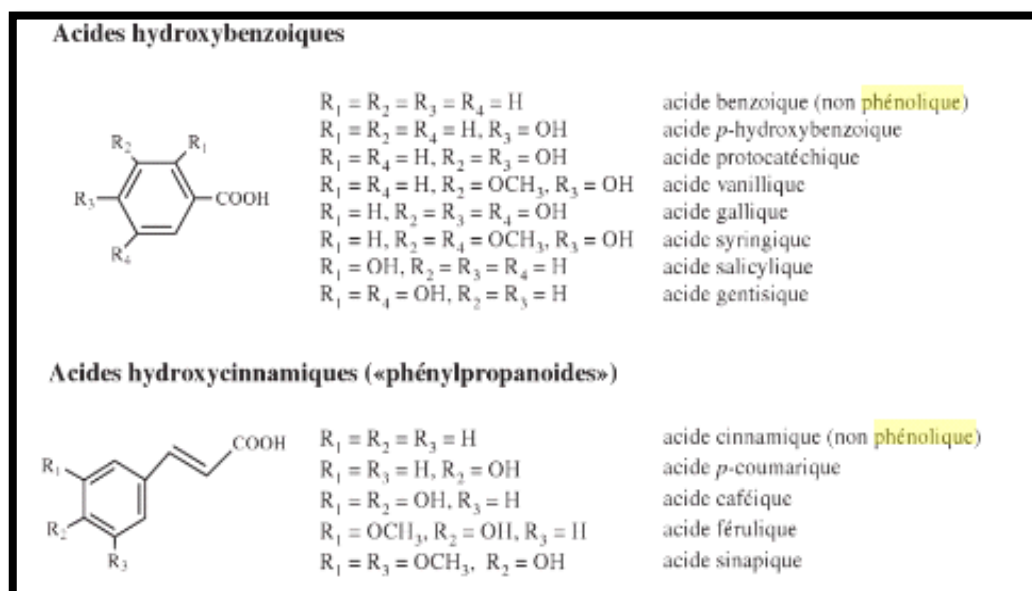


Figure 14 : Les principaux acides phénoliques (**Machiex et al,2005**).

2.3.2.2. Les coumarines

Les coumarines sont composées obtenues par lactonisation de l'acide orthocoumarique, ces coumarines (figure15), une fois hydroxylés sur le noyau aromatique, sont des composés phénolique à structure variables .Elle sont généralement substituées en C7 par un hydroxyle (**Lobstein, 2010**). Ces composés possèdent une structure de base : le benzo-2-pyrone (**Sakagami et al, 2005**).

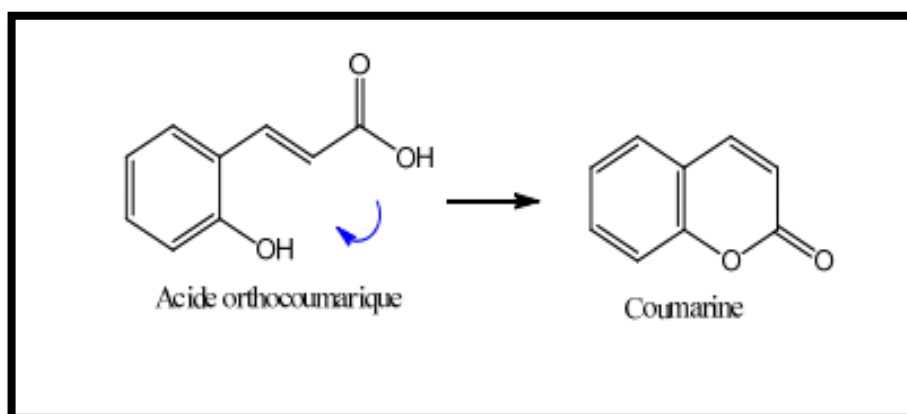


Figure 15 : Formation d'une coumarine (**Ghnimi, 2015**).

2.3.2.3. Les lignanes et lignines

Le terme de lignane désigne habituellement des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8'). On dit aussi que ce sont des dimères d'alcools ou d'acides cinnamiques (**Bruneton, 2009**).

Ils sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique, par des réactions de couplage radicalaire (**Bruneton, 2009**).

La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine (**Ghnimi, 2015**) (figure 16).

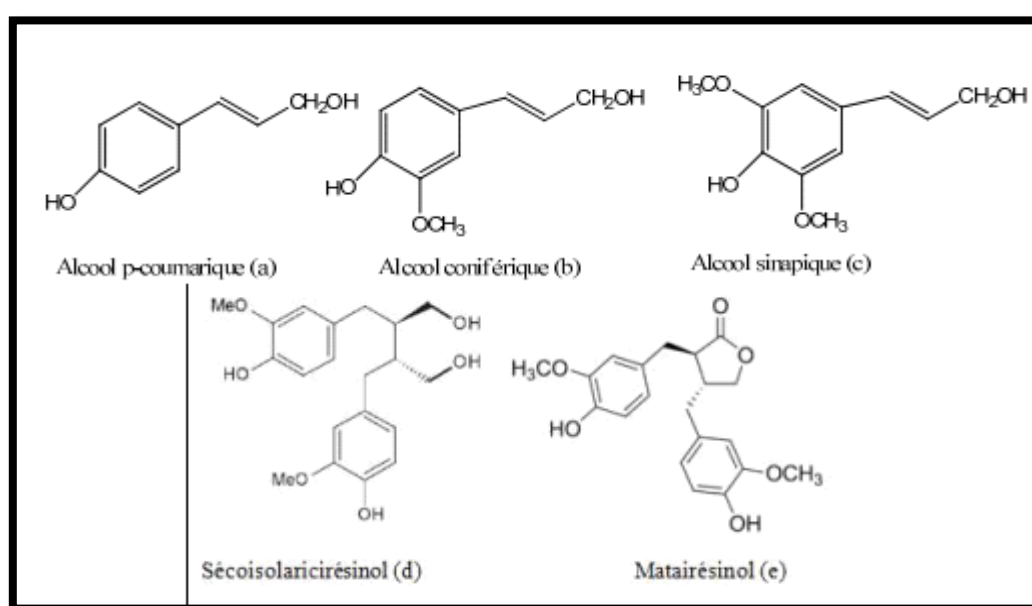


Figure 16 : Structure des lignanes, a, b et c structure des alcools formant les lignanes et les lignines ; d et e exemples de lignanes (**Ghnimi, 2015**).

2.3.2.4. Les flavonoïdes

les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (figure 17) (**De Beer et al., 2002 ; Heim et al., 2002**). Ils constituent la classe la plus importante des polyphénols avec plus de 5000 composés (**Grassiet al., 2010 ; Gómez-Caravaca et al., 2006**) qui peuvent être regroupés en quinze familles, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les isoflavones, les isoflavanones et les anthocyanes (**Pietta, 2000 ; Heim et al., 2002**).

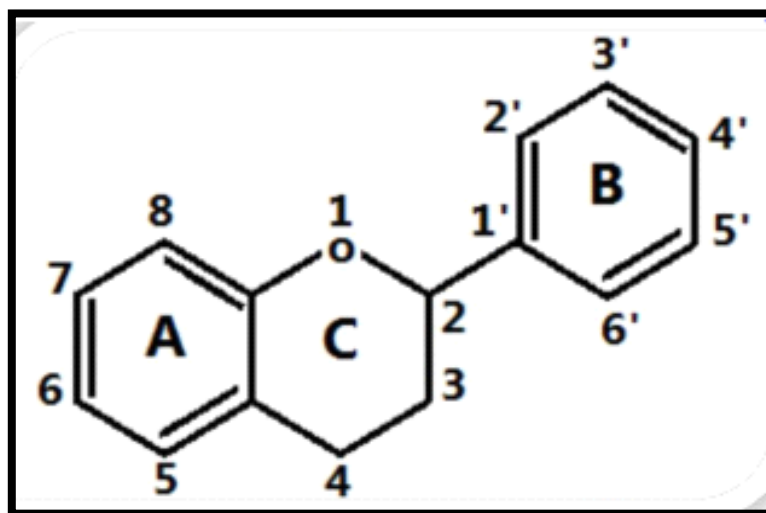


Figure 17 : Squelette de base des flavonoïdes (Heim *et al*, 2002).

Les différentes classes de flavonoïdes sont d'abord définies par la structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation (**figure00**). Chaque classe de flavonoïdes est caractérisée par son degré de substitution par des groupements hydroxyles ou méthoxyles. De plus ces composés sont la plupart du temps liés à des sucres, généralement par une liaison glycosidique, qui est dégradable par une hydrolyse acide à chaud. Les conséquences de la glycosylation sont multiples telles que la modification de la couleur des pigments et la modification de la solubilité ou des propriétés biologiques (Macheix *et al*, 2005) (figure 18).

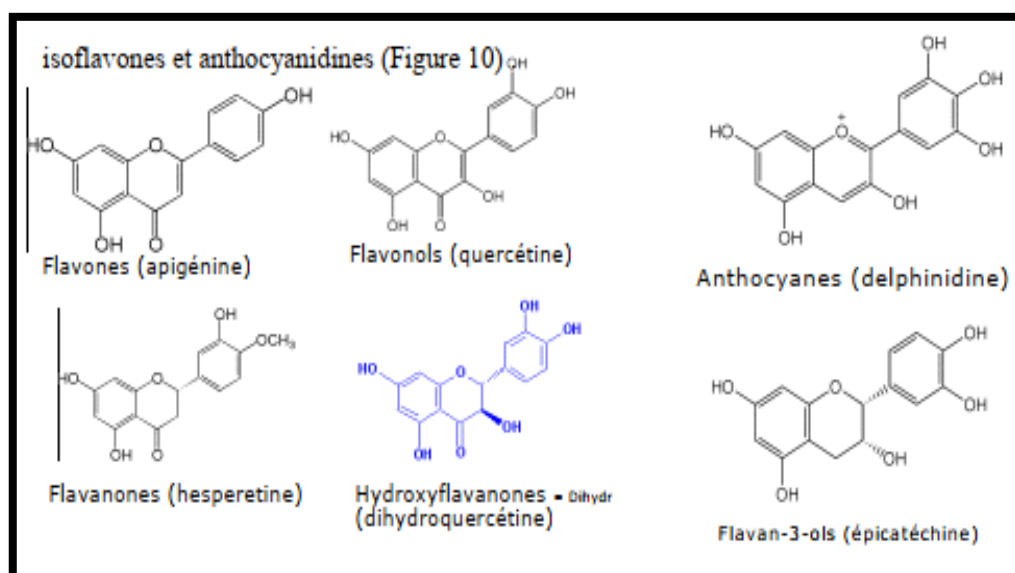


Figure 18 : Structure de quelques classes de flavonoïdes (Sekpa Florent, 2016).

2.3.2.4.1. Anthocyanes

Les anthocyanes est un terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la

lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (**Bessas et al 2007**).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (figure 19) (**Bessas et al 2007**).

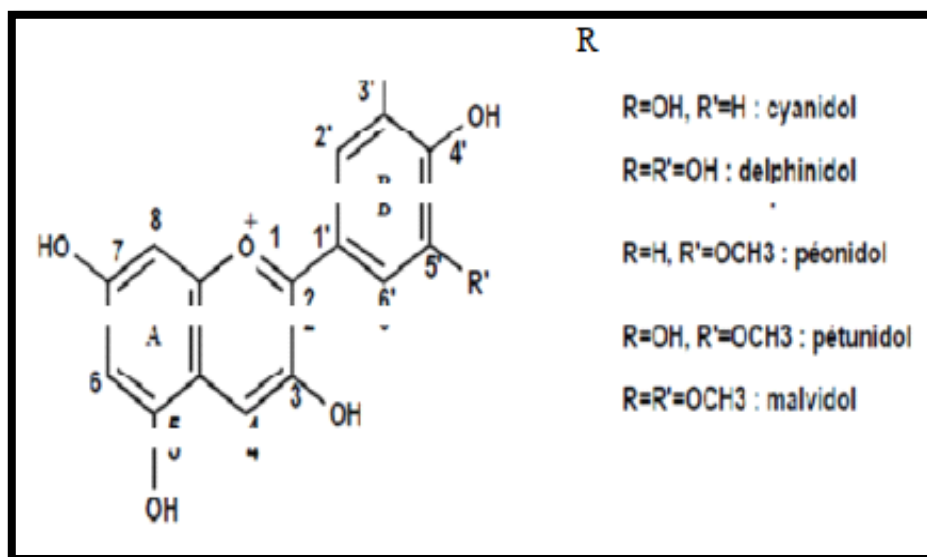


Figure 19 : Structure générale des anthocyanes (**Bessas et al 2007**).

2.3.2.5. Les Tanins :

En première approximation, on peut considérer que les tanins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter. (**Machiex et al, 2005**).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 2009**).

2.3.2.5.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des Oligo-ou des polyester d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol (figure 20). Le sucre est très généralement le glucose. L'acide-phénol est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (déhydroxydiphénique=DHHDP ; acide chébulique) dans le cas des tanins classiquement (mais improprement) dénommés tanins éllagiques (**Bruneton, 2009**).

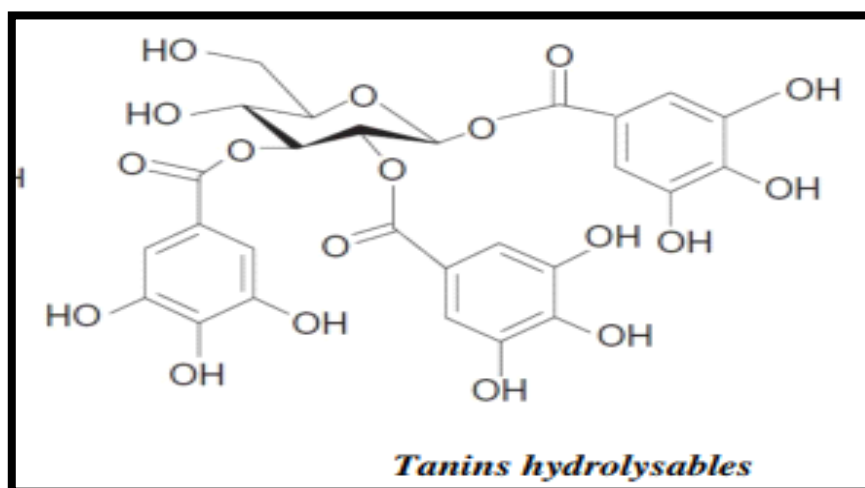


Figure 20 : Structures chimiques typiques des tanins (Achat, 2013).

2.3.2.5.2. Tanins condensé

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques (figure 21). Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liés entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent 4→8 ou 4→6, résultants du couplage entre le C4 électrophile d'un flavanyle issu d'un flavan-4-ol ou d'un flavan-3,4-diol et une position nucléophile (C8, plus rarement C-6) d'une autre unité, généralement un flavan-3-ol. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermae et pteridophyta compris (Bruneton, 2009).

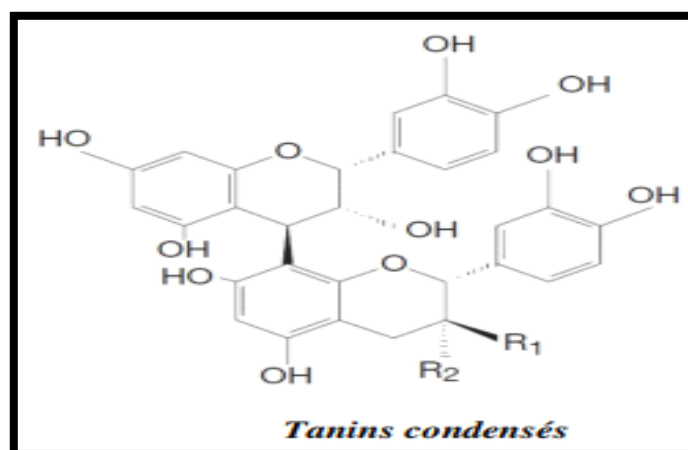


Figure 21 : Structures chimiques typiques des tanins (Achat, 2013).

2.3.2.6. Les Stilbènes

Les stilbènes répondent à une représentation structurale de type C6-C2-C6 (figure 22). Ils dérivent des acides hydroxycinnamiques et regroupent des dérivés hydroxy- et méthoxy- du stilbène simple, ainsi que leurs formes hétérosidiques et polymériques. Ils se trouvent en petites

quantités dans l'alimentation humaine. Parmi ces composés, on trouve le resvératrol, un anticancéreux présent dans certaines plantes (Bruneton, 2009 ; Chanforan, 2010).

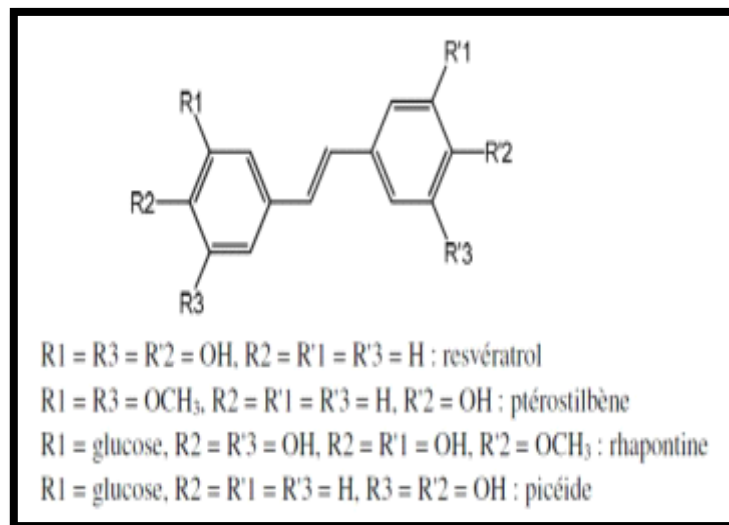


Figure 22 : Structures chimiques des stilbènes (Chanforan, 2010).

2.3.2.7. Quinones

Les quinones sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries.

Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques.

Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé : naphthalène (naphtoquinones), anthracène (anthraquinones) (Tahouo, 2016).

2.3.3. Les grandes lignés de la biosynthèse des polyphénols

Les grandes lignés des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues. les deux acides aminés aromatique, phénylalanine et tyrosine, sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux .il sont eux-mêmes formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire (figure23) (Machiex et al, 2005).

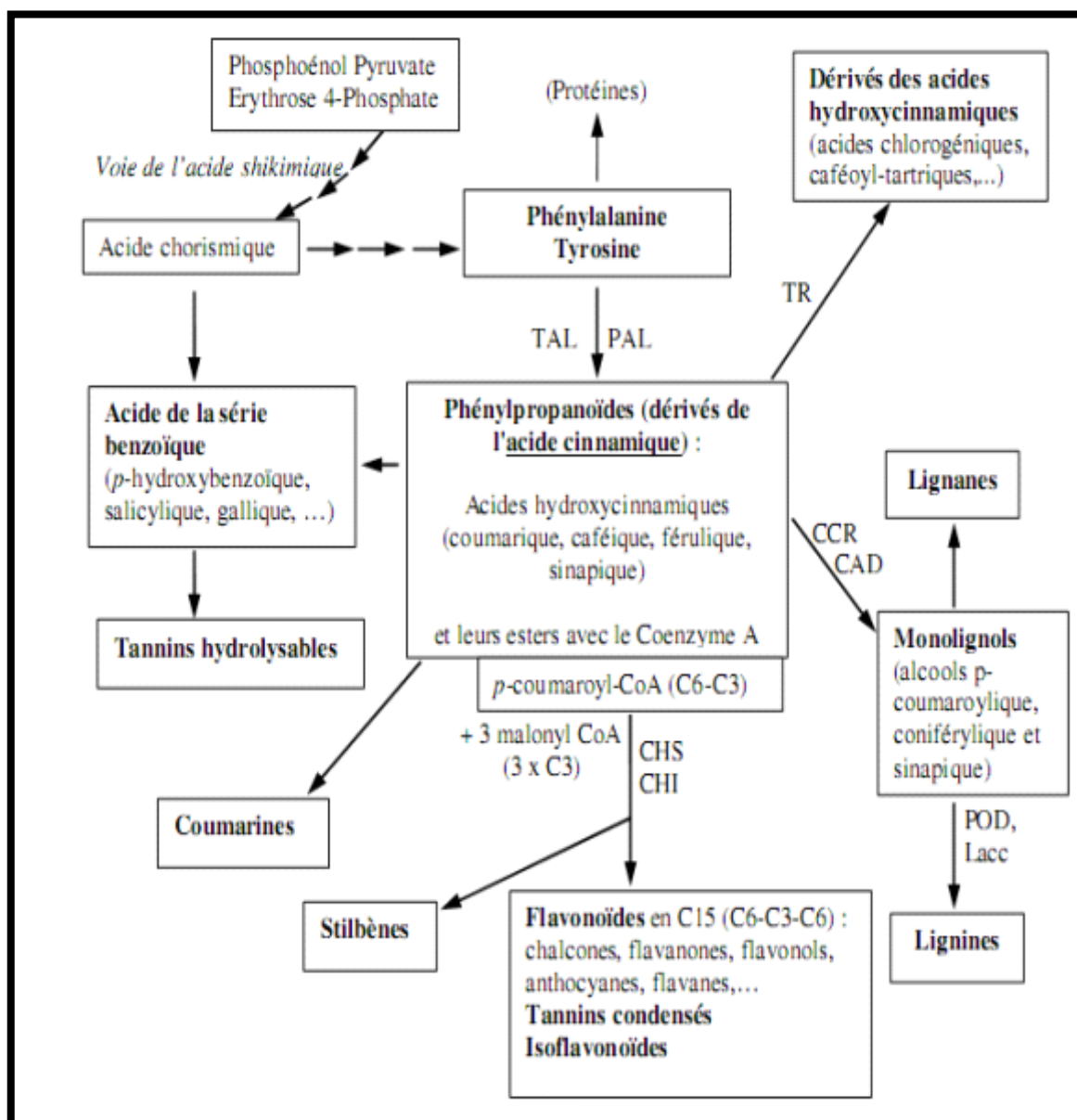


Figure 23 : Représentation simplifiée de la voie de biosynthèse des polyphénols végétaux (Macheix *et al*, 2005).

PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : cinnamate CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS : chalconesynthase ; CHI : chalcone flavanone ; POD : peroxydase ; Lacc : Laccases ; TR : transférases.

2.3.4. Localisation dans la plante

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols (Middleton *et*

al, 2000). Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

2.3.5. Les effets des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, ils sont doués d'activité antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (figure 24) (**Middleton et al., 2000 ; Ksouriet al., 2007**) .

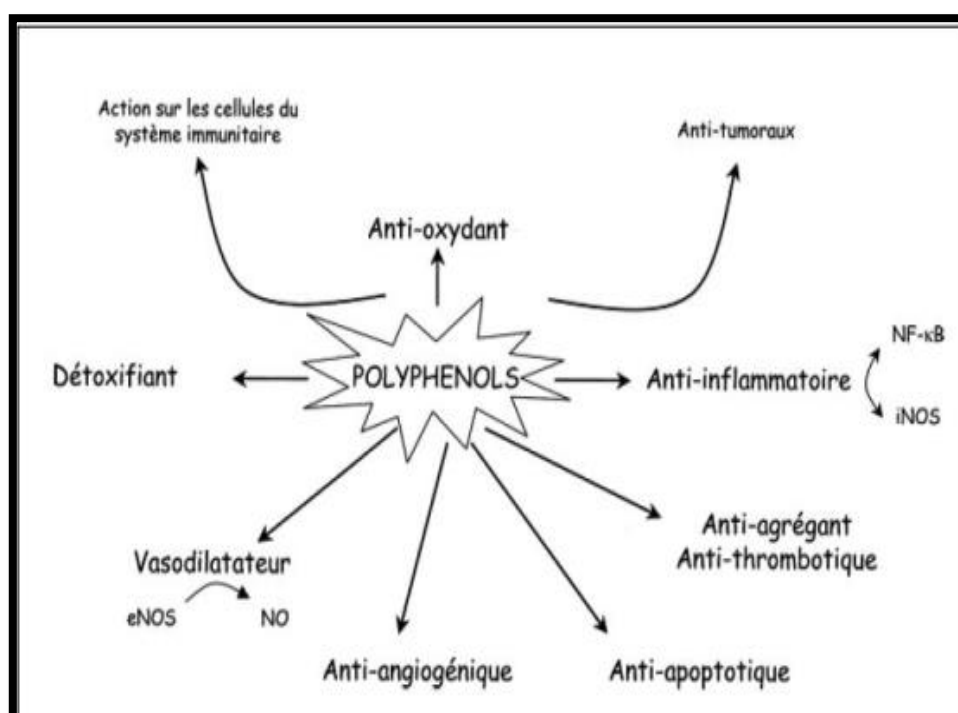


Figure 24 : Les fonctions des composés phénoliques.

2.3.6. Le rôle de polyphénols dans la plante

Les polyphénols sont indispensables pour les plantes et assurent plusieurs fonctions, notamment

- Les flavonoïdes sont responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des graines et jouent un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs et des disperseurs des graines (insectes , oiseaux...) participant ainsi à la fertilité de la plante et la germination du pollen (**Winkel-Shirley, 2001**)
- Les polyphénols protègent les plantes contre la lumière ultraviolette (**Harborne et Williams, 2000**)

- Les polyphénols agissent comme des molécules signalant dans l'interaction plante microbe (**Petti et Scully, 2009**)
- Les polyphénols protègent aussi les plantes contre les herbivores et les omnivores, plusieurs mécanismes ont été rapportés, les tannins ingérés par les herbivores sont toxiques et provoquent la nécrose de la muqueuse gastrointestinale et l'insuffisance rénale et hépatique (**Petti et Scully, 2009**).
- Les flavonoïdes protègent la plante contre le stress oxydatif par modulation des niveaux des ERO et participent à la croissance et au développement de la plante en influençant le transport de la phytohormone l'auxine (**Buer et al .,2010**).

2.3.7. L'extraction des polyphénols

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques.

Le choix de la méthode d'extraction est basé sur des données préalables sur les caractéristiques physicochimiques des métabolites à extraire. On distingue de nombreuses méthodes d'extraction (solide-liquide) des composés phytochimiques : des méthodes conventionnelles et des méthodes nouvelles (**MDL De Castro,1998**)

2.3.7.1. Techniques conventionnelles

2.3.7.1.1. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Également utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aïssa, 2000**).

2.3.7.1.2. Extraction par Soxhlet

L'extraction par l'appareil Soxhlet (nous allons l'appeler simplement Soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction

avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (**Penchev, 2010**).

Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, le temps d'extraction relativement long, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc (**Penchev, 2010**).

2.3.7.2. Nouvelles Techniques

2.3.7.2.1. Extraction assistée par ultra-sons

L'extraction assistée par ultrasons consiste à utiliser des ultrasons à des fréquences allant de 20 kHz à 2000 kHz, engendrant de très hautes températures (augmentation solubilité et diffusivité) et des pressions (amélioration de la pénétration et du transfert de matière) entre la matrice végétale et le solvant.

Un inconvénient de la procédure est l'effet délétère de l'énergie ultrasonore (plus de 20 kHz) sur les principes actifs végétaux par la formation de radicaux libres et dégradation des composés. Son application à grande échelle est limitée en raison des coûts plus élevés (**Wang et Weller, 2006**)

L'extraction assistée par ultrasons est cependant une méthode efficace pour extraire des composés bioactifs des plantes, phytonutriments, huiles essentielles, stéroïdes, triterpénoïdes et lipides (**Wang et Weller, 2006. Melecchi et al, 2002**).

2.3.7.2.2. Extraction par fluide supercritique

Cette technique utilise le CO₂ dans des conditions de température et pression supercritique, respectivement 304 °K et 7,28 M Pa. Le dioxyde de carbone présente l'avantage de créer un environnement sans oxygène et donc éviter d'avoir des réactions d'oxydation, c'est un fluide non polaire ce qui limite la solubilité des composés polaires (**Murga et al., 2000**). Généralement, il est utilisé avec des co-solvants polaires avec une faible concentration (3-5%) pour améliorer la solubilité des produits polaires. Les co-solvants utilisés sont : l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétone. Un mélange méthanol-eau permet une bonne extraction des composés phénoliques par rapport aux autres solvants (**Pensera et al., 2004**).

CHAPITRE IV:
Les activités biologiques



1. activité anticoagulante :

1.1. Définition

La coagulation est l'aboutissement d'une cascade de réactions protéolytiques entraînant l'activation en chaîne de facteurs plasmatiques de la coagulation, circulant sous forme de précurseurs inactifs (zymogènes) (**Ajjan, et Grant, 2006**). C'est un phénomène par lequel le sang fluide et circulant se transforme en une masse insoluble et immobile (caillot). Il est localisé et régulé par un ensemble d'inhibiteurs physiologiques. Les dérèglements de ce système exposent à un risque de thrombose ou à un risque hémorragique (**Butenaset et Mann, 2002**). Ce phénomène est lié à la transformation de fibrinogène en fibrine. Cette transformation a lieu après une série de réactions enzymatiques faisant intervenir de nombreux facteurs tant plasmatiques que plaquettaires (**Ekoumou, 2003**).

1.2. Facteurs de coagulation

Les facteurs de la coagulation ont été découverts et décrits comme une activité biologique présente chez l'homme normal et absente au cours de maladies hémorragiques héréditaires (**Tableau 01**) (**Cambus, 2002**).

Tableau 1 : Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).

N° de facteurs	Nom de facteurs	Rôle	Lieu de synthèse
I	Fibrinogène	Substrat	Fois
II	Prothrombine	Zymogène	Fois
III	Facteur tissulaire	Cofacteur	Sous-Endothélium Cellules sanguines
V	Proaccélérine	Cofacteur	Foie
VII	Proconvertine	Zymogène	Foie
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	Foie
IX	Facteur	Zymogène	Foie

	antihémophilique B		
X	Facteur STUART	Zymogène	Foie
XI	Facteur de Rosenthal	Zymogène	Foie
XII	Facteur de Hageman	Zymogène	Foie

1.3. Voies de la coagulation :

- **Voie endogène**

Dans cette voie de coagulation tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie est déclenchée par l'activation du facteur XII(Hageman) lors de ce contact aux structures électronégatives de la matrice sous-endothéliale (collagène, sulfatides, glycosaminoglycanes) (**Vogler, et al, 2009**), une activation qui conduit par la suite à l'activation de pré-kallikréine en kalikriène qui à son tour peut activer le F XII.

Le F XII activé catalyse la transformation de la forme zymogène du facteur XI à la forme protéolytique activée qui active par la suite le facteur IX. Ce dernier se lie à la surface des phospholipides anionique des plaquettes (F3P) par l'intermédiaire des ions de calcium et forme en présence de son cofacteur, le facteur VIII le complexe tenase qui est responsable de l'activation du facteur X (**Colvin, 2004 ; Vogler et Siedlecki, 2009**).

- **Voie exogène**

La voie exogène est la voie la plus simple et la plus rapide que la voie endogène, elle fait intervenir un nombre limité de facteurs (**Caen, et al, 1975**).

Cette voie est activée par un facteur non plasmatique qui est le facteur tissulaire, une glycoprotéine membranaire exprimée sur la surface des cellules endothéliales et les cellules de la matrice sou-endothéliale. Lors d'une brèche vasculaire, le facteur tissulaire devient en contact avec le plasma ce qui permet l'interaction avec le facteur VII (proconvertine) pour former un complexe enzymatique réactif (Facteur tissulaire-FVII). Ce complexe est responsable de l'activation de facteur X et aussi de facteur IX et par conséquence de prothrombine en thrombine (**Colvin, 2004**).

La thrombine formée par les deux voies catalyse la conversion de fibrinogène en monomères de fibrine qui s'associent les uns aux autres grâce à des liaisons hydrogène pour former un réseau fibrineux instable, où le facteur XIIIa (le facteur stabilisateur de fibrine) préalablement activé par la thrombine intervient pour la solidification du caillot fibrineux par l'établissement de liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine (**Ajjan et Grant, 2006**) (**figure 25**).

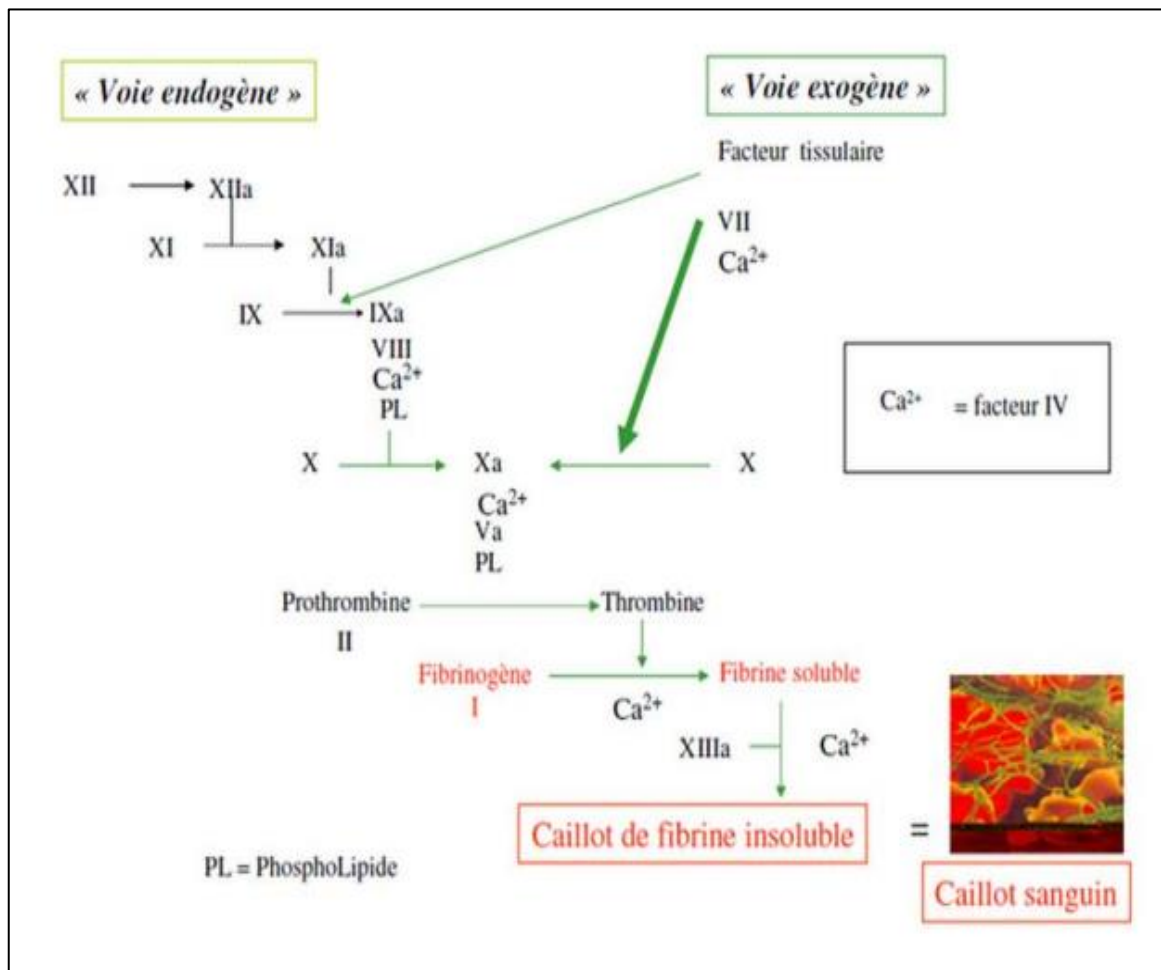


Figure 25 : Cascade de la coagulation dans la voie endogène et la voie exogène

2. Activité Antibactérienne :

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule présente au sein d'un végétal qui a une très faible concentration, inhibe ou tue totalement le développement d'une bactérie. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien (**Nicola et Daniel., 1998**).

2.1. Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Saidi ,2019**).

2.2. Élément nécessaire pour réaliser l'activité

a. Antibiotiques :

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Elghozi et Duval., 1992**).

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sue la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009**).

b. Bactéries :

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi glucidique, le peptidoglycane. Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la tuberculose... (**Nauciel, 2000**).

Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (gram positif et gram négatif) basés sur la différence de la structure de la composition chimique de la paroi cellulaire (**Nauciel, 2000**).

- **Bactéries à Gram positif**

Les bactéries qui retiennent le cristal violet dans le procédé de coloration de Gram sont appelées bactéries Gram positives. En taxinomie bactériologique, ce sont des bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, doublée d'une épaisse paroi de peptidoglycane et dépourvues d'une membrane externe.

- **Bactéries à Gram négatif**

Ce type de bactéries ne retient pas le violet de gentiane dans le procédé de coloration de Gram. Elles sont enveloppées d'une membrane plasmique, d'une mince paroi de peptidoglycane, et d'une membrane externe (**Chaa et Ziane, 2019**).

Partie 2 :

Etude expérimentale



CHAPITRE I:

Matériel et méthodes



Notre travail a été réalisé dans les laboratoires du Centre Universitaire de Mila-département des sciences de la nature et de la vie, et le laboratoire d'analyses médicales Dr Mirouh. A à Ferdjioua ; du 03 Février au 25 Mai 2022.

Dans le but de réaliser une étude comparative entre l'huile végétale des graines des ricine ainsi les extraits phénoliques obtenus à partir des téguments marron et des capsules ,On a réalisé l'extraction des huiles à partir des graines entières c'est-à-dire avec téguments marron et d'autres décortiquées (sans téguments marron) d'une part, d'autre parts on a effectué un criblage phytochimique pour mettre en évidence la présence ou l'absence de quelques groupes chimique dans l'extrait éthanolique des téguments marron et des capsules. Puis l'évaluation quantitative des polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques et aqueux des téguments marron et des capsules.

Cette étude concerne également l'évaluation de deux activités biologiques (anticoagulantes et antibactériennes des huiles et des extraits obtenus de cette espèce).

1. Matériel végétal

Nous avons utilisé dans notre étude les graines de ricin (*Ricinus communis* L.) (figure 26). Ces graines sont récoltées au mois de Juillet- Août, période de maturation des graines, dans de la région de Ferdjioua wilaya de Mila en 2021.



Figure 26 : Matériel végétal (photo personnelle, 2022).

2. Méthodes

2.1. Extraction de l'huile végétale de *Ricinus communis* L.

Deux types de grains ont été utilisés ; grains avec tégument marron et graines sans tégument marron.

Les opérations suivies pour la préparation du matériel végétale sont les suivantes :

- **Dégagement:** Les fruits de la plante sont débarrassés des impuretés par les mains avec gants.
- **Séchage:** Les fruits nettoyés sont disposés à l'abri de la lumière jusqu'à l'ouverture de la capsule.
- **Concassage :** Les graines sont débarrassées des capsules que les renferment.
- **Décorticage:** Le décorticage est réalisé manuellement d'une façon douce et rigoureuse en même temps pour ne pas détruire les graines.

Les capsules et les téguments marron ou bien le produit final du concassage et décorticage sont ensuite conservés pour l'extraction et le dosage des polyphénols totaux, ainsi que Screening phytochimique.



Figure 27 : Décortication et concassage des graines de ricin (photo personnelle, 2022).

2.1.1. L'extraction:

➤ Principe : Le pressage à froide

L'extraction des huiles végétales à partir de graines (graines de *Ricinus communis* L.) par première pression à froid (**Annexe 01** qui compris le matériel de laboratoire) est le moyen mécanique le plus traditionnel. Après triage, les graines sont soumises mécaniquement à « froid » à la presse, sans aucun traitement chimique, et à une température inférieure à 40°C (figure 28).

L'extraction a été effectuée dans des conditions stériles l'huile obtenue est récupérée dans des flacons en verre stériles fermées hermétiquement et stockés jusqu'à l'utilisation.



Figure 28 : Extraction de l'huile de ricin (photo personnelle, 2022).**2.1.2. Détermination des rendements en huiles végétale**

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile végétale obtenue et la masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Belyagoubi, 2014).

$$R_{HV} = \frac{MH}{Mvs} \times 100$$

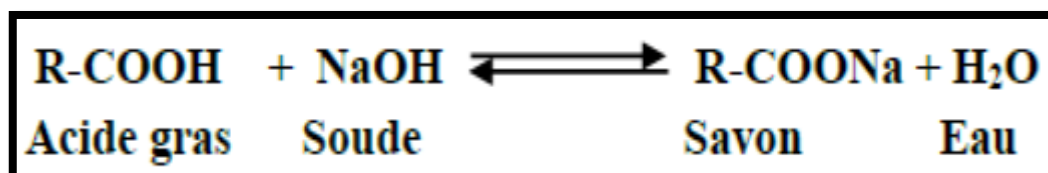
R: Rendement en huile végétale.

MH: Masse de l'huile récupérée en g.

Mvs: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

2.1.3. Etude des Paramètres chimiques**2.1.3.1. Indice d'acide**

L'acidité (A%) est déterminée selon le protocole ISO 660 2ème édition, 1996. Après dissolution de 5 g de l'huile dans 37.5 ml d'alcool éthylique neutralisé à la présence de phénolphthaléine (indicateur coloré) jusqu'à coloration rose, puis chauffer le mélange (avec agitation) pendant quelques secondes afin d'améliorer la réaction, les acides gras sont titrés à l'aide d'une solution de soude (0,1 N), qui conduit à la réaction suivante :



- Expression des resultants**

$$A (\%) = \frac{N \times V \times M}{10 \times m}$$

A : Acidité de l'huile (%);

N : Normalité de NaOH (0,1N);

V : Volume de la chute de Burette NaOH (ml);

M : Masse molaire de l'acide adapté pour l'expression = 282 g/mol pour l'acide oléique ; **m** : Masse en gramme (g) de la prise d'essai.

$$IA (\%) = \frac{V \times C \times 56.1}{m}$$

56,1: est la masse molaire (g/moles) de l'hydroxyde de potassium,

V : est le volume (ml) d'hydroxyde de potassium utilisé,

C : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée

m : est la masse en grammes de la prise d'essai.

2.1.3.2. L'indice de saponification

L'indice de saponification est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier 1 g de matière grasse (**J.O. n° 64 - 2011**).

➤ Principe

La prise d'essai est soumise à une ébullition à reflux avec une solution d'hydroxyde de potassium puis titrée par l'acide chlorhydrique (HCL) en présence d'un indicateur coloré (phénolphthaléine)

➤ Mode opératoire

- Peser 2g de l'huile de ricin dans un ballon de 250 ml.
- Ajouter à la prise d'essai 25 ml de la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (KOH), de concentration de 0.5 mol /l
- Relier le réfrigérant à reflux au ballon.
- Placer le ballon sur le dispositif de chauffage.
- Faire bouillir doucement durant ou moins 60 minutes, en agitant de temps en temps.
- Ajouter, à la solution chaude, de 0.5 à 1 ml de la solution de phénophtaléine.
- Titrer avec la solution titrée d'acide chlorhydrique (O, 5 N) jusqu'à ce que la couleur rose de l'indice disparaisse.
- Effectuer un essai à blanc en suivant le même mode opératoire dans les mêmes conditions.

➤ Mode de calcul

L'indice de saponification est calculé par la formule suivante : (**J.O. n° 64 - 2011**)

$$IS = \frac{(V0 - V1) \times C \times 56.1}{m}$$

56.1 : la masse molaire de l'hydroxyde de potassium (KOH).

V0 : Le volume, en millilitre, de la solution titrée d'acide chlorhydrique, utilisé pour l'essai à blanc.

V1 : Le volume, en millilitre, de la solution titrée d'acide chlorhydrique, utilisé pour la détermination.

T : La normalité de la solution titrée d'acide chlorhydrique.

m : La masse, en gramme, de la prise d'essai

2.1.3.3. Indice de peroxyde (NF T 60-220 et ISO 3960):

L'indice de peroxyde est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. L'indice de peroxyde est le nombre de microgrammes d'oxygène actif contenus dans un gramme de corps gras et susceptibles d'oxyder l'iodure de potassium. Il est exprimé en microgrammes par gramme ou plus souvent en milliéquivalent d'oxygène actif par kilo gramme. Cet indice permet d'apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative de l'huile.

➤ Mode opératoire

- ✓ Environ 2.5 g de matière grasse sont dissous dans 5ml de chloroforme, 7.5ml d'acide acétique et 0.5ml d'iodure de potassium saturé ;
- ✓ Ce mélange est fermé avec un bouchon et laissé pendant exactement 5 minutes à l'abri de la lumière ;
- ✓ L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium (0,01N) après avoir ajouté 37.5 ml d'eau distillée ;
- ✓ En utilisant l'empois d'amidon comme indicateur coloré ;
- ✓ Un essai à blanc est préparé en suivant le même mode opératoire ;

L'indice de peroxyde (IP) s'effectue de la manière suivante :

$$IP = \frac{(V1 - V0) \times C}{m} \times 100$$

V0 : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour l'essai à blanc;

V1 : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour la détermination;

C : est la concentration exacte, en moles par litre de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée

m : est la masse (g) de la prise d'essai.

2.2. Analyse qualitative des composés phytochimique (Screening phytochimique):

C'est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques (**François Nsemi, 2010**).des extraits éthanolique existantes dans les deux poudres étudiées (capsules, téguments marron).

➤ Matériel végétal:

Le matériel végétal est constitué de la poudre des capsules et téguments marron. Obtiennent après concassage et décorticage des graines de ricin.

➤ Broyage et tamisage

Les capsules et les téguments marron ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique (**Annexe 01**). Pour obtenir une poudre; Cette dernière est récupérée après tamisage et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation (figure 29 et figure 30).



Figure 29 : poudre de capsule



Figure 30 : poudre de tégument marron

2.2.1. Préparation des extraits:

La méthode d'extraction que nous avons utilisée c'est la macération qui consiste à laisser le matériel végétal en contact prolongé avec un solvant à température ambiante.

A / Principe:

Les métabolites secondaires constituent une large gamme des molécules végétales, dont leur nature chimique est extrêmement variable d'une espèce à l'autre.

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la caractérisation de ces molécules.

B/ Objectif:

Cette étape consiste à extraire le maximum des molécules chimiques contenant dans les (capsules et téguments marron) de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

C/ Macération éthanolique

Pour préparer l'extrait éthanolique 50g de broya (capsule, tégument marron) a été macéré dans 250 ml d'éthanol sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 jusqu'à 3 jours.

Après 3 jours, les produits obtenus ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre de type Whatman, les filtrats obtenus sont conservés dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation (figure 31).



Figure 31 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait éthanolique.

➤ Tests préliminaires:

Les tests de screening phytochimique de notre travail ont été réalisés au sein du Laboratoire du Centre Universitaire Abdelhafide Boussouf Mila.

Ces tests sont réalisés en se basant sur des réactions de coloration et/ou de précipitation (tableau 2)

Tableau 2 : Les tests de screening phytochimique

Group chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Polyphénols	-Chlorure Ferrique FeCl_3 (2%)	-Coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncé
Saponosides	-Indice mousse > 1cm	-Apparition d'un mousse Persistante
Tanins	-Chlorure Ferrique FeCl_3 (1%)	-Coloration verte ou bleue – vert
Anthocyanes	-HCL dilué - ammoniacque	-Coloration bleu – violacée-verdatre
Triterpènes et stéroïdes	- Chloroforme - Acide sulfurique (H_2SO_4)	-L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution
Alcaloïdes	-Réactif de Wagner -Acide chlorhydrique HCl (10%)	-coloration marron
Quinones libres	-NaOH 1%	-coloration jaune, rouge ou violet
Anthraquinones	NH_4OH 10%	-L'apparition d'un anneau rouge
Flavonoïdes	-HCl - Magnésium	-Coloration rose, rouge ou jaune
Glycoside	-Eau distillée -Liqueur de Fehling	-Précipité rouge brique
stérols	-Anhydride acétique - Chloroforme - Acide sulfurique (H_2SO_4)	-Formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant
Coumarines	KOH (10%) - HCL (10%).-	précipitation rouge brune -

Test des polyphénols:

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). A 2 ml d'extrait une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (Békro et al, 2007).

Test des Saponosides

Deux grammes de matériel végétal frais broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15-20 min en position verticale, la persistance d'une mousse confirme la présence de saponines (Dohou et al., 2003).

Test des glycosides:

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1ml de l'extrait brut avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling a été chauffé à 70°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Tresse et Evans, 1987).

Test des tanins

1 ml de l'extrait d'alcool a été ajouté à 2 ml d'eau distillée et 2-3 gouttes de la solution de chlorure ferrique FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. L'apparition d'une couleur verte ou bleu-vert indique la présence de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Trease et al, 1987; Douhou et al, 2003).

Test des anthocyanes

La présence des anthocyanes dans un décocté ou un infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accroît par l'addition de HCl dilué et vire au bleu-violacé-verdâtre par l'ajout d'ammoniaque (Wagner et Blatt, 1984).

Test des triterpènes et stéroïdes

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la poudre dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon. L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stéroïdes et triterpènes (Kalla, 2012).

Test des quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyde, 2005**).

Test des anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH₄OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

Test des stérols

Dans un bécher, ajouter 5 ml d'extrait à analyser ; 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml Chloroforme; utiliser une pipette et ajouter 1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré au fond du bécher sans remuer, laissé reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols (**Trease et Evans, 1987**).

Test des flavonoïdes

Pour la détection des flavonoïdes on ajoute à 5 ml d'extrait à tester, quelques gouttes de HCl et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Trease et Evans, 1987**).

Test des alcaloïdes

Nous avons précédé à une macération sous agitation pendant 2heures de 02g de la poudre végétale dans 40ml de HCL dilué à 10%.ce mélange est ensuite filtré .Dans un tube à essai , introduire 05ml de filtrat et ajouter quelques gouttes de réactif de Wagner . L'apparition d'un couleur marron indique la présence des alcaloïdes (**Benzahi ,2001**)

Test des coumarines

Dans un tube à essai, on ajoute au 5ml d'extrait, 5ml de KOH (10%) et 5ml de HCL (10%). Après quelques secondes, on observe une précipitation rouge brune ; ce qui indique la présence des coumarines (**Labri D et al ,2018**).

2.3. Extraction des polyphénols

2.3.1. Préparation des extraits

❖ Préparation de l'extrait méthanolique

Une quantité de 10g de la poudre (capsule et tégument marron) est macérée dans une 100 ml solution de méthanol/eau (70 : 30, v/v) sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 à 3 jours, après filtration, Le filtrat obtenu est soumis ensuite à une évaporation par rota-vapeur.

Permettant ainsi d'obtenir un extrait, qui est considéré comme étant l'extrait brut, qui est ensuite stocké dans des boîtes de Pétries en verre fermées hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (figure 32).

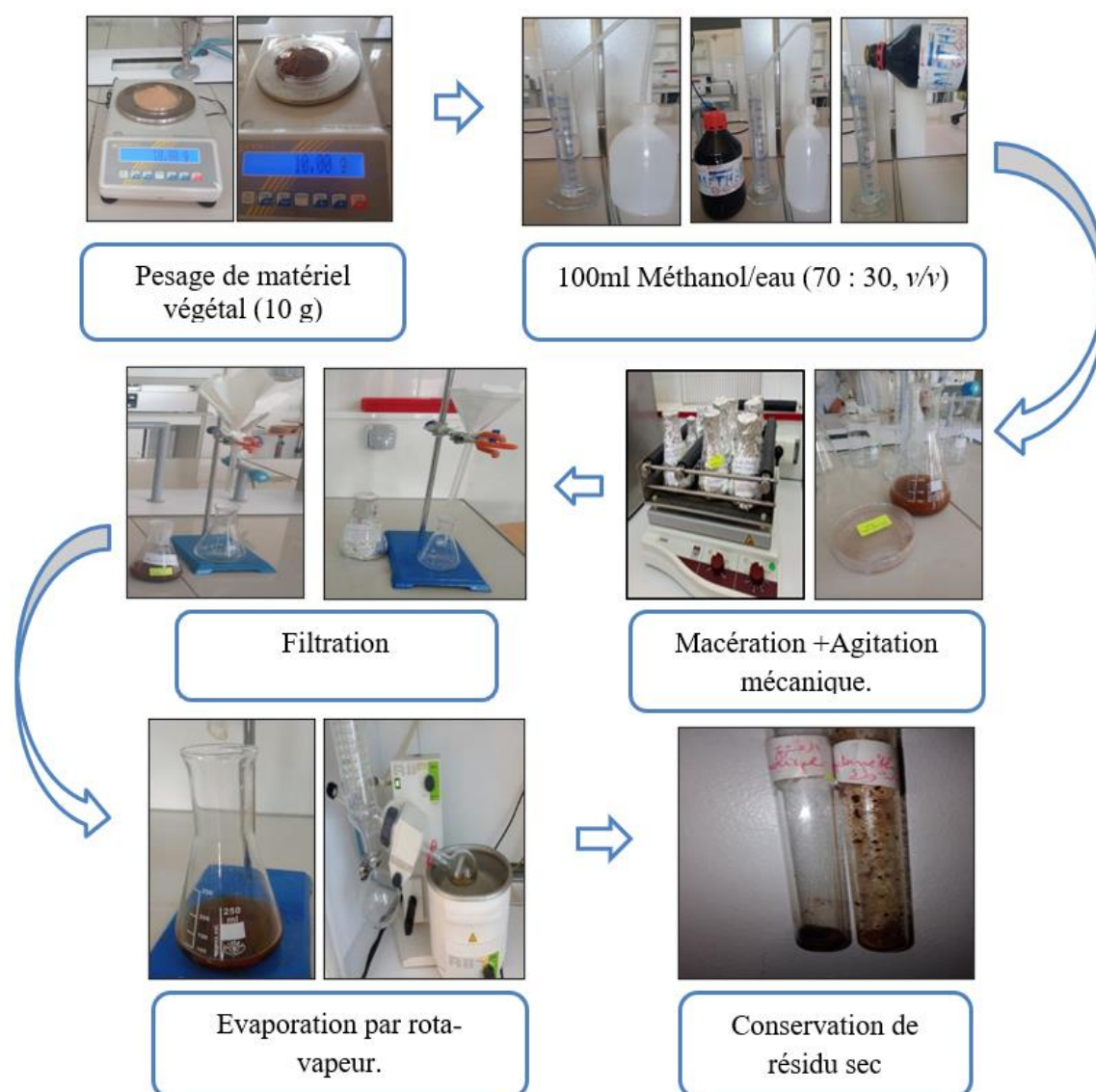


Figure 32 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait méthanolique.

❖ Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de broya de (capsule et tégument marron) est macérée dans 100 ml d'eau distillée sous agitation mécanique pendant 24 h à une température ambiante. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40°C pour éliminer l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans des boîtes de Pétries en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation (figure 33).

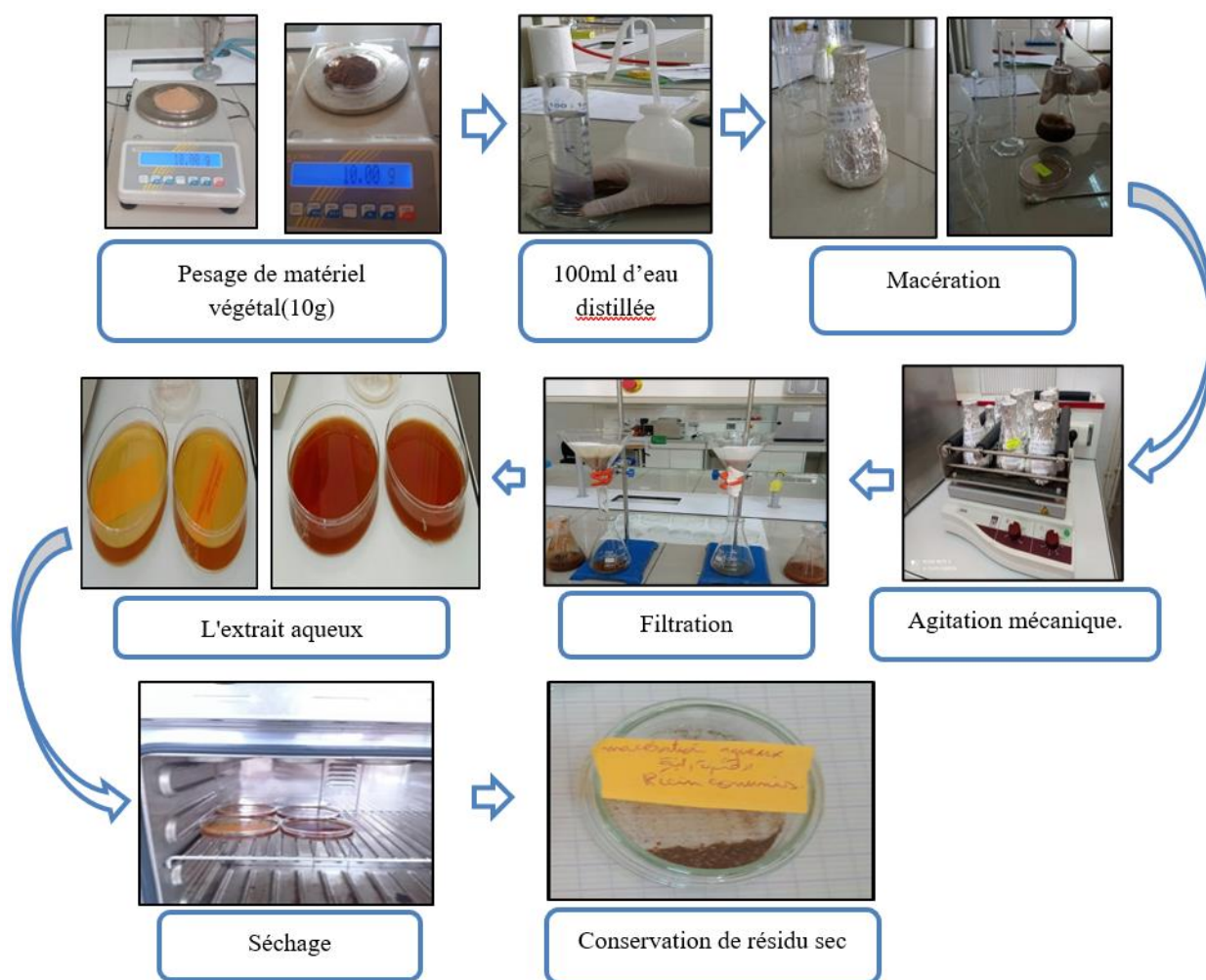


Figure 33 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait aqueux.

2.3.2. Détermination des rendements des composés phénolique

Le rendement des extraits bruts est calculé par le rapport entre le poids de l'extrait sec et celui de la plante en poudre. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante:

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

R%: Rendement en %.

Me: Masse d'extrait après évaporation du solvant.

Mv: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction

2.4. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

A/ Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et demolybdène (**Ribéreau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présentes dans les extraits végétaux (**Boizotet Charpentier, 2006 ; Ghazi et Sahraoui, 2005**).

B/ Protocole de dosage:

Le test de dosage des polyphénols totaux de notre travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique du centre universitaire Abd elhafide Boussouf Mila .

Les polyphénols (PP) ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par **Li et ses collaborateurs**. 200µl d'extrait végétal à différentes concentration est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée (1 ml de réactif de Folin Ciocalteu et 9 ml d'eau distillé). Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 75g/l sont ajoutés .Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance est mesurée à 765 nm (figure 34)

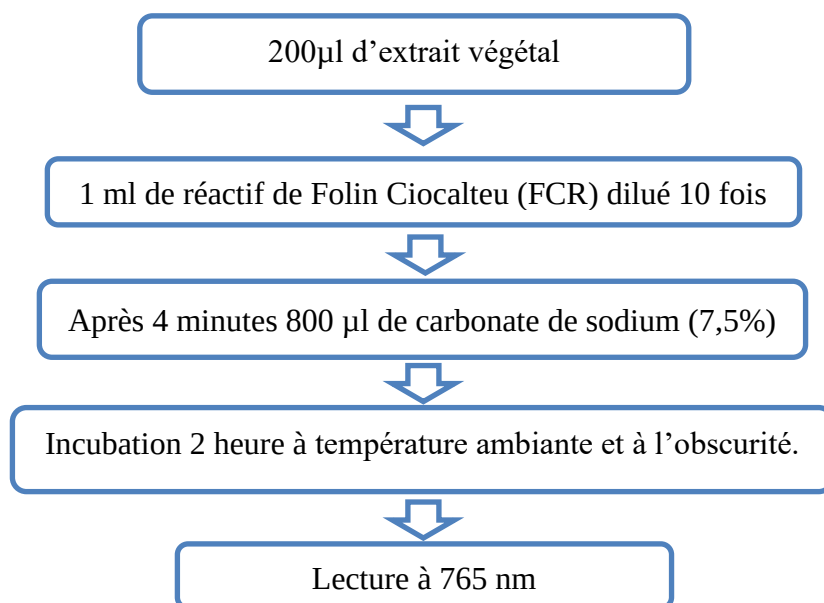


Figure 34 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Li et al, 2007)

La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) est effectuée par l'acide gallique; à partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.75g/1, des solutions filles sont ainsi préparées à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids sec de l'extrait.

2.5. Activité anticoagulant

L'activité anticoagulante des huiles végétales de ricin et des extraits méthanoliques et aqueux de ces graines (tégument marron et capsule) et de leurs principaux constituants a été réalisée au sein du laboratoire d'analyses médicales: Dr. Mirouh.H à Ferdjioua.

Cette activité a été évaluée *in vitro* vis-à-vis des deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de deux tests chronométrique globaux, le test de temps de céphalin-kaolin (TCK) et le test de temps de Quick (TQ).

A/ Préparation du pool plasmatique:

Le pool plasmatique déplaquetté est un mélange de plasmas déplaquettés des 10 volontaires sains adultes non traités, dont les TQ et TCK sont normaux et comparables.

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 32 % et à raison de 1 volume pour 9 volumes du sang. Le sang est ensuite centrifugé pendant 5 minutes à 40rpm pour obtenir un

plasma pauvre en plaquettes .Le mélange de ces plasmas (plasma standard) est conservé à basse température (-10°C) jusqu'à son utilisation (figure 35).

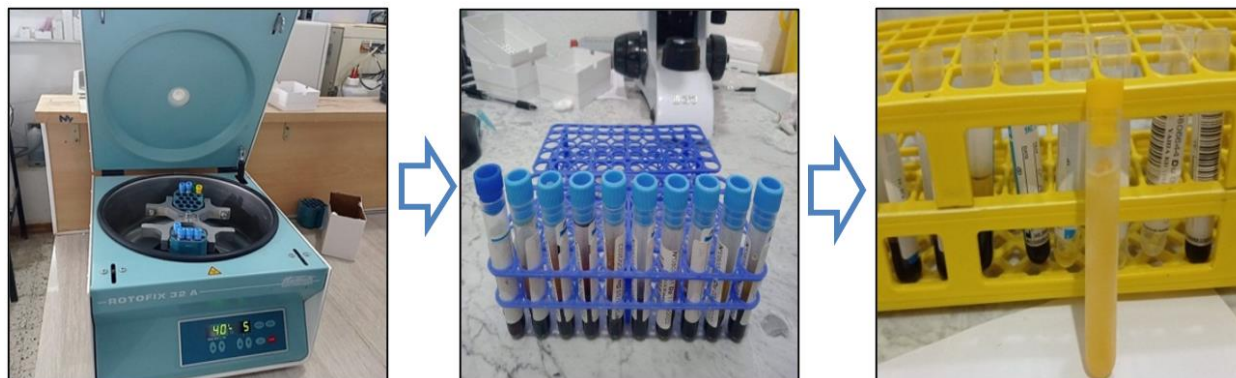


Figure 35 : étapes de préparation d'un pool plasmatique

B/ Activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène (TCK)

➤ **Principe**

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits vis-à-vis la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le temps de céphaline -kaolin ou le temps de thromboplastine partielle activé, un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs II, V, VIII, IX, X, XI et XII de la voie endogène et la voie commune de la coagulation (**Rizzo et al., 2008**).

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP) et citrate mis en présence de phospholipides (la céphaline) substitut du facteur 3 plaquettaire (F3P) d'un activateur du système contact (Prékalikriène, Kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XII) qui est généralement le Kaolin et de calcium comme un facteur déclenchant (**Caquet, 2004**).

➤ **Mode opératoire**

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 µl de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 µl) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100 µl de céphaline-kaolin est additionnée au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100 µl de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé (**Wang et al., 2010**) (figure 36).

1- étapes de préparation de témoin

2-étapes de préparation de l'extrait à analysé

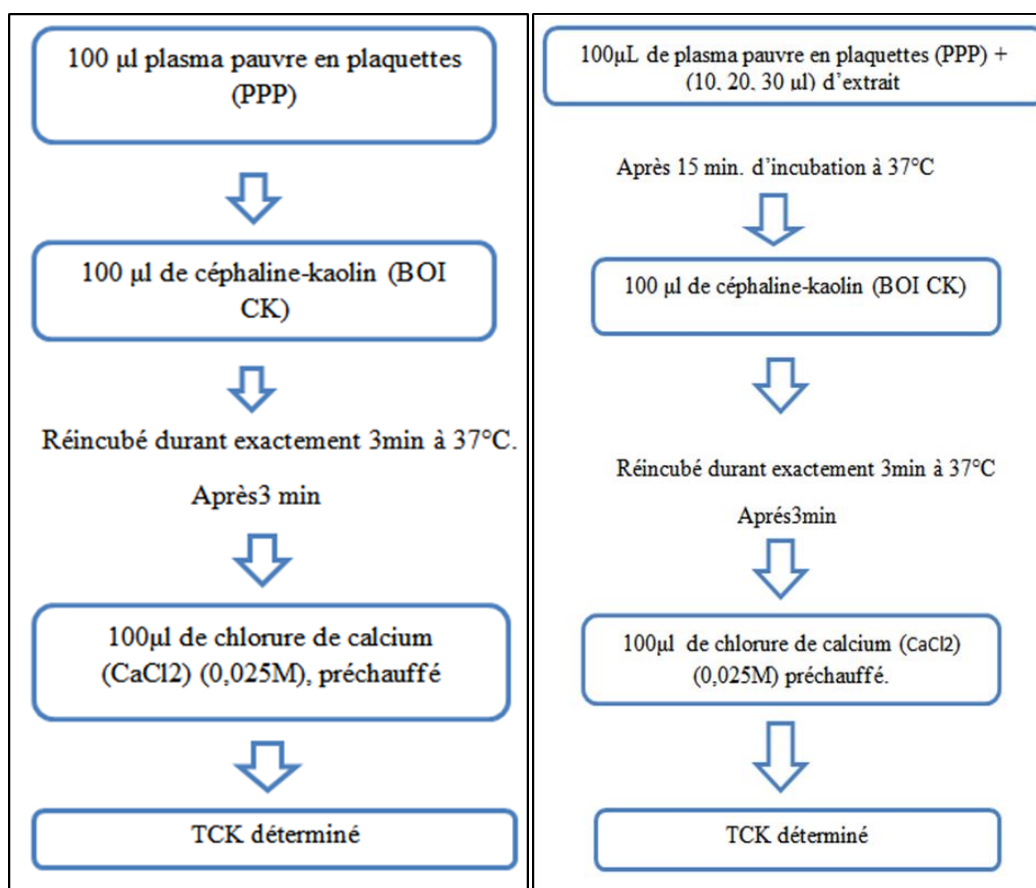


Figure 36 : étapes de la voie endogène (TCK)

C/ Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TQ)

➤ Principe

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui explore les facteurs II, V, VII et X de la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation (**Rizzo et al, 2008**). La technique originale a été décrite par Quick en 1935.

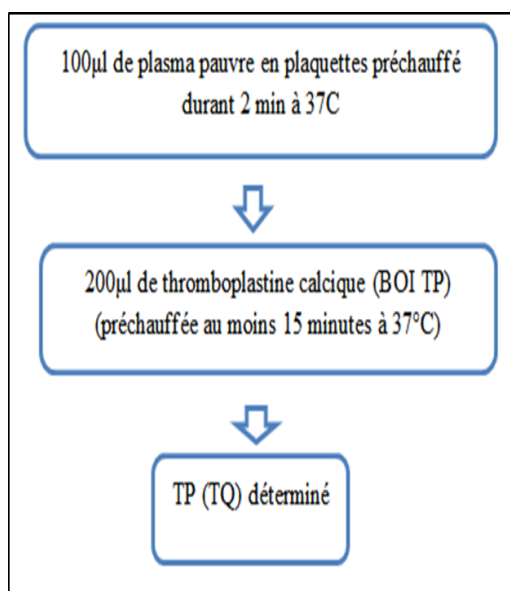
Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C° d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré (**Athukorala et al., 2007**).

➤ Mode opératoire

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Wang et ses collaborateurs (2010). Les facteurs de la voie exogène sont donc activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré.

100 µl de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C° est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30 µl), préparés à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 200µl de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre (figure 37).

1- étapes de préparation de témoin



2-étapes de préparation de l'extrait à analysé

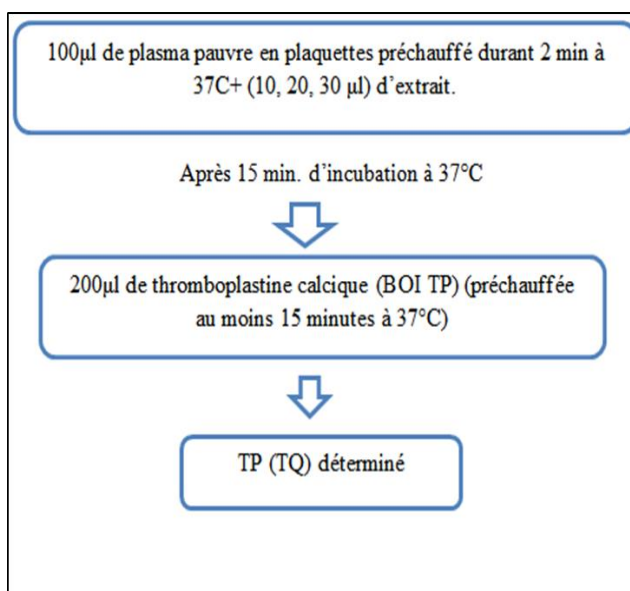


Figure 37 : Les étapes de la voie exogène (TQ)

2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits phénoliques et des huiles de *Ricinus communis* L.:

2.6.1. Matériels du test de l'activité antibactérienne :

a. Souches bactériennes

Les souches bactériennes sur lesquelles nous avons testé l'activité des huiles végétales et des extraits phénoliques (**tableau 03**), sont de lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques .Elles sont activées à 37 °C pendant

24 heures par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH). Ces souches bactériennes appartiennent à la collection du laboratoire de microbiologie de l'hôpital CHU de Constantine.

Tableau 3 : Liste des souches bactériennes étudiées.

Genre et espèce	N° ATCC	Gram	Famille
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	27853	-	<i>Pseudomonadacées</i>
<i>Escherichia coli</i>	25922	-	<i>Enterobacteriacées</i>
<i>Bacillus cereus</i>	14579	+	<i>Bacillaceae</i>

b. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés dans ce travail sont : Gentamicine (CN10) et Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT25).

c. Milieux de culture

Selon les souches bactériennes, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants : Mueller Hinton (MH) et l'eau physiologique.

2.6.2. Activité antibactérienne

Dans notre travail, l'étude de l'activité antibactérienne des huiles végétales et des extraits phénoliques des graines de ricin *in vitro* vis à vis des différentes souches bactériennes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* a été réalisées par la méthode de diffusion par disque.

a. Méthode de diffusion par disque

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles végétales et des extraits méthanoliques et aqueux. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé de l'huile végétale ou d'extrait (méthanolique, aqueux), sur un tapis bactérien et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de nos extraits et huiles testés.

➤ Le Milieu

Le milieu (gélose) doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm, puis les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

➤ Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien déchargé l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéisé la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625nm.

➤ Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum selon la méthode suivante :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose.

Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

➤ Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman n° 3 avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave. à l'aide d'une pince stérilisée, 1 disque est imbibé par les huiles brutes des ricins (avec et sans téguments) ou par les extraits (méthanoliques et aqueux) et 1 disque est imbibé par les huiles diluées (dans du DMSO à 1/2 v/v) ou par les extraits méthanoliques et aqueux dilués (dans du DMSO à 1/2 v/v). Puis Les disques sont placés aseptiquement sur la gélose MH inoculée préalablement à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

De même, les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats

des huiles et des extraits testés, des disques imprégnés de DMSO et de méthanol sont aussi utilisés (témoins négatifs), ces tests ont été répétés trois fois. En fin Les boites de pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C dans l'étuve.

➤ **Lecture**

L'activité antibactérienne est déterminée par mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques. L'activité antibactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et est exprimé en millimètre (**Chaa et Ziane Cherif ,2019**) (tableau 04).

Tableau 4 : Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition.

Observation	Signe	Diameters d'inhibition
Non sensible	(-)	>8 mm
Sensible	(+)	8 à 14mm
Très sensible	(++)	15 à 20mm
Extrêmement sensible	(+++)	<20mm

.

CHAPITRE II:

Résultats et discussion



1. Résultats d'étude de l'huile de *Ricinus communis* L. :

1.1. Le rendement en huile des graines de ricin avec et sans tégument (HR2, HR1)

Les rendements d'extraction de l'huile de ricin à partir de 100g de graines de *Ricinus communis* L. par la méthode de pressage à froid sont représentés en pourcentage dans la (figure 38).

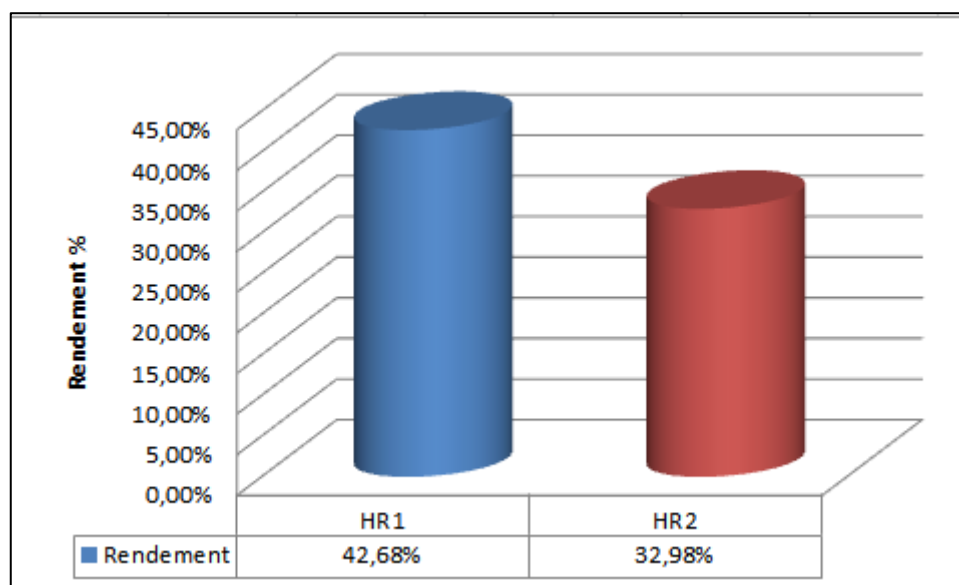


Figure 38 : Rendement des huiles de *Ricinus communis* L.

D'après les résultats représentés dans la (figure 38) nous pouvons déduire que la plante étudiée contient effectivement des huiles végétales et que le rendement en huile enregistré pour HR1(42,68) est plus important que celui obtenu pour HR2(32,98).

Le rendement en huile de Ricin HR2 de 32,98%, ce rendement est proche de celui obtenu par Guergour, (2011) qui est de 30% et celui Hedjam, (2017) qui est de 29,17%.

Sachant que Guergour, (2011) et Hedjam, (2017) sont utilisés d'autres méthodes d'extraction par solvants (hexane, l'éther de pétrole respectivement).

Le rendement en huile HR1 est élevé que HR2, on peut expliquer cette différence par l'absence de tégument qui conduit à la facilité de processus d'extraction. Cela signifié que HR2 donné moins rendement à cause de la présence de tégument qui peut être la cause de perte d'une quantité de l'huile au cours d'extraction.

1.2. Les propriétés physicochimiques des huiles obtenues :

1.2.1. Les caractéristiques organoleptiques

Les résultats illustrés dans le (tableau 05) représentent les critères organoleptiques de l'huile de ricin (avec et sans tégument).

Tableau 5 : Les caractéristiques organoleptiques de deux huiles de *Ricinus communis* L.

Huile Caractère	(HR1)	(HR2)
Couleur	Jaune très claire	Jaune légèrement bronzé
Odeur	Peu prononcée	Peu prononcée
Viscosité	Grande	Grande
Consistance	Epaisse, visqueuse ou filante	Epaisse, visqueuse ou filante

1.2.2. Les propriétés chimiques

Les résultats obtenus de l'analyse chimique de l'huile végétale de *Ricinus communis* L. sont regroupés dans le (tableau 06) qui représente l'indice d'acide (**Ia**), l'indice de saponification (**Is**) et l'indice de peroxyde (**Ip**).

Tableau 6 : Paramètres chimiques de l'huile de ricin HR1 et HR2.

	Ia	Is	Ip
HR1	1.570	98 ,175	0.08
HR2	2.80	102,382	1

- **Indice d'acide (Ia)**

L'indice d'acide d'un corps gras caractérise la pureté et la stabilité des huiles, est un bon moyen pour déterminer son altération par hydrolyse (**Gossa et Mekchiche, 2014**).

Notre huile de ricin HR2 présente un indice d'acide de (2.80) qui est également élevé à la valeur de (1.5) valeur maximum donnée par le codex alimentarius (1992) et qui est élevé à la valeur de (1,86) obtenue par Chaa et Ziane Cherif (2019) ce dernier qui utilisé la méthode d'extraction par solvant (hexane).

Tandis que l'huile de ricin HR1 présente un indice d'acide de (1.570) qui est inférieure à la valeur obtenue par HR2. Mais égale à la valeur donnée par le codex alimentarius (1992) ce qui prouve la pureté et la stabilité de cette huile.

- **Indice saponification Is**

L'indice de saponification est en relation avec la longueur des chaînes d'acides gras constituant l'huile, il permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (Harper, 1977).

Notre huile végétale de ricin HR2 a un indice de saponification de (102,382) qui est proche à la valeur (112,2) obtenue par Chaa et Ziane Cherif (2019) et inférieure à la valeur de (185,83) obtenue par Akpan et ses collaborateurs en 2006, et à la valeur de (177.42) obtenue par Hejjam(2017).

Sachant que Chaa et Ziane Cherif (2019), Akpan et ses collaborateurs en 2006 et Hejjam (2017) sont utilisés d'autres méthodes d'extraction par solvants (hexane, hexane, l'éther de pétrole respectivement).

Tandis que l'huile de ricin HR1 présente un indice de saponification de 98,175 qui est inférieure à la valeur obtenue par HR2.

- ❖ Les indices de saponification nous renseignent sur la richesse et la nature des acides gras contenus dans les huiles. Cela implique que ces huiles contiennent une forte quantité d'acides gras avec un important poids moléculaire et que l'huile HR1 a une chaîne d'acide gras plus importante que celle de HR2.

- **Indice de peroxyde Ip**

La valeur de l'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état d'oxydation de l'huile. L'indice de peroxyde est lié aux conditions de conservation et aux modes d'extraction (Hejjam ,2017)

Notre huile végétale de ricin HR2 présente un indice de peroxyde (1 milli équivalent d'O₂ actif / Kg) qui est très inférieure à la valeur de (7.83) obtenue par Hedjam (2017) ce dernier qui a utilisé la méthode d'extraction par solvants (éther de pétrole).il est du même pour l'indice de HR1, et cela nous renseigne sur une bonne extraction et bonne conservation.

2. Résultats et discussions des analyses qualitatives des composés phytochimiques, (Screening phytochimique)

La réalisation des tests a pour but de révéler les différentes familles bio actives de substances existantes dans les Capsules et téguments marron de *Ricinus communis* L. (Polyphénols, Saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes, tanins, coumarines, triterpènes et stéroïdes, anthocyanes, Stérol, anthraquinones, Quinones libres). En se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de complication avec formation des complexes insolubles ou des colorations par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composées.

Les résultats des tests phytochimiques sont regroupés dans le (tableau 07).

Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits éthanoliques des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L.

	Tégument marron	Capsule
Polyphenols	+++	+++
Saponosides	-	-
Flavonoïdes	+++	+++
Glycosides	+++	+++
Coumarines	-	-
Alcaloïdes	-	-
Triterpènes et stéroïdes	++	+++
Anthocyanes	-	-
Stérols	-	-
Anthraquinones	+++	-
Quinones libres	++	++
Tanins	+++	++

(+++): Fortement présent; (++): Moyennement présent; (-): test négatif

- **Test des polyphénols**

Concernant les composés phénoliques on remarque que les deux extraits (téguments marron et capsules) de notre plante *Ricinus communis* L. sont riches en composés phénoliques. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 39).

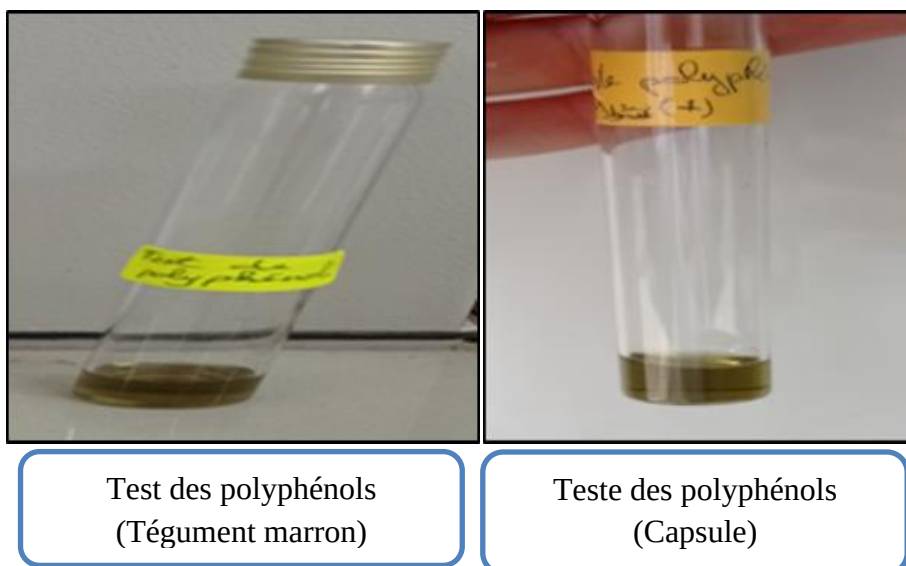


Figure 39 : Résultats de test composés phénoliques des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des saponosides**

La persistance d'une mousse confirme la présence de saponine. Nous avons noté que les deux extraits (téguments et capsules) de notre plante sont pauvres en saponosides. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 40).

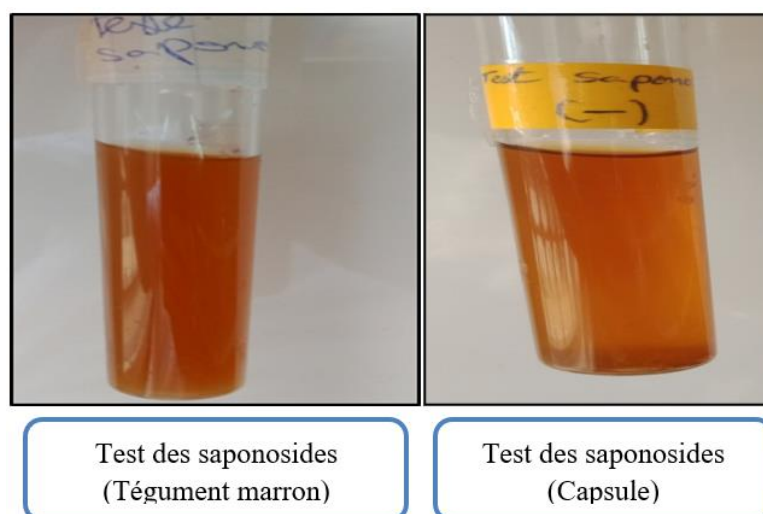


Figure 40 : Résultats de test des saponosides des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des flavonoïdes**

Les tests phytochimiques effectués montrent que nos deux extraits (téguments marron et capsules) sont riches en flavonoïdes. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 41).

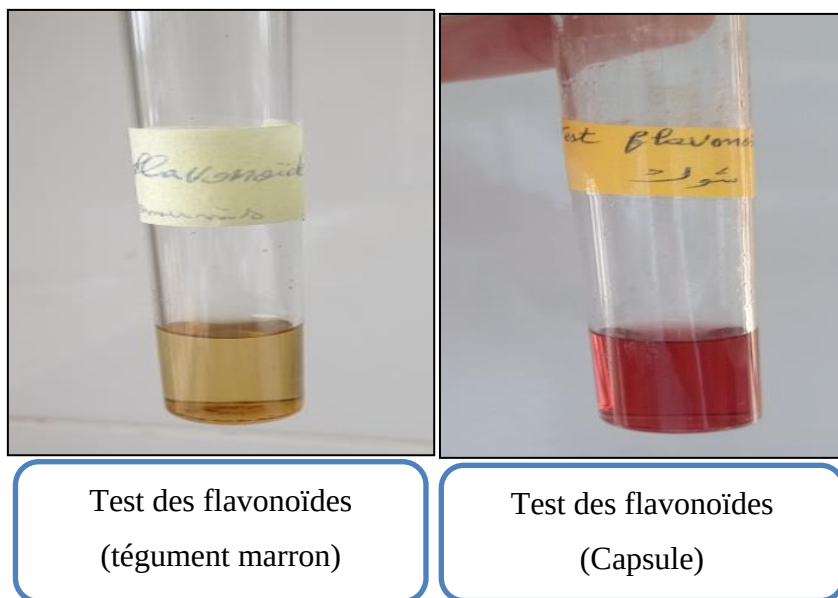


Figure 41 : Résultats de test des flavonoïdes des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des glycosides**

Concernant le test des glycosides on remarque que les deux extraits sont riches en glycosides. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 42).

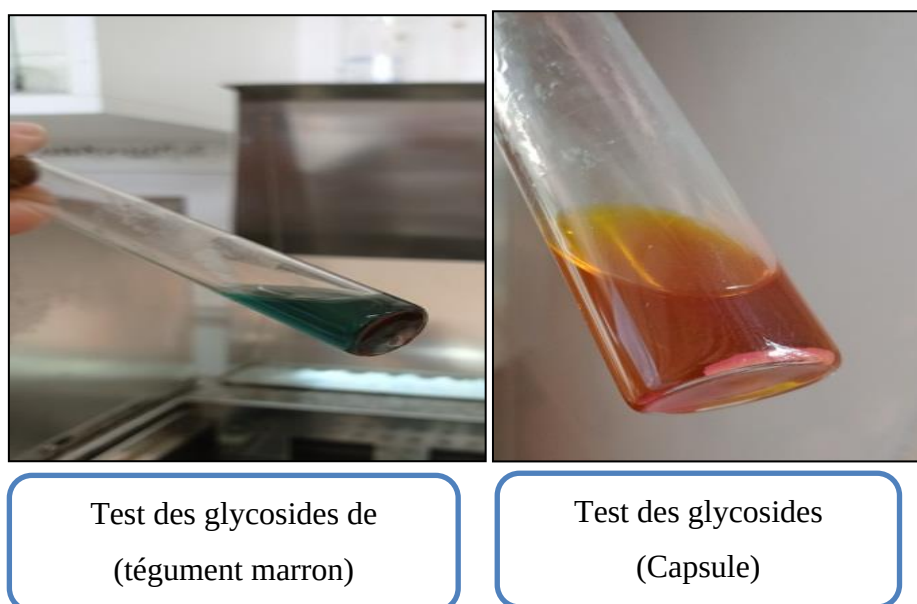


Figure 42 : Résultats de test des glycosides des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des coumarines**

Une précipitation rouge brune ; ce qui indique la présence des coumarines. Nous avons noté que nos deux extraits sont pauvres en coumarines. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 43).

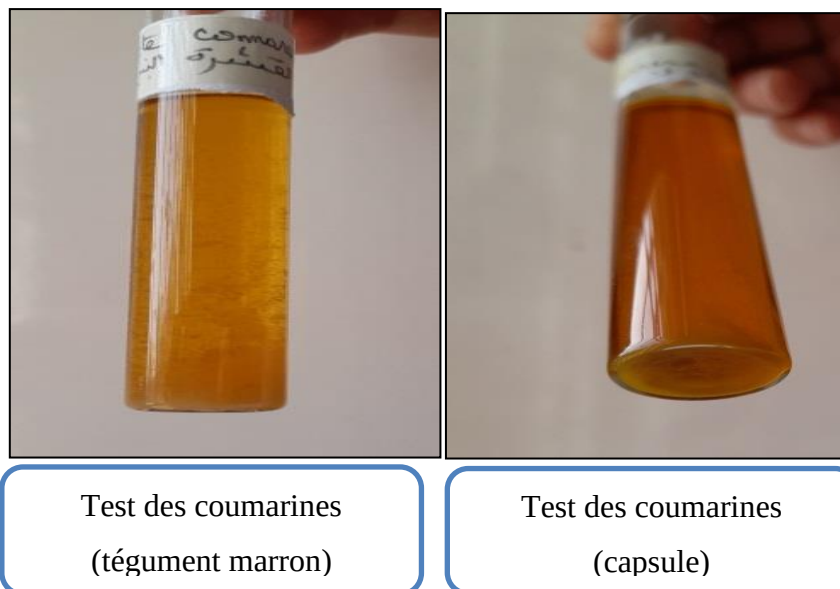


Figure 43 : Résultats de test des coumarines des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des quinones libres**

Le test des quinones a montré que les deux extraits étudiés de *Ricinus communis* L. contiennent des teneurs considérables en quinones libres. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure suivant 44.



Figure 44 : Résultats de test des quinones libres des téguments marron et Capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des anthraquinones**

Nous avons remarqué l'absence des anthraquinones dans les capsules de notre plante, tandis que les anthraquinones sont très abondantes dans les téguments marron. Ces résultats sont représentés dans la figure suivante 45.

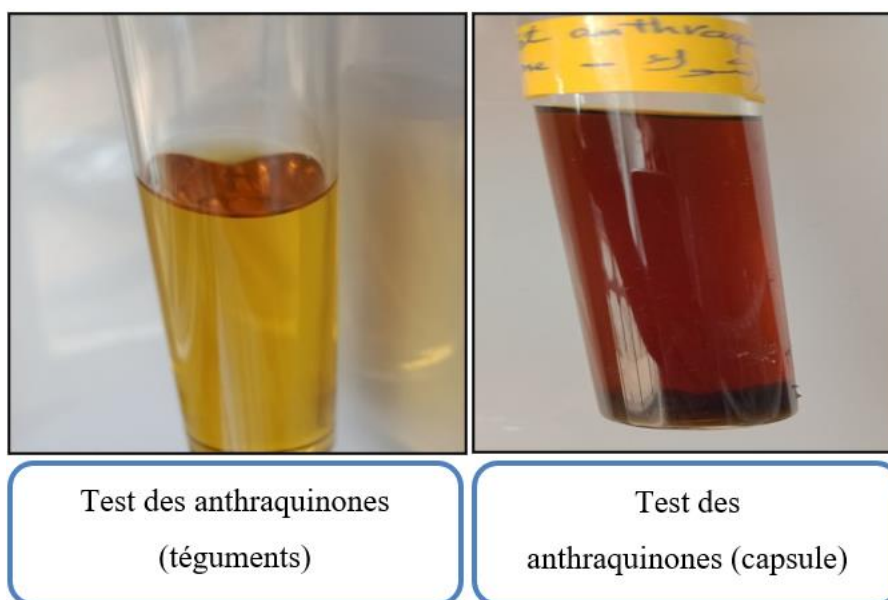


Figure 45 : Résultats de test des anthraquinones des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des stérols**

Les résultats de ce test ont montré l'absence des stérols dans les deux extraits (téguments et capsules) de *Ricinus communis* L., ces résultats sont présentés dans la (figure 46).

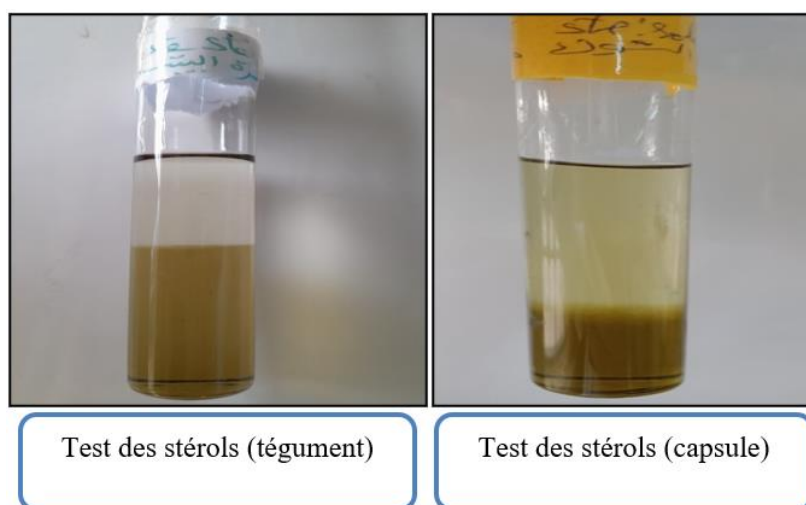


Figure 46 : Résultats de test des stérols des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des alcaloïdes**

L'apparition d'une couleur marron indique la présence des alcaloïdes, nous avons noté que les deux extraits (téguments et capsules) de notre plante sont pauvres en alcaloïdes. Les résultats de ce test sont représentés dans la (figure 47).

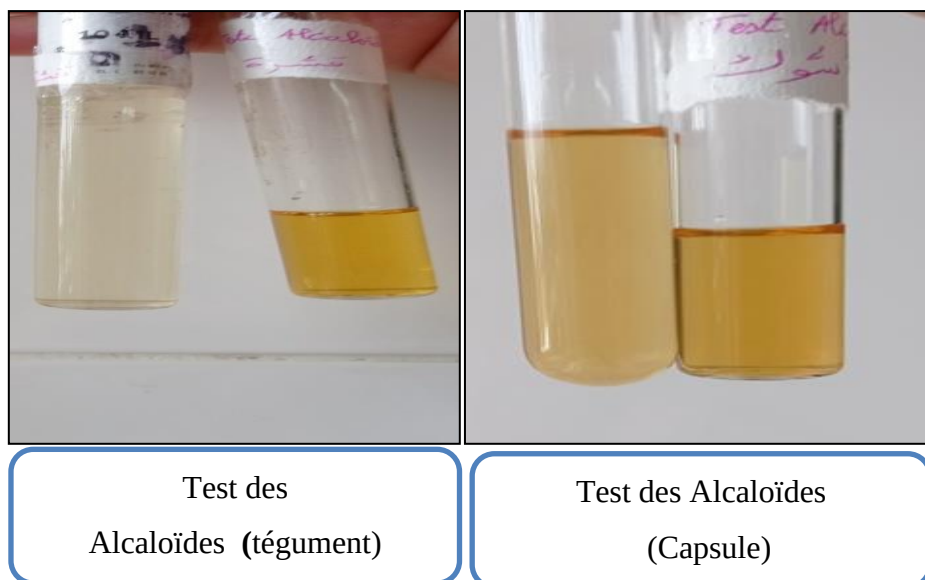


Figure 47 : Résultats de test des alcaloïdes des téguments marron et capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des tanins**

Les tanins existent dans les deux extraits de la plante .Ils sont importants dans les téguments marron par rapport aux capsules, les résultats de ce test sont illustrés dans la (figure 48).

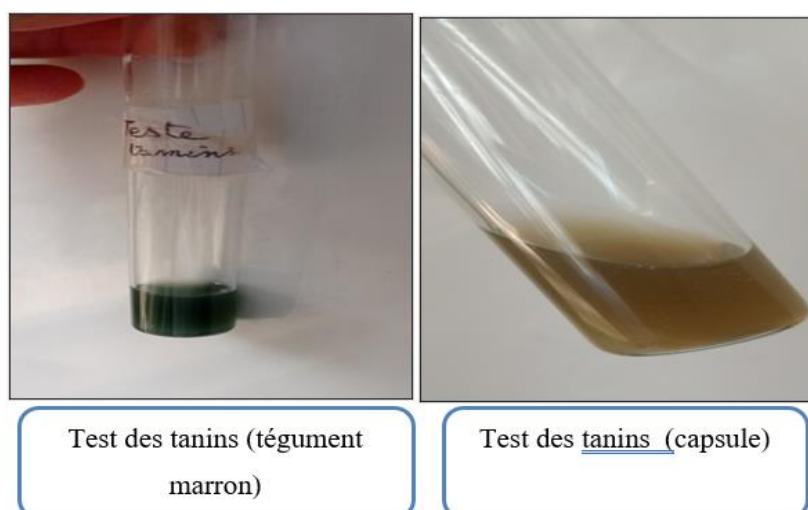


Figure 48 : Résultats de test des tanins des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des triterpènes et stéroïdes**

Les triterpènes et stéroïdes existent dans les deux extraits de la plante (tégument marron et capsule). Ils sont importants dans les capsules par rapport aux téguments marron (figure 49).

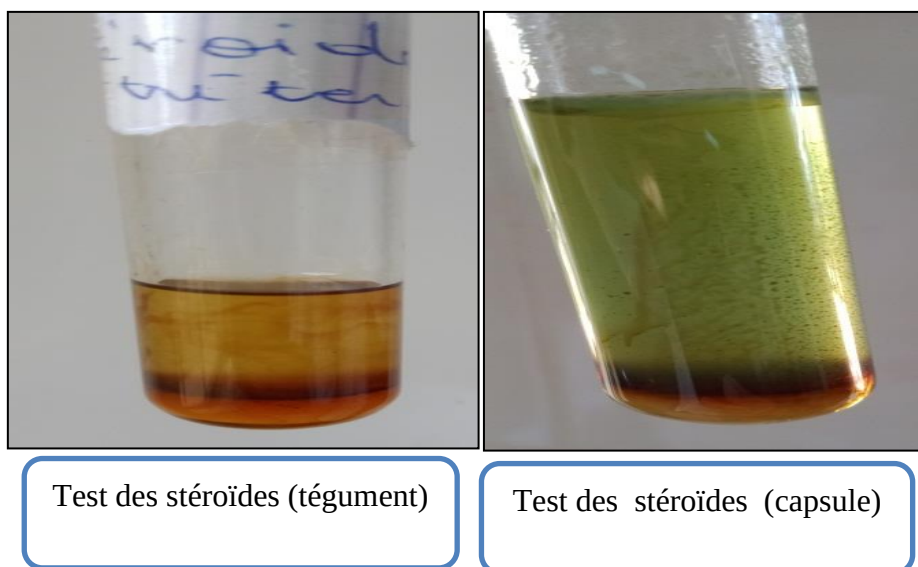


Figure 49 : Résultats de test des triterpènes et stéroïdes des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

- **Test des anthocyanes**

Les résultats de ce test ont montré l'absence des anthocyanes dans les téguments marron et les capsules de *Ricinus communis* L. ces résultats sont présentés dans la (figure 50).

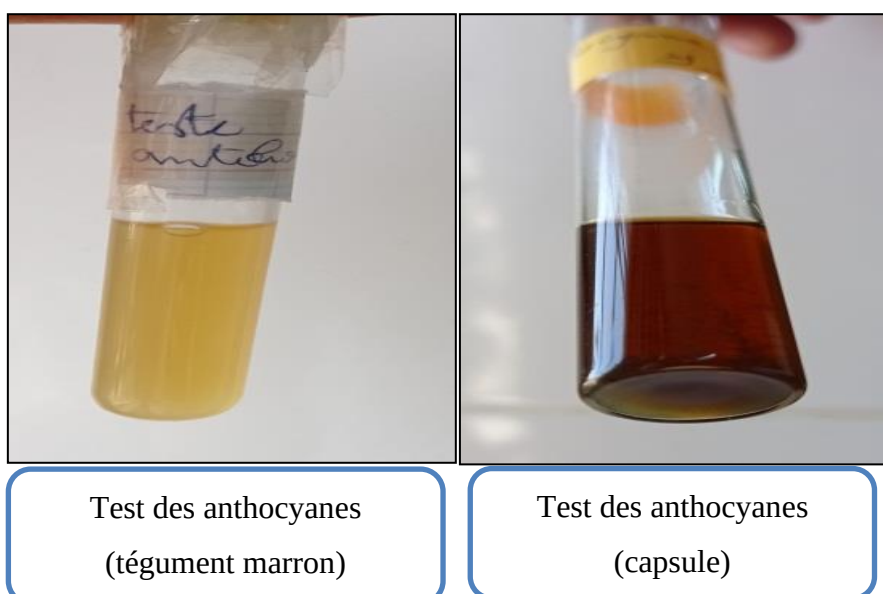


Figure 50 : Résultats de test des Anthocyanes des téguments marron et des capsules de *Ricinus communis* L. (photo personnelle, 2022).

Nos résultats de screening phytochimiques réalisés sur l'extrait éthanolique des téguments (des graine) et des capsules sont considérés comme première recherche car cette étude n'a jamais fait l'objet d'une publication.

Les résultats de l'analyse phytochimiques effectuée ont montré la présence de plusieurs composés bioactifs : les composés phénoliques, glycosides, flavonoïdes, tanins, triterpènes et stéroïdes, quinones libres et l'absence des saponines, coumarines, anthocyanes, stérols, alcaloïdes chez les deux extraits (tégument, capsule). Nous avons aussi noté la présence des anthraquinones chez l'extrait des téguments seulement.

Nos téguments marron sont riches en polyphénols, glycosides, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes, quinones libres, anthraquinones et tanins, et pauvres en saponosides, caumarins, alcaloïdes, anthocyanes et stérols.

Alors que les capsules sont riches en polyphénols, glycosides, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes, quinones libres et tanins, et pauvres en saponosides, caumarins, alcaloïdes, anthocyanes, anthraquinones et stérols.

3. Rendement des résidus sec :

Les extraits ont été préparés par la macération à température ambiante du broyat de téguments marron de ricin et de leurs capsules ; celle-ci a été effectuée par des solvants présentant des polarités distinctes, à savoir l'eau, le méthanol-eau. Les extraits obtenus sont donc l'extrait aqueux (Ex aq) et l'extrait méthanolique (Ex méth). Les résultats ont été exprimés en pourcentage. (TM : téguments marron ; CP : capsules).

3.1. Rendement en résidu sec de téguments marron

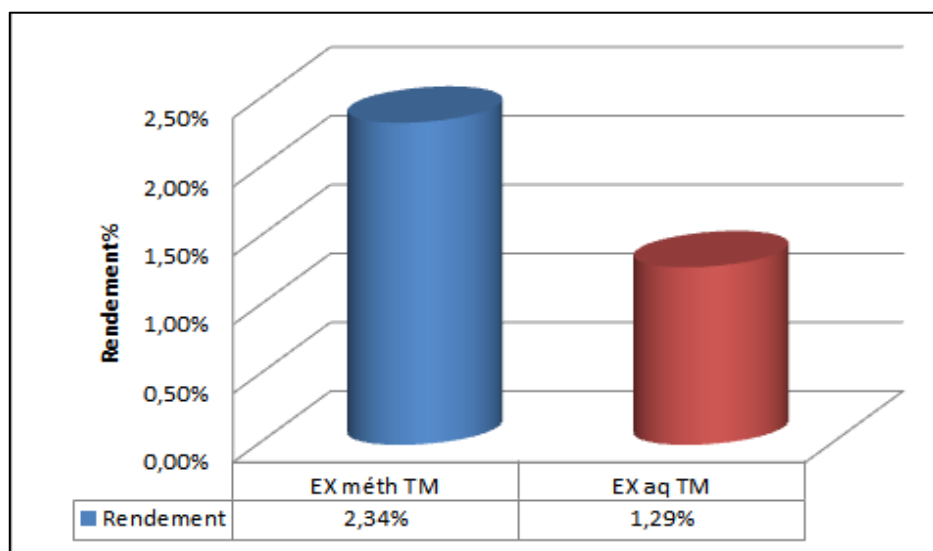


Figure 51 : Rendement en résidu sec des téguments marron.

Au vu des résultats rapportés dans la (figure 51), il ressort qu'il y a un faible écart entre le rendement de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux de téguments marron. Ces rendements sont estimés de (2,34%) et de (1,29%) respectivement. Il apparaît que le rendement de l'extrait méthanolique est plus élevé que celui de l'extrait aqueux.

3.2. Rendement en résidu sec de capsule

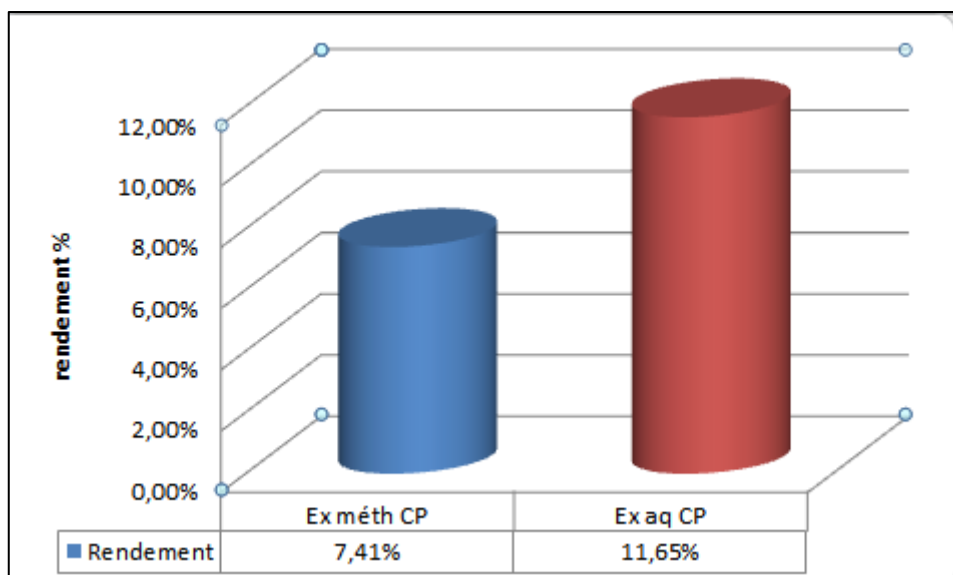


Figure 52 : Rendement en résidu sec de capsule.

Au vu des résultats rapportés dans la (figure 52), il ressort qu'il y a un faible écart entre le rendement de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux de (capsule). Ces rendements sont estimés de 7,41% et de 11,65% respectivement. Il apparaît que le rendement de l'extrait aqueux est plus important que l'extrait méthanolique.

- ❖ Les résultats précédents montrent que le rendement est variable selon les extraits et les procédures d'extractions.
- ❖ Il est à signaler toujours que cette étude est nouvellement réalisée c'est-à-dire considérée comme première de son genre.

4. Dosage des polyphénols totaux des téguments marron et des capsules *Ricinus communis* L :

Le dosage des phénols totaux des extraits méthanoliques et aqueux préparés à partir des téguments et des capsules des graines de ricin a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin- Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (figure 53).

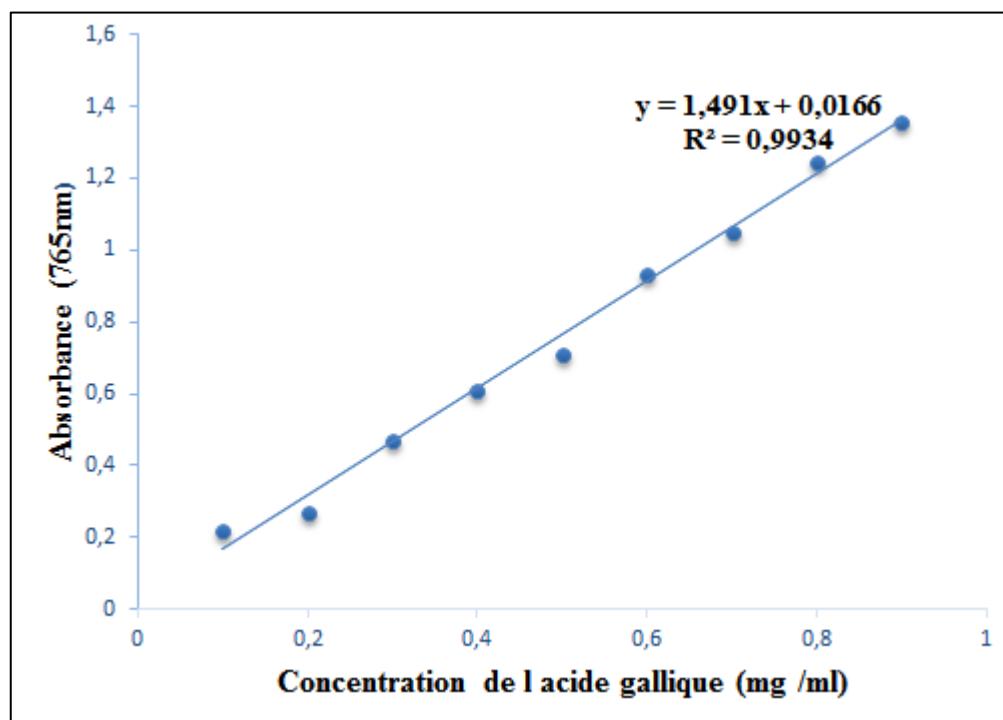


Figure 53 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats d'estimations quantitatives des polyphénols totaux sont présentés dans (figures 54 ,55).

4.1. Téguments marron

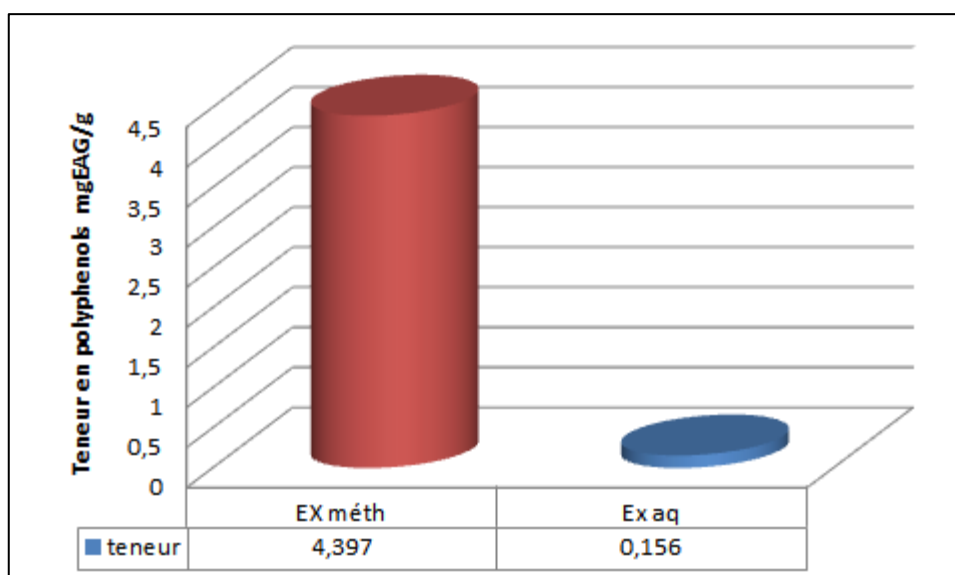


Figure 54 : teneur en polyphénol totaux pour téguments marron.

Au vu des résultats dans la (figure 54) la détermination de la teneur en poly phénols totaux dans les deux extraits méthanoliques et aqueux des téguments ; présente des teneurs variables.

On constate que l'extrait méthanolique contient une teneur plus importante en polyphénols totaux à une valeur moyenne de (4.397 ± 0.0004) .

Alors que l'extrait aqueux a une teneur très faible en composés phénolique totaux avec une valeur moyenne de (0.156033 ± 0.0178) .

- ❖ Il apparaît que l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols totaux que l'extrait aqueux, ces résultats précédents montrent que la teneur en polyphénols est variable selon la méthode et le solvant utilisé pour l'extraction.

4.2. Capsules

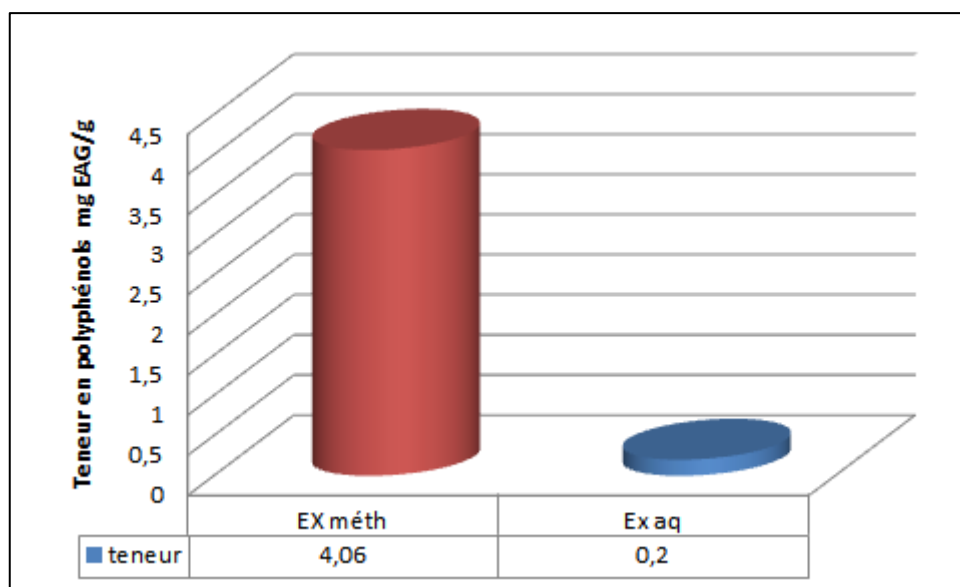


Figure 55 : teneur en polyphénol totaux pour capsules

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux des deux extraits (méthanolique et Aqueux) issus de capsule de *Ricinus communis* L. sont représentés dans la (figure 55).

Nos résultats montrent que l'extraits méthanolique des capsules est contient une teneur importante des polyphénols avec une valeur moyenne de (4.06 ± 0.0037) . mais avec une valeur moyenne très faible pour l'extrait aqueux de (0.2 ± 0.006) .

- ❖ Il apparaît que l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols totaux que l'extrait aqueux, ces résultats confirment que la teneur en polyphénols est variable selon la méthode et le solvant utilisé pour l'extraction.

5. Résultats de l'activité anticoagulante des huiles végétales, extraites par pressage à froid et les extraits préparés :

Le pouvoir anticoagulant des huiles végétales de ricin et des extraits méthanolique et aqueux de ces graines (tégument marron et capsule) a été évalué *in vitro* vis-à-vis de la voie endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TCK et le TQ respectivement.

- **La voie endogène (TCK)**

L'évaluation de la capacité anticoagulante des huiles de *Ricinus communis* L. (HR1 et HR2) et des extraits méthanoliques et aqueux des téguments marron et capsule vis-à-vis à la voie endogène de la coagulation a été réalisée à l'aide du test de temps de céphaline kaolin (TCK) ou le temps de thromboplastine partielle activé, un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs II, V, VIII, IX, X, XI et XII de la voie endogène et la voie commune de la coagulation.

Un temps de coagulation (TCK) allongé par rapport à un témoin négatif de TCK de (30s), le TCK normal est compris entre (30s) et (40s) selon le réactif. et un témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox) qui est présente un temps d'allongement maximal (plus de 5min) n'existe pas une coagulation donc incoagulable.

- **Voie exogène TQ**

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui explore les facteurs II, V, VII et X de la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation.

Le TQ normal est compris entre (12s) et (15s) selon le réactif. Dans le but de rechercher un allongement au niveau du temps de coagulation qui se définit par une activité anticoagulante de l'huile de ricin vis-à-vis de la cascade de cette voie.

Un temps de coagulation (TQ ou TP) allongé par rapport à un témoin de TQ de (15s), et un témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox) qui présente un temps d'allongement maximal (plus de 5min) n'existe pas une coagulation donc incoagulable.

5.1. Huiles de *Ricinus Communis* L. (HR1 et HR2) :

- **Voie endogène TCK**

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis à la voie endogène de l'huile de *Ricinus Communis* L. (HR1 et HR2) sont représentés dans la (figure 56).

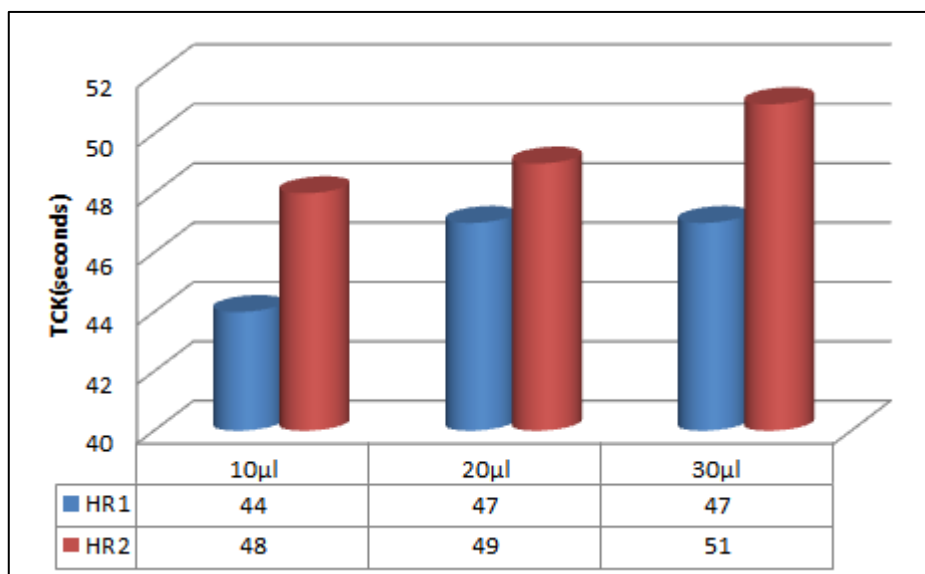


Figure 56 : Capacité anticoagulante de l’huile de *Ricinus communis* L.de (HR1 et HR2) vis-à-vis de la voie endogène.

D’après les résultats obtenus, il apparaît clairement que l’huile de ricin exerce une activité anticoagulante positivement corrélée avec le volume de l’huile vis-à-vis de la voie endogène.

Par comparaison des temps de coagulation (TCK) sous influence de différents volumes (10µl;20µl;30µl) des huiles de ricin, il ressort que le volume 10µL est capable d’exercer une activité anticoagulante estimée par un TCK de (44s) par un allongement de (14s) pour l’huile HR1, et un TCK de (48s) avec allongement de (18s) pour l’huile HR2 (figure 56).

Alors que le volume (20µl) a une activité anticoagulante estimée par un TCK de (47s) pour le HR1 par un allongement de (17s), et un TCK de (49s) par un allongement de (19s) pour le HR2 (figure 56).

Le volume 30µL de l’huile ricin est capable d’allonger le temps de coagulation avec des valeurs d’ordre de (17s) avec un TCK de (47s) pour HR1 et (21s) avec un TCK de (51s) pour le HR2 (figure 55).

D’après les résultats de l’activité anticoagulante des (HR1, HR2), il apparaît que HR2 a un effet anticoagulant plus important que HR1.

- **voie exogène TQ**

Les résultats de l’activité anticoagulante vis-à-vis à la voie exogène de huile de ricin (HR1 et HR2) sont représentés dans la (figure 57).

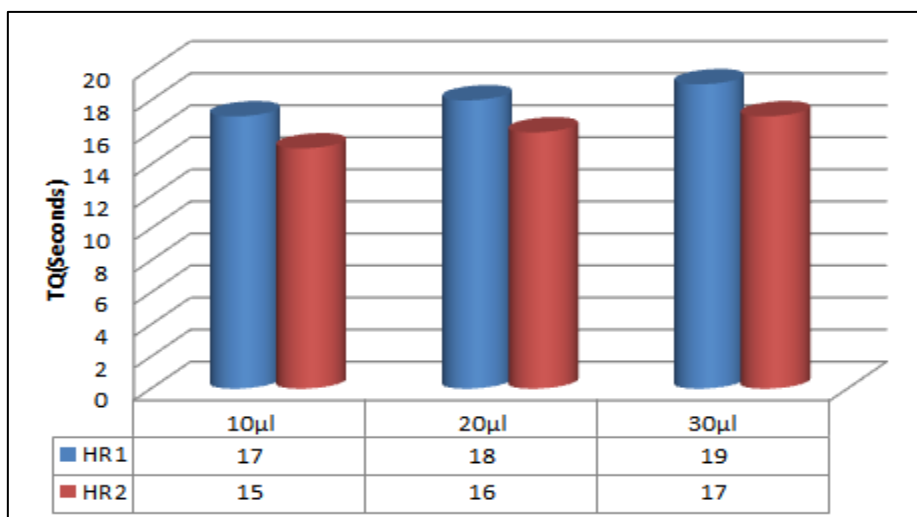


Figure 57 : Capacité anticoagulante de l'huile de *Ricinus communis* L. (HR1 et HR2) vis-à-vis de la Voie exogène.

Les résultats présentés dans la (figure 56) montrent que l'huile de ricin est capable d'allonger le temps de coagulation TQ dans la plupart de concentrations.

Par comparaison des temps de coagulations (TQ) sous influence de différents volumes (10µl ; 20µl ; 30µl) des huiles de ricins, il ressort que le volume (10µl) est capable d'exercer une activité anticoagulante estimée par un TQ de (17s) par un allongement de (2s) pour l'huile HR1, pour le HR2 ne présente aucun effet, il reste (15s) alors aucun allongement (figure 57).

Alors que le volume (20µL) de l'huile ricin a une activité anticoagulante estimée par un TQ de (18s) par un allongement de (3s), et un TQ de (16s) par un allongement de 1s respectivement (figure 57).

Le volume (30µL) de huile ricin est capable d'allonger le temps de coagulation avec des valeurs d'ordre de (3s) avec un TQ de (19s) et (2s) avec un TQ de (17s) (figure 57).

Ces résultats ne montrent aucune différence significative par rapport au contrôle normal (Témoin de TQ de 15s).

- ❖ L'allongement du TCK en présence dans nos huile HR1 et HR2 indique que ces métabolites sont capables d'inhiber les facteurs de la voie endogène et /ou les facteurs communs entre la voie endogène et la voie exogène de la coagulation.
- ❖ Globalement, l'évaluation de la capacité anticoagulante de l'huile végétale de *Ricinus communis* L. Établi par les deux tests chronométriques d'exploration de la coagulation, le TCK et le TQ démontre que l'huile exerce une activité anticoagulante vis-à-vis des deux

voies de la coagulation, mais cette activité est plus marquée vis-à-vis de la voie endogène que vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation.

5.2. Résultats de l'activité anticoagulante des extraits préparés :

5.2.1. Les extraits des téguments marron :

- Voie endogène TCK

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis à la voie endogène des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dilué dans 2ml l'eau distillés) des téguments sont représentés dans la (figure 58).

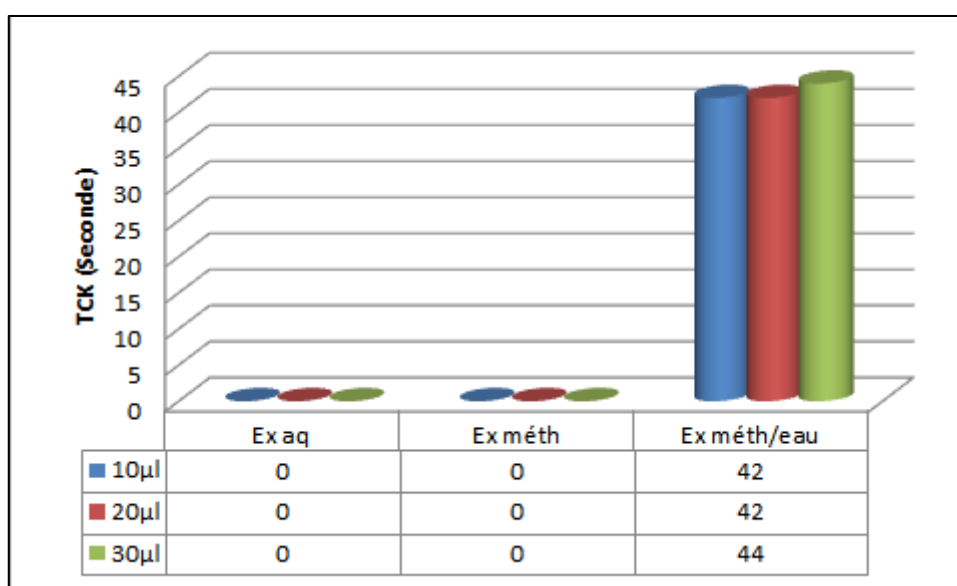


Figure 58 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dilué) des téguments vis -à- vis de la voie endogène TCK.

D'après les résultats de l'activité anticoagulante des extraits aqueux des téguments marron, il apparaît que cet extrait a un effet incoagulable avec la concentration de 10ul, après la dilution $\frac{1}{11}$ (10ul de solution brute +100ul l'eau distillé il existe une coagulation après 202s avec la concentration de 10ul et un temps d'allongement de (172s).

Cependant les volumes (20ul, 30ul) montrent un effet incoagulable dont l'effet est similaire à celui du témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox), même après cinq minutes, n'existe aucune coagulation donc cet extraie aqueux montre un effet anticoagulant très important (incoagulable), du même pour les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) de l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans le méthanol.

Alors les résultats de l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans 2ml d'eaux distillées montrent que cet extrait a un effet anticoagulant important par rapport au TCK normale (30s).avec les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) et avec un temps d'allongement de (12s, 12s, 14s) respectivement, mais cet effet reste moins important par rapport aux deux extraits précédents (aqueux et méthanolique).

En conclusion l'extrait aqueux a donné un meilleur résultat sur l'effet anticoagulant des téguments (incoagulable avec les trois concentrations 10ul ,20ul et 30ul).

- **Voie exogène TQ**

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) des téguments marron sont représentés dans la (figure 59).

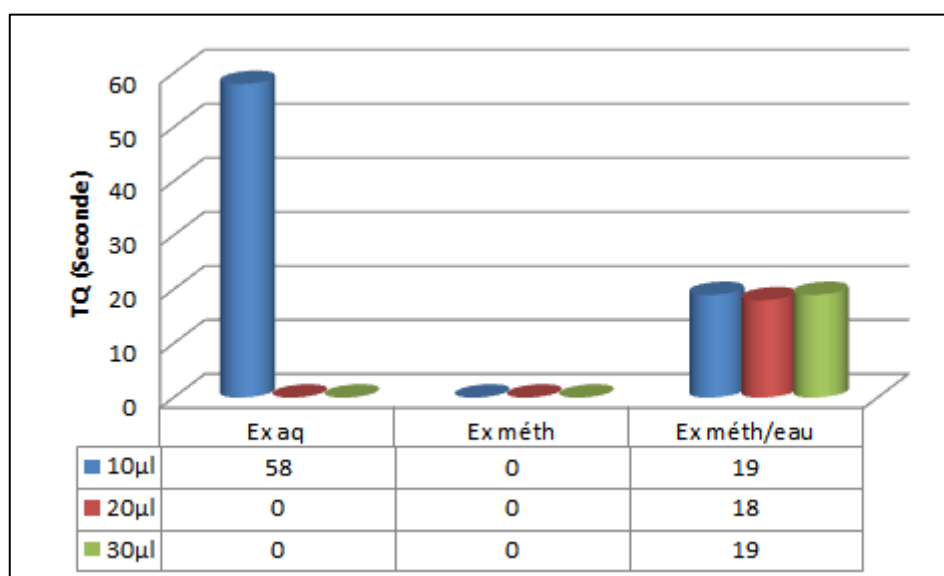


Figure 59 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dilué) des téguments marron vis -à- vis de la voie exogène TQ.

D'après les résultats obtenus (temps de Quick) (figure 59) il ressort que l'extrait aqueux des téguments marron étudiés a un effet anticoagulant important par rapport au TQ normale (15s) cet effet est donné par (58s) avec la concentration 10ul et un temps d'allongement de (43s).

Cependant les volumes (20ul, 30ul) présentent un effet incoagulable dont le résultat est similaire à celui de témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox), même après cinq minutes, aucune coagulation n'a été observé, il est du même pour les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) de l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans le méthanol.

Concernant l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans 2ml d'eaux distillés les résultats montrent que cet extrait a un faible effet anticoagulant par rapport au TQ normale (15s) avec les trois concentrations (10 μ l, 20 μ l, 30 μ l) et avec un temps d'allongement de (4s, 3s, 4s) respectivement.

En conclusion l'extrait aqueux donne le meilleur résultat sur l'effet anticoagulant des téguments. Un effet anticoagulant important pour une faible concentration (10 μ l) et un effet incoagulable pour une forte concentration (20 μ l et 30 μ l).

- ❖ Globalement, l'évaluation de la capacité anticoagulante de ces 3 extraits des téguments établie par les deux tests chronométriques d'exploration de la coagulation, le TCK et le TQ démontre que les extraits exercent une activité anticoagulante importante vis-à-vis des deux voies de la coagulation, mais cette activité est plus marquée vis-à-vis de la voie endogène que la voie exogène de la coagulation.

5.2.2. Les extraits des capsules

• Voie endogène TCK

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis à la voie endogène des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) des capsules sont représentés dans la (figure 60).

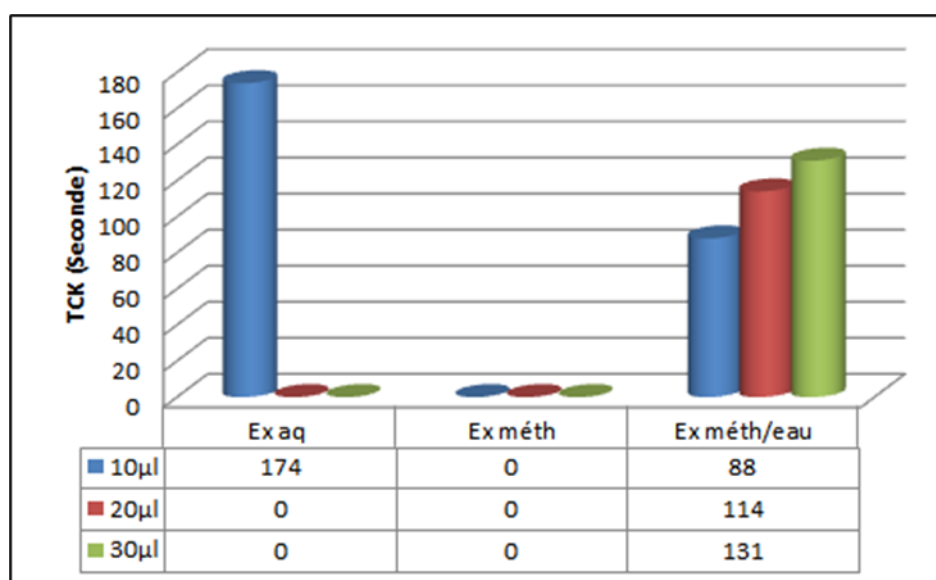


Figure 60 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) de capsule vis -à- vis de la voie endogène TCK.

D'après les résultats de l'activité anticoagulante de l'extrait aqueux des capsules, il apparaît que cet extrait a un effet anticoagulant très important par rapport au témoin (TCK normale)

(30s) cet effet est donné par (174s) avec la concentration de 10 μ l et un temps d'allongement de (144s).

Cependant les volumes (20 μ l, 30 μ l) montre un effet incoagulable, dont l'effet est similaire à celui de témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox), même après cinq minutes, aucune coagulation n'a été observé, du même pour les trois concentrations (10 μ l, 20 μ l, 30 μ l) de l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans le méthanol.

Pour l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans 2ml d'eaux distillées les résultats montrent que cet extrait a un effet anticoagulant très important par rapport au TCK normale (30s) avec les trois volumes (10 μ l, 20 μ l, 30 μ l) et avec un temps d'allongement de (58s, 84s, 101s) respectivement.

En conclusion l'extrait aqueux des capsules donne un effet anticoagulant très important pour une faible concentration (10 μ l) et un effet incoagulable pour des fortes concentrations (20 μ l et 30 μ l).

- **voie exogène (TQ)**

Les résultats de l'activité anticoagulante vis-à-vis à la voie exogène des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) des capsules sont illustrés dans la (figure 61).

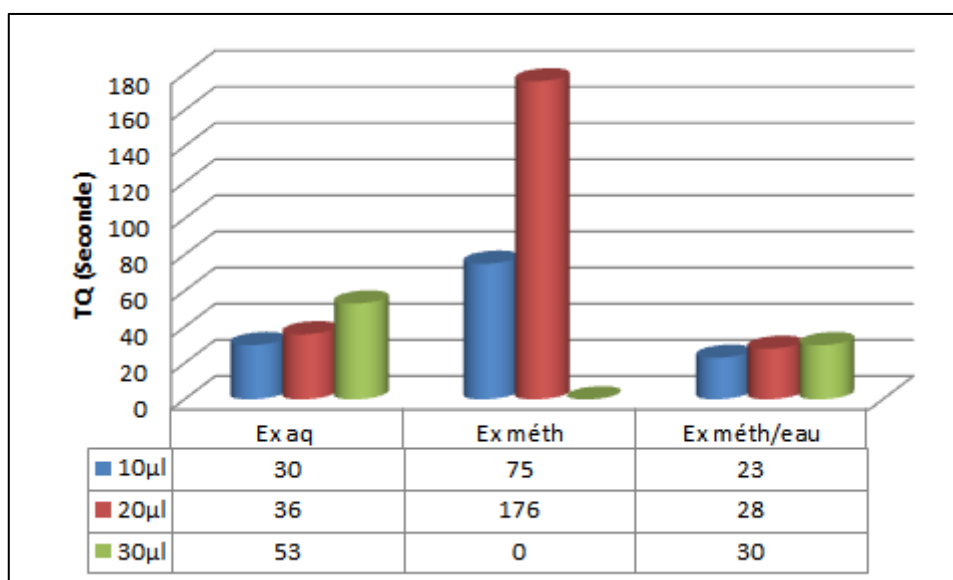


Figure 61 : Capacité anticoagulante des extraits (aqueux, méthanolique, et méthanolique dissous dans 2ml l'eau distillés) des capsules vis -à- vis de la voie exogène TQ.

À la lumière des résultats obtenus, il apparaît clairement que l'extrait aqueux des capsules avec les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) présente un effet anticoagulant important par rapport au TQ normale (15s), et avec un temps d'allongement de (15s, 21s, 38s) respectivement.

Alors l'extrait obtenu par macération méthanolique dilue dans le méthanol montre un effet anticoagulant très important par rapport à l'extrait aqueux et le témoin (15s). Cet effet est donné par (75s, 176s) avec les concentrations 10ul et 20ul respectivement, et un temps d'allongement très élevé (60s, 161s), cependant le volume 30ul montre un effet incoagulable. Ce dernier présente un effet similaire à celui de témoin positif Enoxaparin sodium 0.8ml (Lovenox), même après cinq minutes aucune coagulation n'a été observée.

Concernant l'extrait obtenu par dilution du résidu méthanolique dans 2ml d'eaux distillés les résultats montrent que cet extrait a modifié clairement les résultats précédents. Un effet anticoagulant par rapport au TQ normale (15s) avec les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) et avec un temps d'allongement de (8s, 13s, 15s) respectivement.

En conclusion l'extrait aqueux des capsules donne un effet anticoagulant important avec les trois concentrations.

- ❖ Globalement, l'évaluation de la capacité anticoagulante de ces 3 extraits des capsules établi par les deux tests chronométriques d'exploration de la coagulation, le TCK et le TQ démontre que les extraits testés exercent une activité anticoagulante vis-à-vis des deux voies de la coagulation, mais cette activité est plus marquée vis-à-vis de la voie endogène que la voie exogène de la coagulation.

D'après les résultats obtenus précédents il ressort que :

Le temps de coagulation dépend de la concentration des extraits analysés quand la concentration augmente l'activité anticoagulante de l'extrait augmente.

L'allongement du TCK et TQ en présence de nos extraits indique que ces métabolites sont capables d'inhiber les facteurs de la voie endogène ou exogène et /ou les facteurs communs entre la voie endogène et la voie exogène de la coagulation.

L'activité anticoagulante considérable de nos extraits peut-être à cause de la richesse de ces extraits en flavonoïdes. Par ailleurs Guglielmone *et al* (2002) ont rapporté que l'activité anticoagulante des flavonoïdes peut être due à leur action inhibitrice de la voie endogène de la coagulation.

Il est à signaler que le méthanol (70%) utilisé comme solvant pour l'extraction a été également testé vis-à-vis les deux voies de la coagulation. Les résultats obtenus nous a exprimé

un effet anticoagulant sur les deux voies, la voie exogène par un temps d'allongement (17s) pour la dose 10µl et la voie endogène par un temps d'allongement (36s) pour la dose 10µl, Cela nous a permis de conclure que le méthanol exerce un effet anticoagulant important. De ce fait on ne peut pas le considérer comme un bon solvant pour l'extraction des polyphénols du point de vu de l'effet anticoagulant et que l'extraction via l'eau distillée pourra être mieux pour cela.

6. L'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des huiles végétales de ricin et de leurs extraits méthanoliques et aqueux de ces graines (tégument et capsule) a été estimée en termes de diamètre de zone d'inhibition autour des disques contenant les huiles végétales ou les polyphénols à tester vis-à-vis de trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*).

La détermination de la zone d'inhibition permet de donner une estimation d'un caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre des extraits testés.

• Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité ou la résistance des souches vis-à-vis des antibiotiques. Les résultats de l'antibiogramme qui sont donnés par la méthode de diffusion en disque des trois souches testées sont représentés dans le (tableau 08) ci-dessous.

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) en présence des deux antibiotiques.

Antibiotique Bactérie	Gentamicine (CN10)	Trimethoprim- sulfamethoxazole (Sxt25)
<i>Escherichia coli</i>	16 mm	23 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30 mm	13 mm
<i>Bacillus cereus</i>	23 mm	30 mm

D'après les résultats obtenus (tableau 08) nous soulignons une variabilité dans la réponse des souches étudiées (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*) vis-à-vis des deux antibiotiques testés.

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est extrêmement sensible à Gentamicine (CN10) avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm, alors qu'elle est peu sensible à la (SXT25) avec un diamètre de 13 mm.

Escherichia coli est une bactérie à Gram (-), elle est extrêmement sensible à l'antibiotique(SXT25) (diamètre de zone d'inhibition de 23mm), alors qu'elle a montré une sensibilité vis-à-vis de (CN10) (diamètre de zone d'inhibition de 16mm).

Bacillus cereus est extrêmement sensible vis-à-vis de SXT25 avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm, et une sensibilité importante à l'antibiotique CN10 (diamètre de zone d'inhibition de 23 mm).

La sensibilité de la souche *Bacillus cereus* aux deux antibiotiques testés a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition de 30mm pour SXT25 , et 23mm pour CN10 .suivi par *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition de 30mm pour CN10 , et 13 mm pour SXT25 ,et enfin *Escherichia coli* avec un diamètre de zone d'inhibition de 23mm pour SXT25 , et 16 mm pour CN10.

- **Résultats de l'activité antibactérienne des Témoins négatifs**

Tableau 9 : Résultats de l'activité antibactérienne des Témoins négatifs.

Témoine négatif Bactérie	DMSO	Methanol
<i>Escherichia coli</i>	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-

On remarque l'absence de pouvoir inhibiteur des témoins négatifs (DMSO et méthanol).

6.1. Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et aqueux (tégument et capsule) et des huiles végétales des graines de ricin et de leurs dilutions :

6.1.1. Effet des huiles végétales de ricin (HR1et HR2) et leurs dilutions sur les souches testées

Les diamètres des zones d'inhibition des souches étudiées sous l'action des extraits bruts de l'huile végétale de ricin (HR1 et HR2) et leurs dilutions ($\frac{1}{2}$) sont représentés dans le (tableau 10) et (figure 62).

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits brut des huiles végétales de ricin et leurs dilutions ($\frac{1}{2}$).

Huile Bactérie	HR1		HR2	
	Brut (MB)	D 1 /2 ($\frac{1}{2}$ MB)	Brut (MA)	D 1 /2 ($\frac{1}{2}$ MA)
<i>E .coli</i>	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-

(MB) : L'huile brut sans tégument ; D 1 /2 ($\frac{1}{2}$ MB) : dilution $\frac{1}{2}$ de l'huile sans tégument ; (MA) : L'huile brut avec tégument ; D 1 /2 ($\frac{1}{2}$ MA): dilution $\frac{1}{2}$ de l'huile avec tégument.

- Effet de l'huile de ricin HR1

L'activité antibactérienne de l'huile brute de ricin HR1 et leur dilution ($\frac{1}{2}$) montrent qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis des souches (*P.aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*).

- Effet de l'huile de ricin HR2

L'activité antibactérienne de l'huile brute de ricin HR2 et leur dilution ($\frac{1}{2}$) montrent également qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis de *P.aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Chaa et Ziane Cherif (2019)** qui ont montré que l'HR2 n'a exercé aucune activité antimicrobienne dans le cas de bactérie *P.aeruginosa*.

D'autre part **Chaa et Ziane Cherif (2019)** ont utilisé la méthode d'extraction d'huile par solvants (hexane) montrent dans leurs résultats que l'huile de ricin a une forte activité inhibitrice vis-à-vis la souche *Escherichia coli*. Ceci ne concorde pas avec nos résultats obtenus.

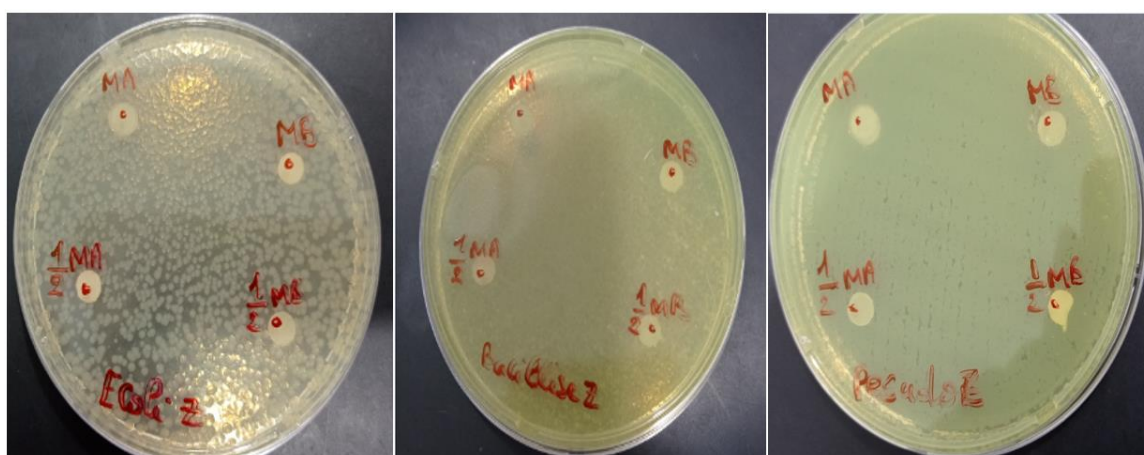


Figure 62 : effet d'huile HR1 et HR2 et leurs dilutions de ricin sur les bactéries testées (photo personnelle, 2022).

6.1.2. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (méthanolique et aqueux) des téguments et des capsules de ricin et de leurs dilutions :

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux (téguments, capsules) de ricin et leurs dilutions sont représentés successivement dans le (tableau 11).

Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits phénoliques brut des téguments et des capsules et leurs dilutions ($\frac{1}{2}$).

Extraits Bactérie	Tégument marron				Capsule			
	Ex méthanolique		Ex aqueux		Ex méthanolique		Ex aqueux	
	Brut (MF)	D $\frac{1}{2}$ ($\frac{1}{2}$ MF)	Brut (MD)	D $\frac{1}{2}$ ($\frac{1}{2}$ MD)	Brut (ME)	D $\frac{1}{2}$ ($\frac{1}{2}$ ME)	Brut (Mc)	D $\frac{1}{2}$ ($\frac{1}{2}$ Mc)
<i>E coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

- **Tégument marron**

(MF) : Extrait méthanolique brut ; ($\frac{1}{2}$ MF) : la dilution $\frac{1}{2}$.

(MD) : Extrait aqueux brut ; ($\frac{1}{2}$ MD) : la dilution $\frac{1}{2}$.

- **Capsule**

(ME) : Extrait méthanolique brut ; ($\frac{1}{2}$ ME) : la dilution $\frac{1}{2}$.

(MC) : Extrait aqueux brut ; ($\frac{1}{2}$ MC) : la dilution $\frac{1}{2}$.

- Effet des extraits méthanoliques et aqueux des Téguments marron et des capsules sur les bactéries testées

Pour les deux extraits méthanoliques et aqueux des téguments et des capsules des graines de ricin étudiés dans ce travail notre résultat est considéré comme étant le premier de son genre, parce que l'étude de l'activité antibactérienne de ces extraits n'a jamais fait l'objet d'une publication.

Selon les résultats enregistrés (Tableau 11) et (figures 63,64), nous ne soulignons que les extraits méthanoliques et aqueux de chacun des deux composants (téguments et capsules) ne présentent aucun effet sur les bactéries testées.

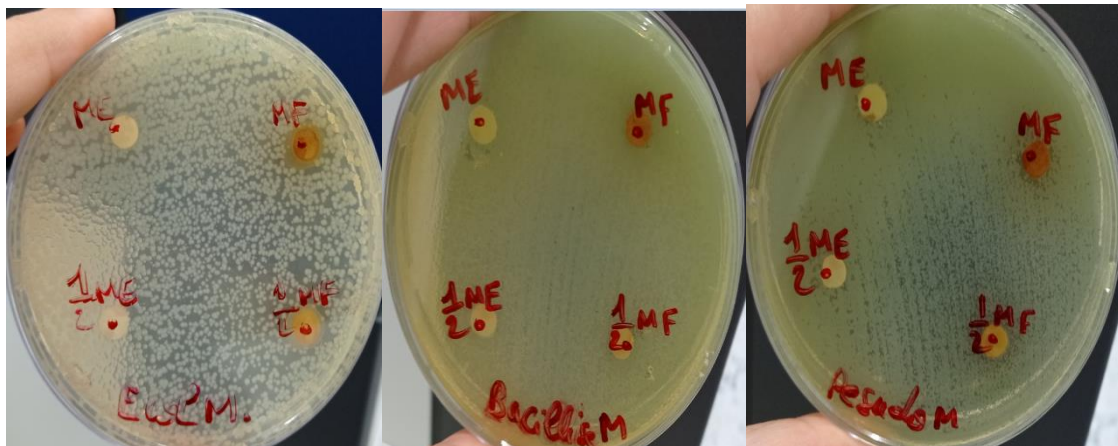


Figure 63 : effet des extraits méthanoliques (capsules et téguments) sur les bactéries étudiées (photo personnelle, 2022).

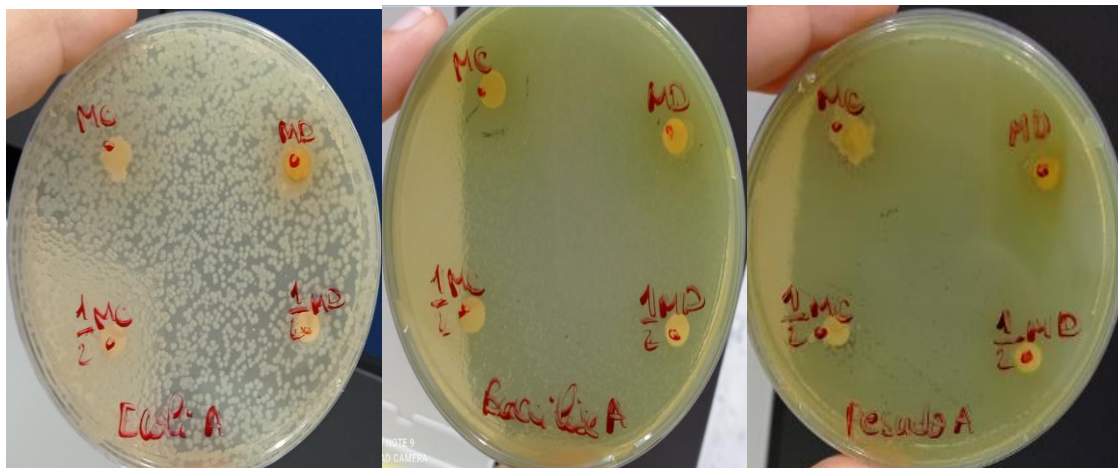


Figure 64 : effet des extraits aqueux (capsules et téguments) sur les bactéries étudiées (photo personnelle, 2022).

Conclusion et perspectives

Le L'objectif principal de ce travail de recherche est d'établir une étude comparative entre l'huile végétale des graines de ricin ainsi les extraits phénoliques obtenus à partir des téguments marbrés et des capsules. On a effectué également une analyse qualitative et quantitative des extraits (téguments, capsules). Cette étude concerne deux activités biologiques (anticoagulante et antibactérienne).

Dans un premier temps, nous avons effectué une recherche bibliographique qui porte sur quelques axes principaux : une description botanique de l'espèce étudiée (*Ricinus communis* L.), les huiles végétales, les métabolites secondaire en particulier les polyphénols et les activités biologiques (anticoagulante et antibactérienne).

Le rendement d'extraction de l'huile par la méthode de pressage à froid, est de l'ordre de 32,98% pour l'huile de ricin avec tégument, cette valeur est proche de certains travaux antérieurs, et d'ordre de 42,68% pour l'huile de ricin sans tégument. En effet, le rendement d'extraction d'une l'huile varie selon la méthode et le solvant utilisé.

Les deux huiles de ricin obtenues possèdent des propriétés organoleptiques (odeur, couleur, viscosité et consistance) très appréciées en grand viscosité et une odeur Peu prononcée, On observe que la couleur des deux huiles sont nuancées entre le jaune-claire, le jaune légèrement bronzé.

La détermination des indices chimiques (l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice de peroxyde) a montré certains renseignements sur la pureté et la stabilité des huiles en particulier pour l'huile de ricin sans tégument que l'huile de ricin avec tégument, sur la richesse et la nature des acides gras contenus dans les huiles. Cela implique que ces huiles contiennent une forte quantité d'acides gras avec un important poids moléculaire et que l'huile sans tégument a une chaîne d'acide gras plus important que celle de l'huile avec tégument, et sur une bonne extraction et bonne conservation des deux huiles.

L'analyse qualitative des composés phytochimique, (Screening phytochimique) réalisé, a révélé la richesse de tégument marron en métabolites secondaires : polyphénols, glycosides, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes, quinones libres, anthraquinones et tanins,

par contre les tests de recherche de dérivés des saponosides, caumarins, alcaloïdes, anthocyanes et stérols ont été négatifs. Alors que la capsule a révélé une richesse en polyphénols, glycosides, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes, quinones libres et tanins, par contre les tests de recherche des saponosides, caumarins, alcaloïdes, anthocyanes, anthraquinones et stérols sont négatifs.

Les résultats de rendement en résidu sec des téguments montrent que le rendement de l'extrait méthanolique est plus élevé que celui de l'extrait aqueux. Alors que, les capsules montrent que le rendement de l'extrait aqueux est plus important que celui de l'extrait méthanolique. Donc, le rendement est variable selon le solvant et les procédures d'extractions.

L'évaluation quantitative des poly phénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé que l'extrait méthanolique est plus riches en polyphénols totaux que l'extrait aqueux, la teneur en polyphénols est variable selon la méthode et les solvants utilisée pour l'extraction.

L'étude de l'effet des deux huiles des graines de *Ricinus communis* L. sur les deux voies de la coagulation (voie endogène et voie exogène) a permet d'asseoir que les deux huiles exercent un effet anticoagulant sur les deux voies de la coagulation avec un effet plus marqué sur la voie endogène que sur la voie exogène et plus important pour l'huile avec tégument que l'huile sans tégument.

Alors que, les extraits méthanoliques, aqueux et (méthanolique /eau) (tégument, capsule) ont donné un effet sur les deux voies de la coagulation.

Concernent les extraits des téguments les résultats révèlent que ces extraits exercent une activité anticoagulante très importante vis-à-vis des deux voies de la coagulation avec un effet plus marqué sur la voie endogène que sur la voie exogène. L'extrait aqueux donne un meilleur résultat sur l'effet anticoagulant. Pour la voie endogène un effet incoagulable pour différent concentrations, Pour la voie exogène un effet anticoagulant important pour une faible concentration et un effet incoagulable pour une forte concentration.

Pour les extraits des capsules les résultats montrent que ces extraits exercent une activité anticoagulante importante vis-à-vis des deux voies de la coagulation avec un effet plus marqué sur la voie endogène que sur la voie exogène. L'extrait aqueux donne le meilleur résultat sur l'effet anticoagulant. Pour la voie endogène un effet anticoagulant très important pour une faible concentration, et un effet incoagulable pour une fort concentration. Pour la voie exogène un effet anticoagulant très important avec les trois concentrations.

L'évaluation de l'effet antibactérien montre que Les trois bactéries utilisées sont sensibles aux antibiotiques utilisés. L'effet de l'huile de ricin avec et sans téguments (HR2, HR1) n'exerce aucune activité antibactérienne.

L'effet des extraits méthanolique et aqueux (téguments, capsules) des graines de ricin aussi n'exerce aucune activité anti bactérienne.

Il est à signaler toujours que cette étude est nouvellement réalisée c'est-à-dire considérée comme étant la première de son genre. Nos huiles et extraits phénoliques sont riches en composés actifs, et une exploitation de ses propriétés thérapeutique s'impose sur une recherche approfondie de ses principes actifs à cet effet, il est souhaité de :

- ❖ Compléter l'étude *in vitro* pour l'évaluation de l'activité antidiabétique et antioxydant.
- ❖ L'étude *in vivo* pour l'évaluation de l'activité anti inflammatoire, cytotoxicité et déterminée la dose toxique.
- ❖ Evolution l'activité antibactérienne des extraits phénoliques et des huiles de *Ricinus communis*. L. vis-à-vis d'autres souches bactériennes et également l'évaluation de l'activité antifongique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aboubacar A (2007)** contribution à l'étude de l'utilisation de l'huile de jatropha comme combustible diesel. Mémoire de D.E.A : Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement. Université d'Antananarivo.
- **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques .Thèse de doctorat. Université d'Avignon.
- **Adulazim, S.S., Salah, O. A.T., Munir, N. G. M., Shomaf. S. (1998).**The Abortifacient effects of Castor Bean Extract and Ricin-A Chain in Rabbits. *Contraception*. 58: 193–197.
- **Ajjan, R, Grant, P. J. (2006):** Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis* 186, p240–259.
- **Akpan, U. G., Jimoh, A., & Mohammed, A. D. (2006).** Extraction, characterization and modification of castor seed oil. *Leonardo Journal of Sciences*, 8, 43-52.
- **Aliou Ousmane, H (1996).** Valorisation D'une Huile Végétale Tropicale : L'huile De Pourghère .Mémoire Maîtrise : Sciences Appliquées, Sherbrooke (Québec), Canada
- **Aslania , M.R ., Malekib ,M ., Mohria, M ., Sharifia,K ., Najjar,V. N ., Afshari ,E. (2007).** Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon*. 49: 400–406.
- **Athukorala,Y., Lee, KW., Kim, SK., Jeon, Y.J. (2007):** Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, 98,p1711–1716.
- **Baba-Aïssa, F. (2000).** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Librairie Moderne Rouïba, EDAS, Algérie. p 368.
- **BARKA, A(2016).** Evaluation des indices de nature physico-chimiques de quelques huiles alimentaires de friture et impact sur la santé du consommateur. Thèse Doctorat: science alimentaire. Tlemcen : Université de Tlemcen.
- **Beddou F. (2015).** Étude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- **Békro Y.A., Békroj A.M., Bouab.B., Trab F.H. and Ehilé E.E.2007 :** Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2), p217-225
- **Belyagoubi-Benhamou N., Belyagoubi, L., Bekkara, F. (2014).** Phenolic contents and antioxidant activities *in vitro* of some selected Algerian plants. *Journal of medical plant research*, 8(40), 1198-1207.
- **Benabid H., (2009)** Caractérisation de l'huile d'olive algérienne Apports des méthodes chimiométriques. Thèse de doctorat :Sciences Alimentaires.Constantine : Université Mentouri.

- **Benali,B et Djaber, A(2015).** Production du biodiesel à partir d'une plante spontanée (*Ricinus communis* L.).Mémoire Master : chimie de l'environnement. Adrar : Université d'Adrar, p 60.
- **Benhammou, N (2011).** Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien (Thèse de doctorat). Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen.
- **Benzahi, K(2001).**contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodn dactylon* L. Mémoire Magister. Université d'Ouargla, 113p.
- **Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. (2007).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.
- **Biri, K.,Lezbache,W(2019).**Caractérisation biochimique et évaluation des activités biologiques des extraits phénoliques et des huiles fixes de l'espèce *Linum usitatissimum*.L.Mémoire Master : Biotechnologie végétale .Mila : Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf ,p75.
- **Boisseau M.R, 1996.** Données actuelles sur l'hémostase. Phlébologie, 42 (2), p175 –186.
- **Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- **Boizot, N; Charpentier, J.P. (2006)** : Méthode rapide d'évaluation du contenu d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, INRA,p 79-82.
- **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister : Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- **Boukeria, S (2017).** Etude de l'effet de la variabilité génétique de l'espèce *Allium cepa* L. et *Allium sativum* L. sur la production et l'accumulation des huiles essentielles et sur leurs effets antibactériens. Thèse Doctorat : Sciences Biologiques. Guelma: Université 8 Mai 1945, p185
- **Boulghiti O, Hachemi A(2020).** production de biodiesel à partir de l'huile de coton au sud-ouest de l'algérie. Mémoire Master . Adrar : Université Ahmed Draïa , p77.
- **Boutayeb, A(2013).** Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales. Mémoire. Université Ibn Tofail.
- **Bouzid A, Bouhamri O (2019)** Mémoire: Extraction des huiles des graines *Prunus Amygdalus* et *Carthames Thinctorius* et mise en évidence du pouvoir antibactériens. Mémoire Master : Biochimie appliquée. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 102 p.
- **Bruneton, J(2009).** Pharmacognosie : Phytochimie plants médicinales. 11,rue lavoisier75008 Paris et Allée de la croix Bossée94234 Cachan Cedex : Edition Tec&Doc et Edition médicales internationales .

- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition Lavoisier. Paris. 1234p.
- **Buer, C.S., Imin, N., Djordjevic, M.A. (2010)** Flavonoïdes: new roles for old molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52: 98-111.
- **Butenaset S., Mann K. G., (2002).** *Biochemistry (Moscow)*, 67(1), p. 3-12.
- **Caen, J., Lrrieu, M.J., Samama, M. (1975)** :L'hémostase : méthodes d'exploration et diagnostic pratique (2^{ème} éd), Expansion Scientifique Française (Paris), p15-20.
- **Cambus JP, 2002.** Physiologie de l'hémostase, p 2- 3.
- **Caquet R., 2004** :250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9^{ème} Ed), Masson (Paris); p 388-389.
- **Chaa, S et Ziane Cherif, F(2019).** Etude de la phytochimie et des activités antibactériennes et antifongique de l'huile de quelques plantes Médicinales. Mémoire Master: Biochimie. Aïn-Témouchent: Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb, 80 p.
- **Chanforan, C. (2010).** Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechiométrique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate .Thèse de doctorat : Université d'Avignon.
- **Chibane Z, Hideur N(2015).** Mémoire: Effet de la température de friture sur la stabilité thermo-oxydative de l'huile « elio ». Mémoire Master. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri.
- **Codex Alimentarius, 1992.** Food and Agriculture Organisation of the United Nations .WorldHealth Organisation. Oils and related products, Vol 8, via delle terme di Caracalla 00100Rome. Italie.
- **Combe N, Rossignol-Castera A., (2010).** Vegetable oils and frying composition, antibacterial and antifungal properties of Tunisian *Nigella sativa* fixed oil. Cahiers de nutrition et diététique. (45) : 44-51.
- **Couplan, F., Styner, E. (1994).** Guides des plantes sauvages: comestibles et toxiques (1994), Paris, pp : 367-368.
- **Dacosta, Y (2003).** Les phytonutriments bioactifs, Ed Yves Dacosta, Paris, p317.
- **De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W.C.A., Manley, M. (2002)** Phenolic compounds: A review of their possible role as *in vivo* antioxidants of wine. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 23: 48-61.
- **Delille L, 2007.** Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, p122
- **Desagher, S (1998).** Métabolisme, édition : Ellipses, Marketing : 41p.
- **Déthiollaz, S., 2003.** La ricine, une arme biologique. Proline Numéro 8, pp 1-4.
- **Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., IdrissiHassani L.M., Badoc A., Gmira N,2003** : N. , screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, thymelaealythroides. bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142. 61.
- **Ekoumou C .2003** : Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite.Thèse de doctorat. Université de Bamako, P36.

- **Elghozi J.L., Duval D. (1992).** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.
- **François Nsemi,M(2010).**Identification de polyphénols ,évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat : Chimie organique. France : Université Paul Verlaine-Metz, p238.
- **Frenot M et Vierling E (2001).** Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant. Ed : Doin éditeurs, centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.Bordeaux. P297.
- **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. **19**: 835–841.
- **Gentry P A.** Comparative aspects of blood coagulation. *The Veterinary Journal* 2004; 168: 238–251.
- **Ghnimi , W(2015) .** Etude phytochimique des extraits de deux euphorbiacées: (Olsnes et Kozlov, 2001) *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase .These de doctorat : Chimie / Biologie. Bizerte : Université De Carthage (Tunisie) ,225 p
- **Ghnimi W., Dicko A., Khouja M.L., El Ferchichi O.H., (2014).** Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L. *Industrial Crops and Products*. 56: 43-51.
- **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. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**: p1220-1234.
- **Gossa F. et Mekchiche K., 2014.** Extraction et caractérisation physico-chimique des huiles des graines de conifères. Mém. Ing. Agro., univ. Kasdimerbah, Ouargla, 91 p.
- **Grassi, D., Desideri, G., Ferri, C. (2010)** Flavonoids: Antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients*, 2:p 889-902.
- **Guergour,H(2011).**Etude de la toxicité d'huile de *Ricinus communis* L. sur les animaux de laboratoire ,Magister :Biochimie . Sétif: Université Farhat Abbas –Setif-,81p.
- **Guglielmone, H. A., Agnese, A. M., Nùñez, M., Susana, C., Cabrera, J. L. (2002)** Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavonoids from *Flaveria bidentis*. *Thrombosis Research*, 105: 183-188.
- **Guignard, J.L. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France .p 274
- **Hammiche, V., Khadra, M. (2006).**Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol*. 105: 358–367.
- **Harborne, J. B., Williams C.A. (2000)** Advances in flavonoids research since 1992. *Phyto Chemistry*, 55: 481-504.
- **Harper A.H., 1977.** Précis de Biochimie, 4e Ed, Les Presses de l'Université de Laval,Québec, P : 26.

- **Harrys, P.L., 1980.** Pachytène chromosome morphology with reference to sex invisibility in *Ricinus communis* L. pp 320-322.
- **Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002)** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: p 572-584.
- **Ilavarasan, R., Moni, M., Subramanian, V., 2005.** Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* L. root extract. *J. Ethnopharmacol.*, 103, pp 478-480.
- **Jahouach W (2002).**Mémoire: Décoloration des huiles végétales sur des argiles étude de la stabilité physicochimique des huiles décolorées .Mémoire Master. Université de Sfax, 114 p.
- **Kalla A, (2012).** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthoss scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*
- **Kansole, M.M.R. (2009).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown.
- **Karl, M.J., Dan, A., 1965.** Sex inheritance in *Ricinus communis* L.: Evidence for a genetic change during the ontogeny of female sex reversals, 36, pp 253-259.
- **Karleskind A(1992).** Propriétés des corps gras : Manuel des corps gras,
- **Karleskind, A(1992).** Manuel des corps gras. Edition : Lavoisier Tec et Doc, Tome 1 et 2, Paris.
- **Kempf S. Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences Pathologie Biologie : *article in press*.
- **Kraft, K. & Hobbs, C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. 16 p.
- **Lagnika, L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse doctorat .Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- **Larousse. 2001 :** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins. 2ème Edition, Edition Larousse. Paris.
- Lavoisier, Paris. ISBN 2-85206-662-9. P.12-131.
- **Leo, W. D. V. R., Vancutsem, J., Jan Sten, J. (2009):** A survey on the presence of undesirable botanical substances in feed in the European Union. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(S):33-38.
- **Li .H.B; Cheng.K.W; Wong.C.C ; Fan.K.W ; chen.F ; Tian.Y.2007 :** Evaluation of
- **Little, E.L., Woodbury, R.O., Wadsworth, F.H. (1974).** Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agriculture Handbook. 449. U.S. Depart. Agricul. Forest. Serv. Washington, DC. 2.
- **Lobstein, A., 2010.** Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25
- **Louni S (2009).** Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera* .Mémoire Magister : Sciences Agronomiques. École Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach.

- **Malathi, B., Ramesh, S., Venkateswara, K. R., Dashavantha, V. R. (2006).** Agrobacterium-mediated genetic transformation and production of semioleper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica*. 147: 441–449.
- **Manpreet, R. Hitesh, D. Brahat, P. et Shivani, S. (2012).** *Ricinus communis* L. International Journal of Pharm Tech Research, 4(4), 1706-1711 p
- **MDL De Castro (1998).** L'extraction soxhlet des matériaux solide : une technique dépassé à l'avenir innovant promoteur. *Analysa Chimica Acta*, 369(1-2), p1-10.
- **Melecchi MIS, Martinez MM, Abad FC, Zini PP, do Nascimento Filho I, Caramão EB (2002)** Chemical composition of Hibiscus tiliaceus L. flowers: A study of extraction methods. *Journal of Separation Science* 25 (1-2)
- **Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*, 95-121
- **Mezouagh, Z (2016).** Contribution à L'étude physico-chimique des échantillons d'huile de Tournesol et leur mélange. Mémoire Master. Tlemcen Université de Tlemcen, p89.
- **Middleton, E., Kandaswami, C & Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52, p 673-839.
- **Murga, R., Ruiz, R., Beltrán, S. & Cabezas, J. L. (2000).** Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (8), 3408-3412.
- **Nauciel C. (2000).** Bactériologie médicale, Masson(Ed). Paris, 275p
- **Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*, 75, 311-335.
- **N'guessan, K., Kouassi Konan, E., Kouadio, K, 2007.** Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Diabetes, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou People of Agboville (Côte d'Ivoire). *Amer Scires*. 4: 45-58.
- **Nowitz T., Bottet J. 2000 :** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.
- **Oloyede OI. (2005).** Chemical profile of Unripe Pulp of Caricapapaya. *Pak J Nutr*; 4. P379 - 381.
- **Olsnes, S., Kozlov, J.V., 2001.** Ricin. *Toxicon* 39, pp 1723-1728.
- **Pansera, M. R., Iob, G. A., Atti-Santos, A. C., Rossato, M., Atti-Serafini, L. & Cassel, E. (2004).** Extraction of tannins by *Acacia mearnsii* with supercritical fluids. *Brazilian archives of biology and technology*, 47 (6), 995-998.
- **Peeking, A., Picand, B., Hacene, K., Lokiec, F. & Guerin, P. (1987).** Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*, 6, 512-513.
- **Penchev, P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat, université de toulouse. 229p.
- **Petti, S., Scully, C. (2009)** Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of dentistry*, 37:413-423.
- **Pierre, Bertrand, (2004).** Huile végétale un vrai biocarburant.

- **Pietta, P.G. (2000)** Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**: p1035-1042.
- **Polvèche, V(1996)**. La culture du ricin en Europe, Ingénieries – EAT – Numéro 6, pp 49-58.
- **Prat, R., Michèle, M., Vonarx, V., 2005**. Les Fruits : Le Ricin : une capsule déhiscente. Biologie et multimédia, pp 15-17.
- **R. Alloune Et Al, 2012**. Etudes comparatives de deux plantes oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie ; Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa(2012) 19 – 22.
- Ramakrishn, A.A. & Ravishankar, G.A. (2011). **Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants**. *Plant Signaling & Behavior*, **6(11)**, 1-12.
- **Ramanamihaja, F.A (2007)**. Contribution à la production de biodiesel, cas de l'huile de ricin (*Ricinus communis*). Mémoire de D.E.A : Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement, Département génie chimique, École Supérieure Polytechnique, Université d'Antananarivo.
- **Ramiliarisoa, F(2008)** .Optimisation de la transformation de l'huile de friture usagée en biodiesel. Mémoire de D.E.A : Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement, Département génie chimique, École Supérieure Polytechnique, Université d'Antananarivo.
- **Ramprasad, R., Bandopadhyay, R. (2010)** .Future of *Ricinus communis* after completion of the draft genome sequence .Curr. sci. 99(10): 1316-1318.
- **Ribéreau-Garyon.P. 1968** : Les composés phénoliques des végétaux.EditionDunod Paris, p 254
- **Rousset, P., Marion, C., Coelho, F.C., Silva, O., Bélot, J.L., Berthaud, A., Clement, D., Fallot A.,Girard, P., Prades, A., Silvie, P., Vaitilingom, G., Roscoe, R., Energie, I., Bedrossian, C. A., 2008**.Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales, pp 79-85.
- **Saidi,I(2019)**.Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae :*Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse Doctorat : Sciences Biologiques. Sidi Bel Abbès: Université Djillali Liabès, p152
- **Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, F., Ogiwara, T., Satoh, K., Ito, H., Hatano, T., Takashi, Y., Fujisawa, S., 2005**. Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*., **66**, pp 2108 - 2120.
- **Saoula, B et Afif, R(2016)**. Extraction et caractérisation partielle des lectines de *Ricinus communis*. Mémoire Master : Biochimie Moléculaire et santé. Constantine : Université des Frères Mentouri, 56 p
- **Sharma S., Vasudevan P., Madan M., 1991**. Insecticidal value of castor (*Ricinus communis* L.) against termites. *International Biodeterioration*. **27(3)**: 249-254.
- **Stöckigt J., Sheludk Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D. (2002)**.High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography a*, **967 (1)**: p85-113.

- **Sule, M. I., Sani, U. M. (2008)** .Isolation of ricinine from methanol extracts of three different seed varieties of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). *Pharmaceut. Sci.* 7(1): 114 – 118.
- **Tahouo, S F(2016)**. Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes. Thèse Docteur: Pharmacie. Cote D'Ivoire: UFR science pharmaceutiques et biologique, 112 p.
- **Trease E., Evans W.C. 1987**: Pharmacognosy. Billiare.Tindall.London 13 Ed n, 61-62
- **Trochain J., 2016**. Le Ricin (suite). In: Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale, 10^e année, bulletin n°107, 2016. pp. 578-589.
- **Vermeris, W. & Nicholson, R. (2006)**. Phenolic compound Biochemistry, *Springer* .Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB). 284 p.
- **Vogler AE, Siedlecki AC**. Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials* 2009; 30:1857–1869.
- **Wagner H et Bladt S, 1984**. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas Ed Springer, New-York. P 320. antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102,p : 771-776.
- **Wan, H.M., 2006**. Biofuels Republic Brazil, la rapide expansion de l'industrie des biocarburants au Brésil fait peser de sérieuses menaces pour la survie de certaines populations et pour la planète, pp 19-21.
- **Wang L, Weller CL (2006)** recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology* 17 (6):p300-312.
- **William, A.V.M.L., George, J.R., Shiffriss, O., 1967**. Interspersed Sexuality In *Ricinus*, *Genetics*, 57, pp 347-356.
- **Winkel-Shirley, B. (2001)** Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, **126**: 485-493.
- **Wolff, J.P (1968)**. Manuel d'analyse des corps gras.Paris, Azoulay, 1968:517p.
- **Wuyts, N. (2006)**. Interaction entre les nématodes parasites des plantes et les métabolites secondaires des plantes, avec une emphase sur les phénylpropanoïdes dans les racines. *Info Musa*, 15, 1-2.
- **Sites web :**
- <https://naturafro.fr/blog/les-modes-d-extractions-des-huiles-vegetales-n71>.

Annexes

ANNEX 01 :

- Matériel de laboratoire



Laboratoire d'université de
Mila



Spectrophotomètre



Hôte



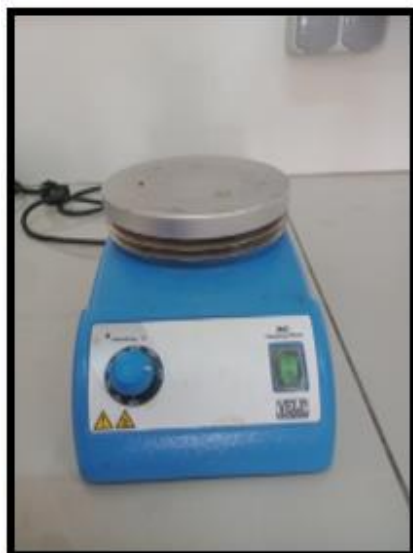
Centrifugeuse



Balance



Etuve



Plaque chauffante



Plaque chauffante
agitatrice



Vortex



Spatule



Balance de précision



Pipette



Broyeur électrique



Densitchek



Bec Bunsen



Laboratoire : Dr. Mirouh.H. à
Ferdjioua.



Micro pipetes



Micro onde



Bain marie



Autoclave



Machine utilisée pour
pressage à froid



Rota vapeur

Tableau I: le matériel de laboratoire

Les verreries	Les solvants	Réactifs
- Flacons - Erlenmeyers - Bécher - Pipettes pasteur - Entonnoir -Eprouvette graduée - Fiole jaugée -verre de montre -burette +support -Pipettes graduée - Boîtes de pétries en verre - Tubes à visse -tube à essai +support -barreau magnétique -ballon à fond rond -Papier filtre de type Wattman -Pince en bois - anse de platine - boîtes de pétrie plastique -pissette -pince	-Ethanol -Méthanol - L'eau distillée - Chlorure de ferrique (FeCl₃) -liqueur de Fehling - Acide chlorhydrique(HCl) -chloroforme (CHCl₃) -Acide sulfurique (H₂SO₄) -Hydroxyde de sodium (NaOH) - Hydroxyde l'ammonium (NH₄OH) -Coupeaux de magnésium -carbonate de sodium (Na₂CO₃) -Acide gallique -Céphaline-kaolin (BIOCK) -chlorure de calcium (CaCl₂) -Thromboplastine calcique (BOI TP) - Mueller Hinton (MH) -L'eau physiologique - Gentamicine (CN10) - Cotrimoxazol(SXT25) -DMSO (dimethylsulfoxide) -Alcool éthylique -phénolphtaléine -Hydroxyde de potassium (KOH) -acide acétique (CH₃COOH) -Iodure de potassium(KI) -Thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) -amidon -Iode	-Réactif de Wagner -Folin de Ciocalteu(FCR)

ANNEX 02 :

1. Réactifs utilisés pour les paramètres chimiques:

• Préparation de la solution d'empois d'amidon :

1 g (d'amidon)  100 ml (Eau distillée tiède)• Préparation de la solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01 N :2,48g ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)  1000ml (Eau distillée)1.24g ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)  500ml (Eau distillée)• Préparation de la solution de soude (NaOH) à 0.1N:0.39g(NaOH)  100ml (Eau distillée)

• Préparation de phénolphtaléine:

0.1g (phénolphthaléine)  100ml (60éthanol /40eau distillée)• Préparation de la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium(KOH) à 0.5N2.80 g (KOH)  100ml (éthanol)• Préparation de la solution d'acide chlorhydrique (HCL) à 0.5 N:4.14ml (HCL) 37%  100ml (Eau distillée)• Préparation de la solution Iodure de potassium (KI) saturée:

Dissoudre trop de soluté (KI) dans un solvant (Eau distillée), seule une partie du soluté sera dissoute et le reste du soluté se déposera au fond du contenant. Ainsi, lorsque la limite de solubilité est atteinte, on dit que la solution est saturée.

2. Réactifs utilisés pour le screening phytochimique :

• Réactif de WAGNER

Iodure de potassium2g

Iode1 ,27g

Eau distilléeqsp 100ml

- **Solution alcoolique de chlorure ferrique FeCl_3 (2%) :**

2g (FeCl_3) → 100 ml (Ethanol)

0, 2 g (FeCl_3) → 10 ml (Ethanol)

- **Solution de chlorure ferrique FeCl_3 (1%) :**

1g (FeCl_3) → 100 ml (Eau distillée)

- **NH_4OH (10%) à partir de NH_4OH (25%) :**

10 ml (NH_4OH) → 30ml (Eau distillée)

- **NaOH (1%) :**

1g (NaOH) → 100ml (Eau distillée)

0,5 g (NaOH) → 50ml (Eau distillée)

- **HCl (10%) :**

10 ml (HCl) → 90 ml (Eau distillée)

1 ml (HCl) → 9 ml (Eau distillée)

- **KOH (10%) :**

10 g (KOH) → 100ml (Eau distillée)

5 g (KOH) → 50ml (Eau distillée)

3. Réactifs utilisés pour le dosage de polyphénols :

- **Réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois :**

1 ml(Folin) → 9 ml (Eau distillée)

- **Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7, 5%):**

7.5g (Na_2CO_3) → 100ml (Eau distillée)

3.75g(Na_2CO_3) → 50ml (Eau distillée)

- **Préparation de la solution mère (d'extrait végétal)**

-Pour le résidu sec méthanolique :

20 mg résidu sec → 20ml (14 méthanol +6 l'eau distillés) → solution mère

-Pour le résidu sec aqueux :

20 mg résidu → 20 ml l'eau distillés → solution mère

- **La préparation de la solution mère (SM) de l'acide gallique:**

10 mg (l'acide gallique)  10ml (7 méthanol et 3 l'eau distillés).

4. Préparation pour activité anticoagulant :

- Pour le résidu sec aqueux :

100mg de résidu (aqueux) +1ml d'eau distillée  solution brut

- Pour le résidu sec méthanolique :

➤ Résidu méthanolique dilué dans le méthanol

100mg de résidu +1ml (méthanol+ l'eau)  solution brut

➤ Résidu méthanolique dilué dans l'eau distillée

100mg de résidu +2 ml l'eau distillée  solution brut

5. Préparation pour activité antibactérien :

- Pour le résidu sec méthanolique :

-Extrait méthanolique brut:

100mg (résidus méthanolique)  1ml (méthanol+ l'eau)

-La dilution $\frac{1}{2}$:

400µl (Extrait méthanolique brut)  400µl (DMSO)

- Pour le résidu sec aqueux :

-Extrait aqueux brut:

100mg (résidus aqueux)  1ml (Eau distillée)

-La dilution $\frac{1}{2}$

400µl (Extrait aqueux brut)  400µl (DMSO)

Annexe 3 : Résultats

1. Dosage de polyphénols

-La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) est effectuée par l'acide gallique

Concentration (mg/ul)	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	méthanol
Solution mère (ul)	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0
Méthanol (ul)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
abs	1.355	1.242	1.05	0.932	0.711	0.611	0.47	0.271	0.217	0

1.2. Dosage de polyphénols (tégument marron)

- Extrait méthanolique

Dilution \ L'absorbance	Avant la dilution	1/2	1/4	1/8
Répétions 1	+1	2.32	1.78	0.836
Répétions 2	+1		1.78	0.836
Répétions 3	+1		1.79	0.837

- Extrait aqueux

Dilution \ L'absorbance	Avant la dilution
Répétions 1	0.280
Répétions 2	0.235
Répétions 3	0.233

1.2. 1. Teneur en polyphénol totaux (tégument marron)

	Ex méth	Ex aq
R1	0.5495	0.1766
R2	0.5495	0.1464
R3	0.5502	0.1451
Moyenne	0.5497	0.156033
Ecart- type	0.0004	0.0178

1.3. Dosage de polyphénol (capsule)

- **Extrait méthanolique**

Dilution L'absorbance	Avant la dilution	1/2	1/4	1/8
Répétions 1	+1	+1	1.43	0.779
Répétions 2	+1	+1	1.42	0.773
Répétions 3	+1	+1	1.42	0.768

- **Extrait aqueux**

Dilution L'absorbance	Avant la dilution
Répétions 1	0.326
Répétions 2	0.310
Répétions 3	0.311

1.4. Teneur en polyphénol totaux (capsule)

	Ex méth	Ex aq
R1	0,5113	0,2075
R2	0,5073	0,1967
R3	0,5039	0,1974
Moyenne	0,5075	0,200533
Ecart- type	0,003704	0,006043