



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Optimisation des conditions d'extraction des composés
phénoliques chez *Thapsia garganica* L.**

Présenté par : Manal BENKADDOUR

Soutenu le : 16/09/2019

Devant le jury :

Président : M. Nabil BENYOUCEF MCB
Directeur : M. Rédha DJENIDI Professeur.
Examinatrice : M^{me} Sabah BOUMERFEG Professeur.

Année universitaire : 2018/2019



Remerciements

*Tout d'abord, je tiens à remercier **Dieu** de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de Master et pouvoir réaliser ce travail de recherche.*

*Je remercie **Dr. Nabil BENYOUCEF**, MCB d'avoir bien voulu accepter de présider le présent jury de soutenance.*

*Je voudrais remercier mon directeur de mémoire le **Professeur Rédha DJENIDI**, pour sa patience, sa disponibilité, sa confiance et pour ses remarques et ses conseils.*

*Je n'oublierai pas de remercier **Professeur Sabah BOUMERFEG**, examinatrice, qui a bien voulu juger et apprécier ce travail*

*Un grand merci Au **Dr. Fahima FELLAH**, MCB, pour ses judicieux conseils et son aide qui ont facilité l'achèvement de mon travail.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à **mes parents** pour leur soutien moral et intellectuel et leurs encouragements tout au long de mon parcours de formation.*

*Je remercie également tous mes professeurs qui m'ont enseigné durant mes études et tous les techniciens du laboratoire, précisément **M. Nasreddine MEKHOUKH**.*

*Enfin, je remercie **mes sœurs** et **mes amies** pour leur soutien inconditionnel et leurs encouragements qui étaient d'une grande aide.*



Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes parents, Mohammed Rédha et Fatiha qui m'ont soutenu et encouragé durant mes années d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

A mes frères et mes sœurs surtout Nesrine : ils m'ont chaleureusement supporté lors de la réalisation de ce travail

A ma grande famille, du grand au petit, surtout ma tante Souad

A tous mes amis, surtout Karima BENMECHAIA, qui me donnent de l'amour et de la vivacité

A tous mes amis d'enfance et le long de mon parcours scolaire et universitaire

A tous mes enseignants, de l'école primaire jusqu'à l'université

A tous ceux que j'aime

Manal

Liste des figures

Figure 1 :	Photographie (A) et dessin représentatif (B) de <i>Thapsia garganica</i> L.....	4
Figure 2 :	Facteurs inflammatoires et stress oxydatif chez les hémodyalisés.....	9
Figure 3 :	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie.....	10
Figure 4 :	Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir).....	12
Figure 5 :	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.....	14
Figure 6 :	Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (a) et structure chimique des acides hydroxycinnamiques (b).....	15
Figure 7 :	Structure générale des flavonoïdes.....	16
Figure 8 :	Photographie de la plante <i>Thapsia garganica</i> L. à Tasarat Mansoura.....	18
Figure 9 :	Protocole d'établissement du pouvoir réducteur et de la courbe d'étalonnage.....	22
Figure 10 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	23
Figure 11 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le pouvoir réducteur	24
Figure 12 :	Effet du type de solvant sur le dosage des polyphénols totaux dans le protocole d'extraction.....	24
Figure 13 :	Variation du type de solvant d'extraction pour le pouvoir réducteur.....	25
Figure 14 :	Dosage des polyphénols totaux en fonction de la concentration de l'acétone.....	26
Figure 15 :	Pouvoir réducteur en fonction de la concentration du solvant	27
Figure 16 :	Effet de la quantité de poudre de la plante sur le rendement d'extraction des polyphénols.....	28
Figure 17 :	Pouvoir réducteur en fonction de la quantité de poudre.....	29
Figure 18 :	Représentation graphique des variations de la durée d'agitation sur l'extraction des polyphénols.....	29
Figure 19 :	Effet du temps d'extraction sur le pouvoir réducteur.....	30
Figure 20 :	Variation de la température dans le protocole d'extraction des polyphénols totaux.....	31
Figure 21 :	Effet de la température sur le pouvoir réducteur dans le protocole d'extraction.....	32

Tableau. N°	Liste des tableaux	Page
Tableau 1	Classification botanique de <i>Thapsia garganica</i> L	4
Tableau 2	Principaux modes d'action de quelques antioxydants	11

Liste des Abréviations

- 1O₂** : Oxygène singulet
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- EAG** : Equivalent acide gallique
- ED** : Eau distillée
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

- HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance
- H₃PMo₁₂O₄₀** : Acide phosphomolybdique
- H₃PW₁₂O₄₀** : Acide phosphotungstique
- H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène

- MS** : Matière sèche

- GC-FID** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Détecteur à Ionisation de Flamme

- **GC /MS** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

- O₂^{•-}** : Anion superoxyde
- OH[•]** : Radical hydroxyle
- ONOOH** : Nitroperoxyde

- PPT** : Polyphénols totaux

- **RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

- ROO[•]** : Radical peroxidique

- ROOH** : Hydroperoxydes organiques en alcools

- TCA** : Acide trichloracétique

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I.1. Généralités sur <i>Thapsia garganica</i> L.....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Répartition géographique.....	3
I.1.3. Caractéristiques de <i>Thapsia garganica</i> L	3
I.1.4. Usages médicaux et propriétés biologiques de <i>Thapsia garganica</i> L.....	5
I.1.5. Autres usages de <i>Thapsia garganica</i> L	6
I.1.6. Composition chimique de <i>Thapsia garganica</i> L.....	7
I.2. Stress oxydatif.....	8
I.2.1. Définition.....	8
I.2.2. Les radicaux libres.....	9
I.2.3. Les antioxydants.....	10
I.3. Généralité sur les composés phénoliques.....	13
I.3.1. Biosynthèse des composés phénoliques.....	13
I.3.2. Classification des structures phénoliques.....	14

I.3.3. Propriétés des polyphénols.....	17
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	18
II.1. Préparation du matériel végétal.....	18
II.2. Mode opératoire.....	19
II.3. Analyse statistique.....	22
CHAPITRE III : RESULTATS	23
III.1. Courbes d'étalonnage.....	23
III.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	23
III.1.2. Pouvoir réducteur.....	23
III.2. Choix du solvant d'extraction	24
III.2.1. Polyphénols totaux.....	24
III.2.2. Pouvoir réducteur.....	25
III.3. Choix de la concentration du solvant d'extraction.....	26
III.3.1. Polyphénols totaux.....	26
III.3.2. Pouvoir réducteur.....	27
III.4. Optimisation de quantité du poudre (rapport solide/liquide).....	28
III.4.1. Polyphénols totaux.....	28
III.4.2. Pouvoir réducteur.....	28
III.5. Optimisation du temps d'extraction.....	29
III.5.1. Polyphénols totaux.....	29
III.5.2. Pouvoir réducteur.....	30
III.6. Détermination de la température.....	31

III.6.1. Polyphénols totaux.....	31
III.6.2. Pouvoir réducteur.....	32
CHAPITRE IV : DISCUSSION.....	33
Conclusion générale et perspectives.....	38

Références bibliographiques

Résumés

Introduction

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines et animales grâce à leur richesse en composants de valeur thérapeutique. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les différentes pathologies. Parmi ces métabolites on peut citer les composés phénoliques (**Khadhri, 2013**). Elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Larousse, 2001**).

De nombreux processus physiologiques et biochimiques dans l'organisme humain peuvent produire des espèces réactives oxygénées (ERO). La surproduction de ces radicaux libres cause des dommages aux biomolécules (lipides, protéines et acides nucléiques), en conduisant éventuellement à plusieurs maladies chroniques, telles que l'athérosclérose, le cancer, le vieillissement et d'autres maladies dégénératives (**Cai et al., 2004**). Le stress oxydant est au centre de ces nombreuses pathologies par l'intermédiaire de la dénaturation de nos molécules vitales biologiques (**Da Silva, 2004**). En s'appuyant sur cette vision, un renouveau de la phytothérapie vers cette vague verte qui produit une foule d'antioxydants afin de contrer et piéger ces oxydants (**Mghezzi et al., 2016**).

Les métabolites secondaires d'origine végétale font l'objet de nombreuses recherches dans la lutte contre le stress oxydatif, notamment dans la recherche de nouvelles molécules antioxydantes telles que les composés phénoliques auxquels on attribue différentes propriétés biologiques (**Berri, 2011**).

Les avantages liés à la consommation des plantes contenant ces métabolites secondaires sont associés à leur activité antioxydante (**El Hajaji et al., 2011**).

Thapsia garganica L. occupe une place privilégiée dans le traitement de certaines pathologies. En effet, les racines ont déjà été utilisées pour le traitement des maladies pulmonaires, la cataracte et les arthrites rhumatoïdes (**Nelson et Stoltz, 2007**). Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle locale comme cataplasme afin de calmer les douleurs articulaires (**Meddour, 2012**).

L'objectif de ce travail porte sur l'optimisation des paramètres d'extraction des polyphénols de *Thapsia garganica* L., et est divisé en trois parties :

- Première partie : Synthèse bibliographique comportant des généralités sur la plante étudiée, les composés phénoliques et l'activité antioxydante.
- Deuxième partie : Description du matériel biologique, des méthodes et techniques utilisées, ainsi que les résultats obtenus.
- Troisième partie : Discussion.

L'étude s'achève par une Conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus, les perspectives d'avenir, et les références bibliographiques.

I. Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur *Thapsia garganica* L.

I.1.1. Définition

Thapsia garganica L. (Adheryis en Kabyle et Bounafaa en Arabe) est une espèce végétale poussant spontanément en Algérie, appartenant de la Famille des Apiacées. Endémique des pays du Maghreb (**Boudghene-Stambouli, 2015**). *Thapsia garganica* L. est une plante vénéneuse typiquement méditerranéenne qui pousse en Afrique du Nord, et considérée comme étant une plante médicinale aux mille vertus. (**Gómez, 2007**).

D'après **Lauzer (1868)**, le nom *Thapsia garganica* L. est composé de deux mots :

- **Thapsia** : tiré de l'île de Thapsos où elle a été découverte pour la première fois.
- **Garganica** : épithète donné par rapport au nom d'une montagne en Italie : Gargano, où elle se trouve en abondance.

I.1.2. Répartition géographique

Thapsia garganica L. est présente au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Lybie (**Dobignard et Chatelain, 2010, 2011**) mais aussi en Turquie, en Espagne, au Portugal en Italie et en Grèce (**Hand, 2011**).

Dans la région de l'Achach, au Maroc, elle apprécie les clairières forestières, les pâturages sablonneux et rocailleux, les steppes, les plaines et les basses montagnes (**Bammi et Douira, 2004**).

I.1.3. Caractéristiques de *Thapsia garganica* L.

I.1.3.1. Classification botanique

La systématique botanique permet de classer *Thapsia garganica* L. (**Tab.1**) après une consultation le 14 Juillet 2015 par Tropicos dans une base de données de taxinomie des espèces (**Tropicos, 2015**).

Tableau 1 : Classification botanique de *Thapsia garganica* L. (Tropicos, 2015).

Règne	Plantae
Classe	Equisetopsida
Sous- classe	Magnoliidae
Super- Ordre	Asteranae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Thapsia
Espèce	<i>Thapsia garganica</i> L

I.1.3.2. Description

C'est une plante vivace avec une tige striée, ramifiée dans sa partie supérieure, d'une hauteur qui varie entre 90 et 140 centimètres. Ses feuilles sont petites et elliptique. Son inflorescence forme de grandes ombelles (**Fig. 1**) et sa racine est noirâtre (**Pottier-Alapetite, 1979 ; Cazin, 1868**).

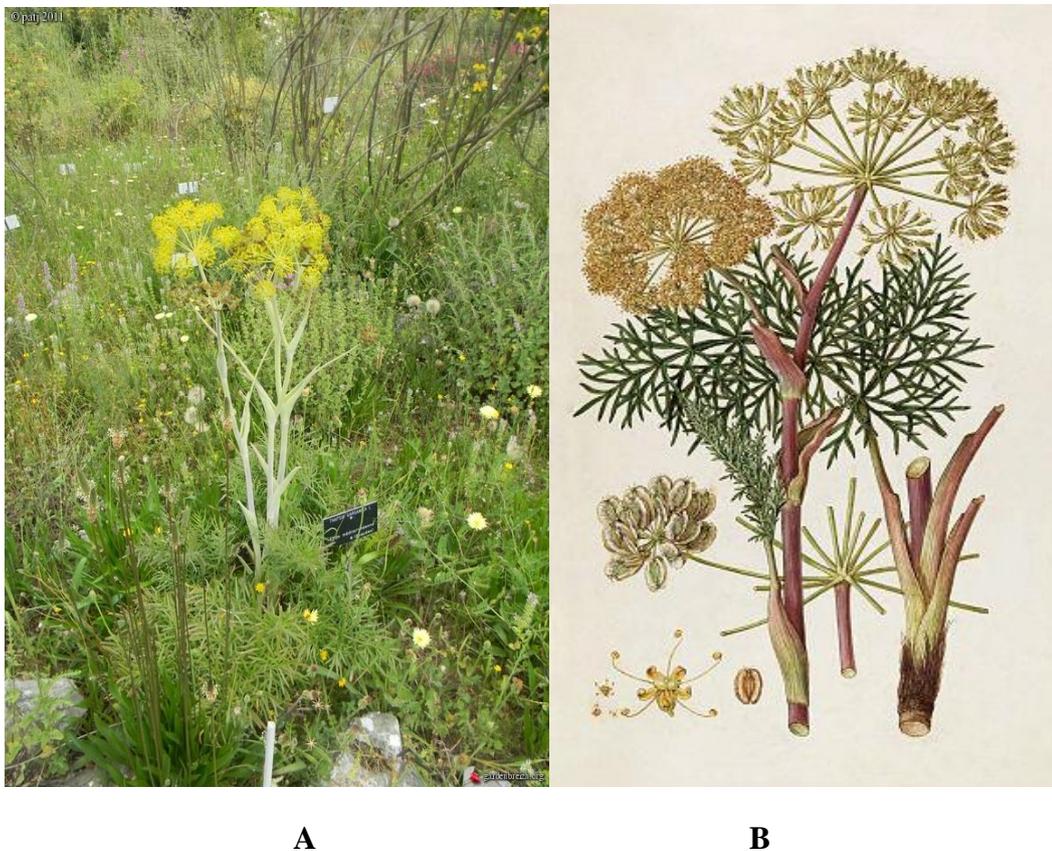


Figure 1 : Photographie (A) et dessin représentatif (B) de *Thapsia garganica* L. (**Patj, 2011 ; Sibthorp, 1787**).

I.1.3.3. Partie utilisée de la plante

Lorsque l'on déchire ou que l'on rompt une partie quelconque de la plante, il en sort un suc blanc, laiteux et peu abondant. C'est dans l'écorce de la racine que l'on en trouve le plus (**Reboulleau, 1856**).

Le suc extrait à partir de la racine de cette plante agit sur les téguments comme attractif, il forme un topique qui efface les meurtrissures, mais au bout de deux heures d'application, l'emplâtre doit être enlevé et l'endroit doit être aussitôt lavé avec de l'eau salée et chaude (**Lucas et al., 1867**). Pris par voie orale, ce suc sollicite le vomissement et purge. Il convient dans les asthmes, les pleurésies chroniques et dans la goutte (**Lauzer, 1868**).

La plante était employée dans certains cas par les médecins, mais toujours pour l'usage externe, en cataplasme, contre les pertes temporaires des cheveux. De même, une huile composée de vin, d'huile d'olive, de feuilles de romarin et de racine de thapsia est employée contre les rhumatismes (**Leleux, 1857**).

I.1.4. Usages médicaux et propriétés biologiques

Thapsia garganica L. est une plante médicinale répandue dans la thérapeutique traditionnelle. Elle est connue pour ses effets diurétiques, émétiques et purgatifs. La plante a été toujours considérée comme spécifique dans le traitement de la douleur, mais la prudence est recommandée car elle est toxique pour certains Mammifères. La plante est également fortement rubéfiante, produisant des cloques et des démangeaisons intenses (**Ladjet et al., 2011**).

La plante est utilisée pour combattre les toux et les bronchites rebelles ainsi que les rhumatismes, la rage et la stérilité féminine. On l'utilise également, mélangée à de la farine et à du son, en cataplasmes, contre les morsures d'animaux venimeux ou enragés (**Bammi et Douira, 2002**).

En Algérie, traditionnellement, *Thapsia garganica* L., après exsudation d'un suc visqueux obtenu sur des charbons ardents, est frictionnée sur la peau en guise de révulsif (**Reboulleau, 1856**).

Thapsia garganica L. est utilisée au printemps pour préparer un plat traditionnel, en Kabylie, qui est le couscous cuit à la vapeur d'une décoction de racines épluchées et écrasées avec laquelle les œufs sont aussi mis à bouillir (**Genevois, 1975**). Cette racine possède des vertus thérapeutiques de type vaccin, comme cela a été prouvé, car c'est un véritable médicament qui a la vertu de renforcer le système immunitaire et de combattre les allergies

telles que le rhume des foins. Elle possède encore bien d'autres vertus, particulièrement celle de guérir toutes les maladies intestinales. Elle aurait aussi des vertus anti-stérilité. Pour ceux qui y croient elle guérirait des maladies psychiques (**Gómez, 2007**).

La thapsie est également utilisée comme anti-irritant pour le soulagement des douleurs rhumatoïdes (**Ali et al., 1985 ; Srikrishna et Anebousevly, 2009**) et dans le traitement des maladies pulmonaires et le catarrhe (**Nelson et Stoltz, 2008 ; Srikrishna et Anebousevly, 2009**). *Thapsia garganica L.* est à l'origine de la drogue G202, testée actuellement avec de bons résultats contre le cancer de la prostate, du sein et du foie (**Wasta, 2012**).

I.1.5. Autres usages de *Thapsia garganica L.*

Dans la région de la Grande Kabylie en Algérie, les bulbes de cette plante sont utilisés pour la pêche en rivière. Après avoir pilé les bulbes, la pâte obtenue est dispersée à la surface de l'eau formant un étang de préférence. Au bout de quelques minutes, la macération agit sur les poissons et les anguilles en les endormant. Ils remontent alors à la surface du plan d'eau où il suffit de les ramasser. Mais le plus remarquable est le fait que cette plante est la base d'une préparation culinaire (Adheryis) que les Berbères organisent chaque début de printemps (**Wasta, 2013 ; Meddour, 2012**).

I.1.5.1. Usage alimentaire

Meddour (2012) rapporte divers usages alimentaires de *Thapsia garganica L.* en Kabylie : les bulbes mis à bouillir servent à préparer un mets typique pour la célébration du 1^{er} jour du printemps berbère : le couscous au Thapsia ou *seksou udheryis*. Le couscous seul est consommé (et pas les bulbes) pour ses vertus digestives et tonifiantes. Le même auteur ajoute d'autres emplois de la thapsie : en usage externe, le bulbe trempé dans de l'huile d'olive sert à masser les mamelles des animaux pour son effet galactogène. La thapsie a également la propriété de "gonfler" la peau, ainsi les vendeurs de bétail malhonnêtes en frottent leurs animaux avant de les vendre.

I.1.5.2. Usage agricole

Les Arabes employaient la thapsie en tant que topique sur certaines affections articulaires des chevaux grâce à un onguent composé de la racine et de goudron (**Soubeiran, 1870**).

Un usage agronomique notoire est celui de déposer des feuilles de thapsie sur les arbres fruitiers et les vignes au moment de la floraison ; elles évitent ainsi l'avortement des fleurs et

la chute précoce des fruits. Comme le contact direct des feuilles vertes provoque une dermatite, les paysans se protègent les mains avec de l'huile d'olive (Meddour, 2012).

I.1.6. Composition chimique de *Thapsia garganica* L.

➤ Composés phénoliques

Djeridane *et al.*, (2007) ont montré que la composition phénolique des extraits éthanoliques de *Thapsia garganica* L. était relativement faible, soit de 2,5 mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche. L'analyse par HPLC de ces extraits a révélé que les flavonoïdes représentent 98% (m/m) des composés phénoliques totaux avec une détection de la quercétine, et que les dérivés de l'acide hydroxycinnamique en représentent 2% (m/m). Par contre, les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont inexistants. Liu *et al.* (2006) ont quant à eux, montré l'existence d'esters de phénylpropanoïdes dans les extraits de *Thapsia garganica* L. Les flavonoïdes et anthocyanines sont dominants chez les fleurs, alors que les tannins condensés sont majoritaires dans les racines (Berri *et al.*, 2011).

➤ Composés terpéniques

La composition chimique des huiles volatiles obtenues à partir des racines, des feuilles, des fleurs et des tiges de *Thapsia garganica* L. d'origine tunisienne a été étudiée par des analyses GC-FID et GC/MS. Les hydrocarbures sesquiterpéniques et monoterpéniques oxygénés étaient prédominants dans les huiles de toutes les parties de la plante. Le bicyclogermacrène (21,59 – 35,09 %) était le composant principal de la première classe de composés, tandis que le géraniol représentait 3,31 – 14,84 % et le linalol : 0,81 – 10,9 % et étaient les plus importants de la dernière classe de composés (Hassen *et al.*, 2015).

Les racines contiennent principalement les constituants volatils suivants : les lactones sesquiterpènes, δ -cadinène, α - et δ -guaïène, élémol, guaiol et la thapsigargine (Drew *et al.*, 2012).

Ali *et al.* (1985) ont montré que la thapsigargine est capable d'induire la libération d'histamine de diverses cellules (classées par ordre de sensibilité : mésentère, poumon et cœur). Cette propriété est à l'origine du caractère vésicant, mais aussi de l'intoxication humaine si elle est consommée par voie orale. Elle inhibe les protéines membranaires qui pompent le calcium à l'intérieur du réticulum endoplasmique. Couplée à un peptide, c'est une prodrogue qui peut cibler les cellules du cancer de la prostate et, après activation de la molécule, et les tuer par apoptose (Winther *et al.*, 2010).

➤ Les huiles essentielles

L'huile essentielle extraite des racines contient principalement de l'élémicine (54 à 73 %) et de la latifolone (20 à 32 %) (**Avato et Rosito, 2002**).

Les huiles essentielles ont été extraites de l'écorce de racine de *T. garganica L.* par hydrodistillation. Trente-sept composés représentant 97,01% de la composition totale de l'huile ont été identifiés par CG-MS. Parmi ces composés, la myristicine, la beta-thujone et l'élémicine étaient les composants dominants représentant 15,07%, 14,86% et 13,06% du total, respectivement. Il n'a pas été signalé d'autre cas de B-thujane en tant que constituant majeur de *Tapsia garganica L.* (**Avato et Rosito, 2002**).

I.2. Stress oxydatif

I.2.1. Définition

Les ERO (Espèces réactives oxygénées) sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (**Halliwell et Gutteridge, 1989**). Ainsi, à l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre. Cependant cette homéostasie rédox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose), soit par une diminution des capacités antioxydantes (chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs). On parle alors de stress oxydant (**Migdal et Serres, 2011**). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels (**Bensakhri, 2018**), il peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement (**Fig.2**) comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires et le diabète (**Haleng et al., 2007**). Le stress oxydant intervient dans toutes les phases du développement de l'athérosclérose et de multiples manières. On peut citer les effets mitogéniques des LDL oxydées, les propriétés chimiotactiques et génotoxiques des produits de la peroxydation lipidique, la formation d'advanced glycation end-products et la production de monoxyde d'azote. Par ailleurs, le stress oxydant est une conséquence majeure de l'ischémie myocardique (**Baudin, 2006**).



Figure 2 : Facteurs inflammatoires et stress oxydatif chez les hémodyalisés (Belaiche et Boujraf, 2016).

I.2.2 Les radicaux libres

Les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (Goudable et Favier, 1997). Les radicaux libres sont omniprésents dans la vie des Mammifères. Ils portent un rapport électron-proton non équilibré, ce qui leur confère une affinité très active pour les composants cellulaires et une grande variété d'impacts sur les processus oxydo-réducteurs, nécessaires au développement des organismes vivants. Ils se forment en permanence et prennent naissance, en particulier, lorsque des électrons s'échappent de la chaîne respiratoire et se combinent à l'oxygène (Aurousseau, 2002).

En biologie, parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie : les radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Fig.3) (Favier, 2003)

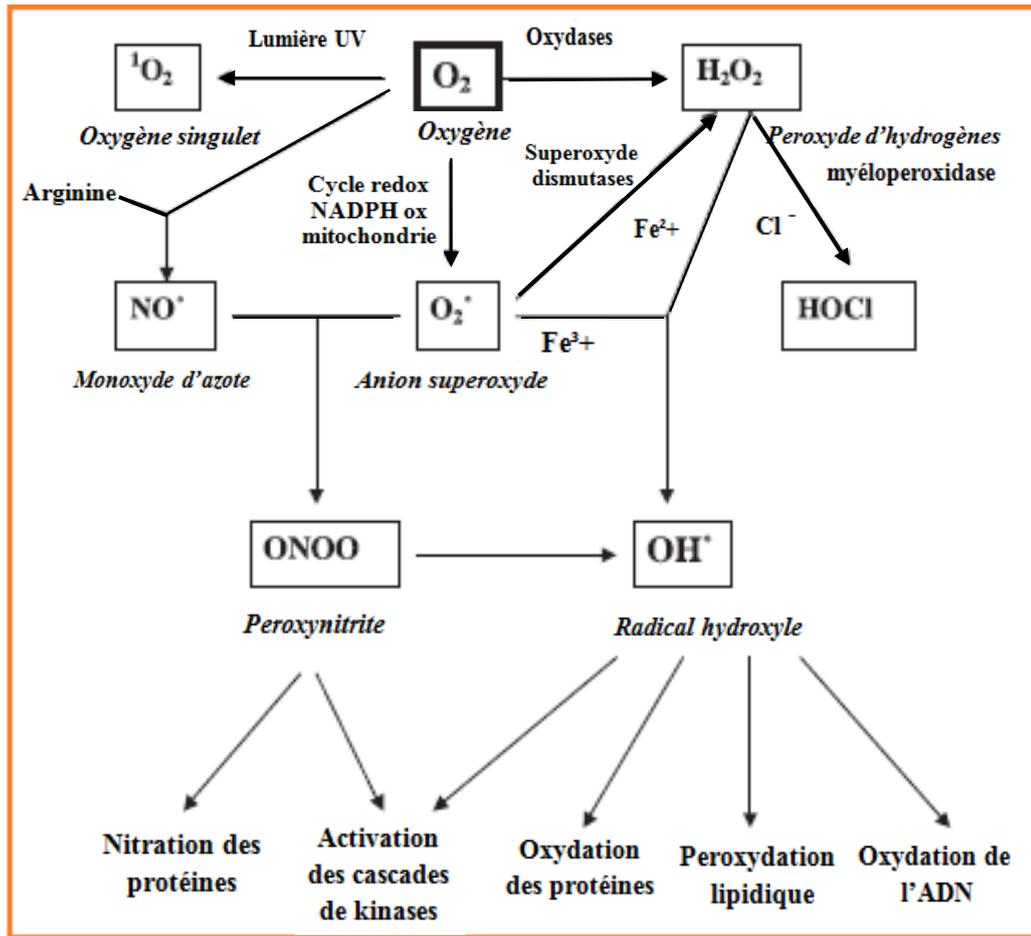


Figure 3 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives l'oxygène impliqués en biologie (Djouadi et Touhami , 2012).

I.2.3. Les antioxydants

➤ Définition

Les antioxydants sont des substances naturellement présentes dans l'organisme végétal et animal (dont l'homme), capables de le protéger d'influences néfastes, notamment des réactions d'oxydation également appelées stress oxydatif (Berger et Chioléro, 2001).

Les systèmes antioxydants sont soit des molécules qui captent rapidement les ERO (antioxydants proprement dits), soit des systèmes enzymatiques qui catalysent la conversion des molécules pro-oxydantes (Negres Salvayre et Salvayre, 2005).

L'organisme est équipé de tout un système complexe de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (Berger, 2006).

➤ **Les polyphénols**

Les polyphénols, groupe de molécules de structures variées, trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie. Ils suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention des maladies liées au vieillissement (**Hennebelle *et al.*, 2004**).

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique leur nom, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes. (**MeSH database, 2015**)

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Stanley *et al.*, 2003**). En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer (**Chen *et al.*, 2004**), des maladies inflammatoires (**Laughton *et al.*, 1991**), cardiovasculaires (**Frankel *et al.*, 1993**) et neurodégénératives (**Orgogozo *et al.*, 1997**). Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**ISANH, 2006**).

➤ **Mécanisme d'action des antioxydants**

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydante dont les mécanismes d'action sont différents (**Tab. 2**) (**Pastre, 2005**).

Tableau 2. Principaux modes d'action de quelques antioxydants (Pastre, 2005).

	NATURE	MODE D'ACTION
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	
	Vitamine C	
	Bêta carotène	Fixation des métaux de Transition
	Ubiquinone, acide urique...	
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et sur les hydroperoxydes

Un antioxydant est une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir le phénomène d'oxydation en augmentant le temps au bout duquel il y a une altération décelable du produit (**Hamza et al., 2013**). L'antioxydant peut agir de trois manières différentes (**Karray et al., 2013**) :

- En inhibant la formation des radicaux libres, on parle d'antioxydant de rupture de chaîne désigné aussi sous forme d'« antioxydant vrai ».
- En fixant directement l'oxygène préférentiellement dans la phase de propagation.
- En chélatant les métaux catalyseurs d'oxydation, on parle alors d'« antioxydant secondaire » (**Fig. 4**).

Pour que l'antioxydant (AH) soit très actif, il est nécessaire que le radical qui en dérive (A°) soit plus stable que le radical lipidique (RO° ou ROO°) ou soit facilement transformé en un produit stable. C'est ainsi que les antioxydants les plus actifs sont de nature phénolique. En effet, ils donnent naissance à des radicaux très stables suite à la délocalisation de l'électron célibataire sur le noyau aromatique correspondant (**Medjoujda, 2014**).

En ce qui concerne les antioxydants secondaires, ils agissent soit en chélatant les métaux ou bien en captant l'oxygène. C'est ainsi que la chélation des ions métalliques diminue l'effet pro-oxydant de ces ions et augmente l'énergie d'activation des réactions d'initiation bloquant ainsi les réactions radicalaires d'oxydation (**Hamza-Karray, 2013**).

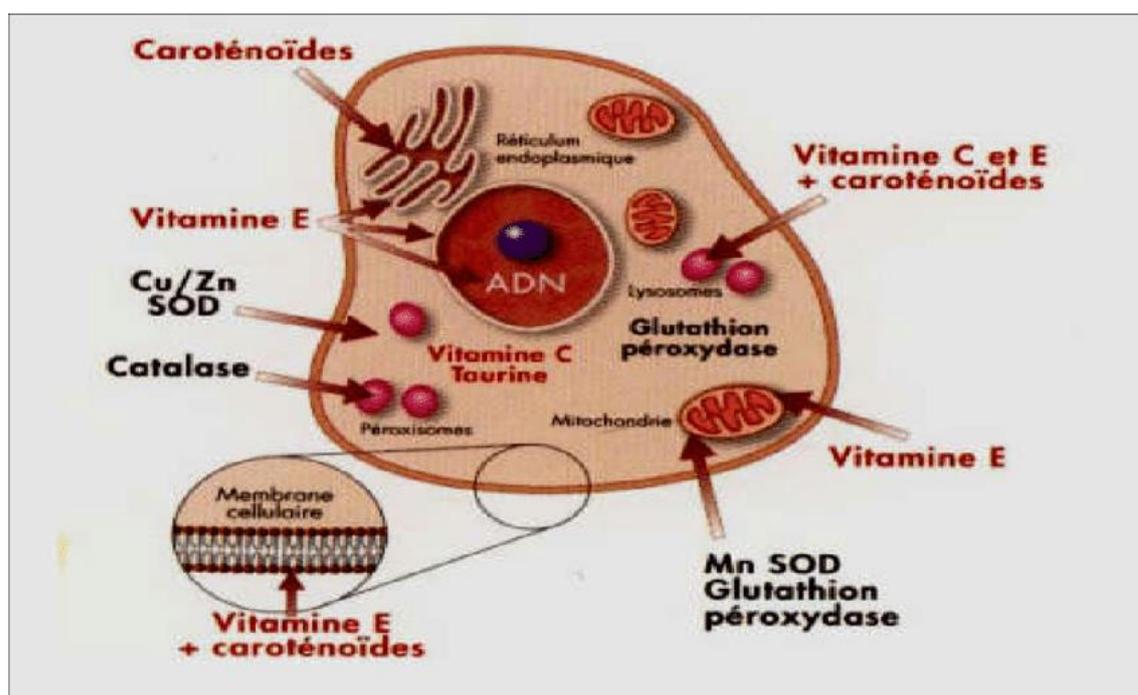


Figure 4 : Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir) (OPARA, 2002).

I.3. Généralités sur les composés phénoliques

Le terme « polyphénols » a été introduit en 1980, en remplacement de l'ancien terme de « tanin végétal ». L'expression « composés phénoliques » est aussi employée avec la même valeur (**MeSH database, 1980**).

Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La désignation « polyphénols » est consacrée par l'usage et, alors qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs fonctions hydroxyle phénolique, elle est habituellement utilisée pour l'ensemble de ces composés (**Sarni-Manchado, 2006**).

I.3.1. Biosynthèse des composés phénoliques

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir de trois voies biosynthétiques (**Fig. 5**) :

- **Voie des shikimates** : c'est la voie la plus courante, elle convertit les oses en acides aminés aromatiques, puis il y a désamination de ces derniers en acides cinnamiques et à leurs dérivés: coumarines, lignines et lignanes (**Brunetto, 1999**).

- **Voie des acétates** : qui conduit à des poly B-coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy- 1,8 anthraquinones ou les nophthoquinones (**Manallah, 2012**).

- **Voie des phénylpropanoïdes** : elle commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, précurseurs de la lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**Hoffmann et al., 2004**).

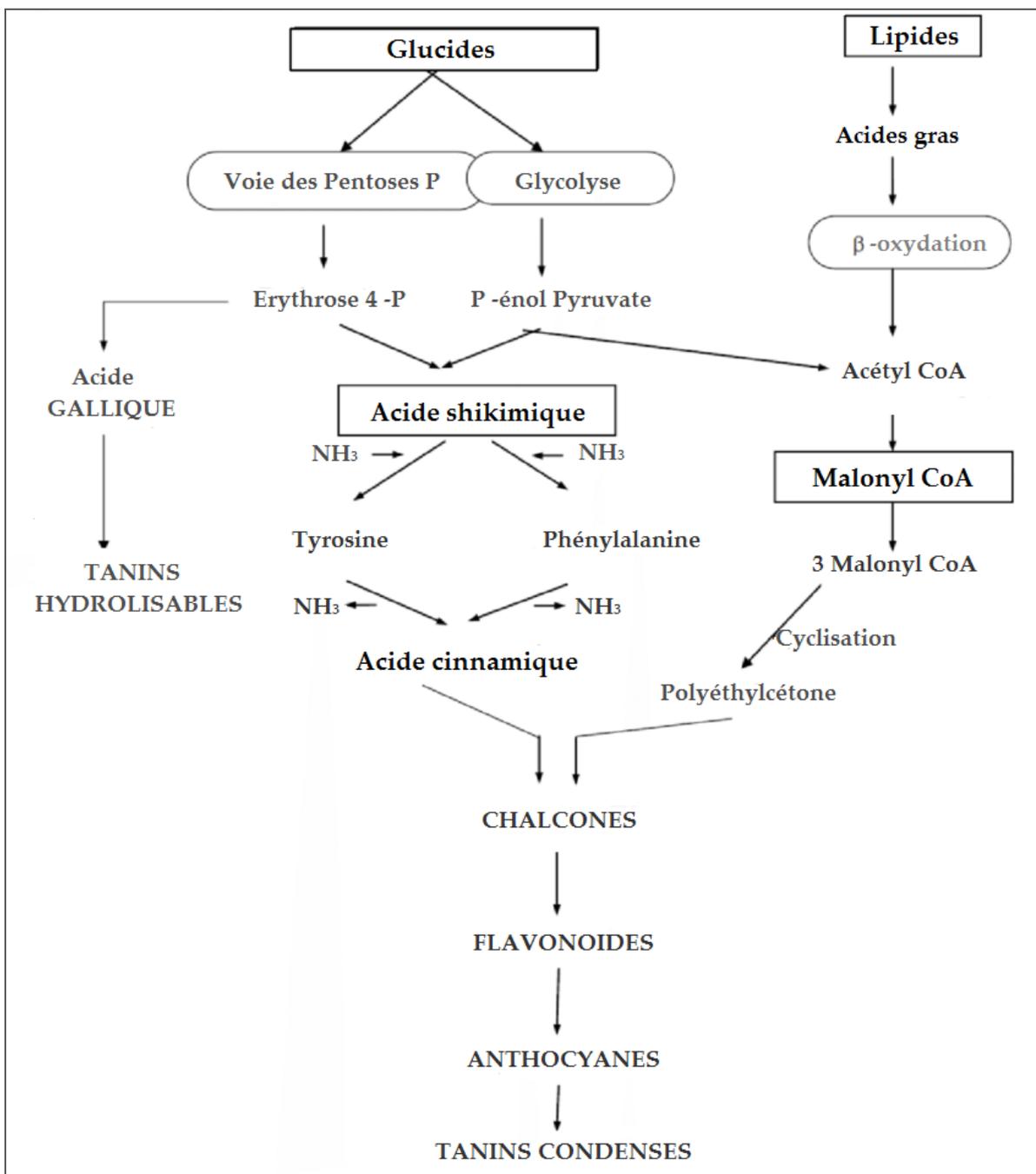


Figure 5 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Med Chaouche, 2014)

I.3.2. Classification des structures phénoliques

Les polyphénols naturels peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Daltons, comme les tanins (acide tannique). Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques et coumarines, en naphtoquinones, en stilbénoides (deux cycles en C_6 liés par deux atomes de carbone), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et

anthocyanes, et en formes polymérisées : lignanes, lignines, tanins condensés ces squelettes carbonés de base sont issus du métabolisme secondaire des plantes, élaborés par la voie du shikimate (**Dewick, 2012**).

I.3.2.1. Polyphénols simples

➤ **Acides phénoliques**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes, les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1) (**Fig. 6 a**) et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6- C3) (**Fig. 6 b**) (**Iamarene et Mekhazni, 2016**).

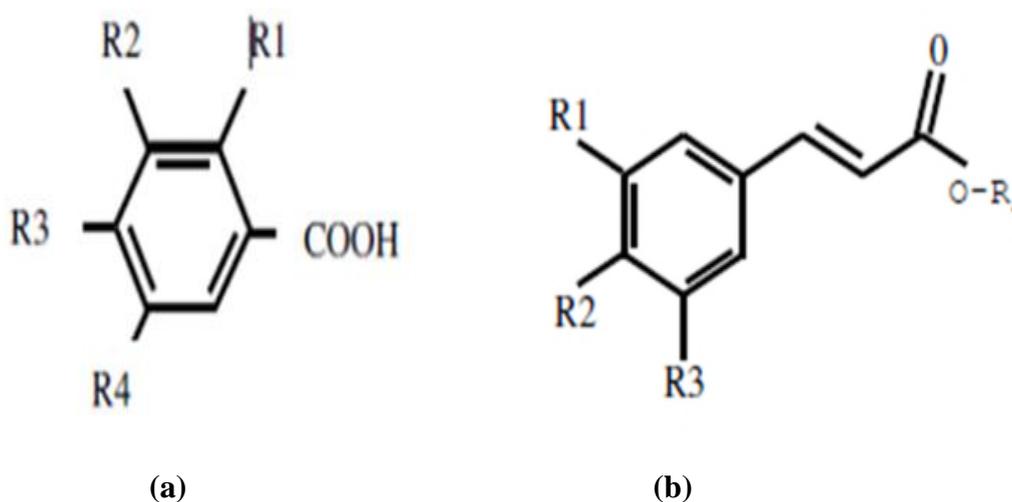


Figure 6 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (a) et structure chimique des acides hydroxycinnamiques (b). (**Iamarene B et Mekhazni L, 2016**).

a) Acides hydroxycinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique. Ils ont une structure générale de base de type (C6-C3) et sont souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (**Brianceau, 2015**).

b) Acide hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C-C). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Berra, 2015**).

➤ Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme latin flavus (jaune) (Malešev et Kuntić, 2007). Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes (Lhuillier, 2007). Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées chez les plantes (Medić-Šarić *et al.*, 2004). Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base à quinze atomes de carbones (Fig. 7) qui sont arrangés en une configuration C6-C3-C6 (Belyagoubi-Benhammou, 2012 ; Bruneton, 1999).

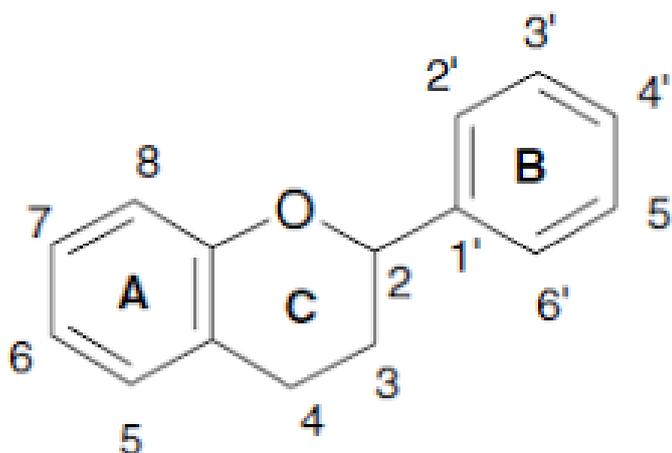


Figure 7 : Structure générale des flavonoïdes (Balasundram *et al.*, 2005).

I.3.2.2. Polyphénols complexes

➤ Les tanins

Les tanins ont le potentiel d'être la classe la plus importante des métabolites secondaires dans la défense des plantes contre l'herbivorie. Ils sont généralement considérés comme une substance défensive généralisée dont les effets néfastes ne sont que très peu dépendants de la structure moléculaire (Hagerman *et al.*, 1992).

➤ Les lignines

Ces composés de haut poids moléculaire servent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (Bendjabeur, 2012).

I.3.3. Propriétés des polyphénols

Les polyphénols semblent jouer un rôle important à la fois dans la protection contre le cancer et les maladies cardio-vasculaires (**Habauzit et Morand, 2012**). L'action protectrice contre le cancer s'expliquerait par un mécanisme assez semblable à celui des prébiotiques par leur capacité à sélectionner un type particulier de microbiote, en particulier pour les cancers du système digestif (estomac, colon, etc.) (**Tugba Ozdal, 2016**).

II. Matériel et méthodes

II.1. Préparation du matériel végétal

Cette étude a porté sur *Thapsia garganica* L., une espèce de plante de la Famille des Apiacées. (Fig. 8).



Figure 8 : Photographie de la plante *Thapsia garganica* L. à Tasarat. Mansoura (2019)

II.1.1. Récolte de la plante

Les deux parties de *Thapsia garganica* L. (feuilles et racines) ont été récoltées au mois de décembre 2018 dans le village de Mansoura, à Bordj Bou Arreridj, située à 45 km du chef lieu de la wilaya, loin de tout impact de pollution. Après la récolte, les racines de la plante sont séparées des tiges et sont ensuite bien lavées pour les débarrasser de la terre, et découpées en rondelles.

II.1.2. Séchage :

Un premier séchage est effectué à l'air libre et à l'abri de la lumière, suivi d'un deuxième séchage à l'étuve à 40° C pendant 2 jours avant l'extraction des composés phénoliques. Les racines ont été coupées en petits morceaux dans le but d'accélérer leur séchage

II.1.3. Broyage

Le matériel végétal (racines) destiné à l'extraction des composés phénoliques a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique, en une poudre fine qui sera ensuite tamisée.

II.1.4. Tamisage :

Après broyage, la poudre obtenue est tamisée à l'aide d'un tamis de 125 µm jusqu'à l'obtention d'une fine poudre à une température ambiante (25°C), qui sera conservée dans des flacons opaques à l'abri de la lumière et de l'humidité avant d'être utilisée pour la réalisation des expériences de la présente étude.

II.2. Mode opératoire

II.2.1. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols de la plante *Thapsia garganica* L., 5 paramètres ont été pris en considération : la nature du solvant (éthanol, méthanol, acétone et eau distillée), la concentration du solvant (25%, 50%, 75% et 100%), la quantité de poudre (0,1g , 0,2g, 0,4g et 0,6g), le temps d'extraction (5min, 15min, 30min, 60min, 90min et 120min) et la température d'extraction (25° C, 40° C, 50° C, 70° C et 90° C).

Pour chaque essai, nous avons fait varier un paramètre et nous avons fixé tous les paramètres restants.

II.2.2. Principe d'extraction

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans cette plante en utilisant soit de l'eau distillée, soit des solvants organiques. Les polyphénols sont extraits par macération de 100 mg de poudre de *Thapsia garganica* L. dans 10 ml de solvant sous agitation. Après une heure, à la température ambiante de 25° C le mélange est filtré et conservé.

II.2.3. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**.

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 composés phénoliques, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_2PW_{23}) et d'oxyde de molybdène (MO_8O_{23}) (**Kayumba, 2001**). Ce produit bleu a une absorbance proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

Pour le dosage des composés phénoliques totaux, 0,1 ml de l'extrait brut de *Thapsia garganica* L., est introduit dans des tubes à essais, auxquels on rajoute 0,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,4 ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 min. L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, le dosage est effectué en quadruple. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gamme de matière sèche (mg EAG /g MS).

➤ Préparation de la courbe d'étalonnage

La solution mère d'acide gallique est préparée en dissolvant 1mg d'acide gallique pur dans 10 ml d'eau distillée. Puis, on fait des dilutions selon le nombre des points que l'on veut obtenir, et généralement nous utilisons 5 points pour réaliser la courbe. Donc nous avons réalisé les dilutions suivantes :

- **Concentration 0/5** : 0,1 ml ED + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de Sodium (7,5%).

- **Concentration 1/5** : 0,08 ml ED + 0,02 ml de solution mère d'acide gallique + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de Sodium (7,5%).

- **Concentration 2/5** : 0,06 ml ED + 0,04 ml de solution mère d'acide gallique + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de sodium (7,5%).

- **Concentration 3/5** : 0,04 ml ED + 0,06 ml de solution mère d'acide gallique + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de sodium (7,5%).

- **Concentration 4/5** : 0,02 ml ED + 0,08 ml de solution mère d'acide gallique + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de sodium (7,5%).
- **Concentration 5/5** : 0,1 ml de la solution mère + 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10) + 0,4 ml de carbonate de sodium (7,5%).

Après l'agitation de l'ensemble pendant environ 2 min, suivie de l'incubation à l'obscurité et à la température ambiante pendant 2 heures, la lecture de l'absorbance se fait au spectrophotomètre à 760 nm. Ces étapes nous permettent de tracer une courbe d'étalonnage.

II.2.4. Pouvoir réducteur :

L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence des antioxydants réducteurs, dont la couleur verte est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçin et al., 2003; Bijoy et al., 2008**).

Le test a été réalisé selon la technique d'**Oyaizu (1986)**. Un volume de 1 ml de tampon phosphate (0,2M de pH= 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$ à 1%) est ajouté à 1ml de chaque extrait. Après incubation à 50 °C pendant 20 min, 1ml d'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange avant d'être centrifugé à 700g pendant 10min à température ambiante. 1ml de surnageant est additionné à 1ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique ($FeCl_3$, 0,1%). L'absorbance est lue à 700 nm. Toutes les mesures sont répétées 4 fois.

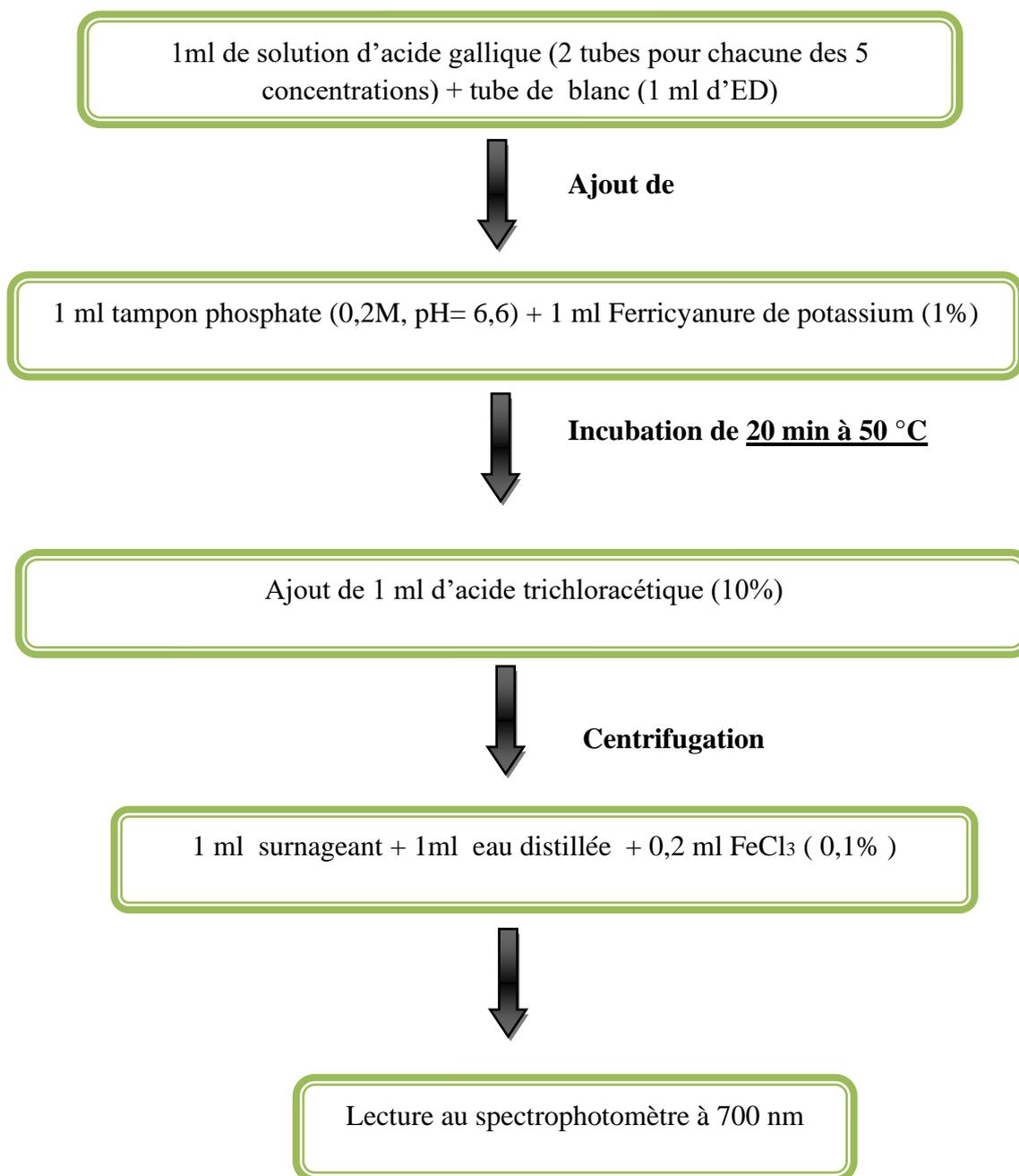


Figure 9 : Protocole d'établissement du pouvoir réducteur et de la courbe d'étalonnage

II.3. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (SD) à l'aide du logiciel Graph pad Prism 7. Les analyses statistiques ont été effectuées par analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA One-Way). Le test de Tukey a été réalisé et la différence significative a été détectée à $p \leq 0,05$.

III. Résultats

Ce travail a conduit à étudier, à partir de *Thapsia garganica L.*, la méthode d'extraction des polyphénols totaux, et à optimiser les conditions d'extraction de ces derniers en fonction de la nature du solvant (acétone, éthanol, méthanol et eau distillée), la quantité de poudre, la température d'extraction et la durée d'agitation.

III.1. Courbes d'étalonnage

III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques totaux de nos échantillons est déterminée à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence (**Fig. 10**).

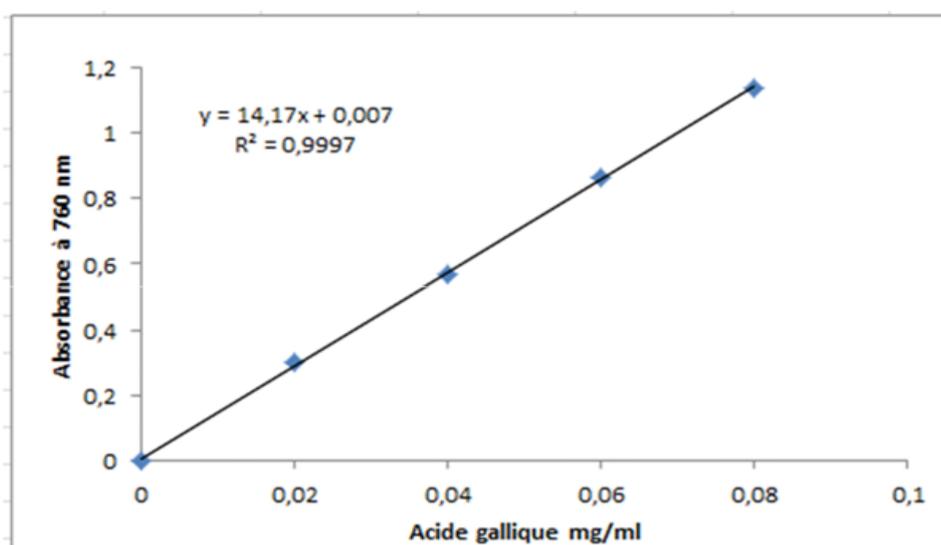


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

III.1.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur obtenu à partir des extraits de *Thapsia garganica L.* a été déterminé à partir d'une courbe standard utilisant l'acide gallique comme étalon de référence (**Fig. 11**).

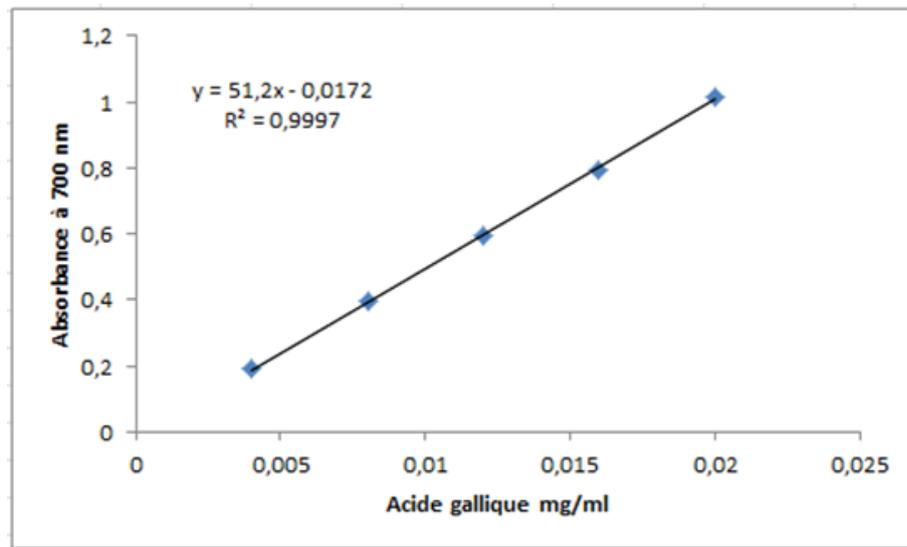
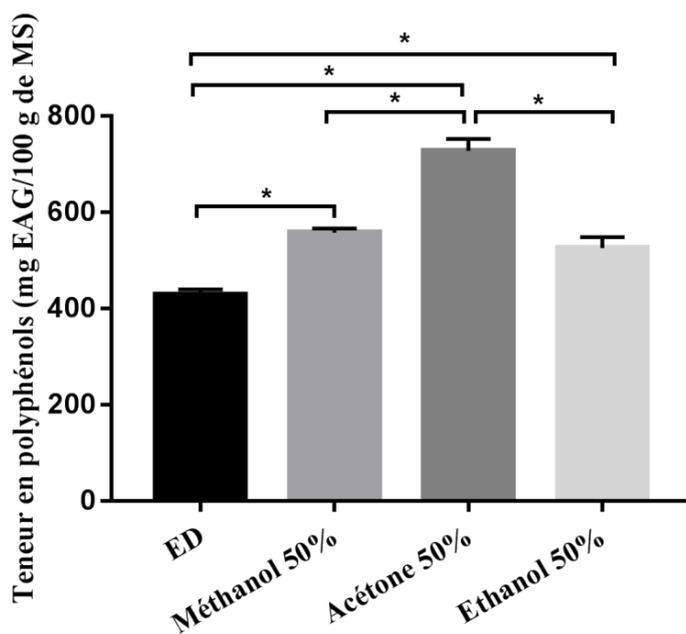


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le pouvoir réducteur

III.2. Choix du solvant d'extraction :

III.2.1. Polyphénols totaux

Dans cette partie de notre travail, quatre types de solvants ont été utilisés, à savoir : l'acétone 50%, l'éthanol 50%, méthanol 50% et l'eau distillée, pour réaliser l'extraction des composés phénoliques à partir de *Thapsia garganica L.* Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 12.



* : Niveau de signification

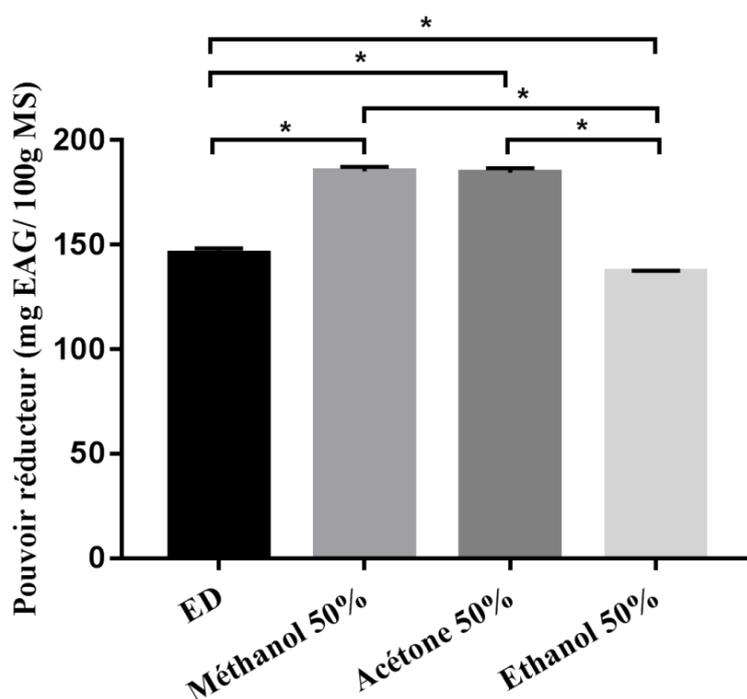
Figure 12 : Effet du type de solvant sur le dosage des polyphénols totaux dans le protocole d'extraction

Les résultats de la représentation graphique nous laissent remarquer que pour les extraits phénoliques de *Thapsia garganica L* obtenus, la teneur la plus élevée en polyphénols totaux est enregistrée pour l'acétone en moyenne 727.370 ± 25.116 mg EAG/100g MS, suivi par l'extrait de méthanol avec 557.520 ± 8.678 mg EAG/100g MS, puis l'extrait de éthanol 525.910 ± 22.286 mg EAG/100g MS, et enfin l'extrait qui donne la plus faible teneur est celui à base d'eau distillée 428.130 ± 11.485 mg EAG/100g MS.

L'analyse statistique, d'après le test Anova One way, indique une différence significative entre les quatre solvants utilisés pour l'extraction concernant la teneur en polyphénols.

III.2.2. Pouvoir réducteur

Les résultats pour le choix du solvant sont exprimés dans la **Figure 13**.



* : Niveau de signification

Figure 13 : Variation du type de solvant d'extraction pour le pouvoir réducteur

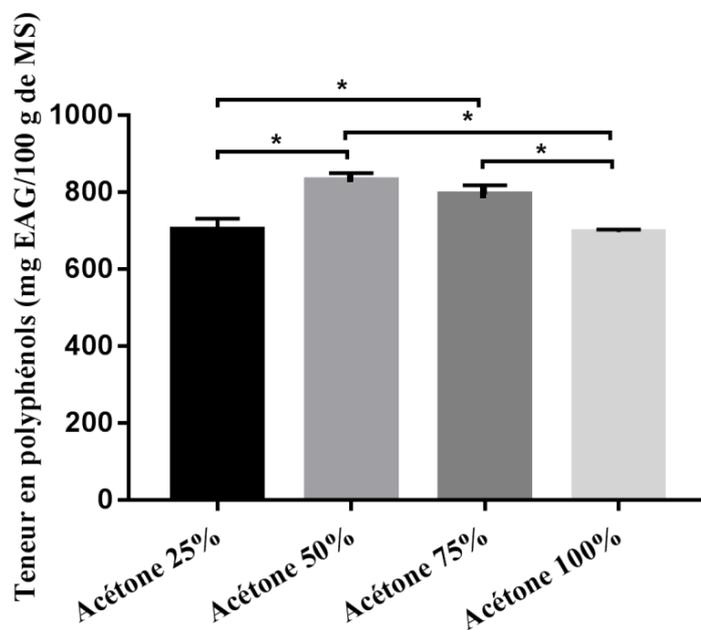
L'étude statistique indique une différence non significative entre le méthanol à 50% avec une moyenne de $185,010 \pm 2,313$ mg EAG/100g MS) et l'acétone à 50% : $184,420 \pm 2,142$ mg EAG/100g MS), alors qu'il y a une différence significative entre l'eau distillée : $145,830 \pm 2,350$ mg EAG/100g MS) et le méthanol à 50%, entre l'acétone à 50% et l'éthanol

à 50% ($136,97 \pm 0,549$ mg EAG/100g MS), entre l'eau distillée et l'éthanol à 50%, l'eau distillée et l'acétone à 50%, et entre l'éthanol à 50% et le méthanol à 50%.

III.3. Choix de la concentration du solvant d'extraction :

III.3.1. Polyphénols totaux

Pour le deuxième paramètre, afin d'extraire le maximum de composés phénoliques nous avons utilisé le meilleur solvant qui est l'acétone, à des concentrations différentes: 25%, 50%, 75%, 100%. Les résultats de la quantification des polyphénols totaux sont illustrés sous forme d'histogrammes (Fig. 14).



* : Niveau de signification

Figure 14 : Dosage des polyphénols totaux en fonction de la concentration de l'acétone

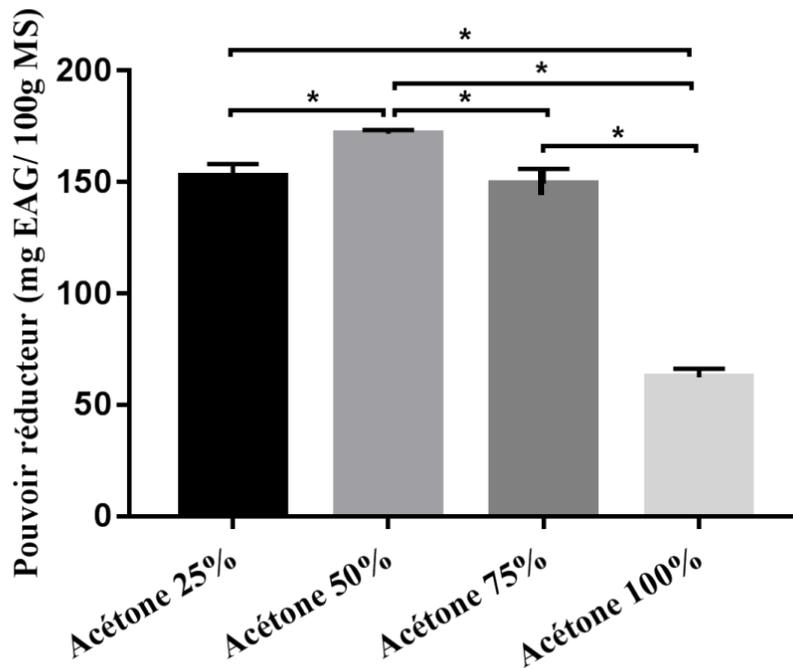
D'après les résultats de l'analyse statistique, la teneur la plus élevée en composés phénoliques a été enregistrée pour l'acétone à 50%, : $831,280 \pm 18,140$ mg EAG/100g MS, alors que la teneur la plus faible a été enregistrée pour l'acétone à 100% : de $696,09 \pm 7,239$ mg EAG/100g MS.

Les résultats obtenus pour les autres concentrations sont en moyenne de $703,08 \pm 27,997$ mg EAG/100g MS pour la concentration de 25%, et de $794,18 \pm 23,577$ mg EAG/100g MS pour la concentration de 75%. Ainsi, la concentration de 50% d'acétone est celle qui permet d'obtenir le meilleur taux d'extraction des polyphénols totaux.

L'étude statistique montre une différence significative entre toutes les concentrations testées.

III.3.2. Pouvoir réducteur

Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir réducteur varie en fonction des ratios du solvant choisi (l'acétone) pour l'extraction (**Fig. 15**).



* : Niveau de signification

Figure 15 : Pouvoir réducteur en fonction de la concentration du solvant

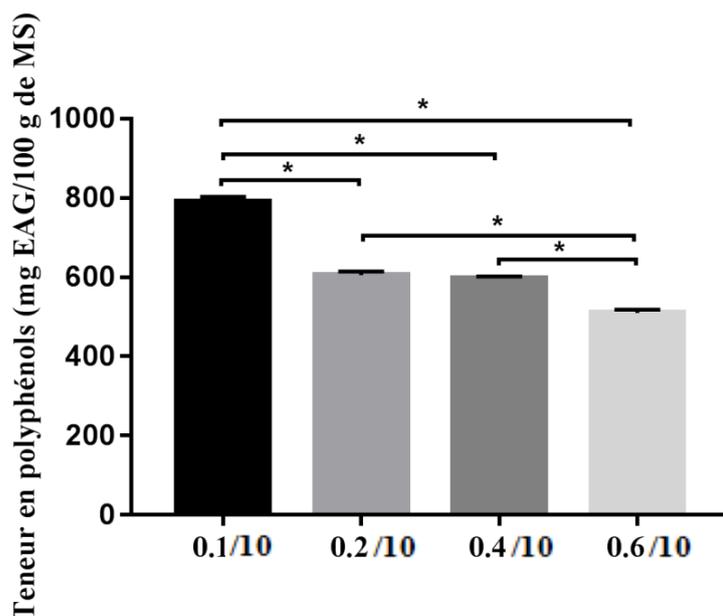
la concentration d'acétone de 50% est celle qui présente le meilleur résultat en matière de pouvoir réducteur avec une moyenne de 171,81 ± 1,683 mg EAG/100g MS. Pour les autres concentrations, les moyennes observées sont de : 152,83 ± 5,240 mg EAG/100 g MS pour la concentration de 25% : 149,23 ± 6,657 mg EAG/100g MS pour 75%, et de 62,44 ± 3,800 mg EAG/100g MS pour 100%.

L'analyse statistique indique une différence significative entre toutes les concentrations testées.

III.4. Optimisation de quantité du poudre (rapport solide / liquide)

III.4.1. Polyphénols totaux

L'impact du rapport solide / liquide sur l'extraction des polyphénols de *Thapsia garganica L.* est mesuré avec les rapports 0,1/10, 0,2/10, 0,4/10, 0,6/10 ; P/V (**Fig. 16**). En augmentant le rapport solide/liquide, celui-ci a eu un effet négatif sur l'extraction.



* : Niveau de signification

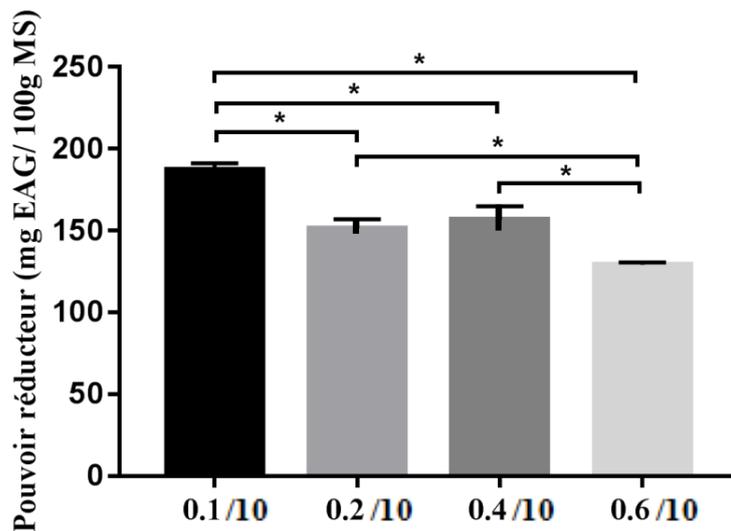
Figure 16 : Effet de la quantité de poudre de la plante sur le rendement d'extraction.

En effet, le rapport solide/liquide de 0,1/10 est celui qui permet d'extraire le meilleur taux de polyphénols, avec en moyenne $790,05 \pm 13,211$ mg EAG/100 g MS, alors que la teneur en polyphénols totaux la plus faible a été enregistrée pour le rapport 0,6/10 de, $509,32 \pm 8,358$ mg EAG/100g MS, avec une moyenne de $605,43 \pm 9,563$ mg EAG/100g MS pour le rapport 0,2/10, et de $596,70 \pm 5,298$ mg EAG /100g MS pour le rapport 0,4/10.

L'analyse statistique indique une différence significative entre les différents rapports employés.

III.4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est de $186,90 \pm 4,318$ mg EAG/100g MS pour 0,1/10; de $151,43 \pm 5,597$ mg EAG/100g MS pour 0,2/10; de $156,54 \pm 8,256$ mg EAG/100g MS pour 0,4/10 ; et de $128,98 \pm 1.600$ mg EAG/100g MS pour 0,6/10 (**Fig. 17**).



* : Niveau de signification

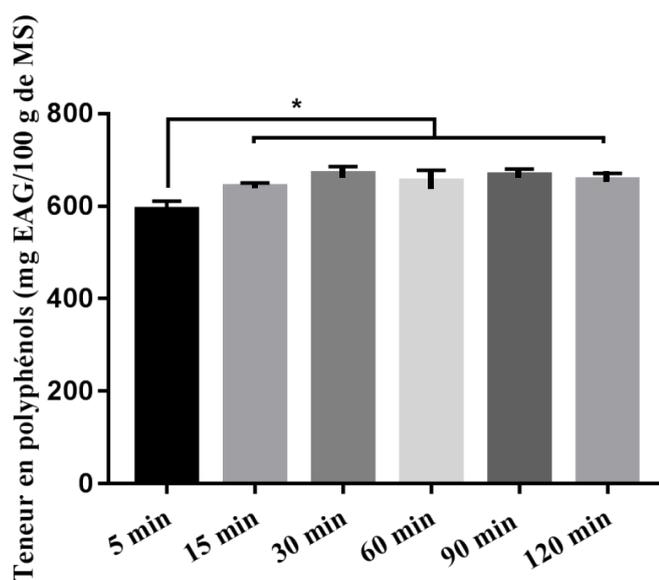
Figure 17 : Pouvoir réducteur en fonction de la quantité de poudre

Le test ANOVA One Way montre une différence significative concernant la teneur en polyphénols totaux pour les différentes quantités de poudre testées pour l'extraction.

III.5. Optimisation du temps d'extraction :

III.5.1. Polyphénols totaux

Afin d'extraire le maximum de polyphénols, différents temps de macération ont été adoptés : 5 min, 15 min, 30 min, 60 min, 90 min et 120 min. Les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure 18**.



* : Niveau de signification

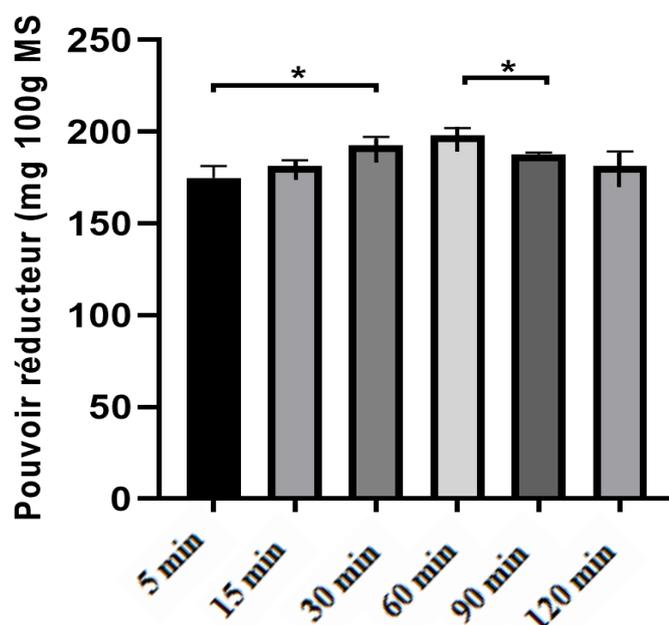
Figure 18 : Représentation graphique des variations de la durée d'agitation sur l'extraction des polyphénols

D'après les résultats obtenus dans la représentation graphique ci dessus, le meilleur temps d'extraction est de 30 min, qui a donné la meilleure teneur en polyphénols avec une moyenne de $670,42 \pm 15,103$ mg EAG/100g MS, suivi par le temps de 90 min avec $667,53 \pm 12,560$ mg EAG/100g MS, puis 120 min de $656,40 \pm 14,757$ mg EAG/100g MS, ensuite 60 min avec $653,89 \pm 23,871$ mg EAG/100g MS, après 15 min avec $641,93 \pm 8,415$ mg EAG/100 g MS, et enfin 5 min qui donne la plus faible teneur : $593,14 \pm 18,076$ mg EAG/100g MS.

Les résultats illustrées sur la **Figure 18** indiquent une différence significative entre la durée d'extraction de 5 min qui donne la moyenne la plus faible et les autres valeurs, contenant la durée d'extraction de 30 min exprimant la valeur la plus élevée.

III.5.2. Pouvoir réducteur

Dans cette étape, les durées d'extraction ont été de l'ordre de 5 minutes, jusqu'à 50 minutes, et les résultats sont présentés dans la **Figure 19**.



* : Niveau de signification

Figure 19 : Effet du temps d'extraction sur le pouvoir réducteur

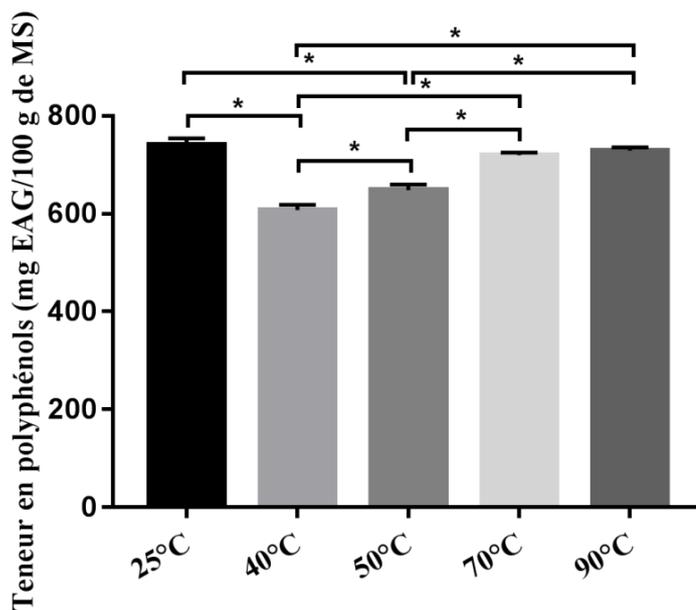
Les résultats obtenus et l'analyse statistique révèlent une différence significative entre le pouvoir réducteur à un temps de 5 minutes et à un temps de 30 minutes. On observe aussi une différence significative entre le temps de 60 minutes et le temps de 90 minutes.

Le pouvoir réducteur est de $153,99 \pm 4,730$ mg EAG/100g MS pour un temps de 5 minutes, de $164,17 \pm 3,651$ mg EAG/100g MS pour 15 minutes, de $165,42 \pm 8,448$ mg EAG/100g MS pour 30 minutes et de $168,32 \pm 6,005$ mg EAG/100g MS pour 60 minutes. On note en outre un pouvoir réducteur de $160,52 \pm 5,353$ mg EAG/100g MS pour 90 minutes et de $160,36 \pm 5,100$ mg EAG/100 g MS pour 120 minutes.

III.6. Détermination de la température

III.6.1. Polphénols totaux

Afin d'extraire la plupart des polyphénols totaux à partir des racines de la plante, différentes températures ont été testées: 25°C, 40°C, 50°C, 70°C, 90°C . Les obtenus résultats sont présentés dans la **Figure 20**.



* : Niveau de signification

Figure 20 : Variation de la température dans le protocole d'extraction des polyphénols totaux

En ce qui concerne l'analyse statistique, le test ANOVA One Way indique que la température impacte de manière significative sur l'extraction des composés phénoliques. On remarque que 25°C est la température qui donne un rendement maximal ($740,21 \pm 14,368$ mg EAG/100g MS). Par contre, 40°C est la température qui donne le rendement le plus bas

(608,00 ± 10,022 mg EAG/100g MS). Les autres résultats sont : pour 50°C (648,35 ± 11,023 mg EAG/100g MS), pour 70°C (719,81 ± 5,254 mg EAG/100g MS), et pour 90°C (729,25 ± 6,370 mg EAG/100g MS).

Il existe une différence significative entre toutes les températures testées sauf entre 25°C et 70°C et 90°C, qui ne présentent pas de différence significative entre elles.

III.6.2. Pouvoir réducteur

La température est un facteur influençant le pouvoir réducteur, et c'est pour cette raison que nous avons procédé à différentes extractions avec différentes températures. La **Figure 21** illustre les résultats de ces essais.

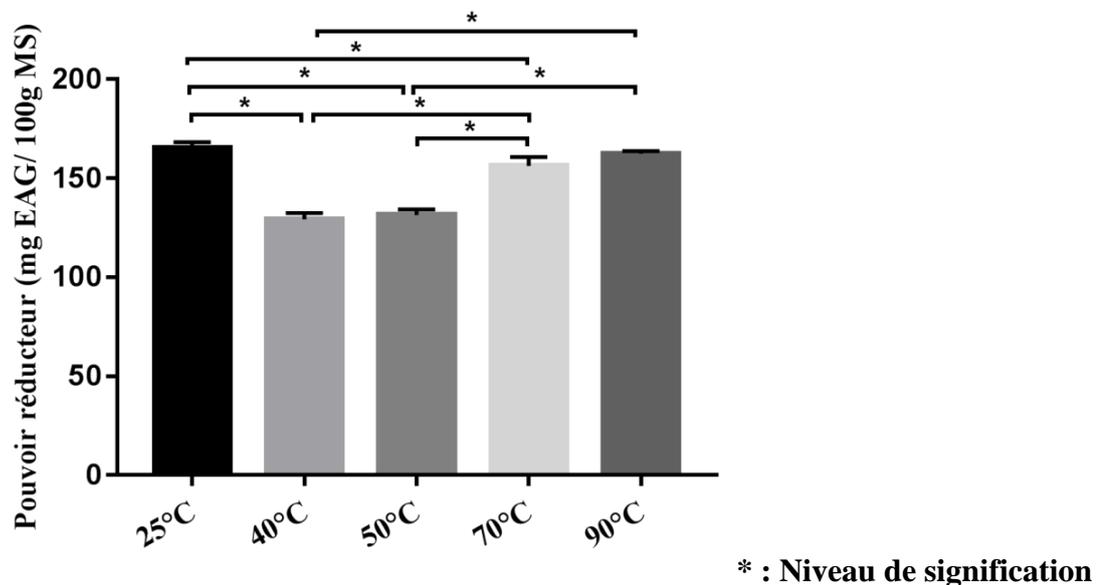


Figure 21 : Effet de la température sur le pouvoir réducteur dans le protocole d'extraction

Le pouvoir réducteur le plus élevé est obtenu à la température de 25°C avec une moyenne de 165,33 ± 2,839 mg EAG/100g MS. Elle est suivie par la température de 90 °C avec 162,43 ± 1,409 mg EAG/100g MS, puis à 70°C avec 156,29 ± 4,359 mg EAG/100g MS, et celle de 131,40 ± 2,931 mg EAG/100g MS. La moins importante est 40°C qui donne 129,29 ± 3,190 mg EAG/100g MS.

L'étude statistique montre qu'il y a une différence significative entre toutes les températures utilisées, sauf entre 40°C et 50°C où on note une différence non significative.

IV. Discussion :

Le but du présent travail est d'évaluer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques totaux chez *Thapsia garganica L.* L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, beaucoup d'auteurs ont étudié l'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'isolement des composés phénoliques de source végétale (**Khali et al., 2013**).

En observant les résultats que nous avons obtenus au test des polyphénols totaux, l'acétone est considérée comme étant le meilleur solvant pour l'isolement des composés phénoliques, car le test du pouvoir réducteur a laissé apparaître une teneur de $184,42 \pm 2,142$ mg EAG/100g MS ; qui est plus proche de celle du méthanol (185.01 ± 2.313 mg EAG/100g MS). Pour cette raison nous avons choisi l'acétone au lieu du méthanol, car il présentait le taux de polyphénols totaux le plus élevé. De plus, il n'y a pas de différence significative entre eux concernant la détermination du pouvoir réducteur.

L'étude menée par **Sait et al. (2012)** a montré que le méthanol était le meilleur solvant d'extraction des polyphénols parmi deux autres solvants de polarités différentes (dichlorométhane et hexane). D'un autre côté, **Cheurfa et Bachagha (2013)**, ont montré que la teneur la plus élevée en phénols totaux des extraits de feuilles et de racines a été marquée par les extraits éthanoliques respectivement de $57,53 \pm 2,01$ et $57,46 \pm 2,46$ (mg EAG/g d'extrait). Par contre, l'étude de **Idir et Ouadir (2012)** a montré que la teneur la plus élevée en phénols totaux des racines a été marquée par l'extrait d'hexane ($79,1 \pm 2.26$ mg équivalent acide gallique/g d'extrait) qui est supérieure à celle de l'extrait éthanolique ($59,7 \pm 2,42$ mg équivalent acide gallique/g d'extrait).

Une autre étude effectuée par **Djeridane et al. (2006)**, a montré que le taux de polyphénols dans l'extrait éthanolique est plus bas que celui trouvé dans nos résultats, mais un peu plus élevé que pour l'eau distillée. Par contre nos résultats sont similaires à ceux enregistrés par **Al-Farsi et Lee (2008)** qui ont constaté que l'acétone à 50% est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques des dattes, de même que pour **Metrouh (2018)** chez *Chamaemelum nobile*.

D'après **Khali et al. (2013)**, divers solvants ont été utilisés pour l'extraction des principes actifs, englobant l'eau, l'acétone, l'éthanol et le méthanol. Puis ils ont montré que la macération est la meilleure méthode pour l'extraction des polyphénols totaux (19,88 mg équivalent d'acide gallique /g PS en moyenne) et des flavonoïdes (8,25 mg équivalent de quercétine /g PS en moyenne). En outre, Ils sont résumé que l'éthanol et l'acétone sont préférables pour l'extraction de ces biomolécules.

Il apparaît évident alors qu'il n'existe aucune méthode commune pour déterminer la nature du solvant à utiliser, que ce soit entre les taxons, ou dans le même taxon, à cause des conditions environnementales qui sont capables de générer des variations dans les taux de composés phénoliques, bien que les types de composés soient génétiquement fixés (**Srick et al., 2007**).

L'altération dans les teneurs en composés phénoliques entre nos échantillons de *Thapsia garganica* L. et ceux de ces auteurs, pourrait être attribuée aux méthodes d'extraction, à la région de récolte, à la période de récolte, en plus de l'influence de plusieurs facteurs comme la profondeur, la lumière, les nutriments, la salinité, la nature du sol, le climat et la pression des herbivores (**Zubia et al., 2007**).

Idir et Ouadir (2012) ont remarqué que l'extrait éthanolique des racines a donné un taux d'extraction supérieur à celui de l'extrait éthanolique des feuilles. Cela suggérerait la richesse des racines en composés phytochimiques autres que les composés phénoliques (lipides, gommés, etc.).

Donc la solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples, à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (**Mahmoudi et Khali, 2013**).

La dissolution des composés phénoliques est gouvernée par le type de solvant utilisé (polarité), du degré de polymérisation des polyphénols, ainsi que des interactions des composés phénoliques avec d'autres composés de la plante et la formation des complexes insolubles (**Kitoune et Outmazirt, 2018**).

Plusieurs auteurs, comme **Youcefi et Djeridane (2008)**, ont montré que non seulement les organes de plante diffèrent par la composition chimique, et la nature des polyphénols, mais chaque plante diffère de l'autre par ces compositions, et chaque composé chimique est extractible par un solvant approprié. Dans notre étude l'acétone est le bon solvant pour l'extraction. D'après **Chaalal et al., (2012)**, l'acétone est le solvant le plus adéquat pour extraire les composés phénoliques à partir de la figue de Barbarie, ce qui concorde avec les résultats de ce travail.

L'intérêt du présent travail est porté d'une part, sur le dosage des composés phénoliques des racines de *Thapsia garganica* L. dont les polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés en utilisant comme solvant d'extraction l'éthanol aqueux à 96%. Le résultat du dosage pour les polyphénols totaux est de $1,20 \pm 0,10$ mg EAG/g MS (**Outroune et Ramini, 2018**).

Khacheba et Benamar (2008) et **Djeridane et al. (2010)**, ont exposé six plantes, dont *Thapsia garcanica* L. à une succession d'extractions des polyphénols par l'eau distillée et le méthanol pur, pour obtenir finalement des extraits aqueux et des extraits méthanoliques à 100%. Après avoir comparé les teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques et aqueux des six plantes étudiées, ils ont remarqué que les extraits aqueux de quelques plantes renfermaient des teneurs en phénols totaux plus élevées par rapport aux extraits méthanoliques de ces plantes. Ce qui fait qu'une simple explication peut être envisagée, du fait que l'extraction méthanolique a été précédée par une extraction aqueuse et elle n'a extrait que le reste qui n'est pas passé dans l'eau distillée. Par contre, l'extrait méthanolique d'autres plantes a présenté une teneur en phénols totaux supérieure à celle de l'extrait aqueux, ce qui peut être expliqué par le fait que ces plantes contiennent d'autres composés phénoliques non extractibles par l'eau et qui sont passés dans le méthanol.

Ainsi, **Mohammedi et Atik (2011)** ont trouvé que l'utilisation de solvant mixte aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. En outre, les résultats rapportés par **Bourgou et Serairi Beji et al. (2018)** ont montré que les extraits aqueux et ceux mixtes, possèdent des teneurs élevées en composés phénoliques, et ceci indépendamment du solvant utilisé. De plus, selon **Yap et al. (2009)**, une proportion élevée en eau dans le système du solvant favoriserait l'extraction des composés phénoliques totaux.

Les résultats obtenus par ces auteurs, soutenus par nos résultats, ont montré que la plus importante teneur en polyphénols venait de l'extrait acétonique à 50%, alors que la plus faible teneur était pour l'extrait d'acétone pur, les mêmes résultats étant valables pour le pouvoir

réducteur. La raison en est que l'eau distillée a la capacité d'extraire plusieurs composés polaires, autres que les polyphénols, tels que les alcaloïdes, les protéines, les sucres et d'autres composés qui sont dosables par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce qui entraînerait une augmentation des teneurs en composés phénoliques et d'autres composés chimiques comme les composés apolaires, peut-être beaucoup plus solubles dans le solvant d'extraction que dans l'eau distillée. Donc il serait préférable de les mélanger.

D'après **Youcefi et Djeridane (2008)**, le rapport 0,5/10 est celui qui donne un rendement maximal pour l'extraction des polyphénols de *Thapsia garganica*. Dans une autre étude, **Sebaihi et al (2012)** a montré que le rapport de 2,5/10 est le meilleur pour donner un rendement maximal de polyphénols chez *Thapsia*. Notre étude, en comparaison avec les auteurs mentionnés ci-dessus, a montré que le rapport 0,1/10 est le meilleur pour l'extraction, bien que nous ayons utilisé le rapport 0,6. Mais aucun extrait n'a été obtenu dans notre cas que ce soit dans le dosage des polyphénols ou dans le pouvoir réducteur.

L'augmentation du rapport solide/liquide a un effet négatif sur l'extraction. En effet, le rapport solide/liquide de 0,1/10 est celui qui permet d'extraire le meilleur taux quelque soit le solvant étudié. Au-delà de ce rapport, les taux diminuent. **Pradal (2016)**, a énoncé que pour l'obtention d'une extraction efficace, le solvant devait pénétrer la matrice solide pour atteindre les solutés. Ainsi, le volume de solvant doit être suffisant pour permettre un transfert plus facile du soluté vers le solvant. Donc dans notre étude, le volume de 10 ml de solvant est suffisant par 0,1g de poudre, ce qui permet une bonne diffusivité des solutés à l'intérieur. Un excès, même léger, peut entraîner une saturation.

Dans notre travail, les meilleurs temps d'extraction obtenus se situent entre 30 min et 60 min, que ce soit dans le dosage de polyphénols ou pour le pouvoir réducteur. Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention sur la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses).

Boudjeh et al. (2010) ont montré qu'une durée de 7 heures est le meilleur temps pour extraire le maximum des polyphénols. Le temps de 24 heures est la valeur optimale pour un meilleur rendement pour *Thapsia garganica* d'après **Cheurfa et Bachagha (2013)**. Par contre, le temps qui donne un meilleur rendement en polyphénols selon **Sait et Smaoun (2012)** est de 2 heures. D'après nos résultats, un temps de 30 min est considéré comme étant un optimum pour l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques. Ceci est en accord

avec les résultats de **Tajnuba et al. (2016)**, qui indiquent que l'extraction des composés phénoliques à un temps de 30 min semble le plus efficace pour augmenter les taux d'extraction. La diminution des teneurs en composés phénoliques au delà de ce temps, peut être expliquée par la dégradation des composés phénoliques solubilisés, ou à une éventuelle condensation des composés bioactifs au cours de l'extraction prolongée (**Belmahdi, 2018**). On peut déduire que, la taille de moléculaire, la quantité ou bien le rapport entre le solvant et le soluté et la structure chimique des polyphénols dans l'échantillon, déterminent le temps nécessaire pour l'extraction.

Selon nos résultats et ceux de plusieurs autres auteurs (**Chiang et al., 1994 ; Boudriess et Belmahedi, 2018**), le meilleur résultat pour le pouvoir réducteur et le dosage des polyphénols, correspond à la température de 25°C. Il est remarquable qu'il y ait une diminution du taux de polyphénols à 40°C et 50°C, puis un retour avec une augmentation de ce taux aux températures de 70°C et 90°C donnant une teneur proche à celle de 25°C.

Spigno et al. (2007) ont rapporté que la température a un effet sur l'efficacité de l'extraction, car la température d'extraction affecte la solubilité, le taux de transfert de masse, et la stabilité des composés phénoliques.

D'après tout ces résultats, il est facile de comprendre que la température joue un double rôle, d'une part une augmentation de cette dernière permet l'amélioration des rendements d'extraction en composés phénoliques et l'activité antioxydante en augmentant la solubilité et le coefficient de diffusion des composés (**Dent et al., 2013**), et d'autre part toute élévation de température provoque la diminution du taux d'extraction en raison de la déstabilisation et la dégradation des composés phénoliques par hydrolyse, réactions d'oxydoréduction ou par polymérisation (**Medina-Torres et al., 2017**).

Conclusion et perspectives

Durant la présente étude nous nous sommes proposés d'optimiser l'extraction des antioxydants par le dosage des polyphénols et de déterminer le pouvoir réducteur des extraits de poudre de *Thapsia garganica L.*

Le plan d'expérience a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction : acétone 50% à un volume de 10ml à une température ambiante, sous agitation, pendant un temps d'extraction de 30 min.

Le présent travail montre que les teneurs en polyphénols et que le pouvoir réducteur de l'extrait optimisé sont respectivement de 740.21 ± 14.368 mg EAG/100g MS. et $165,33 \pm 2,839$ mg EAG/100g MS.

Afin d'obtenir une extraction efficace et optimale des polyphénols de *Thapsia garganica L.*, et en résumant les différentes étapes d'extraction menées sous différentes conditions, certaines conclusions s'imposent :

- L'extraction des composés phénoliques à partir des racines de *Thapsia garganica L.* a indiqué que ce sont les extraits par l'acétone qui ont montré les taux d'extraction les plus élevés, ce qui nous a permis de constater sa richesse en composés de polarité réduite.
- Les extraits aqueux ont donné le rendement le plus élevé en composés phénoliques, étant donné que ces derniers constituent la moitié des petites molécules très polaires.
- La teneur en polyphénols est influencée par le rapport solide/liquide de façon significative, le meilleur rapport trouvé étant de 0,1/10.
- La température optimale pour l'extraction des polyphénols de *Thapsia garganica L.* est de 25°C. sans oublier le paramètre du Temps d'extraction qui affecte aussi l'extraction.

Enfin, afin de compléter ce travail, il serait très intéressant :

- D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction des polyphénols tels que : le pH, l'intensité d'agitation, la taille des particules de poudre, la granulométrie, mais aussi la variété et le climat qui pourraient éventuellement améliorer le rendement de l'extraction.
- D'utiliser d'autres techniques d'extraction dans le but d'extraire le maximum des composés phénoliques.
- De déterminer l'effet des extraits optimaux sur la santé par la réalisation des tests *in vivo*.
- De purifier, identifier et quantifier les antioxydants, en utilisant des techniques d'analyses avancées (HPLC, RMN, etc.).
- Elargir le panel des activités antioxydantes avec d'autres études sur les tests biologiques en tant que plante anti- inflammatoire et anti-cancéreuse.

Références bibliographiques

- **Ali H., Brogger Christensen S., Foreman J. C., Pearce F. L., Piotrowski W., & Thastrup O., (1985).** « The ability of thapsigargin and thapsigarginin to activate cells involved in the inflammatory response ». *British Journal of Pharmacology*, **85**, 705-712.
- **Aurousseau B., (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits . *Journal Productions Animales* **1** (15), 67-82.
- **Avato P., & Rosato I., (2002).** Essential Oils from the Roots of Thapsia garganica L. *Journal of Essential Oil Research*. vol. **14**, (1), p. 20-22.
- **Balasundram N., Sudram K., & Samman S. (2005).** Phenolic compounds in plants and agro-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*. **99** : 191–203.
- **Bammi J., & Douira A., (2004).** Contribution à la connaissance de la flore vasculaire de la forêt de l'Achach, plateau central (Maroc). Málaga, *Acta Botanica Malacatina*, **29**: 23-41.
- **Baudin B., (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *M. T. Cardio*. **2** (1) : 43-52.
- **Belaiche R., & Boujraf S., (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydatif chez les hémodyalisés : effets et stratégies thérapeutiques., *Médecine des maladies Métaboliques*., Vol **10**, (1) : 38-42.
- **Belmehti T., & Boudries H., (2018).** Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants à partir du sous-produit industriel de fabrication des jus d'orange. Thèse Master., *Université A. MIRA – Bejaia* (Algérie).
- **Belmehti T., (2018).** Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants à partir du sous produit industriel de fabrication des jus d'orange. *Mémoire de Master.*, Université de Béjaia.
- **Belyagoubi N., & Benhammou N., (2012).** Activité antioxydante des extraits des composées phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud –ouest Algérien. *Thèse de Doctorat.*, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen (Algérie).108p.
- **Bendjabeur S., (2012).** Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade *Punica granatum* L.) en vue de leur utilisation alimentaire. *Mémoire de Magister. ENSA. d'Alger. Algérie.*

- **BensakhrI Z., Zerguine K., Bendjeddou D. & Khaladi O., (2018).** Diversity and distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera) of the Oued Charef basin, North-Eastern Algeria. *Annales de la Société entomologique de France.* **54** (2) : 141-155.
- **Berra D., (2015)** Etude de l'effet du milieu d'extraction sur la composition des feuilles de *Matricaria pubescens*. *Mémoire de Master. Université d'El Oued* 74p.
- **Berger M.M., Chioléro R.L. (2001).** Apport d'antioxydants en réanimation : pourquoi, lesquels, avec quels objectifs ?. *Réanimation.* **10** (6) : 527-534.
- **Berger M .M., (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme,* **20**: 48-53.
- **Berri. Y., & Bedjou F.(2011).** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*» *Thèse de Magister. Université de Béjaia.* 75p.
- **Bijoy M., Jayati S., & Prabir K. S., (2008).** Antioxidant activities of soyabean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International,* **41** : 586–593.
- **Boudjeh S., Telli A., Mahboub N., Siboukeur O. E. K. & Moulti-Mati. A., (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété *ghars* *Revue de l'Université de Ouargla (Algérie).* **2** (2).
- **Boudghene Stambouli O., & Amrani N., (2015).** Un angioedème de topographie bilatérale suite au contact avec une plante (*Thapsia garganica*). *Revue Française d Allergologie.* **55**(3):235.
- **Bourgou S., SerairiBeji R., Medini F., & Ksouri R., (2018).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new science, Agriculture and Biotechnology.* **28**(12) : 1649-1654.
- **Brianceau S., Turk M., Vitrac X., & Vorobiev E., (2015).** Combined densification and pulsed electric field treatment for selective polyphenols recovery from fermented grape pomace. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* **29**: 2-8.
- **Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, *3eme Edition. Tec et Doc. Paris,* 658p.
- **Cai Y., Luo Q., Sun M., & Corke H., (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, *Journal of Life Sciences.* **74**: 2157-2184.

- **Cazin F. J.**, (1868). *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes*. P. Asselin, 3^e éd., 1189 p.
- **Chaalal M., Touati N., & Louaileche H.**, (2012). Extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica*, **159** (4):467–475.
- **Chen D., Daniel K.G., Kuhn D.J., Kazi A., Bhuiyan M., Li L., Wang Z., Wan S.B., Lam W.H., Chan T.H., & Dou Q.P.**, (2004). Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Biosci.* 9 : 2618.
- **Cheurfa L., Bachagha H., Adrar S.**, (2013). Caractérisation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* L. *Mémoire de Master. Université de Béjaia*.
- **Chiang H.C., Lo, Y.J. & Lu F.J.**, (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Enzyme Inhibition*, **8** (1): 61-71.
- **Da Silva S.L., Da Silva A., Honório K.M., Marangoni S., Toyama M.H. & Da Silva A.B.F.**, (2004) . The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. *Journal of Molecular Structure*, **684**:1-7.
- **Dent M., Uzelac V. D., Penic M., Brncic. M., Bosiljkov. T., & Levaj. B.**, (2013). The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. Polyphenols from Dalmatian Wild Sage, *Food Technol.* **51**(1) 84–91.
- **Dewick P. M.**, (2012) « *The Biosynthesis of Shikimate Metabolites* », *Natural Product Reports*. 12: 579-607.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J.F. & Stocker P.**, (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. **224**: 801–809.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., & Stocker N.Vidal.** (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97** (4). 654-660.

- **Djeridane A., Yousfi M., Brunel J.M., & Stocker P., (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol.* **48** (10) : 2599-2606.
- **Djouadi As., & Touhami L. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de deux variétés de *Solanum melongena* L. de la région d'El-Oued par voltampérométrie cyclique et ondes carrées. *Mémoire de Master. Université 'El – Oued.* 113p.
- **Dobignard A. & Chatelain C. (2010).** Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord. vol. *Tela Botanica.* 455p
- **Drew D.P., Rasmussen S.K., Avato P., & Simonsen H.T., (2012).** A comparison of headspace solid-phase microextraction and classic hydrodistillation for the identification of volatile constituents from *Thapsia spp.* provides insights into guaianolide biosynthesis in Apiaceae. *Phytochem. Anal.*, **23**(1):44-51.
- **El Hajaji H ., Lachkar N., Alaoui K., & Cherrah Y. (2011)** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry.* **4** (3) : 321-324.
- **Favier A., (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Journal de la société chimique de France.* **270** : 108-115.
- **Frankel E.N., Kanner J., German J.B., Parks E., & Kinsella J.E., (1993),** « *Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine* », *Lancet.* 341 : 454-457.
- **Habauzit V., & Morand C., (2012).** Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. *Ther Adv Chronic Dis.* **3**, 87-106.
- **Hagerman A.E., (1989).** Chemistry of tannin-protein complexation. In: Hemingway, R.W.; Karchesy, J.J. (Eds.) Chemistry and significance of condensed tannins. *Plenum Press, New York.* 323–334.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., & Chapelle J.P., (2007).** Stress oxydatif . *Rev Med Liege.* **62** (10) : 628-638.
- **Halliwell B., & Gutteridge J.M.C., (1989)** . Free radicals in biology and medicine, 2nd Ed. *Oxford. UK. Clarendon.* England.

- **Hamza K.M., (2013).** Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive: une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel. *Thèse de Doctorat. Université de Sfax.* Tunisie.
- **Hand R., (2011).** The Euro-Med treatment of Apiaceae. *Willdenowia*.**41** (2) : 245-250.
- **Hassen I., M'Rabet Y., Belgacem C., Kesraoui O., Casabianca H., & Karim Hosni K., (2015).** Chemodiversity of Volatile Oils in *Thapsia garganica* L. (Apiaceae). *Chem Biodivers.* **12** (4) : 637-51.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., & Bailleul F., (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytotherapie* **2** (1) : 3-6.
- **Hoffmann L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B. & Legrand M., (2004).** Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*,**16** (6) : 1446-1465.
- **Iamarene B., & Mekhazni L., (2016).** Etude des conditions d'extraction des polyphénols d'*Erica multiflora* par un plan d'expérience. *Mémoire de Master, Université A. Mira de Béjaïa.* 75p.
- **Idir N., Ouadir K., & Adrar S., (2012).** Etude de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* (la thapsie). *Mémoire de Master, Université A. Mira de Bejaïa.*
- **ISANH B., (2006).** 3rd international Conference on polyphenols Applications. *The international Society for Antioxydants in Nutrition and Health.* Saint Julian. Malta.
- **Genevois H., (1975).** Le rituel Agraire. *Edition Dioc,* Algerie, 63p.
- **Gómez F. L. M. (2007).** Síntesis de análogos de las taspigargas. *Thèse de Doctorat.* Université de Cádiz. puerto real. Espagne.
- **Goudable J., & Favier A., (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Oxidative free radicals and antioxidants. *Journée Éducationnelle Du XVIe Symposium De La SFNEP, Genève, Nutrition Clinique et Métabolisme.*
- **Gülçin L., Oktay M. E., Kireççi E. & Küfrevioğlu Ö. İ., (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, **83** :371-384.
- **Kayumba A. (2001).** Suivi de la décomposition des litières de zones alluviales de la Sarine. *Travail de diplôme, laboratoire d'écologie végétale, Université de Neuchâtel, Suisse.*

- **Khadhri A., El Mokni R., & Smiti S., (2013).** Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu : *Atractylis gummifera*. *Revue Social Science National*, **39** : 44-52.
- **Khacheba I., & Benamar H., (2008).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales - sur l'alpha - amylase. *Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université Amar Telidji - Laghouat.*
- **Khali M., Mahmoudi S., & Mahmoudi N., (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Université de M'sila. Algérie.*
- **Kitoune I., Metrouh A., & Outmazirt A., (2018).** Optimisation de l'extraction des extraits phénoliques bruts et l'activité antioxydante de *Chamaemelum nobile*. *Mémoire de Master, Université de Bejaïa.*
- **Ladjet S., Zellagui A. & Gherraf N., (2011).** Investigation of essential oil content of *thapsiagarganica* grown in the east of Algeria. *Revue des sciences fondamentales et appliquées*. **3** (2): 30-34.
- **Larousse (2001).** *Larousse encyclopédie des plantes médicinales* (identification, préparations et soins). 2^{ème} Edition .VUEF. Paris.335 p.
- **Laughton M. J., Evans P. J., Moroney M. A., Houtt J. R. S. & Halliwell B., (1991),** Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron-reducing ability. *Biochem. Pharmacol.* **42**, 1673-1681.
- **Lauzer M., (1868).** *Revue de thérapeutique médico chirurgicale*. P : **39**.
- **Lauzer M., (1868).** *Journal de médecine et de chirurgie pratiques* : à l'usage des médecins praticiens. **1867** (T38)-1867.
- **Leleux A., (1857).** *Revue Archéologique ou Recueil de documents et de mémoires. Relatifs à l'étude des monuments, à la numismatique et à la philologie*. **5** (3): 386p.
- **Lhuillier, A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker(Myrsinaceae).Thèse de doctorat. Toulouse.
- **Liu H., Jensen K. G., Lin h My Tran L. M., Chen M., Zhai L., Olsen C. E., Sohoel H., Denmeade S. R., Isaacs J.T. & Christensen S.B., (2006).** Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica*. *Phytochemistry*. **67** : 2651–2658.

- **Lucas-Championnière J., & Chaillou, F.H., (1867).** Journal de médecine et de chirurgie pratiques : à l'usage des médecins praticiens. *Expansion scientifique française*. Paris.
- **Malešev D., & Kuntić V., (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society*. **72** (10) : 921-939.
- **Manallah A., (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. *Mémoire de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- Sétif*, 87p.
- **Manel H. K. (2013).** Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive: une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxytyrosol naturel. *Doctorat en biologie. Université de Sfax. Ecole nationale d'ingénieurs de Sfax*. Tunisie.
- **Med Chaouche T., (2014).** Etude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Analyse par HPLC-SM les extraits les plus actifs. *Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen*. Algérie.
- **Meddour R., (2012).** Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie : Exemple des groupements forestiers et préforestiers de Kabylie djurdjurienne. *Thèse de doctorat. Université de Tizi Ouzou*.
- **Meddour R., (2012).** Une plante aux multi usages, Le thapsia. *Publié dans Le Midi Libre*. France.
- **Medjoujda O., (2014).** *Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales. Memoire Online Biologie et Médecine. Université Kasdi Merbah, Ouargla*.
- **Medić-Šarić M., Jasprica I., Mornar A., Smolčić-Bubalo A., & Golja P., (2004).** "Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in propolis by two dimensional thin layer chromatography. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. **17** (100), 459-463.
- **Medina-Torres N., Ayora-Talavera T., Espinosa-Andrews H., Sánchez-Contreras A., & Pacheco N., (2017).** Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, **7** (3): 47.
- **Meghezzi Habellah R., Karoune S., Kechebar M.S.A., & Bounab H., (2016).** Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de *l'Acacia ehrenbergiana* de la région de Tindouf. *CRSTRA Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*. **13**.

- **MeSH database., (2015).** « Polyphénols », sur ncbi.nlm.nih.gov (consulté le 27 décembre 2015).
- **Migdal C., & Serres M., (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med. Sci.* **27** (4) : 405-412.
- **Miranda J., Laughton Patricia J., Evans Michele A., Moroney J.R.S., & Barry H., (1991).** Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochemical Pharmacology.* **42.** 1673-1680.
- **Mohammedi Z., & Atik F., (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter J Pharma Bio Sci.* **2** : 609-615.
- **Negre-Salvayre A., & Salvayre R., (2005).** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. *Inserm U466 et laboratoire de biochimie, IFR31, CHU Rangueil. Toulouse, France.* **12** (5-6) : 433–438.
- **Nelson M.N., & Stolz B.M., (2007).** Progress toward the Synthesis of the Basiliolides and Transtaganolides: Antramolecular Pyrone Diels –Alder Entry into a Novel Class of Natural Products. *Organic Letters.* American. **10** (1): 25-28.
- **Opara E.S., (2002).** Oxidative stress, micronutriments, diabetes mellitus and its complications. *Journal of the Royal Soc for the promotion of Health.* **122,** 28-34.
- **Orgogozo J.M., Dartigues J.F., Lafont S., Letenneur L., Commenges D., Salamon R., Renaud S., & Breteler M.B., (1997).** Wine consumption and dementia in the elderly: A prospective community study in the Bordeaux area . *Rev. Neurol.* **153** : 185-192.
- **Outroune S., Ramini Z., & Oukil N., (2012).** Détermination de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Thapsia garganica* L. *Mémoire de Master, Université de Béjaia.*
- **Oyaizu, M., (1986).** Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition.* **103** : 307-315.
- **Ozidal T., Sela D.A, Xiao J., Boyacioglu D., Chen F., & Capanoglu E., (2016).** The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility. *Nutrients.* **8** (2) :78.
- **Pastre C., (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire diplôme d'état. Toulouse.* France. 122 p.

- **Pradal D., Pascal D., & Krasimir D., (2016).** Eco- procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. *Thèse de Doctorat. Villeneuve d'Ascot. Nord. France.*
- **Pottier-Alapetite G., (1979).** *Flore de la Tunisie.* vol. 1. Tunis. Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique et ministère de l'Agriculture. 612 p.
- **Reboulleau S.D. (1856).** Notice sur la résine de *Thapsia garganica* et sur son emploi en médecine comme agent révulsif sous forme d'emplâtre. *Edition. Abadi.* Constantine. 15p.
- **Ribéreau-Gayon P., Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., & Sudraud P., (1982).** Composés phénoliques. in *Traité d'œnologie, Sciences techniques du vin.* *Edition Dunod.* Paris . 477-499.
- **Sait L., Smaoun N., & Saidan C., (2012).** Activité antibactérienne des extraits de *Thapsia garganica* L. *Mémoire de Master. Université de Béjaïa.*
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V., (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaire.* Lavoisier. Editions Tec & Doc. 398 p.
- **Sebaihi S., Amir H., Bennai Y., Btention H., & Adrar S., (2012).** Etude de l'activité anti- oxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* (Thapsie). *Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université A. Mira de Bejaïa.*
- **Singleton V.L., & Rossi J.A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**:144-158
- **Soubéiran E., (1870).** *Traité de pharmacie théorique et pratique.* 7^{ème} Ed. Tome 2. Paris. Masson. 861p.
- **Spingo G., Tramelli L., & De Faveri D.M., (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food Engineering* **81**, 200, 208.
- **Srick W.A., Reinecke D.L & Staden J .V., (2007).** Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven south african seaweeds. *Journal of applied phycology* **19** : 271-276.
- **Srikrishna A., & Aneouselvy K. (2009).** Enantiospecific total synthesis of ent-10, 11- thapsane 10-ol. *Indian journal of Chemistry.* **48** : 413-422.
- **Stanley F., Wainapel M.D., Avital M.P.H., & Fast M.D., (2003).** Antioxidants and the Free Radical Theory of Degenerative Disease. In: *Alternative Medicine and Rehabilitation, Demos Medical Publishing,* New York.

- **Tajnuba S., Neaj A., Abul H., Hosain M., Shakti Chandra M., Haque R., Almas M., & Siddik A.B., (2016).** Extraction of Bioactive Compound from Some Fruits and Vegetables (Pomegranate Peel, Carrot and Tomato) *American Journal of Food and Nutrition*, **4** (1) : 8-19.
- **TROPICOS, (2015).** Missouri Botanical Garden. 08 Mar 2015
<<http://www.tropicos.org/Name/1700552> >
- **TROPICOS.ORG, (2015).** *Thapsia*. Missouri Botanical Garden. Published on the internet. Accessed: 2015 Aug. 25. Wikipédia.
- **Wasta V., (2012).** « *Drug from Mediterranean Weed Kills Tumor Cells in Mice* » , sur *Johns Hopkins Kimmel Cancer Center*. **410** : 955-1287.
- **Winther A.M.L., Liu H., Sonntag Y., Olesen C., le Maire M., Soehoel H., Olsen C.E., Brøgger Christensen S., Nissen P., & Møller J.V., (2010).** Critical Roles of Hydrophobicity and Orientation of Side Chains for Inactivation of Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase with Thapsigargin and Thapsigargin Analogs. *Journal of Biological Chemistry*. **285** (37): 28883–28892.
- **Yap C.F., Ho C.W., Wan Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y., & Leong Y. S., (2009).** Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, **38** (4): 511-520.
- **yousfi m., djeridane a ., & khacheba i., (2008).** effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha – amylase . *Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. université amar telidji de laghouat*.
- **Zubia D., Robledo D. & Freile- Pelegrin Y., (2007).** Antioxidant activities in topical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico. *Journal of Applied phycology* **19** : 449-556.

Résumé

La présente étude a consisté à optimiser les paramètres d'extraction des composés phénoliques à partir de la partie souterraine d'une plante médicinale endémique du nord algérien, issue de la région de Bordj Bou Arreridj : *Thapsia garganica* L. de la famille des Apiaceae.

L'effet du solvant (acétone, méthanol et éthanol et l'eau distillée), du rapport solvant/eau, échantillon/solvant, de la durée d'extraction, et de la température sont ont été étudiés.

Les résultats du dosage des polyphénols et du pouvoir réducteur ont montré que les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols de *Thapsia garganica* sont ; le solvant (acétone) à une concentration de 50% et la quantité de poudre de plante de 0,1 g pour une durée de macération de 30 minutes à une température ambiante (25°C).

Mots-clés : *Thapsia garganica*, Apiaceae, Composés phénoliques, Optimisation d'extraction, Conditions d'extraction.

Summary

The present study consists to optimize extraction parameters of phenolic compounds of the underground part of medicinal endemic plant *Thapsia garganica* L. (Apiaceae), in north Algeria from the region of Bordj Bou Arreridj :

The effect of the solvent type (acetone, methanol, ethanol and distilled water), solvent/water ratio, sample/ solvent ratio, extraction time, and temperature were studied.

The polyphenol content and reducing power assay showed that the optimal experimental conditions allowing a maximization of the *Thapsia garganica* L. polyphenols extraction are; the solvent (acetone) at the concentration of 50% and 0.1 g plant powder for a maceration time of 30 minutes in ambient temperature (25°C).

Keywords : *Thapsia garganica*, Apiaceae, Phenolic compounds, Extraction optimization. Extraction conditions.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحسين معايير استخلاص المركبات الفينولية من الجزء الترابي للنبات طبي (*Thapsia garganica L.* (Apiaceae)، و المتواجد في شمال الجزائر بمنطقة برج بوعريريج .

تمت دراسة تأثير المذيب (الأسيتون و الميثانول و الإيثانول و الماء المقطر) و نسبة المذيب / الماء ، نسبة العينة / المذيب و الوقت المستغرق للاستخلاص، ودرجة الحرارة.

أظهرت نتائج تقدير عديدات الفنول و القدرة الارجاعية أن الظروف التجريبية المثلى لزيادة استخلاص عديدات الفنول من *Thapsia garganica L.* هي : المذيب (الأسيتون) بتركيز 50 % و 0.1 غرام من مسحوق النبات المنقوع لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (25 درجة مئوية).

الكلمات المفتاحية : *Thapsia garganica L.* ، Apiaceae ، مركبات الفينول ، طرق تحسين الاستخلاص ، شروط الاستخلاص.