



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie  
Département de Science de la Matière

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la matière  
Filière : Chimie  
Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Réf. :

---

Présenté et soutenu par :  
**RAFAI Oumaima**

Le : 19 Juin 2023

## Extraction et caractérisation des biomolécules à partir des fruits de «*Washingtonia Robusta*»

---

### Jury :

HARKATI Dalal	Pr	Université Med Khider de Biskra	Président
BOUBEKRI Cherifa	Pr	Université Med Khider de Biskra	Examineur
FETTAH Asma	MCB	Université Med Khider de Biskra	Encadreur
SAAD Soumia	MRB	Centre de recherche CRSTRA-Biskra	Co-encadreur

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

1420 هـ

## **Remerciements**

*Après avoir rendu grâce à Dieu le Tout puissant de m'avoir doté d'aptitude et de patience tout au long de mon cursus.*

*D'abord, j'aimerais chaleureusement remercier ma directrice, Dr «FETTAH Asma» d'avoir accepté de m'encadrer, merci pour son soutien et ses conseils et suggestions qui ces derniers ont été d'une importance dans la réalisation de ce travail.*

*Mes profonds remerciements vont de même à mon co-encadreur Dr «SAAD Soumia», maitre de recherche à CRSTRA pour sa disponibilité, la qualité de ses conseils et de m'avoir aidé de structurer mon travail de recherche.*

*Je remercie les membres de jury Pr «HARKATI Dalal» et Pr «BOUBEKRI Cherifa», qui me font l'honneur de lire, de discuter et de juger ce travail.*

*Je voudrais exprimer mes sincères remerciements à la doctorante ALLOUI Lina pour son aide avisée, ainsi qu'à toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de ce travail.*

*Merci à mes chers parents pour m'avoir donné tout ce que dont j'avais besoin pour réussir.*

*Mes chaleureux remerciements vont à tous mes professeurs d'institut qui nous ont fait bénéficier d'un enseignement pluridisciplinaire de qualité.*

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail :*

*A MA Mère que personne ne peut compenser les sacrifices qu'elle a consentis, elle est ma source de force celle qui m'a arrosée de sa tendresse. Elle m'a toujours donné le plus précieux de tout. Je t'aime Maman ;*

*« Nadia »*

*A Mon père, qui a toujours été pour moi un exemple du père respectueux, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es ;*

*« Sassi »*

*A Ma deuxième maman qui était avec moi dans tous les moments de ma vie ;*

*« Fatima »*

*A mes aimables sœurs*

*A mes chers frères Aymen, Okba, Ahmed et Khalil*

*A mes petites fleurs « Nahla, Mayar, Loutine et Youmna »*

*A mes beaux-frères Khamiss, Issam et Imad*



## *Liste des Tableaux*

<b>TABLEAU</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>Tableau I.1</b>	Classification botanique des Arecaceae.	5
<b>Tableau I.2</b>	Classification systématique de <i>W. robusta</i> .	7
<b>Tableau I.3</b>	Des informations sur <i>W. robusta</i> .	10
<b>Tableau I.4</b>	Structures de quelques coumarines simples.	24
<b>Tableau III.1</b>	Les poids de l'échantillon avant et après la dessiccation.	55
<b>Tableau III.2</b>	Les poids du creuset vide et après l'incinération.	56
<b>Tableau III.3</b>	Résultats de criblage phytochimique du Pulpes du Fruit de <i>W. robusta</i> .	57
<b>Tableau III.4</b>	Résultats de criblage phytochimique du Graines du Fruit de <i>W. robusta</i> .	61
<b>Tableau III.5</b>	Les poids du ballon vide et après l'évaporation.	65
<b>Tableau III.6</b>	Les poids du creuset vide et après séchage.	66
<b>Tableau III.7</b>	Résultats d'extraction les pulpes.	69
<b>Tableau III.8</b>	Résultats d'extraction des graines.	70
<b>Tableau III.9</b>	Teneur en phénols et flavonoïdes totaux de <i>W. robusta</i> .	72
<b>Tableau III.10</b>	Les valeurs d' IC <sub>50</sub> de différents extraits de <i>W. robusta</i> .	73
<b>Tableau III.11</b>	Les valeurs A <sub>0,5</sub> de différents extraits de <i>W. robusta</i> .	75
<b>Tableau III.12</b>	Les valeurs d'IC <sub>50</sub> .	76

## *Liste des Figures*

<b>FIGURE</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>Figure I.1</b>	Washingtonia robusta.	6
<b>Figure I.2</b>	Washingtonia filifera.	6
<b>Figure I.3</b>	Étendue approximative de la culture des palmiers mexicains aux États-Unis.	6
<b>Figure I.4</b>	Les feuilles de Washingtonia robusta.	8
<b>Figure I.5</b>	Les fleurs de Washingtonia robusta.	8
<b>Figure I.6</b>	Les fruits de Washingtonia robusta.	9
<b>Figure I.7</b>	Les graines de Washingtonia robusta.	9
<b>Figure I.8</b>	Métabolites primaires de la pulpe et des graines Washingtonia robusta.	13
<b>Figure I.9</b>	Composés phénoliques trouvés dans les fruits de Washingtonia robusta.	14
<b>Figure I.10</b>	Flavonoïdes trouvés dans les fruits de Washingtonia robusta.	15
<b>Figure I.11</b>	Le métabolisme végétal.	17
<b>Figure I.12</b>	Structure d'unité de base des polyphénols.	20
<b>Figure I.13</b>	Structure chimique de quelques acides phénoliques.	20
<b>Figure I.14</b>	Structure de base des flavonoïdes.	21
<b>Figure I.15</b>	Structure générale des anthocyanes.	21
<b>Figure I.16</b>	Structure de base des quinones.	22
<b>Figure I.17</b>	Tanins condensés.	22
<b>Figure I.18</b>	Structure de Tanins hydrolysables ; esters d'acides galliques et ellagiques.	23
<b>Figure I.19</b>	Structure du méthyl-3-dihydroxy-1,8-anthracène.	23
<b>Figure I.20</b>	Structure de quelques coumarines complexes.	24
<b>Figure I.21</b>	Structures des saponines.	25
<b>Figure I.22</b>	Structure de quelques alcaloïdes vrais.	26
<b>Figure I.23</b>	Structures de quelques pseudo-alcaloïdes.	26
<b>Figure I.24</b>	Exemple des proto-alcaloïdes.	26

<b>Figure I.25</b>	Structure de la molécule d'isoprène.	26
<b>Figure I.26</b>	Quelques exemples de stéroïdes.	27
<b>Figure I.27</b>	Les différents constituants d'HE.	27
<b>Figure I.28</b>	Structure de la vitamine C.	31
<b>Figure I.29</b>	Structure de la vitamine E.	31
<b>Figure I.30</b>	Structure du $\beta$ -carotène.	32
<b>Figure I.31</b>	Antioxydant de synthèse les plus utilisés.	32
<b>Figure I.32</b>	Stress oxydant.	33
<b>FigureII.1</b>	Fruit de <i>W. robusta</i> .	36
<b>FigureII.2</b>	Pulpes et graines de <i>W. robusta</i> .	36
<b>FigureII.3</b>	Après broyage pulpes et graines de <i>W. robusta</i> .	36
<b>FigureII.4</b>	Dessication des échantillons.	37
<b>FigureII.5</b>	Incinération des poudre Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	38
<b>FigureII.6</b>	Recherche des Huiles essentielles, Amidon dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	39
<b>FigureII.7</b>	Recherche des Sucres réducteurs, Saponosides, Anthocyanes, leucoanthocyanes dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	40
<b>FigureII.8</b>	Recherche des Tanins, Les tanins condensés (Stiasny), Les tanins galliques dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	41
<b>FigureII.9</b>	Recherche des Alcaloïdes, Coumarines, Quinones dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	42
<b>FigureII.10</b>	Recherche des Polyphénols, Polyterpènes et stérols, Cardénolides, lipoïdes dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	43
<b>FigureII.11</b>	Recherche des flavonoïdes dans Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	44
<b>FigureII.12</b>	Différentes étapes suivies pour l'obtention de matière grasse du Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpes et graines).	45
<b>FigureII.13</b>	Différentes étapes suivies pour l'obtention des fibres (Pulpes et graines).	46

<b>FigureII.14</b>	Préparation des échantillons pour la caractérisation spectroscopique IR-TF.	47
<b>FigureII.15</b>	L'appareil FTIR-8400S PC de mark SHIMADZU.	48
<b>FigureII.16</b>	Technique d'extraction à partir de Fruit de <i>W. robusta</i> (Pulpe et Graines).	49
<b>FigureII.17</b>	Les extraits des échantillons.	49
<b>FigureII.18</b>	Agitateur Vortex.	50
<b>FigureII.19</b>	Suivi de dilution.	50
<b>FigureII.20</b>	Protocole de dosage des Polyphénols totaux.	51
<b>FigureII.21</b>	Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.	51
<b>FigureII.22</b>	Test DPPH.	52
<b>FigureII.23</b>	Test Pouvoir reducteur.	53
<b>FigureII.24</b>	Test DMSO.	53
<b>Figure III.1</b>	Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité des pulpes et des graines de <i>W. robusta</i> .	55
<b>Figure III.2</b>	Détermination de la matière organique et la teneur en cendres des pulpes et des graines de <i>W. robusta</i> .	57
<b>Figure III.3</b>	Détermination de la teneur en matière grasse des pulpes et des graines de <i>W. robusta</i> .	66
<b>Figure III.4</b>	Détermination de la teneur en fibres brutes des pulpes et des graines de <i>W. robusta</i> .	67
<b>Figure III.5</b>	Spectres IRTF des fibres du Fruit de <i>W. robusta</i> exprimés (Pulpes et Graine) traitées et non traitées.	67
<b>Figure III.6</b>	Rendements obtenus à partir des graines et de la pulpe de <i>W. robusta</i> exprimés en pourcentage (%).	70
<b>Figure III.7</b>	Teneur en phénols et flavonoïdes totaux à partir des graines et de la pulpe de <i>W. robusta</i> .	71
<b>Figure III.8</b>	Pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits de <i>W. robusta</i> .	73
<b>Figure III.9</b>	Le pouvoir réducteur des différents extraits de <i>W. robusta</i> .	74
<b>Figure III.10</b>	Pourcentage d'inhibition de DMSO alcalin par les différents extraits de <i>W. robusta</i> .	76



## *Abréviation et symbole*

### **A**

AlCl<sub>3</sub> Trichlorure d'aluminium

### **B**

BHA Butylhydroxyanisole

BHT Butylhydroxytoluène

### **C**

CHCl<sub>3</sub> Chloroforme

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH ( EtOH) Ethanol

### **D**

DMSO Diméthyle sulfoxide

DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

### **E**

EAG Acide gallique d'équivalent

EQ Equivalent de Quercetine

ERO Espèces réactives de l'oxygène

### **F**

FCR Réactif de Folin-Ciocalteu.

FeCl<sub>3</sub> Trichlorure de fer (III)

FEEP Pulpe extrait éther de pétrole

FEA Pulpe extrait acétate

FEM Pulpe extrait méthanol

FEAq Pulpe extrait aqueux

### **G**

GT Graine traitées

GNT Graine non traitées

G Graine

### **H**

HCl Acide chlorhydrique

HE Huile essentielle

H<sub>2</sub>O Eau

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Acide sulfurique

## **I**

IC<sub>50</sub> Concentration correspondante à 50% d'inhibition de l'échantillon à analyser

IR-TF Spectroscopie infrarouge à transformer de Fourier

I<sub>2</sub> Iode

## **K**

K<sub>3</sub>F<sub>2</sub> Potassium Ferricyanide

KBr Bromure de potassium

## **M**

MO Matière Organique

MG Matière Graisse

MS Matière Sèche

MeOH Méthanol

Mg EGlc/mg Ext Milligramme d'équivalent du glucose par milligramme de l'extrait sec

Mg EQ.g-1 Ext sec Milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait sec

## **N**

NaOH Hydroxyde de sodium

NH<sub>4</sub>OH Ammoniaque

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Carbonate de sodium

NBT Nitrobluetetrazoluim

NEEP Graine extrait éther de pétrole

NEA Graine extrait acétate

NEM Graine extrait méthanol

NEAq Graine extrait aqueux

## **O**

OH Fonction hydroxy

OH<sup>•</sup> Radical hydroxyle

O<sub>2</sub> Dioxygène

O<sub>2</sub><sup>•</sup> Radicaux superoxydes

**P**

PT	Pulpe traitées
PNI	Pulpe non traitées
P	Pulpe

**R**

ROO <sup>•</sup>	Radical peroxy
------------------	----------------

**T**

TC	Teneur en Cendres
TF	Teneur en Fibres
TCA	Tri-cloroacetic acid

**U**

UV	Ultraviolet
----	-------------

**V**

V	Volume
---	--------

**W**

W	Washingtonia
---	--------------

# Sommaire

REMERCIEMENT

DEDICACE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

ABREVIATIONS ET SYMBOLE

Introduction Générale..... 1

## Chapitre I :Synthèse bibliographique

### Partie 1 : Etude botanique

I. Etude botanique..... 5

I.1.Famille Arecaceae..... 5

I.2.Genre Washingtonia..... 5

I.3.Espèce Washingtonia robusta ..... 6

I.4.Étymologie ..... 7

I.5.Classification systématique ..... 7

I.6.Description botanique ..... 7

I.7.Comment faire pousser du palmier mexicain..... 10

I.8.Guide de culture du Robusta de Washington..... 10

I.9.Soin du palmier mexicain ..... 11

I.10.Procédé de cultiver un palmier mexicain à partir de graines..... 12

I.11.Problèmes courants avec le palmier mexicain..... 12

I.12.Etudes antérieurs ..... 13

### Partie 2 : Biomolécules

I.13.Les biomolécules naturelles ..... 17

I.13.1. Métabolites primaires..... 17

I.13.1.1.Définition..... 17

I.13.1.2.Classification des métabolites primaires..... 17

a- Les protéines..... 18

b- Les glucides..... 18

c- Les lipides..... 18

I.13.1.3.Rôles des métabolites primaires..... 19

I.13.2. Métabolites secondaires.....	19
a) Définition.....	19
b) Classification des métabolites secondaires.....	19
A. Composés phénoliques.....	20
A.1. Définition.....	20
A.2. Les principales classes des composés phénoliques.....	20
1) Les acides phénoliques.....	20
2) Les flavonoïdes .....	21
3) Les anthocyanes.....	21
4) Les quinones .....	22
5) Les tanins .....	22
6) Les anthracénosides.....	23
7) Les coumarines.....	24
8) Les saponines .....	25
B. Les alcaloïdes.....	25
C. Les terpènes et les stérols.....	26
D. Les huiles essentielles.....	27
c) Rôles des métabolites secondaires.....	28

### **Partie 3 : Activité antioxydante**

I.14. Activité antioxydante.....	30
I.14.1. Les antioxydants.....	30
I.14.1.1. Caractéristiques des antioxydants.....	30
I.14.1.2. Mode d'action des antioxydants.....	30
I.14.1.3. Sources d'antioxydants.....	31
I.14.2. Le Stress oxydant.....	32
I.14.3. Radicaux libres.....	33
I.14.4. Espèces réactives.....	33
I.14.5. Origines des espèces réactives de l'oxygène.....	34
I.14.6. Maladies liées aux stress oxydatif.....	34
I.14.7. Méthodes expérimentales d'évaluation de l'activité antioxydante.....	34

### **Chapitre II : Partie expérimentale**

II.1. Techniques expérimentales.....	36
II.1.1. Matériel végétal.....	36

II.1.1.1.Préparation de matière végétale.....	36
II.1.1.2.Caractérisation physique chimique.....	37
a. Détermination de la matière sèche.....	37
b. Détermination de la teneur en cendres (matière minérale) .....	38
II.1.2.Criblage phytochimique.....	39
II.1.3.Détermination de la teneur en matière grasse.....	44
II.1.4.Détermination de la teneur en fibres brutes.....	45
II.1.5.Analyse des fibres par spectroscopie IR-TF.....	47
II.1.6.Extraction des polyphénols totaux.....	48
II.2.Quantification des polyphénols .....	49
II.2.1.Préparation les dilutions des extraits.....	49
II.2.2.Dosage des polyphénols totaux.....	50
II.2.3.Dosage des Flavonoïdes Totaux.....	51
II.3.Evaluation de l'activité antioxydants .....	51
a. DPPH radical libre.....	52
b. Pouvoir reducteur.....	52
c. Activité de piégeage radiéal du superoxyde par le diméthylsulfoxyde alcalin (DMSO) .....	53

### **Chapitre III : Résultats et Discussion**

III.1.Caractérisation physique chimique.....	55
III.1.1.Détermination de la matière sèche.....	55
III.1.2.Détermination de la teneur en cendres (matière minérale) .....	56
III.2. Criblage phytochimique.....	57
III.3.Détermination de la teneur en matière grasse.....	65
III.4.Détermination de la teneur en fibres brutes.....	66
III.5. Analyse des fibres par spectroscopie IR-TF.....	67
III.6. Rendement des extractions (Soxhlet).....	69
III.7. Quantification des polyphénols .....	71
III.7.1.Dosage des polyphénols totaux et des Flavonoïdes Totaux .....	71
III.7.2. Activité antioxydant .....	72
III.7.2.1. DPPH radical libre.....	72
III.7.2.2.Pouvoir réducteur.....	74

III.7.2.3. Activité de piégeage radical du superoxyde par le diméthylsulfoxyde alcalin (DMSO).....	75
Conclusion.....	79

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## ANNEXES

## RESUME / ملخص / ABSTRACT

# **Introduction Générale**



## *Introduction Générale*

L'utilisation des plantes médicinales est connue depuis longtemps pour améliorer et soigner la santé humaine, aujourd'hui elles sont utilisées à différents niveaux, notamment au niveau thérapeutique. Au cours des dernières décennies, la recherche scientifique n'a fait que confirmer l'efficacité des propriétés thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées empiriquement depuis des milliers d'années. Aujourd'hui, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales occupe encore une place importante en raison de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. En plus de leur utilisation comme médicaments directs, ils sont également utilisés dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques <sup>[1]</sup>.

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme captateurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme. Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt dans le traitement de certaines pathologies,

La plupart des antioxydants isolés des plantes sont des polyphénols. Au sein de cette famille a été retrouvée une sous classe de métabolites secondaires connus pour être responsables de nombreuses activités biologiques, <sup>[4]</sup>

Les palmiers, une caractéristique emblématique des oasis désertiques du monde entier, sont connus pour être représentés par environ 2 500 espèces de la famille des Arecaceae. Ils ont été regroupés en 189 genres, classés en cinq sous-familles, dont beaucoup sont utilisées d'une manière ou d'une autre (alimentation, bois, combustible, construction et plantes ornementales). En fait, les palmiers ont été reconnus comme l'une des trois familles de plantes les plus utilisées par l'humanité <sup>[2]</sup>.

Washingtonia est un genre classé dans la sous-famille des Coryphoideae, qui comprend deux espèces originaires du nord-ouest du Mexique, *Washingtonia filifera*, distribuée en Basse-Californie, et *Washingtonia robusta*, trouvée en Basse-Californie et à Sonora. Les deux espèces sont cultivées comme plantes ornementales dans le monde entier, en particulier en Californie et au nord-ouest du Mexique, ainsi que dans le bassin méditerranéen, le sud de l'Europe et certaines parties de l'Australie <sup>[3]</sup>.

Le palmier fournit de nombreux produits bénéfiques, en général il est riche en huiles, terpénoïdes, composés phénoliques et autres qui ont été signalés comme étant bénéfiques pour la santé, tels que les phytostérols, les caroténoïdes, la provitamine A, la vitamine E et les triterpènes pentacycliques. Parmi les composés phénoliques, les acides phénoliques, les stilbènes, les anthocyanes, les flavonoïdes et les procyanidines ont été décrits dans divers tissus de ce palmier, principalement dans la pulpe des fruits, les graines et les feuilles [2].

L'objectif de ce travail est porte une contribution à l'étude des biomolécules issus d'un palmier de «*Washingtonia Robusta*» suivi par une évaluation de leur pouvoir antioxydant.

Ce manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré une synthèse bibliographique présentant une description botanique de *W. Robusta*, suivi d'une généralité sur les biomolécules et l'activité antioxydante.
- ✓ Le deuxième chapitre englobe tous les travaux personnels « méthodes, matériels, analyse... ». Les tests des criblages phytochimiques, l'extraction, le dosage des polyphénols et flavonoïdes, ainsi que l'activité biologique des différents extraits obtenus à partir des pulpes et graines des fruits de *washingtonia robusta*.
- ✓ Le dernier chapitre couvre la discussion des résultats acquis de chapitre deux (Taux d'humidité, teneur en cendres, criblage phytochimique, teneurs des extractions, analyse spectroscopique par IR-TF et dosages, ainsi que les résultats de activité antioxydante).

Et on terminera ce travail par une conclusion générale, donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus durant ce mémoire, suivi par quelques perspectives.

# **Chapitre I :**

# **Synthèse bibliographique**

**Partie 1**

**Etude botanique**

## I. Etude botanique

### I.1. Famille Arecaceae

La famille des palmiers (selon Watson & Dallwitz) comprend plus de 2 500 espèces dans plus de 200 genres, présentes dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées chaudes de l'Afrique aux Amériques et à l'Asie :

Liste alphabétique des noms de genre de la famille des Arecaceae Selon les règles de dénomination scientifiques, le nom de famille est dérivé du nom de genre le plus représentatif (dans ce cas, il s'agit de la noix de bétel, plus précisément du palmier qui comprend la chique d'arec, la noix de bétel ou la chique d'arec).

D'un point de vue botanique, les palmiers sont des monocotylédones et ne sont donc pas des arbres, mais des « graminées géantes » : ils n'ont pas de véritable bois au sens botanique, et l'encombrement des tiges est le résultat d'ajouts répétés appelés « pousses secondaires étalées ». "Résultat de faisceaux", processus différent de celui conduisant à la formation du bois chez les diploïdes et les gymnospermes <sup>[5]</sup>.

La classification botanique des arecaceae se présente comme suit <sup>[5]</sup> :

**Tableau I.1** : Classification botanique des Arecaceae.

Classification Classique	
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Liliopsida
<b>Sous-classe</b>	Arecidae
<b>Ordre</b>	Arecales
<b>Famille</b>	Arecaceae

### I.2. Genre Washingtonia

Le Palmier Washingtonia, Palmier du Mexique, est un palmier à croissance rapide sous conditions favorables : du chaud, de l'eau. Peu résistant au gel (-6 °C) mais résistant, sa couronne de feuilles en éventail est toute en hauteur. Ses palmes retombent en fanant, protégeant son tronc élancé comme un jupon. Aimant le soleil et les sols frais calcaires <sup>[6]</sup>.

Le genre *Washingtonia* regroupe deux espèces souvent confondues, très présentes dans les jardins méditerranéens, les îles Canaries et autres zones à climat chaud. Elles sont toutes deux originaires des zones arides du nord-ouest de la Basse-Californie au Mexique. Il s'agit du palmier éventail de Californie (*Washingtonia filifera*) et du palmier éventail mexicain (*Washingtonia robusta*) [2].



**Figure I.1:** *Washingtonia robusta* [7]

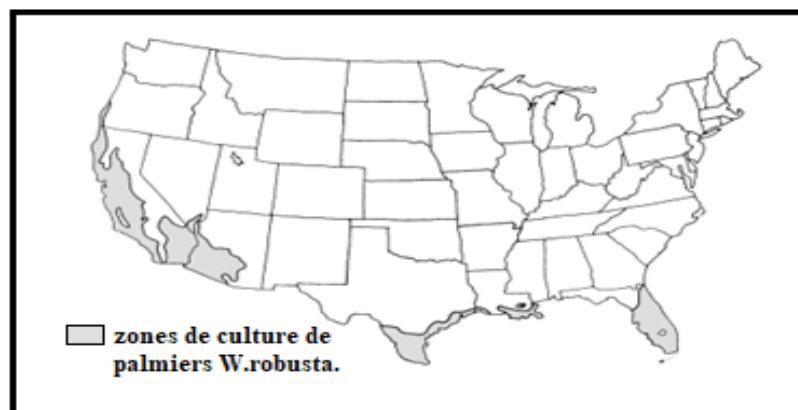


**Figure I.2:** *Washingtonia filifera* [7]

### I.3. Espèce *Washingtonia robusta*

*Washingtonia robusta* H. Wendl. (1883) Originaire du nord du Mexique (Baja California et Sonora), il pousse dans les zones semi-désertiques, au fond des canyons, là où il y a de l'eau, ou à proximité de sources naturelles.

Le genre est dédié à George Washington, le premier président des États-Unis. Le nom de l'espèce vient du latin "robustus" [8].



**Figure I.3:** Étendue approximative de la culture des palmiers mexicains aux États-Unis [9]

#### I.4. Étymologie

Son nom vient en hommage au premier président des Etats-Unis d'Amérique, George Washington (1732-1799) <sup>[10]</sup>.

#### I.5. Classification systématique

La classification systématique de la famille *W. robusta* peut être résumée de la façon suivante <sup>[11] [12]</sup> :

**Tableau I.2** : Classification systématique de *W. robusta*.

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Equisetophyta
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Arecales
Famille	Arecaceae
Sous-famille	Coryphoideae
Genre	Washingtonia
Tribu	Trachycarpeae

#### I.6. Description botanique

Le *Washingtonia robusta* est un palmier très élancé, de plus de 10 m de haut, avec une canopée plus haute que large. Ses feuilles sont rouges (contrairement à *Washingtonia filifera*) soutenues par des pétioles très résistants qui sont longs et ont des épines recourbées très pointues sur les bords. Les lames palmées sont rondes.

Les tiges de *Washingtonia robusta* sont fines, seulement 30 cm à leur point le plus large, bulbeuses à la base, parfois un peu recourbées par le vent. Lorsque les vieilles feuilles sèches sont coupées pour libérer le tronc en forme d'anneau, celui-ci est très effilé, de contour gris et lisse. Sinon, les vieilles feuilles fanées ont tendance à rester sur le tronc pendant des années, formant un jupon épais.

Il fleurit en été en bouquets atteignant 3 mètres de long. Ses fleurs de couleur crème portent de petits fruits bruns qui sont mangés et propagés par les oiseaux <sup>[13]</sup>.

➤ **Les feuilles :**

25 feuilles palmées, presque rondes, très grandes avec plus de 60 lobes vert brillant. La ligne blanche typique du genre est moins abondante sur les palmiers *Washingtonia robusta*. Pétioles de 1,50 m de long, brun rougeâtre à la base, verts aux extrémités, bordés de fortes dents orange, plus nombreux et plus dangereux que *Washingtonia filifera* <sup>[7]</sup>. De vieilles feuilles mortes non coupées forment un jupon autour de la jupe <sup>[14]</sup>.



**Figure I.4:** Les feuilles de *Washingtonia robusta* <sup>[14]</sup>.

➤ **Les fleurs :**

Les inflorescences apparaissent chaque année entre les feuilles <sup>[7]</sup>. Les fleurs d'été du palmier de Washington se produisent en grappes <sup>[14]</sup>. Les inflorescences sont longues de 2 à 3 m, recourbées, dépassant généralement les feuilles, portant des fleurs blanches hermaphrodites <sup>[8]</sup>.



**Figure I.5:** Les fleurs de *Washingtonia robusta* <sup>[10]</sup>.



➤ **Les fruits :**

Petits fruits noir brillant, ronds, de la taille d'un pois, contenant chacun une seule graine <sup>[7]</sup>. Le diamètre du fruit est d'environ 0,5 cm et le rendement est important. Les populations locales le mangent frais ou séché. Ce palmier de grande valeur ornementale est largement répandu dans toutes les régions du climat méditerranéen, où il est pratiquement naturalisé <sup>[8]</sup>.



**Figure I.6:** Les fruits de *Washingtonia robusta* <sup>[15]</sup>.

➤ **Les graines :**

Les graines sont lisses, brillantes, brun foncé <sup>[7]</sup>, semées dans des pots individuels, étroits et profonds de 2 cm de profondeur <sup>[14]</sup>. À partir des graines moulues, ils obtiennent une farine largement utilisée.

La propagation des graines est facile et les graines germent après environ 30 jours <sup>[8]</sup>.



**Figure I.7:** Les graines de *Washingtonia robusta* <sup>[10]</sup>.

### I.7. Comment faire pousser du palmier mexicain

En été, cette variété de palmier d'extérieur produit des grappes retombantes de fleurs de couleur crème qui laissent place à des fruits noirs. Les troncs ronds vont du brun rougeâtre au gris en vieillissant, ajoutant une belle toile de fond colorée pour son feuillage vert. Au fur et à mesure que les frondes meurent, elles s'affaissent pour créer une jupe dense autour de la base des frondes, ajoutant encore au profil attrayant de ce palmier. Ce palmier est considéré comme envahissant en Floride, en Californie et à Hawaï<sup>[16]</sup>.

### I.8. Guide de culture du Robusta de Washington

Le *Washingtonia Robusta* peut être planté directement en pleine terre ou en pot. Au printemps ou au début de l'été, assurez-vous qu'il est exposé à la lumière directe du soleil.

Ces plantes prospèrent dans un sol limoneux ou sablonneux tant qu'il y a un bon drainage. Ils résistent bien à la sécheresse ainsi qu'aux températures plus fraîches, tant qu'elles ne descendent pas en dessous de 20 degrés Fahrenheit (-29 degrés Celsius).

Contrairement à de nombreuses autres plantes, le palmier éventail mexicain ne laisse pas tomber ses feuilles pourries ; Ils pendent dans de grandes jupes volumineuses autour du torse<sup>[17]</sup>.

**Tableau I.3** : Des informations sur *W. robusta*<sup>[16]</sup>.

Nom commun	Palmier mexicain, Skyduster
Nom botanique	<i>Washingtonia robusta</i>
Famille	Arecaceae
Type de plante	Arbre
Taille adulte	50-100 pieds de haut, 8-10 pieds de large
Exposition au soleil	Complet
Le type de sol	Loameux, sableux, limoneux, bien drainé
PH du sol	Acide, Neutre
Temps de floraison	Été
Couleur de la fleur	Jaune, blanc
Zones de rusticité	9-11, États-Unis
Région natale	Amérique centrale

## I.9. Soins du palmier mexicain

Le palmier éventail mexicain offre d'énormes quantités de beauté en échange d'un entretien minimal. En fait, ces palmiers ne nécessitent qu'un arrosage et une taille occasionnels lorsqu'ils sont jeunes avant de devenir un arbre autosuffisant. Ils ont besoin de plein soleil et d'un sol fertile et bien drainé. Il est préférable de leur donner un large espace car ils développent une grande structure racinaire. Il est préférable de les garder à au moins 10 pieds des bâtiments.

Ces palmiers sont résistants aux maladies et aux ravageurs, bien que les tétranyques puissent parfois être un problème. Ils sont sujets aux carences en potassium, ce qui fait de l'engrais la clé de la santé des arbres <sup>[16]</sup>.

### ➤ **Lumière :**

Comme la plupart des plantes du désert, le palmier éventail mexicain pousse mieux en plein soleil. Il peut supporter une ombre partielle, bien que le plein soleil soit idéal. Vous devriez planter cet arbre dans un endroit qui reçoit 6 à 8 heures de soleil par jour.

### ➤ **Sol :**

Les palmiers mexicains préfèrent les sols limoneux et sablonneux bien drainés. Ils sont tolérants à la sécheresse et font mieux lorsque le sol est autorisé à se dessécher entre les arrosages. Les niveaux de pH acides à neutres sont les meilleurs. Ils tolèrent les sols salés, ce qui en fait une option viable pour les zones côtières.

### ➤ **Eau :**

Le palmier éventail mexicain prospère là où l'eau est facilement accessible, ce qui comprend les zones à nappe phréatique élevée. Bien qu'elles soient des plantes du désert et qu'elles tolèrent la sécheresse, elles ne se portent pas bien dans des conditions trop sèches. Il est préférable de laisser sécher le sol entre les arrosages pour s'assurer que les plantes ne reçoivent pas trop d'eau. Une fois la terre sèche, arrosez abondamment.

### ➤ **Température et humidité :**

Cultivé dans des régions désertiques chaudes, il s'ensuit que le palmier éventail mexicain est tolérant à la chaleur. Ce qui peut être surprenant, c'est que ces arbres sont également considérés comme des palmiers tolérants au froid. Ils peuvent résister à des températures allant jusqu'à 20 degrés Fahrenheit. Dans toutes les plages de température, ils préfèrent des conditions modérément humides.

➤ **Engrais :**

Ces grands palmiers poussent très rapidement et apprécient les engrais à libération lente tous les mois pendant la saison de croissance. Pour de meilleurs résultats, choisissez un engrais de haute qualité spécialement formulé pour les palmiers. Comme pour les autres plantes à croissance rapide, la carence en potassium peut être un problème, donc un engrais spécifique aux palmiers est essentiel pour une bonne santé.

➤ **Taille :**

Les grandes frondes en forme d'éventail tombent et se rassemblent autour de la base des arbres à mesure qu'ils vieillissent. Cela crée une grande jupe autour de la paume. Bien que ceux-ci commencent à tomber avec le vieillissement, les feuilles usées doivent être enlevées pour garder la paume propre et pour éviter les risques d'incendie. Un arboriculteur professionnel peut être nécessaire si le palmier est très grand.

### **I.10. Procédé de cultiver un palmier mexicain à partir de graines**

Contrairement aux autres palmiers, le palmier éventail mexicain ne produit pas de rejets. Cela signifie que pour propager ce palmier, il doit être démarré à partir de graines. C'est un excellent moyen de multiplier vos palmiers car ils poussent bien à partir de graines. Vous aurez besoin de petits pots, d'un sol humide et bien drainé et d'un plateau chauffant. Suivez ensuite ces instructions <sup>[17]</sup> :

- Certaines graines nécessitent un trempage pour germer. Vérifiez votre colis pour plus de détails. Si elles nécessitent un trempage, placez les graines dans l'eau et laissez-les tremper pendant 24 heures.
- Une fois les graines trempées, plantez-les dans de petits pots avec un sol humide et bien drainé.
- Placez les pots dans un environnement chaud. Placer les pots sur un plateau chauffant aidera à garder les graines au chaud et favorisera la germination. Ceci est particulièrement utile si vous ne disposez pas d'un environnement chaud pour les démarrer.
- Gardez le sol humide. La germination devrait avoir lieu en 14 jours.

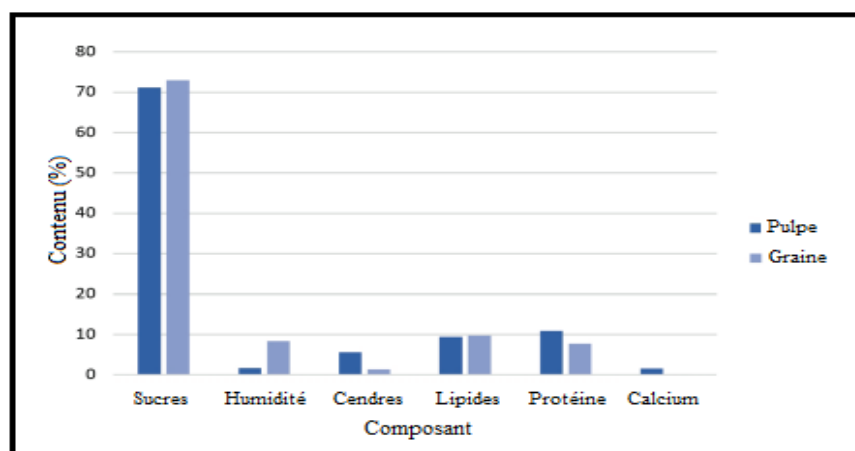
### **I.11. Problèmes courants avec le palmier mexicain**

Les palmiers éventail mexicains sont très robustes et ne causent généralement aucun problème aux jardiniers. Cependant, même les plantes robustes peuvent rencontrer des problèmes de temps en temps <sup>[14][18]</sup> :

- Vieillessement naturel des feuilles, en l'occurrence autour de la canopée.
- Dommages causés par le gel (si les feuilles sont couvertes de taches vert foncé, qui sont devenues brunes ou jaunes).
- Coup de soleil (si rougeur antérieure des tissus).
- Trop d'humidité dans le sol entraîne la pourriture des racines : des taches noires persistantes apparaissent sur les feuilles.
- Il est vulnérable aux cochenilles et aux tétranyques.

## I.12. Etudes antérieures

1. Le poids total des fruits récoltés était de 500 g ; 151 g de Nacapule Canyon et 349 g de Las Barajitas Canyon. Analyse proximale de la pulpe et des graines. Les principaux composés trouvés étaient les sucres, suivis des protéines et des graisses. La teneur en protéines et en cendres était la plus élevée dans la pulpe. Les données proximales de la pulpe et des graines ont montré, dans cet ordre, sucres 71 et 73 %, protéines 10,8 et 7,4 %, humidité 1,6 et 8,4 %, cendres 5,5 et 4,3 %, matières grasses 9,4 et 8,7 % et calcium 1,5 et 0,2 (Figure I.8) <sup>[2]</sup>

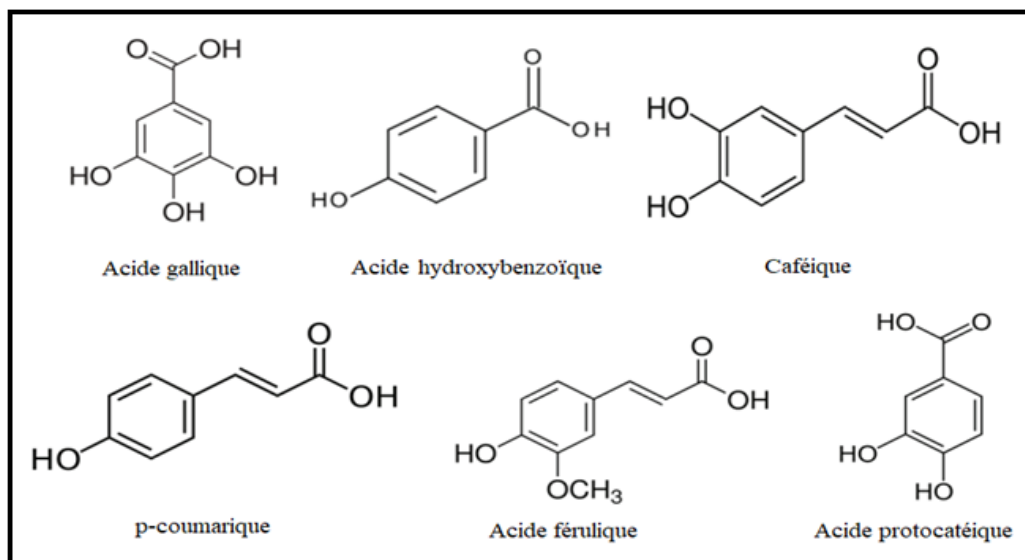


**Figure I.8** : Métabolites primaires de la pulpe et des graines *Washingtonia robusta* <sup>[2]</sup>.

2. Métabolites secondaires (SM) et glycosides cyanogéniques. La présence de tanins, d'alcaloïdes, de saponines et de flavonoïdes a été identifiée, tandis que les glycosides cyanogènes ont atteint 0,2 µg/g dans la pulpe et 0,78 µg/g dans les graines. Les SM les plus abondants étaient les alcaloïdes et les flavonoïdes, et leur présence était plus élevée dans les graines que dans la pulpe <sup>[2]</sup>.

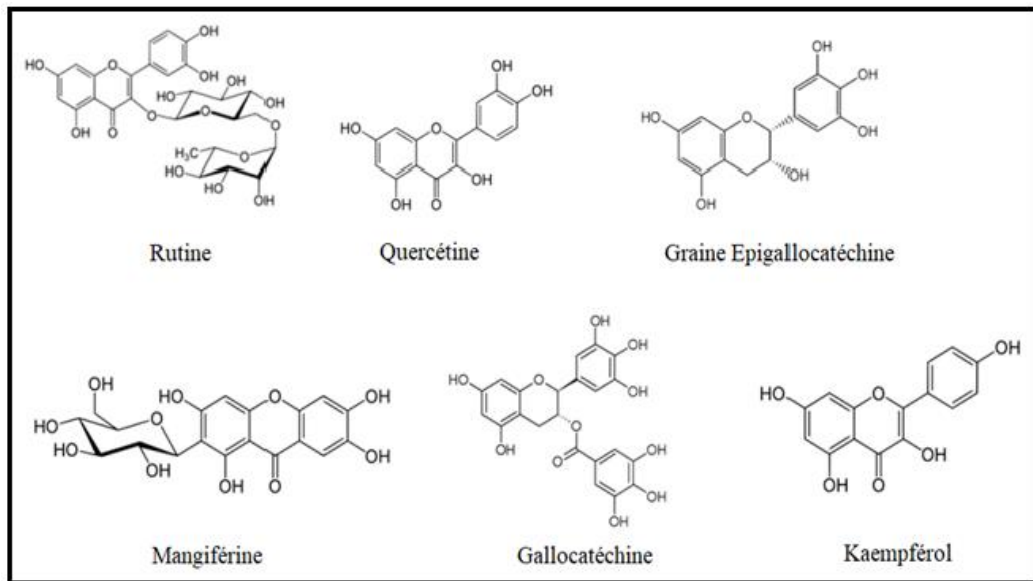
3. Composés phénoliques (PC). Les phénols totaux ont atteint 57,02 mg GAE/g dans la pulpe et 222,10 mg GAE/g dans les graines. Les composés phénoliques ont été analysés dans les fractions libres, alcalines et acides des extraits de pulpe et de graines. Bien que le PC n'ait pas été trouvé dans la fraction libre, les fractions alcaline et acide ont donné des compositions et des proportions différentes. Cinq composés (acides gallique, hydroxybenzoïque, caféique, -p-coumarique et férulique) ont été trouvés dans la pulpe, et seulement trois (acides hydroxybenzoïque, férulique et protocatéique) ont été trouvés dans les graines. De plus, la

4. Teneur totale en PC était pratiquement la même dans les deux tissus. Cependant, dans la pâte à papier, la fraction acide était considérablement plus élevée que la fraction alcaline (**Figure I.9**)<sup>[2]</sup>.



**Figure I.9:** Composés phénoliques trouvés dans les fruits de *Washingtonia robusta* <sup>[2]</sup>.

5. Flavonoïdes. La teneur totale en flavonoïdes dans la pulpe était de 248,96 mg QE/g et de 2652 mg QE/g dans les graines. La teneur en flavonoïdes était différente entre la pulpe et les graines. Alors que la rutine et la quercétine ont été trouvées dans la pulpe, quatre flavonoïdes (épigallocatechine, mangiférine, galocatechine gallate et kaempférol) ont été identifiés et quantifiés dans les graines. La concentration la plus élevée de flavonoïdes a été trouvée dans la fraction libre des graines. Pour la plupart, les flavonoïdes des graines étaient minimes dans les fractions alcaline et acide, tandis que les flavonoïdes de la pulpe n'ont été trouvés que dans la fraction acide (**Figure I.10**)<sup>[2]</sup>.



**Figure I.10:** Flavonoïdes trouvés dans les fruits de *Washingtonia robusta* [2].

# **Partie 2**

# **Biomolécules**



### I.13. Les biomolécules naturelles

Une des particularités des végétaux est de synthétiser de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé <sup>[18]</sup>. Ces substances sont appelées métabolites, dont on distingue deux classes <sup>[19]</sup> :

- Les métabolites primaires.
- Les métabolites secondaires.

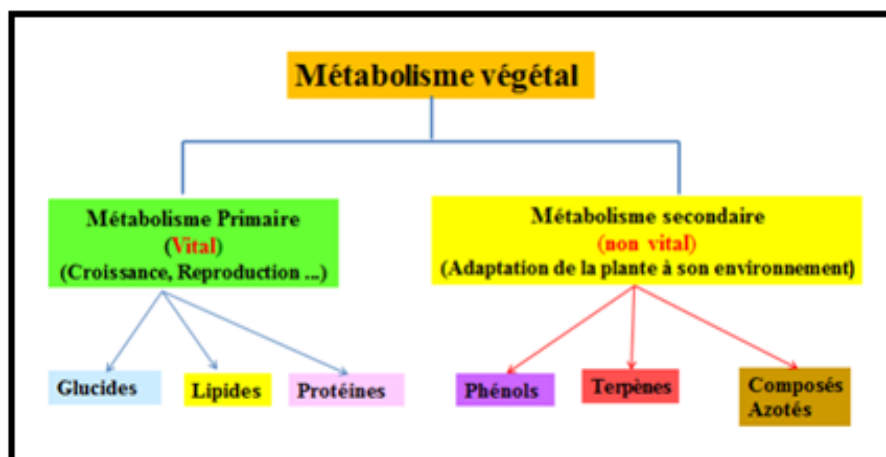


Figure I.11 : Le métabolisme végétal <sup>[19]</sup>.

#### I.13.1. Métabolites primaires

##### I.13.1.1. Définition

Un métabolite primaire est un métabolite directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Le composé a généralement une fonction physiologique, c'est-à-dire une fonction intrinsèque, dans l'organisme. Les métabolites primaires comprennent les acides aminés (source principale de construction des protéines), les lipides (réserves d'énergie, membranes cellulaires), les glucides (réserves d'énergie, parois cellulaires) et les acides nucléiques. Les métabolites primaires sont également connus sous le nom de métabolites centraux, qui ont le sens plus strict de métabolites présents dans tous les organismes ou cellules à croissance autonome <sup>[19]</sup>.

##### I.13.1.2. Classification des métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule, de l'organisme <sup>[20]</sup>:

- Les acides aminés, source primaire de construction des protéines.
- Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire.
- Les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires.

### a- Les protéines

Les protéines sont des éléments essentiels de la vie cellulaire : elles peuvent jouer un rôle structurel (comme l'actine), un rôle dans le mouvement (comme la myosine), un rôle catalytique (enzymes), ou un rôle dans la régulation de la compaction de l'ADN (histones) ou de l'expression des gènes (facteurs de transcription), etc.

Une protéine est une bio macromolécule composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liées entre elles par des liaisons peptidiques (chaînes polypeptidiques). En général, on appelle protéine lorsque la chaîne contient au moins 20 acides aminés [20].

### b- Les glucides

Les glucides représentent 1 à 2 % de la masse cellulaire. Ils contiennent du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène. Ces deux derniers atomes existent dans le même rapport 2 :1 que l'eau, c'est pourquoi les glucides sont parfois appelés glucides. Ce sont des molécules organiques caractérisées par la présence de liaisons carbonées qui portent des groupements hydroxyles et des fonctions aldéhydes ou cétones.

Selon leur taille et leur solubilité, les glucides sont classés en monosaccharides ou oses, en disaccharides ou osides, et en polysaccharides ou polysides [20].

### c- Les lipides

Les lipides sont des graisses présentes dans la nature sous deux formes :

- Les triglycérides, qui jouent un rôle énergétique essentiel
- Les phospholipides composés de diglycérides ont un rôle physiologique dans les membranes cellulaires.
- Les stérols dans lesquels on retrouve le fameux cholestérol. Ils sont également les composants de base de certaines hormones (stéroïdes) et de la membrane cellulaire des eucaryotes.
- Acides gras saturés : Les acides gras saturés qui sont principalement d'origine animale ont une forme linéaire. Il est généralement solide à température ambiante. Ces molécules forment des structures compactes qui ont tendance à rigidifier les membranes cellulaires et à limiter les échanges.
- Les acides gras insaturés (monoinsaturés et polyinsaturés) ont une forme en V ou en U qui améliore la fluidité membranaire car l'empilement des phospholipides est moins compressif. Les acides gras polyinsaturés sont généralement liquides à température ambiante et se trouvent principalement dans les huiles végétales [20].

### I.13.1.3. Rôles des métabolites primaires

- Les protéines remplissent diverses fonctions biologiques <sup>[21][22]</sup> :
  - ✓ Protéines structurales : éléments constitutifs des membranes cellulaires et des organites intracellulaires.
  - ✓ Protéines motrices : actine et myosine.
  - ✓ Protéines régulatrices : enzymes, hormones, immunité, trafic, transduction, signalisation et transcription.

Par conséquent, les protéines sont essentielles pour un métabolisme actif dans le corps.

- La fonction de base des glucides est de fournir de l'énergie à partir des aliments <sup>[21][22]</sup>.
- Les lipides ont également un rôle structurel (membranes cellulaires), en tant que transporteurs de vitamines liposolubles (A, D, E et K), en tant que précurseurs de molécules essentielles à l'organisme (hormones stéroïdiennes, prostaglandines ...) et dans la prévention des maladies cardiovasculaires, l'inflammation et le rôle dans le cancer, notamment grâce aux oméga 3 <sup>[22][23]</sup>.

### I.13.2. Métabolites secondaires

#### a) Définition

Les métabolites végétaux secondaires sont un groupe diversifié de composés naturels qui n'ont souvent aucune fonction primaire apparente pour la croissance des cellules végétales. Ils sont synthétisés par les plantes en réponse à des stimuli externes et ont souvent des fonctions régulatrices dans le cadre d'une cascade de réponses physiologiques et métaboliques suite à un stress environnemental ou à une attaque de ravageurs. Lorsque de nouvelles fonctions biologiques de métabolites secondaires sont découvertes, elles sont souvent reclassées en vitamines <sup>[24][25]</sup>.

#### b) Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ont de nombreuses utilisations pharmaceutiques <sup>[26]</sup>. Ils se répartissent en trois groupes principaux : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes est constituée d'un grand nombre de molécules biologiquement actives <sup>[27]</sup>.

## A. Composés phénoliques

### A.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires à haut poids moléculaire. Ils sont largement répandus dans le règne végétal [28], caractérisés par la présence de cycles aromatiques porteurs de groupements hydroxyles, libres ou liés aux glucides [29].

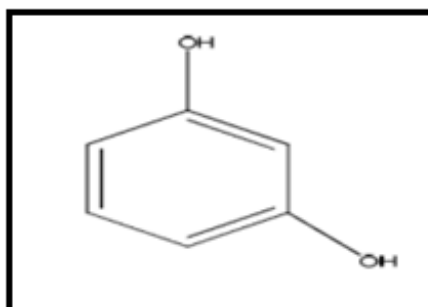


Figure I.12: Structure d'unité de base des polyphénols [30].

### A.2. Les principales classes des composés phénoliques

#### 1) Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phytochimiques qui contiennent au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxyle phénolique. Le nom commun des acides phénoliques comprend les formes les plus simples de composés phénoliques, qui sont divisés en deux groupes principaux : les acides hydroxybenzoïques et ont une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, et les acides hydroxycinnamiques et possèdent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (Figure I.13) [31] [32].

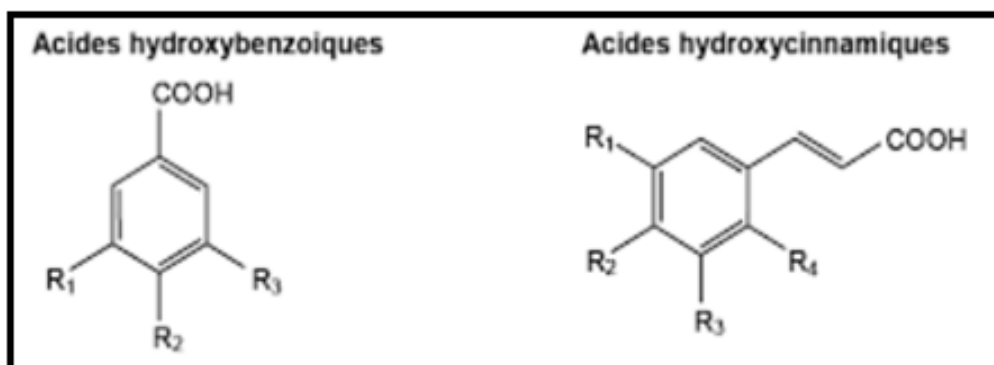


Figure I.13: Structure chimique de quelques acides phénoliques [33].

## 2) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des pigments presque universels des plantes et sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, et ils forment un groupe de plus de 6000 composés naturels dans le règne végétal [22]. Ont le même élément structurel de base, avec un squelette à quinze carbones qui, à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, Connecté avec un triple pont en carbone (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Le pont en C<sub>3</sub> entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C [33].

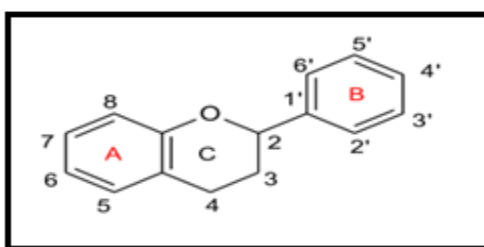


Figure I.14: Structure de base des flavonoïdes [33].

## 3) Les anthocyanes

Anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet), terme général qui regroupe les anthocyanidines et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules, qui font partie de la famille des flavonoïdes et sont capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, violet, rose ou orange. Sa présence peut être détectée dans les plantes à l'œil nu. Ainsi, ces pigments sont à l'origine des couleurs des fleurs, des fruits, des baies rouges ou bleues. On les trouve généralement dans les vacuoles des cellules épidermiques et ce sont de véritables poches remplies d'eau. Les anthocyanes se trouvent également dans les racines, les tiges, les feuilles et les graines. [34]

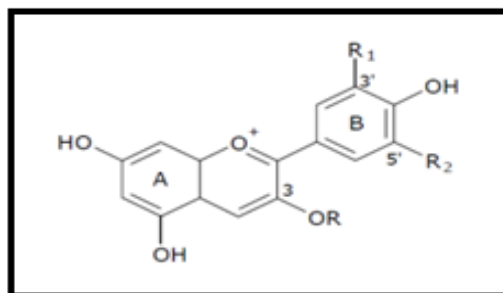
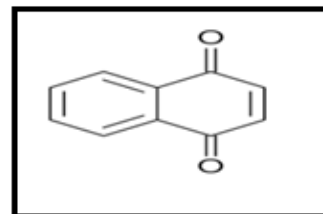


Figure I.15: Structure générale des anthocyanes [33].

#### 4) Les quinones

Cétones aromatiques issues de l'oxydation du diphénoles. Les quinones sont un groupe de substances biologiquement actives hautement actives. Beaucoup d'entre eux sont des antibiotiques naturels qui agissent principalement sur les Gram+, ils sont aussi fongicides et parfois vermifuges. Les quinones sont des transporteurs d'électrons spécifiques aux membranes mitochondriales.

En présence d'une base (NaOH ou KOH), les quinones donnent une couleur caractéristique allant du rouge orangé au violet pourpre <sup>[35]</sup>.



**Figure I.16 :** Structure de base des quinones <sup>[33]</sup>.

#### 5) Les tanins

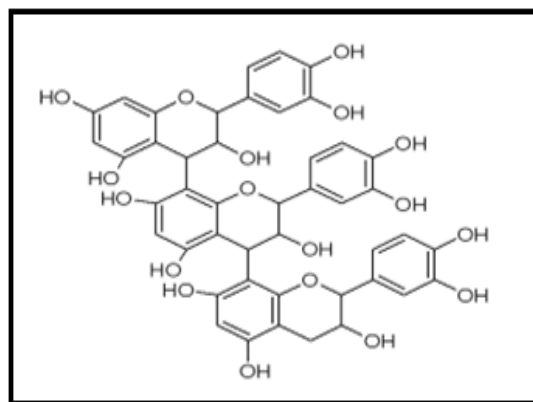
Le terme tanin est dérivé de la capacité de la peau animale à tanner en la convertissant en cuir par le composé susmentionné <sup>[36]</sup>. Toutes les plantes contiennent plus ou moins de tanins, qui donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles qui aide à arrêter les saignements et à combattre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour étirer les tissus élastiques, comme dans le cas des veines veineuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par l'eczéma ou les brûlures <sup>[37]</sup>.

##### a) Tanins condensés

Les tanins condensés, également appelés procyanidules, sont largement utilisés dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou des polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide chaud en cassant la liaison inter monomérique <sup>[38]</sup>.

La structure complexe des tanins condensés

consiste en des monomères répétitifs qui diffèrent par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation (**Figure I.17**). On distingue les catéchines, l'épicatéchine et la gallocatéchine <sup>[39]</sup>.

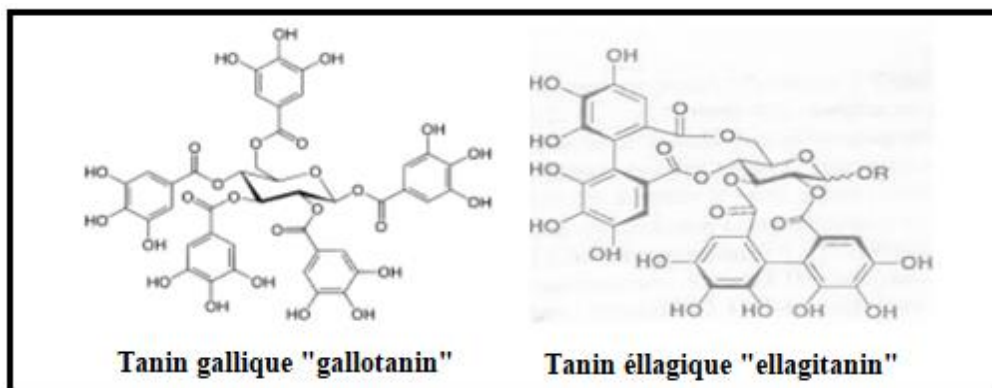


**Figure I.17 :** Tanins condensés <sup>[33]</sup>.

### b) Tanins saponifiables ou hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'hydrates de carbone et d'acides phénoliques, facilement décomposés par les enzymes tanniques en os et en acide phénolique. Selon la nature de ce dernier, on distingue : les tanins galliques et les tanins ellagiques<sup>[40]</sup>. Ces tanins sont de deux types :

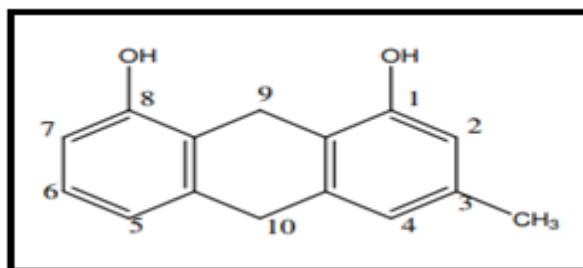
- Les tanins galliques qui sont des esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.
- Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acides ellagiques<sup>[34]</sup>.



**Figure I.18:** Structure de Tanins hydrolysables ; esters d'acides galliques et ellagiques<sup>[33]</sup>.

### 6) Les anthracénosides

Ce sont des composés d'origine végétale aux propriétés laxatives et purgatives (l'intensité d'action les distingue : un laxatif doux et un laxatif violent). Ces composés ont une structure de base dérivée du méthyl-3-dihydroxy-1,8-anthracène<sup>[33]</sup>. (**Figure I.19**)



**Figure I.19 :** Structure du méthyl-3-dihydroxy-1,8-anthracène<sup>[33]</sup>.

## 7) Les coumarines

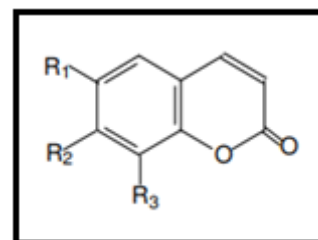
Ces composés sont une classe importante de biomolécules qui ont une odeur caractéristique similaire au foin fraîchement coupé. , ils sont présents dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses <sup>[41]</sup>. Les familles les plus riches en coumarine sont : les légumineuses, les rutacées, les apiécées et les thymelacées. Ils sont présents dans toutes les organes de la plante, en particulier dans les fruits et les graines <sup>[42][43]</sup>. Présents dans la nature, soit à l'état libre, soit en association avec des sucres, ils sont responsables de l'odeur caractéristique du foin <sup>[44]</sup>.

### a) Les coumarines simples

Ce sont ceux qui ont des substituant dans le cycle benzénique. Il peut s'agir de dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et glycosylés de la molécule mère. (Tableau I.4) <sup>[45]</sup>.

Tableau I.4: Structures de quelques coumarines simples <sup>[33]</sup>.

	R1	R2	R3
Umbélliférone	H	H	OH
Esculéline	OH	OH	H
Scopolétine	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Fraxétol	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Esculine	O-Glu	OH	H
Fraxoside	OCH <sub>3</sub>	O-Glu	OH



### b) Coumarines complexes

Ils sont constitués d'un noyau furane ou pyrane lié à un noyau benzo- $\alpha$ -pyrone, la liaison primaire étant d'origine coumarine polycyclique <sup>[33]</sup>.

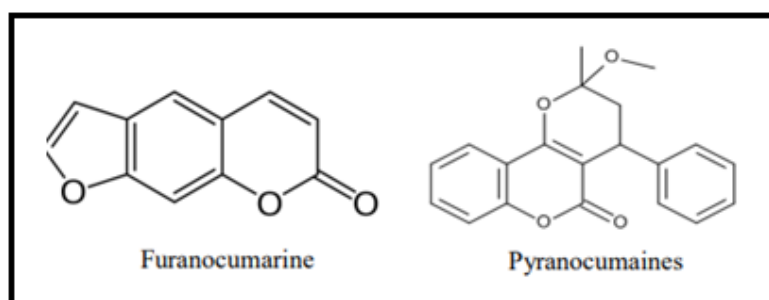


Figure I.20: Structure de quelques coumarines complexes <sup>[33]</sup>.



## 8) Les saponines

Les saponosides sont un grand groupe de d'hétérosides très courants dans les plantes. Les saponines triterpéniques ont souvent un squelette pentacyclique. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs, ce qui lui donne la capacité de former des solutions mousseuses lorsqu'il est dissous dans l'eau.

Les saponosides jouent un rôle dans la défense des plantes contre les pathogènes microbiens.

Les saponosides ont de nombreuses activités biologiques telles que : antifongique, antioxydante, anti-inflammatoire et antivirale [46].

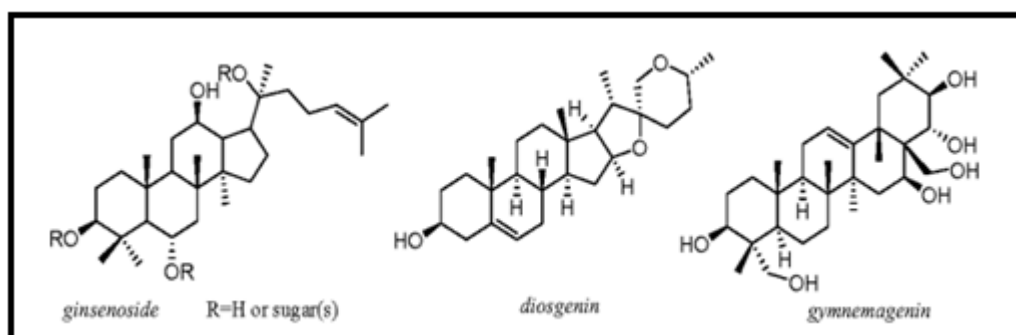


Figure I.21: Structures des saponines [33].

### B. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles provenant principalement de plantes qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur composition chimique, avec un degré variable de propriétés essentielles. Les alcaloïdes peuvent être trouvés dans toutes les parties de la plante, mais selon le type de plante, ils ne s'accumulent que dans l'écorce, dans les racines et dans les feuilles. Les alcaloïdes sont aujourd'hui utilisés dans tous les domaines de la santé. Ils sont connus pour leurs puissantes activités thérapeutiques à faible dose [30].

La plupart de ces composés sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, la phénylalanine et la tyrosine [30]. Ils sont divisés en trois catégories [33] :

- a- Les alcaloïdes vrais.
- b- Les pseudo-alcaloïdes.
- c- Les proto-alcaloïdes.

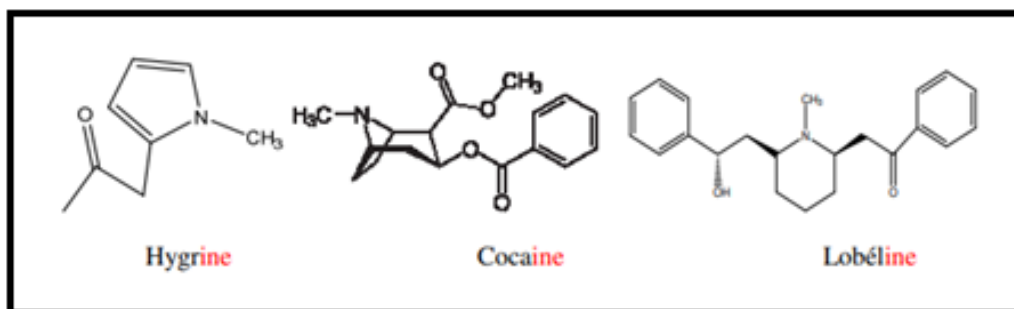


Figure I.22 : Structure de quelques alcaloïdes vrais [33].

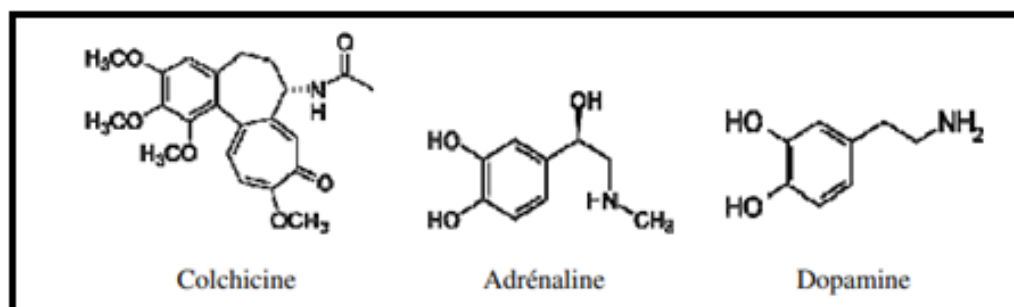


Figure I.23 : Structures de quelques pseudo-alcaloïdes [33].

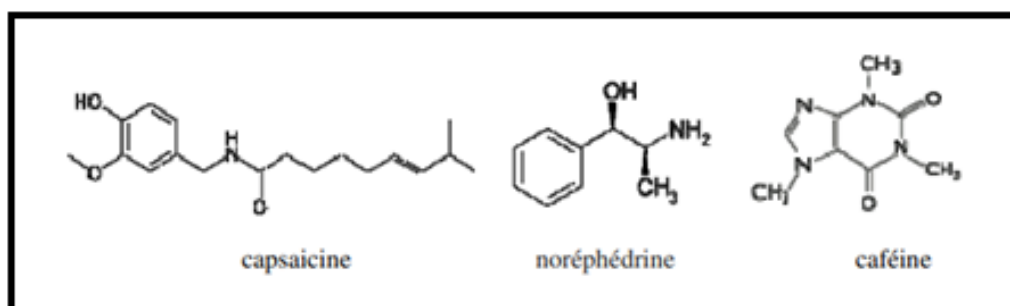


Figure I.24 : Exemple des proto-alcaloïdes [33].

## C. Les terpènes et les stérols

### a) Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, soit à structure cyclique, soit à chaîne ouverte : leur formule brute est  $(C_5H_x)_n$  où  $x$  est variable selon le degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut prendre des valeurs de (1-8) sauf dans les polyterpènes où il peut atteindre plus de 100 (caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (Figure I.25). Le terme terpénoïde fait

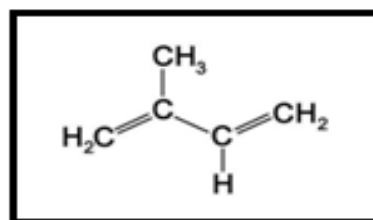


Figure I.25 : Structure de la molécule d'isoprène [33].

référence à un groupe de substances qui présentent une structure terpénique avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) [44]. La plupart de ces composés sont d'origine végétale. Il est synthétisé par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux [49].

### b) Les stéroïls

Les stéroïls ont une structure chimique similaire à celle du cholestérol. Cette proximité leur permet de tromper le corps en limitant le passage du cholestérol de l'intestin dans la circulation sanguine. Ce sont des stéroïdes naturels caractérisés par un noyau polycyclique portant une fonction alcool [50].

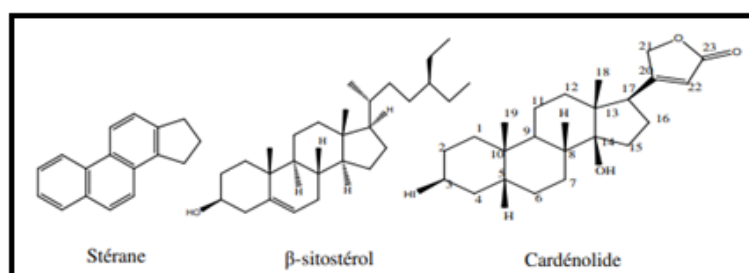


Figure I.26 : Quelques exemples de stéroïdes [33].

## D. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits de composition complexe, renfermant des produits volatils contenus dans les végétaux obtenus à partir d'une matière première végétale : fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit, ou autre ; soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par extraction mécanique. Le principal procédé d'extraction est la distillation à la vapeur d'eau.

Les huiles essentielles ont certaines propriétés et certains modes d'utilisation, c'est pourquoi elles ont donné naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie (aromathérapie).

Les huiles essentielles sont utilisées en phytothérapie car elles possèdent des propriétés antiseptiques et cytotoxiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne.

Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent également être



Figure I.27 : Les différents constituants d'HE [51].

utilisés comme agents protecteurs contre les champignons phytopathogènes et les micro-organismes qui envahissent les denrées alimentaires <sup>[52]</sup>.

### c) Rôles des métabolites secondaires

- Longtemps considérés comme des métabolites secondaires, le rôle des composants volatils dans les plantes reste flou <sup>[53]</sup>.
- Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie végétale et de l'utilisation humaine des plantes. Ils peuvent en effet intervenir <sup>[54]</sup> :
  - ✓ Quelques aspects de la physiologie végétale.
  - ✓ Dans l'interaction des plantes avec leur environnement biologique et physique, soit directement dans la nature, soit lors de la conservation post-récolte de certaines plantes.
  - ✓ En critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualité nutritionnelle...).
  - ✓ En raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes, ils peuvent protéger l'homme de certaines maladies.
- Le rôle des alcaloïdes est d'avoir une activité pharmacologique importante. Bien que beaucoup d'entre eux soient utilisés pour leurs propriétés analgésiques, dans le cadre de régimes sédatifs, souvent avec des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens ou anticancéreux, certains d'entre eux sont toxiques <sup>[55]</sup>.
- Les fonctions les plus répertoriées de la combinaison terpène/toutes classes sont d'être de puissantes phytoalexines (fonctionnant dans les paléophytopathies chez les plantes), d'être des insecticides naturels contre des familles d'insectes spécifiques, et d'être un agent de défense contre divers agresseurs externes <sup>[56]</sup>.
- Les composants des huiles essentielles sont considérés comme un moyen de défense contre les prédateurs en modulant le comportement végétatif de plante à plante, sont considérés comme des régulateurs des réactions oxydatives intramoléculaires, protègent les plantes des agents atmosphériques, et certains de ces composés peuvent également être utilisés comme source d'énergie dans l'assimilation de la chlorophylle. Le rôle incontestable des huiles essentielles dans la pollinisation et la dispersion des spores de fleurs d'eau dure est dû à leur attrait pour les insectes pollinisateurs <sup>[57]</sup>.

# **Partie 3**

## **Activité antioxydante**

## I.14. Activité antioxydante

Le corps a développé un système de défense très efficace contre la production de radicaux libres. Les molécules qui contrôlent cette production sont connues sous le terme « antioxydants ».

### I.14.1. Les antioxydants

D'un point de vue biologique, un antioxydant est toute substance qui, à faible concentration par rapport à un substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat et dont les produits de réaction avec l'agent oxydant sont non toxiques [58].

#### I.14.1.1. Caractéristiques des antioxydants

Un composé est considéré comme un antioxydant dans l'organisme lorsqu'il requiert les propriétés suivantes [58] :

- Il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène biologiquement toxiques.
- Les produits de la réaction des antioxydants avec les oxydants ne doivent pas être plus toxiques pour l'organisme que les métabolites éliminés.
- Les antioxydants potentiels doivent être présents dans l'organisme à des concentrations adéquates.
- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'agent oxydant.

#### I.14.1.2. Mode d'action des antioxydants

Où qu'ils se trouvent, les antioxydants agissent à deux niveaux : empêcher la formation de radicaux libres d'oxygène ou les piéger. Outre cette double ligne de défense, l'organisme est également capable de réparer ou d'éliminer des molécules endommagées par des agressions agressives.

Les antioxydants préventifs ont des effets stabilisants, tels que la décomposition des peroxydes en produits terminaux stables, empêchant ainsi directement la formation de radicaux libres. Ils peuvent également chélater les catalyseurs de réaction d'oxydation tels que les ions métalliques ou réagir avec l'oxygène.

Les piègeurs de ERO entrent en compétition avec les radicaux libres déjà présents et contribuent à bloquer la phase de propagation. Il existe deux types de piégeage :

- D'abord en libérant des atomes d'hydrogène, le plus souvent via des structures aromatiques (dans le cas des dérivés phénoliques : tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...).

- La seconde est de libérer des électrons.

La combinaison de ces antioxydants préventifs et piègeurs peut avoir un effet synergique [58].

### I.14.1.3. Sources d'antioxydants

En plus des substances spécifiques au corps, les aliments, les synthétiques et les plantes peuvent également être des sources d'antioxydants [58].

#### ➤ Source alimentaire :

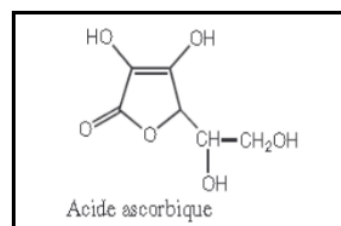
Certaines substances sont utilisées par l'organisme, telles que Antioxydants. Ce sont principalement : la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le  $\beta$ -carotène .

#### ✓ La vitamine C ou acide ascorbique :

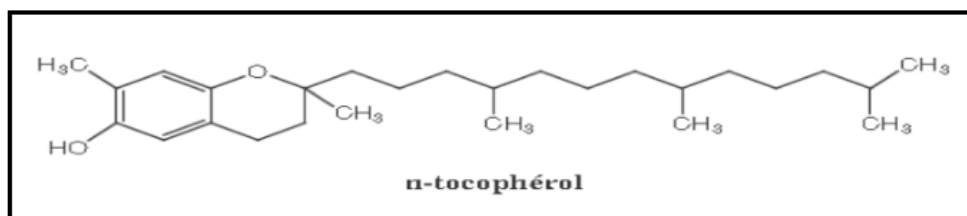
C'est un réducteur puissant. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. On le trouve dans les légumes, les choux, les poivrons, les agrumes.

#### ✓ La vitamine E ou tocophérol :

Empêche la peroxydation des lipides membranaires in vivo en éliminant les radicaux peroxydes. On le trouve dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes.



**Figure I.28 :** Structure de la vitamine C [59].



**Figure I.29 :** Structure de la vitamine E [59].

#### ✓ Le sélénium :

C'est l'oligo-élément le plus « à la mode » en raison de certaines de ses propriétés antioxydantes. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure) et peut également protéger contre certains cancers.

#### ✓ Le $\beta$ -carotène

En plus de l'activité de la provitamine A, il a également la capacité de piéger l'oxygène singulet. On le trouve dans les légumes verts, les épinards, les salades, les carottes, les abricots, les melons, les papayes et autres fruits jaunes.

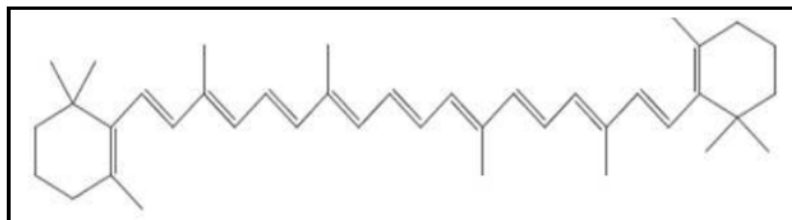


Figure I.30 : Structure du  $\beta$ -carotène [59].

➤ **Antioxydants synthétiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), le gallate de propyle (PG) et la tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont efficaces. Ils sont moins chers que les antioxydants, largement utilisés et naturels. Cependant, leur sécurité est très débattue. Il s'avère qu'ils peuvent être toxiques. En effet, le BHA peut transformer certains produits ingérés en substances toxiques ou cancérogènes en augmentant la sécrétion d'enzymes microsomales. Par conséquent, la nécessité de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant restreints dans plusieurs pays en raison de leurs effets néfastes possibles sur la santé humaine) doit orienter le marché vers des sources naturelles d'antioxydants et stimuler la recherche dans ce domaine [58].

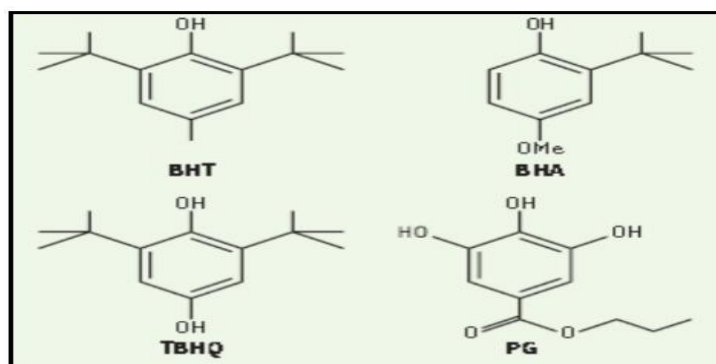


Figure I.31 : Antioxydant de synthèse les plus utilisés [59].

### I.14.2. Stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre le système oxydatif et la capacité antioxydante de l'organisme.

Cette perturbation peut avoir diverses causes, telles qu'une surproduction endogène de prooxydants due à l'inflammation, des carences nutritionnelles en antioxydants, ou une exposition environnementale à des facteurs prooxydants tels que la pollution, l'exposition aux rayonnements gamma, Les rayons UV et même l'ozone, certains pesticides et solvants, les métaux toxiques, fumer et boire de l'alcool et prendre des



médicaments. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont inondées de radicaux libres qu'il faut éliminer [33].

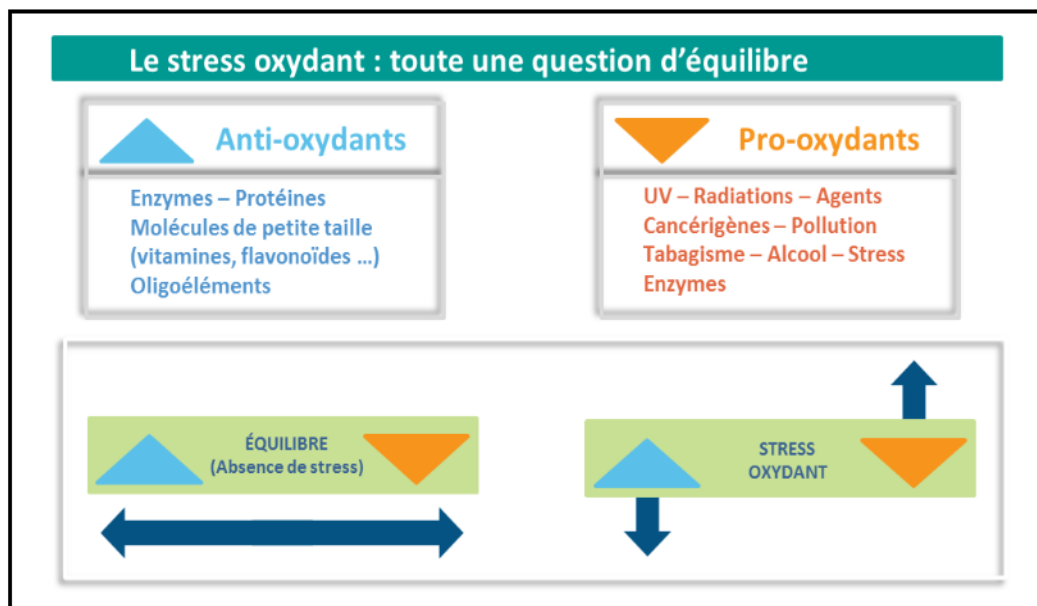


Figure I.32 : Stress oxydant [60].

### I.14.3. Radicaux libres

Un radical libre est une substance chimique, un atome ou une molécule qui a un ou plusieurs électrons non appariés dans son enveloppe externe et qui est capable de survivre par lui-même.

Cette propriété les rend instables. Ainsi, ils peuvent soit capter un ou plusieurs électrons (agissant alors comme agent oxydant) soit les céder (agissant comme agent réducteur) pour la stabilisation [61].

### I.14.4. Espèces réactives

Espèces réactives de l'oxygène ERO, une classe spécifique de radicaux libres, comprenant des radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ), les radicaux superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) et leurs formes protonées ( $\text{HO}_2^\bullet$ ), les radicaux peroxydes ( $\text{ROO}^\bullet$ ) De même que des espèces non radicalaires, telles que le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et l'oxygène ( $\text{O}_2$ ), sont produites à des doses raisonnables par divers mécanismes physiologiques. Ces espèces réactives de l'oxygène doivent être immédiatement neutralisées par différents systèmes antioxydants [33].

### I.14.5. Origines des espèces réactives de l'oxygène

Ces radicaux libres proviennent de deux sources différentes <sup>[33]</sup> :

#### ➤ Production endogène

La chaîne respiratoire mitochondriale, à partir de laquelle les organismes aérobies obtiennent de l'énergie, joue un rôle important dans les cellules en combinant l'oxydation des coenzymes qui transportent l'hydrogène ou les électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adénosine Di Phosphate) en ATP (Adénosine Triphosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, les mitochondries fournissent une source d'énergie importante pour les cellules, car 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont produites lors de la réduction d'oxygène. D'autre part, dans des conditions physiologiques, environ 0,4% à 4% des électrons s'échappent et réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme pour générer des ERO.

#### ➤ Formation par voie exogène

Les ERO peuvent également être générés par divers agents non enzymatiques, tels que le rayonnement ultraviolet via des photosensibilisateurs qui induisent la synthèse de radicaux libres ( $O_2^*$ ,  $OH^*$ ) et de molécules génératrices de radicaux ( $H_2O_2$ ) et les rayonnements ionisants. Après ingestion d'alcool ou de drogues, les radicaux libres se forment selon divers mécanismes, et leurs structures peuvent fonctionner comme accepteurs et donneurs d'électrons.

### I.14.6. Maladies liées aux stress oxydatif

De nombreuses pathologies sont causées par le stress oxydatif en peut citer <sup>[33]</sup>:

- Diminution de la fluidité membranaire.
- Diminution de la sensibilité à l'insuline.
- Altération de l'immunité cellulaire.
- Dépôt lipidique oxydatif.

### I.14.7. Méthodes expérimentales d'évaluation de l'activité antioxydante

Certaines méthodes expérimentales d'évaluation de l'activité antioxydant, à savoir <sup>[61]</sup>:

- Test de piégeage des radicaux libres DPPH.
- Test pouvoir reducteur.
- Test de piégeage radial du superoxyde par le diméthylsulfoxyde alcalin DMSO.
- Test de capacité d'inhibition du blanchiment du carotène.

# **Chapitre II :**

## **Partie expérimentale**

## II.1. Techniques expérimentales

### II.1.1. Matériel végétal

La matière végétale se compose de deux parties du fruit, à savoir les graines et la chair du fruit lui-même. Les fruits du palme de Washingtonien robusta ont été récoltés au centre de l'Université de Mohamed Kheidar Biskra, et les graines mûrissent de novembre à janvier.

#### II.1.1.1. Préparation de matière végétale

Pour nos expérimentations, nous avons cueilli les fruits (**Figure II.1**), puis les coupés pour en enlever les graines et les séparer de la pulpe (**Figure II.2**), ensuite les réduits en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (**Figure II.3**).



**Figure II.1** : Fruit de W. robusta.



**Figure II.2** : Pulpes et graines de W.robusta.



**Figure II.3** : Après broyage pulpes et graines de W. robusta.

### II.1.1.2. Caractérisation physique chimique

#### a. Détermination de la matière sèche

##### ➤ Principe

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve isotherme aux températures de 100°C à 105°C, sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante.

La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesures.

##### ➤ Mode opératoire

- Peser 2g (Pi) de l'échantillon frais (Pulpe et graines) en utilisant des creusets bien séchés.
- Mettre les échantillons dans une étuve réglée à 100 °C pendant 24 heures afin d'obtenir un poids constant.



Figure II.4 : Dessiccation des échantillons.

##### ➤ Expression des résultats

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{(P - P_1)}{M} \times 100$$

**Dont :**

***P*** : La masse initiale en g (l'échantillon frais + creuset) avant séchage.

***P*<sub>1</sub>** : La masse finale en g (l'échantillon frais + creuset) après séchage.

***M*** : La masse de la prise d'essai.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Teneur de matière sèche (\%)} = 100 - \text{Teneur en eau (\%)}$$

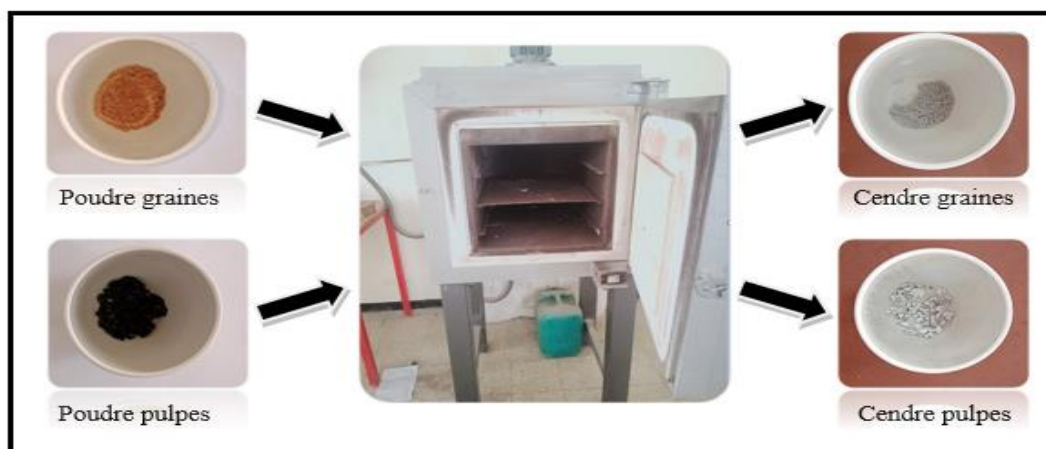
### b. Détermination de la teneur en cendres (matière minérale)

#### ➤ Principe

La détermination de la teneur en cendres est basée sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de température élevée 600°C. L'opération ne sera terminée que lorsque la couleur des résidus deviendra blanche grisâtre, qui se transformera en une couleur blanche après refroidissement.

#### ➤ Mode opératoire

- Tout d'abord, les creusets en porcelaine vide sont pesés (poids A).
- Peser 2g de l'échantillon broyé dans les creusets et les introduit dans un four à moufle (**Figure II.5**) à 600°C pendant 24 heures jusqu'à ce que le contenu des creusets prenne une couleur grisâtre
- Refroidir dans un dessiccateur.
- Enfin, peser les creusets avec les cendres (poids B).



**Figure II.5** : Incinération des poudres Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).

➤ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés selon la relation suivante :

Dont :

$$TC (\%) = \frac{B-A}{M} \times 100$$

**TC**: teneur en cendres (%).

**A** : poids du creuset vide (g).

**B** : poids du creuset + échantillon après l'incinération.

**M** : masse de l'échantillon (g).

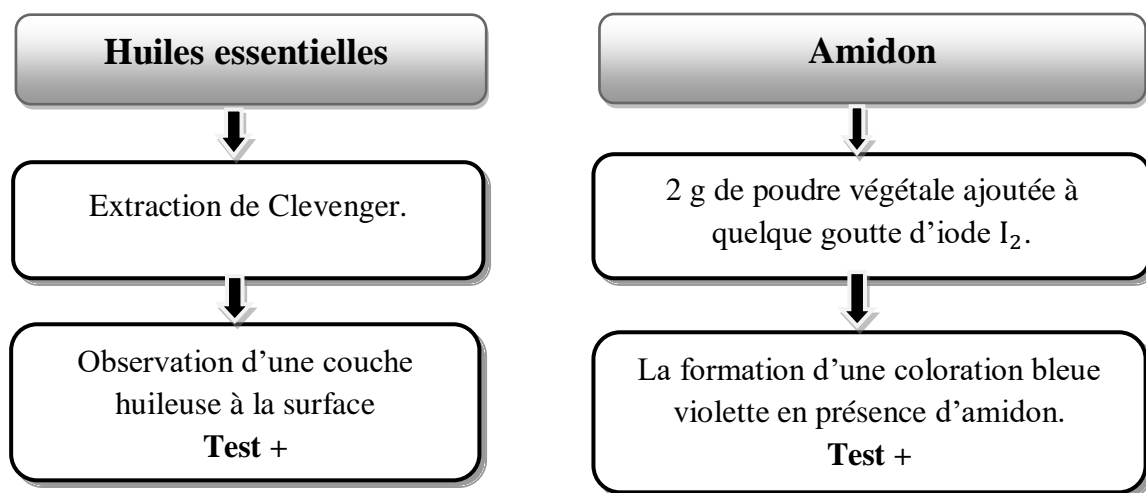
La teneur en matière organique (MO) sera :

$$MO (\%) = 100 - TC (\%)$$

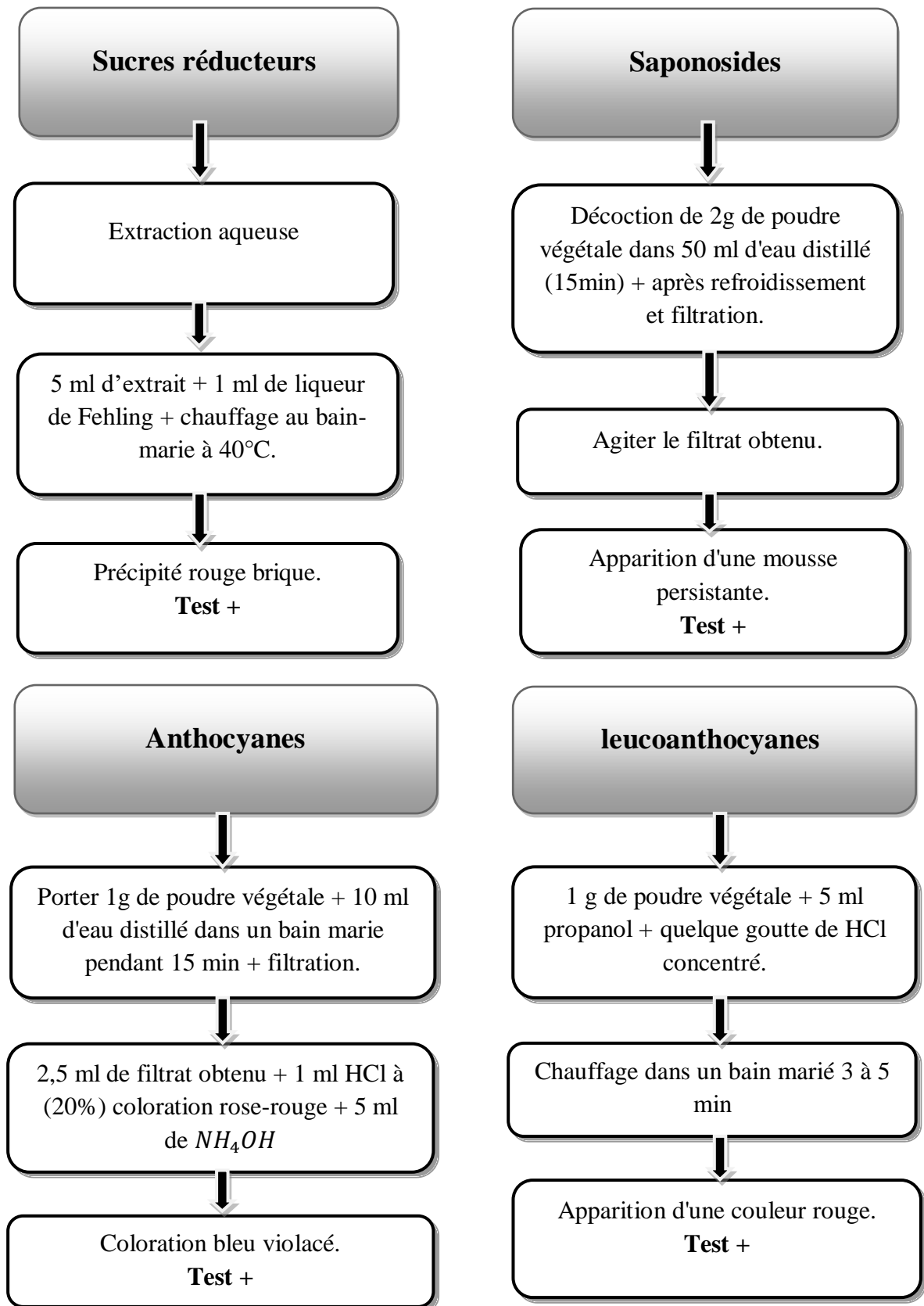
**II.1.2. Criblage phytochimique**

Le screening chimique d'une drogue végétale représente toujours la première étape de l'étude chimique et permet d'orienter les recherches ultérieures. Les techniques de détection utilisables pour un "screening" des substances actives doivent être rapides et simples afin de ne mettre en œuvre qu'une faible quantité d'un échantillon.

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les métabolites primaires, basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation.

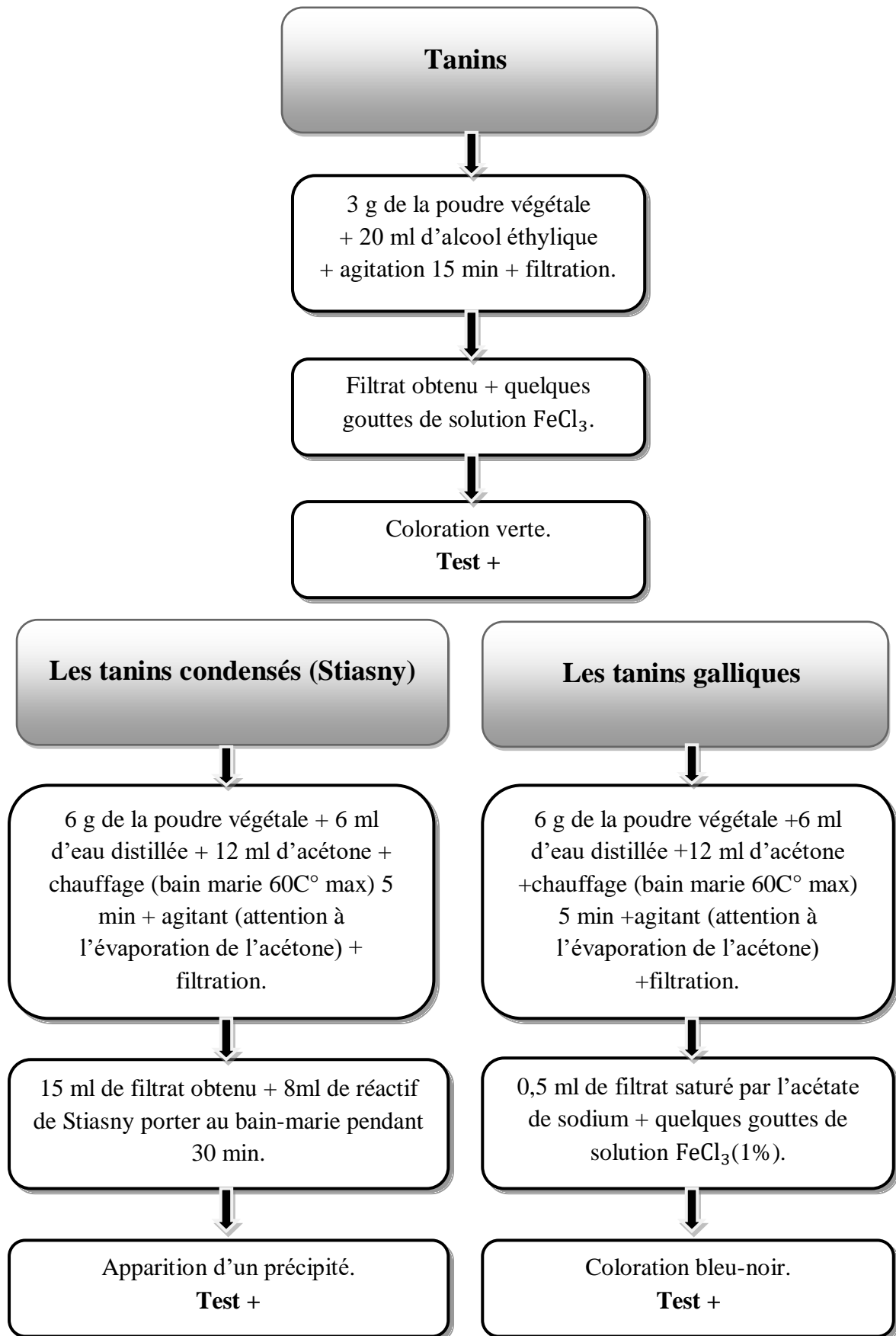


**Figure II.6 :** Recherche des Huiles essentielles, Amidon dans Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).



**Figure II.7 :** Recherche des Sucres réducteurs, Saponosides, Anthocyanes, leucoanthocyanes dans Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).





**Figure II.8 :** Recherche des Tanins, Les tanins condensés (Stiasny), Les tanins galliques dans Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).

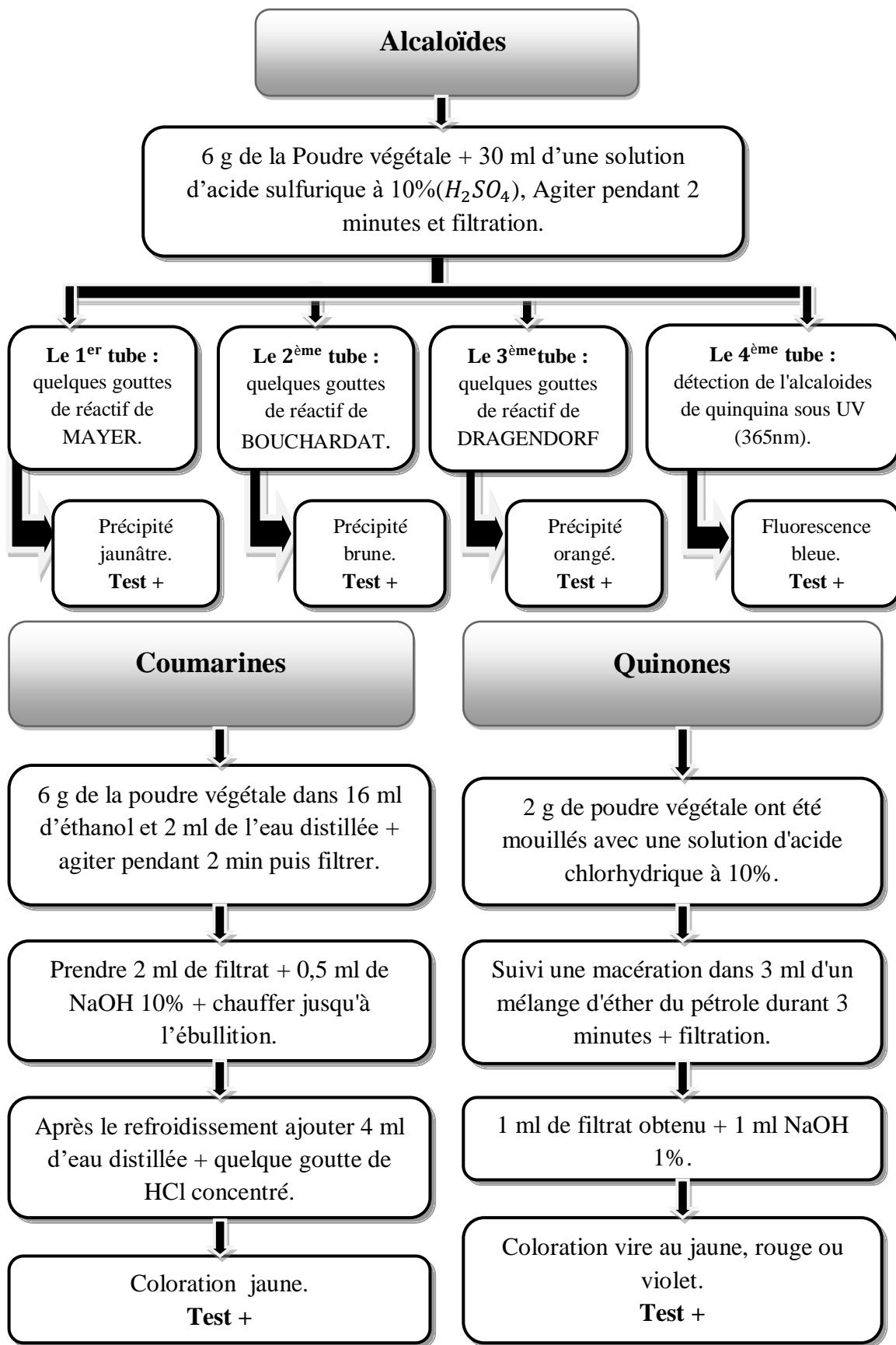


Figure II.9 : Recherche des Alcaloïdes, Coumarines, Quinones dans Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).

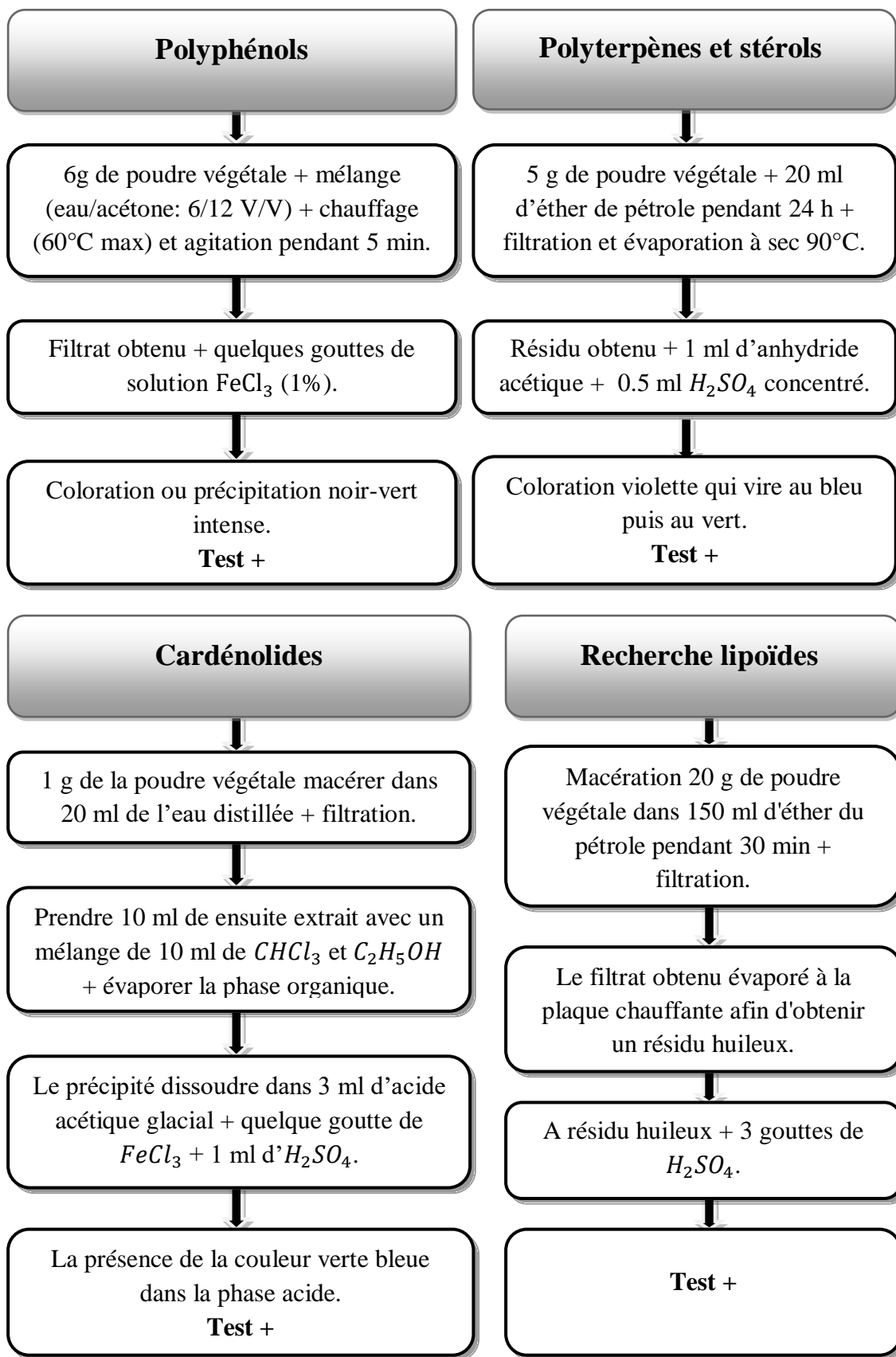


Figure II.10 : Recherche des Polyphénols, Polyterpènes et stérols, Cardénolides, lipoides dans Fruit de W. robusta (Pulpes et graines).

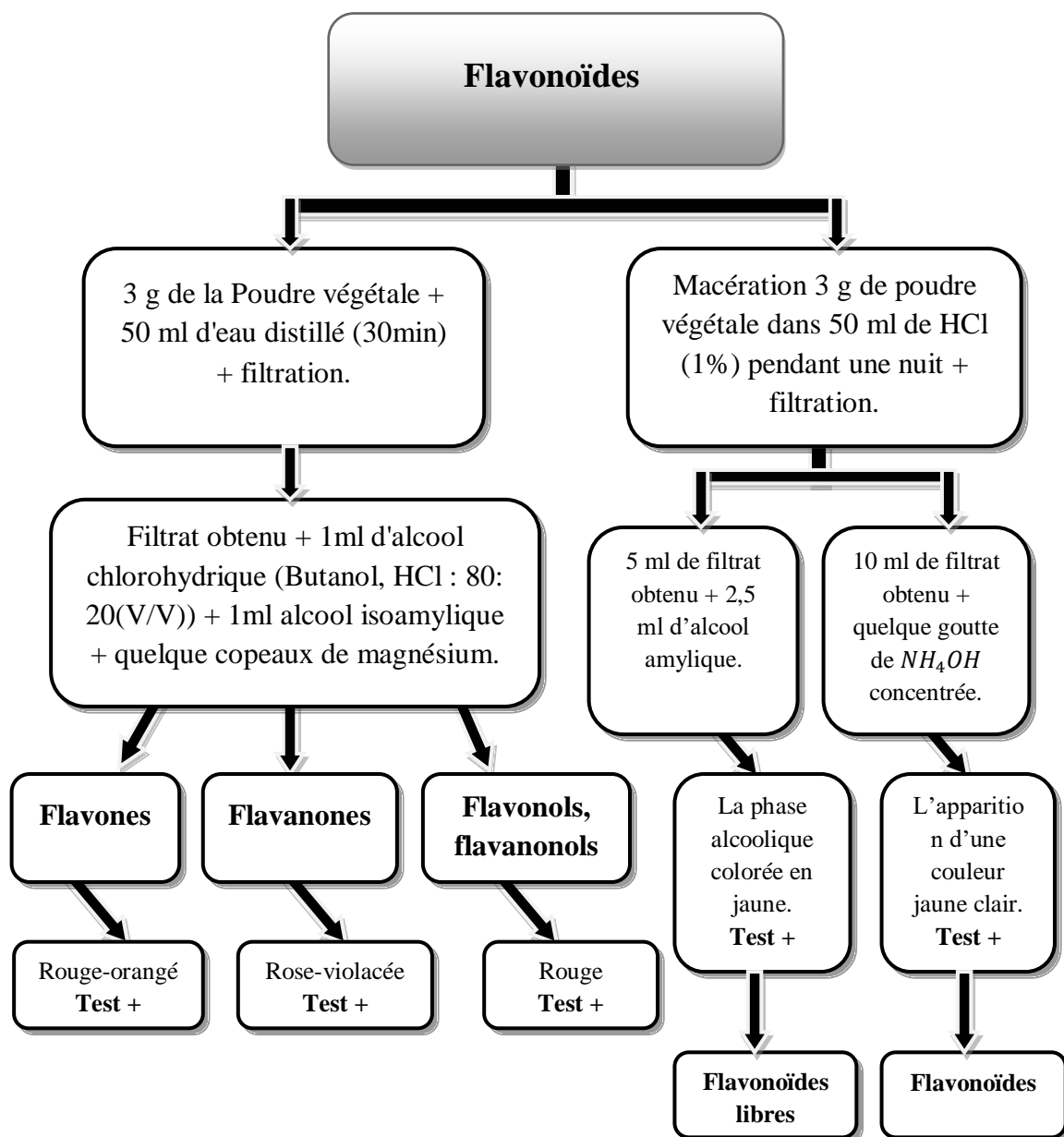


Figure II.11 : Recherche des flavonoïdes dans Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).

### II.1.3.Détermination de la teneur en matière grasse

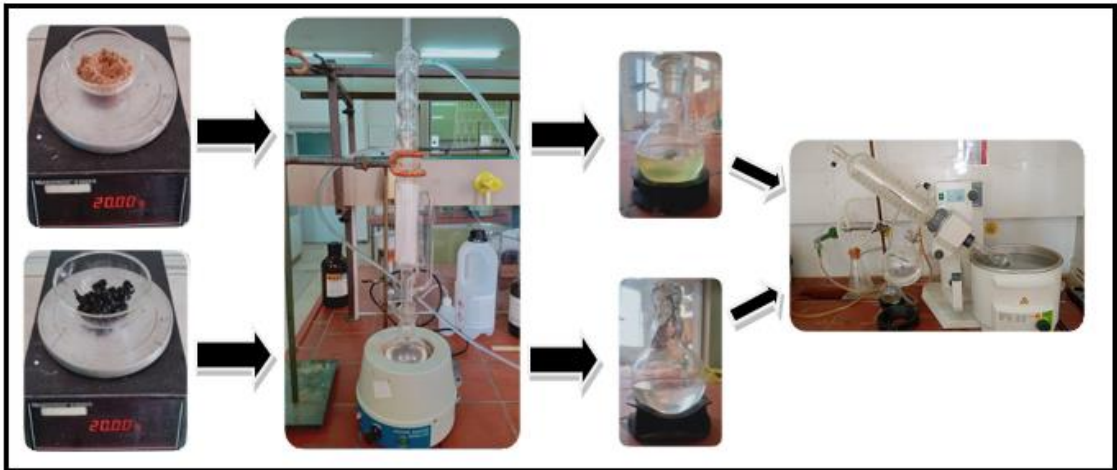
#### ➤ Principe

La détermination quantitative de la teneur en matières grasses d'un échantillon s'effectue généralement par extraction avec un solvant lipophile. La méthode d'extraction la plus répandue est l'extraction solide-liquide ou l'échantillon préparé est extrait par le solvant.

#### ➤ Mode opératoire

La poudre (20g) est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

- En premier lieu, verser 200 ml de n-hexane (100%) dans le ballon et porté à ébullition (78,37C°).
- Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérant.
- Suivi l'extraction pendant 5 heures.
- Evaporation à sec de solvant.
- Peser le résidu final.



**Figure II.12 :** Différentes étapes suivies pour extraire de matière grasse du Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines).

#### ➤ Expression des résultats

La teneur en matière grasse est donnée par les relations suivantes

$$MG (\%) = \frac{(P_1 - P_2)}{M_E} \times 100$$

Dont :

$P_2$  : poids du ballon vide.

$P_1$  : poids du ballon après évaporation.

$M_E$  : masse de la prise d'essai.

$MG$  : taux de la matière grasse.

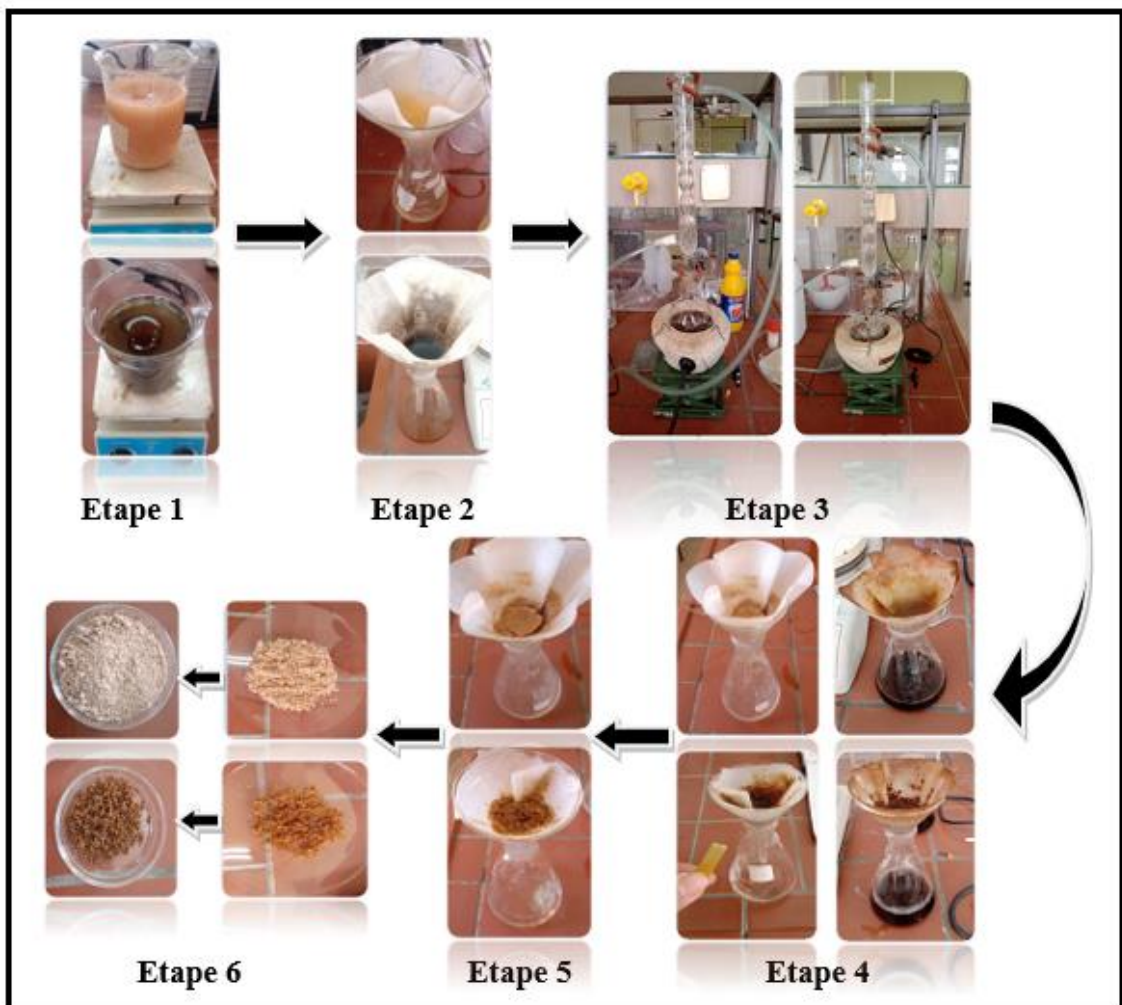
#### II.1.4. Détermination de la teneur en fibres brutes

##### ➤ Mode opératoire

- Dans un erlenmeyer, introduire 10g de l'échantillon broyé (Pulpes / Graines) et 200 ml de HCl (5%), puis agiter pendant 30 min. **Etape 1**
- Filtrer et laver avec de l'eau distillée chaude trois fois (40 ml). **Etape 2**

- Digérer le résidu obtenu en utilisant 200 ml de NaOH (5%) sous reflux pendant 30 min. **Etape 3**
- Procéder à un autre lavage avec 40 ml d'eau distillée chaude (3 fois) et ensuite trois fois avec de l'eau distillée froide jusqu'à pH neutre. **Etape 4**
- Rincer avec 20 ml d'alcool éthylique (EtOH) et ensuite avec 20 ml d'éther diéthylique. **Etape 5**
- Sécher les résidus obtenus à 100°C pendant deux heures et la masse résiduelle était considérée comme des fibres. **Etape 6**

Les différentes étapes de cette méthode sont détaillées à la figure :



**Figure II.13 :** Différentes étapes suivies pour l'obtention des fibres (Pulpes et graines).

➤ **Expression des résultats**

La teneur des fibres brutes est calculée par la formule présentée ci-dessous :

$$\mathbf{TF\ (\%)\ =\ \frac{(P_1 - P_2)}{M_E} \times 100}$$

**Dont :**

$P_1$  : poids du creuset + échantillon après séchage.

$P_2$  : poids du creuset vide.

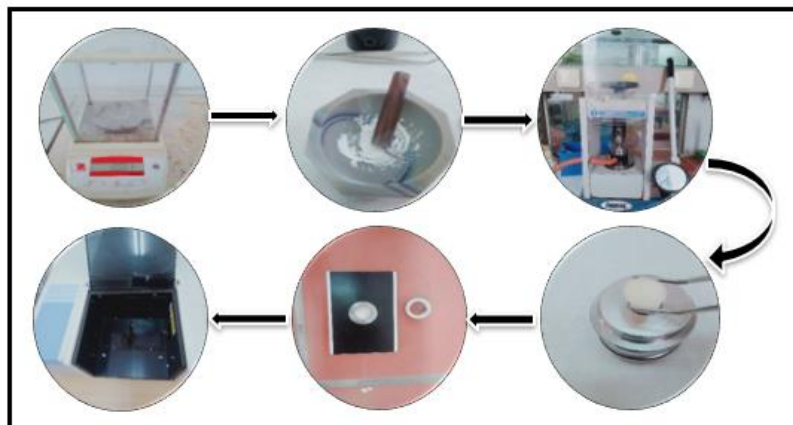
$M_E$  : masse de la prise d'essai.

**TF** : teneur en fibres.

### II.1.5. Analyse des fibres par spectroscopie IR-TF

Après l'obtention de la poudre d'échantillons synthétique et naturel, nous avons réalisé la caractérisation spectroscopique par IR- FT, pour cela on prépare des pastilles selon les étapes suivantes : (**Figure II.14**)

- Pesé 0.001g de notre échantillon avec 0.3 g de KBr.
- Dans un mortier en agate ont broyé le mélange jusqu'à l'obtention une poudre homogène avec des grains très fine.
- On pose cette poudre dans un moule pour la compressé sous pression de 5 tonnes à l'aide d'une presse hydraulique.
- En utilisant une bague d'extraction pour faire sortir les pastilles mmmétalliques du moule.
- A la fin la pastille transparente obtenue est délicatement fixée sur un support placé le long du trajet du faisceau infrarouge, pour obtenir le spectre IR.



**Figure II.14** : Préparation des échantillons pour la caractérisation spectroscopique

IR-TF.

Pour faire l'analyse spectroscopique IR-TF, nous avons utilisé L'appareil de mark SHIMADZU FTIR-8400S PC qui présenté dans la (**Figure II.15**).



**Figure II.15** : L'appareil FTIR-8400S PC de mark SHIMADZU.

### II.1.6.Extraction des polyphénols totaux

#### ➤ **Extraction par soxhlet :**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

#### ➤ **Mode opératoire :**

La poudre végétale de fruit de *W. robusta* (pulpes et graines) a été extraite par quatre solvants successifs de polarités croissantes en faisant passer chaque solvant sur la même drogue végétale.

Les solvants utilisés sont : l'Ether de pétrole, l'Acétate d'éthyle, Méthanol et l'Eau qui considéré comme le solvant le plus polaire. 10g de poudre fine de la drogue végétale sont placés dans une cartouche en présence de 100 ml solvant. Durée 5 heures au bout desquelles l'extrait ainsi récupéré (**Figure II.16**) et conservé (**Figure II.17**). Répétez le processus deux fois pour chaque échantillon.

Les solutions obtenues sont soumises à une évaporation sous pression réduite à  $T \leq 50^\circ\text{C}$  à fin d'obtenir des résidus secs. Pour les extraits aqueux nous avons utilisé un lyophilisateur.



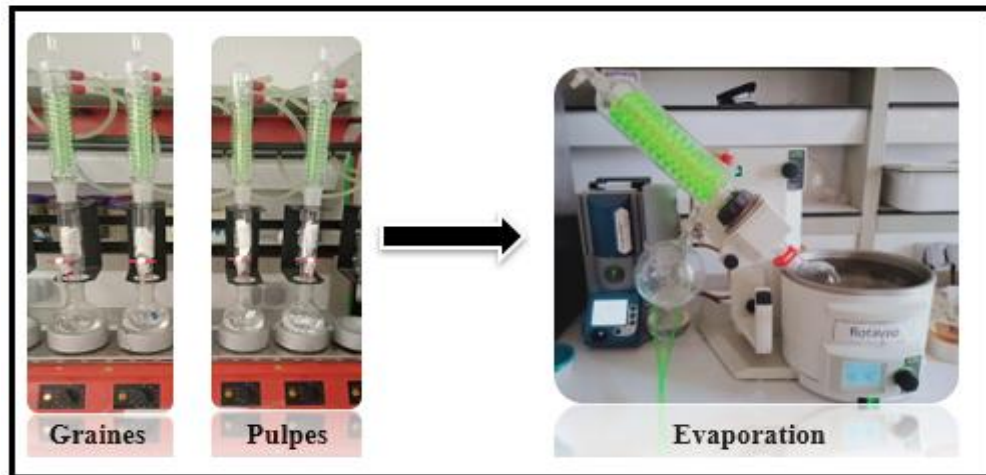


Figure II.16 : Technique d'extraction à partir de Fruit de *W. robusta* (Pulpes et Graines).

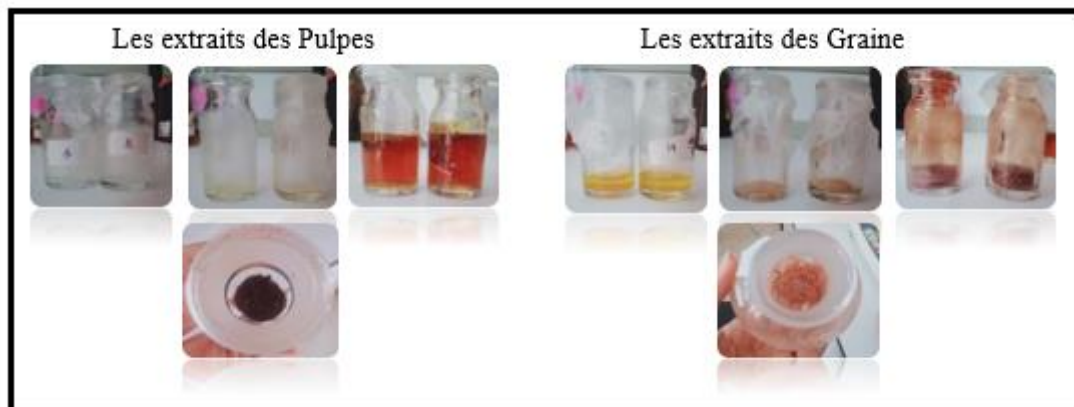


Figure II.17 : Les extraits des échantillons.

## II.2. Quantification des polyphénols

La détermination de la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux) des extraits préparés est effectuée par dosage colorimétrique,

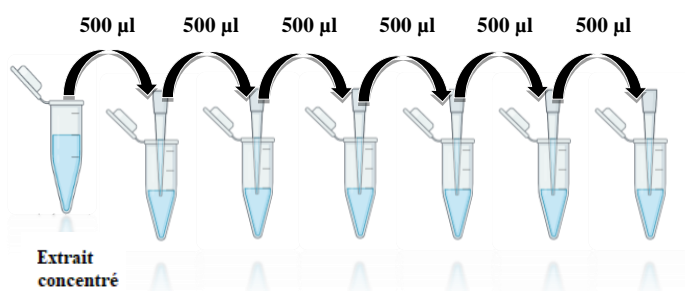
### II.2.1. Préparation les dilutions des extraits :

**Extrait concentré :** Mettre en Eppendorf 1 mg de chaque extrait et 1 ml de méthanol ou d'eau et bien agiter au vortex jusqu'à dissolution totale ou maximale des extraits brut dans le solvant (**Figure II.18**).



**Figure II.18 :** Agitateur Vortex.

1 mg d'extrait { **Extrait (éther de pétrole, acétate d'éthyle et méthanol) + 1 ml MeOH**  
**Extrait (l'eau) + 1 ml H<sub>2</sub>O**



**Figure II.19 :** Suivi de dilution.

## II.2.2. Dosage des polyphénols totaux

### ➤ Principe

Cette méthode repose sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif de Folin-Ciocalteu, est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides: acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW 12040) et phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO12040).

En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe de couleur bleu foncé. Cette coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 765 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits analysés.

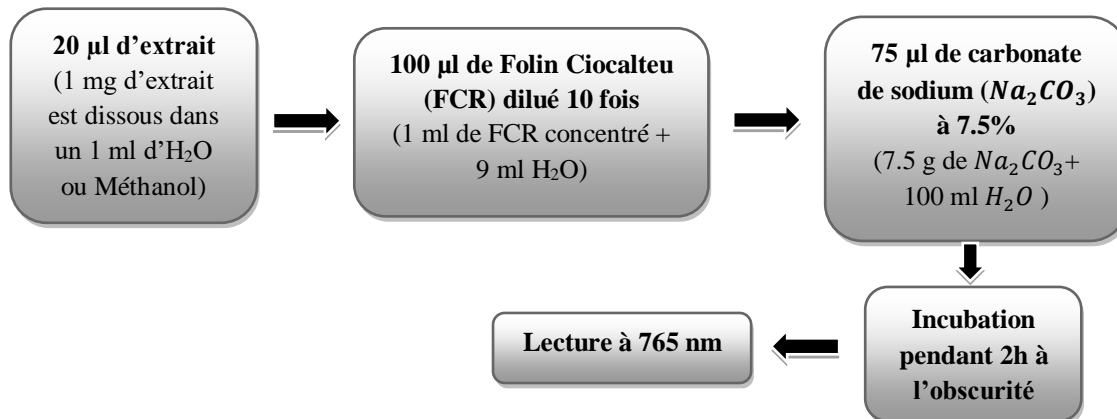
➤ **Protocole**

Figure II.20 : Protocole de dosage des Polyphénols totaux.

**II.2.3. Dosage des Flavonoïdes Totaux**➤ **Principe :**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est déterminé par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium.

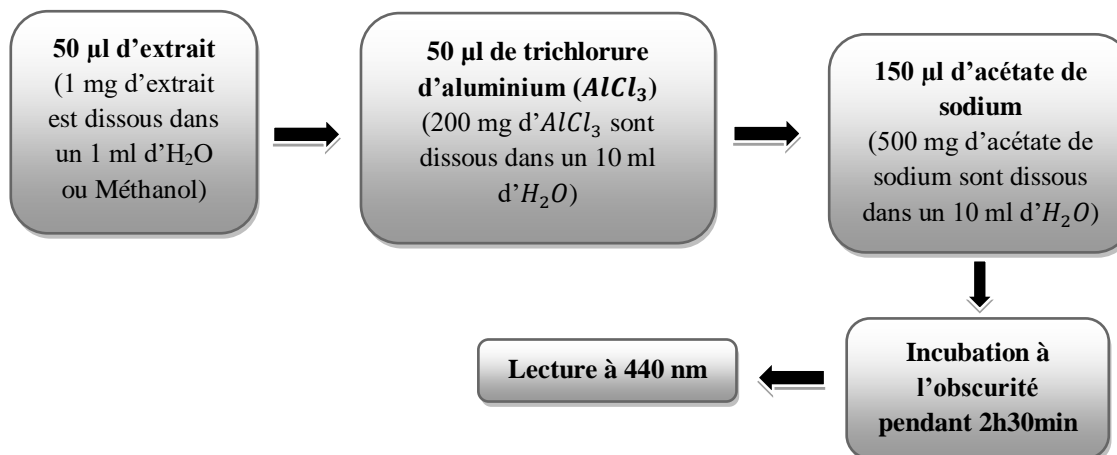
➤ **Protocole :**

Figure II.21 : Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.

**II.3. Evaluation de l'activité antioxydants**

Dans ce le présent travail, l'évaluation de l'activité antioxydants des composés phénoliques a été réalisée par trois tests :

### a. DPPH radical libre

#### ➤ Principe de la réaction :

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois1958), l' $\alpha$ -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

#### ➤ Mode opératoire :

##### ▪ Préparation de la DPPH :

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à  $-20^{\circ}$  à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

##### ▪ Procédure :

160  $\mu$ l (DPPH) + 40  $\mu$ l (extrait) + lecture 517.

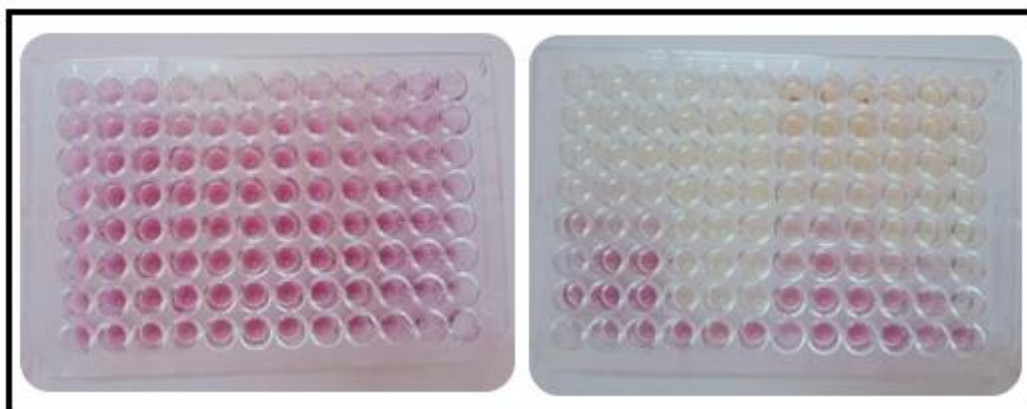


Figure II.22 : Test DPPH.

### b. Pouvoir reducteur

#### ➤ Principe de la réaction :

L'activité pouvoir reducteur est déterminée par la méthode de Oyaizu (1986) avec une légère modification.

#### ➤ Procédure :

10  $\mu$ l extrait + 40  $\mu$ l phosphate buffer (pH 6.6) + 50  $\mu$ l potassium ferricyanide (1%)  $K_3Fe(CN)_6$  (1 g de  $K_3Fe(CN)_6$  dans 100 ml  $H_2O$ ) + incubé a  $50^{\circ}C$  pendant 20min + 50  $\mu$ l tri-chloro acetic acid (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml  $H_2O$ ) + 40  $\mu$ l  $H_2O$  + 10  $\mu$ l ferric chloride  $FeCl_3$  (0.1%) (0,1 g de  $FeCl_3$  dans 100 ml  $H_2O$ ) + lecture à 700 nm.

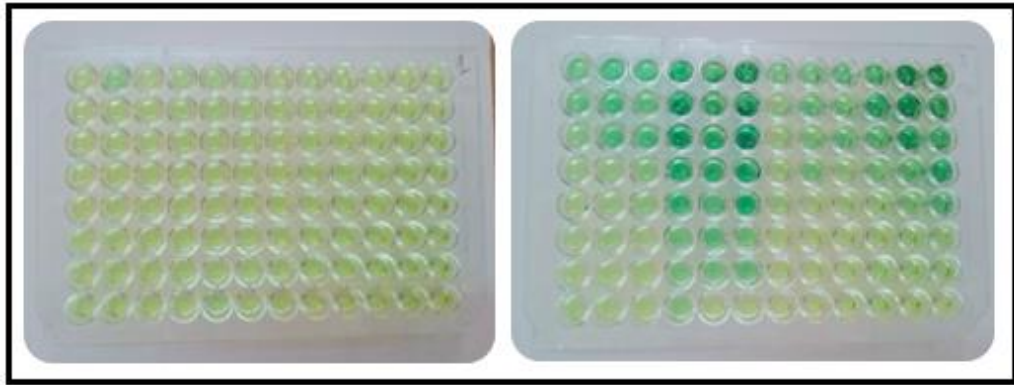


Figure II.23 : Test Pouvoir reducteur.

### c. Activité de piégeage radical du superoxyde par le diméthylsulfoxyde alcalin (DMSO)

L'activité superoxyde du DMSO alcalin a été établie par la méthode de Kunchandy et Rao (1990) :

- 40 µl d'extrait de plante
- 130 µl de DMSO alcalin (20 mg de NaOH ont été dissous dans 1 ml de H<sub>2</sub>O et additionnés de DMSO à 100 ml).
- 30 µL de NBT (nitrobluetetrazolium, 1 mg/ml.)
- L'absorbance de la solution a ensuite été déterminée à 560 nm, Butylhydroxytoluène (BHT) a été utilisé comme témoin positif.

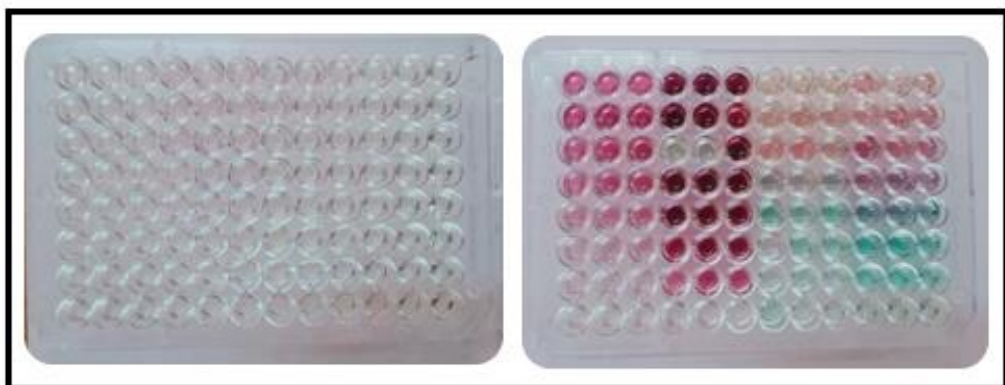


Figure II.24 : Test DMSO.

L'activité de piégeage des extraits a été calculée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs du contrôle} - \text{Abs de l'échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

# **Chapitre III :**

## **Résultats et Discussion**

### III.1. Caractérisation physico-chimique

#### III.1.1. Détermination de la matière sèche

Les plantes sont riches en eau, il est donc nécessaire de connaître sa teneur pour s'assurer que ces plantes sont correctement conservées. Cette teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10% [63].

Les graines et les pulpes des fruits du palmier de Washingtonia sont séchées dans une étuve isotherme à 100 °C. Les résultats de poids avant et après séchage sont présentés dans le (Tableau III.1).

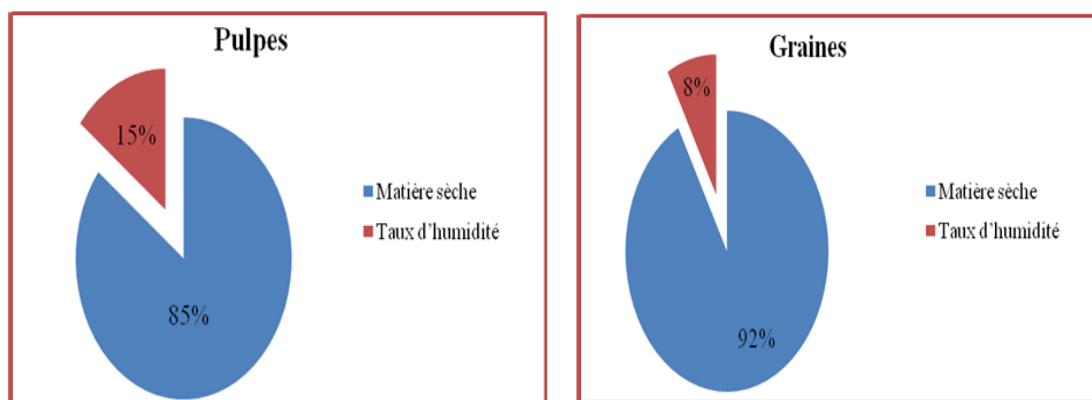
**Tableau III.1** : Les poids de l'échantillon avant et après la dessiccation.

L'échantillon	Poids de l'échantillon initial	Poids final de l'échantillon
	« Avant dessiccation » (P)	« Après dessiccation » (P <sub>1</sub> )
Pulpes	2 g	1,71 g
Graines	2 g	1,84 g

Les calculs ci-dessous ont été effectués pour déterminer la teneur en matière sèche et le taux d'humidité. Les résultats sont présentés dans la (Figure III.1).

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{(P - P_1)}{M} \times 100$$

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - \text{Taux d'humidité (\%)}$$



**Figure III.1** : Détermination de la matière sèche et le taux d'humidité des pulpes et des graines de *W. robusta*

Selon les résultats exprimés dans les calculs on trouve que le taux d'humidité pour les graines est égale à 8%, donc ne dépasse pas les normes décrites par la pharmacopée européenne, ce qui donne à cette drogue une meilleure conservation à long terme. Par contre le taux d'humidité pour les pulpes est égale à 14,5% un peu élevé, cela nous a amené à appliquer une autre méthode de séchage à cette organe pour le conservé.

☞ Les normes décrites par la pharmacopée européenne ( $T\% \leq 10\%$ ).

### III.1.2. Détermination de la teneur en cendres (matière minérale)

La détermination de la teneur en cendres permet d'éclairer la qualité nutritionnelle de l'échantillon à analyser, c'est une mesure de la teneur en oxydes métalliques en fonction du poids, elle a été déterminée à partir de la pulpe et des graines des fruits du palmier *W. robusta*. Le (Tableau III.2) présente les résultats des poids de différentes parties de palmier après l'incinération.

**Tableau III.2:** Les poids du creuset vide et après l'incinération.

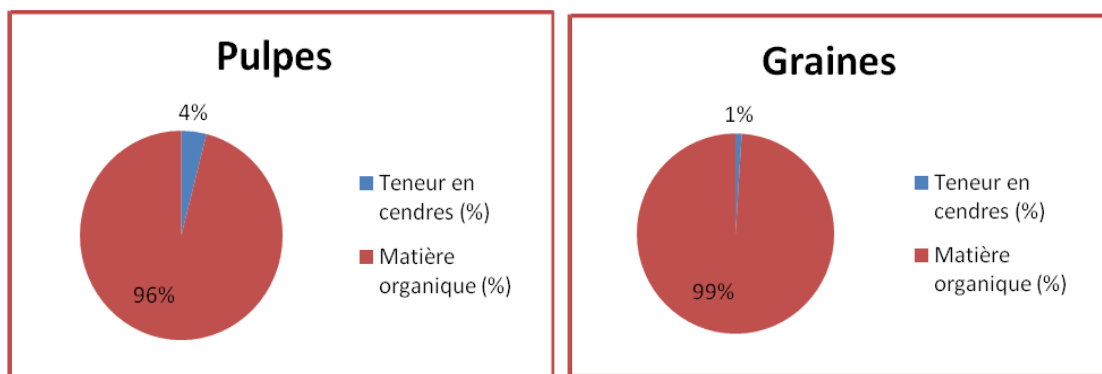
L'échantillon	Poids du creuset vide « A »	Poids du creuset + échantillon après l'incinération « B »
<b>Pulpes</b>	41,66 g	41,74 g
<b>Graines</b>	41,03 g	41,05 g

Les teneurs en cendres et en matière organique sont déterminées selon les équations ci-dessous. Les résultats sont présentés dans la (Figure III.2).

➤ **Teneur en cendres (%)** =  $\frac{(B-A)}{M} \times 100$

➤ **Matière organique (%)** =  $100 - TC\%$





**Figure III.2 :** Détermination de la matière organique et la teneur en cendres des pulpes et des graines de *W. robusta*.

Les résultats montrent que la teneur en cendre, quantité de substances minérales dans les pulpes et les graines sont respectivement 4% et 1% valeurs n'ayant pas dépassé les normes décrites dans la pharmacopée européenne. Ceci peut se justifier par une richesse en matière organique dans les fruits de cette palme comme toute drogue végétale.


### III.2. Criblage phytochimique

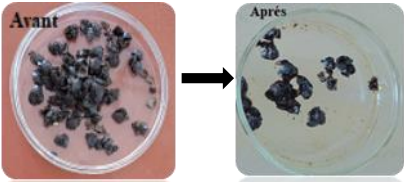
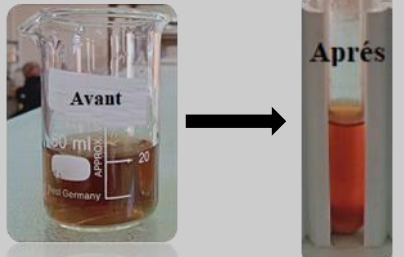
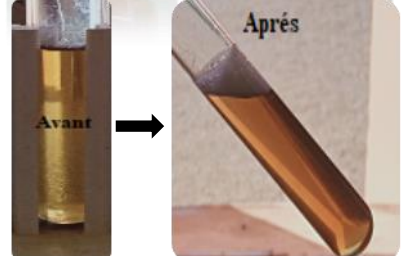
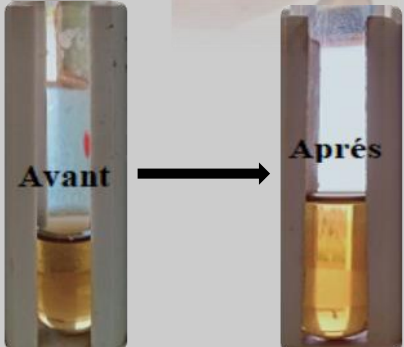
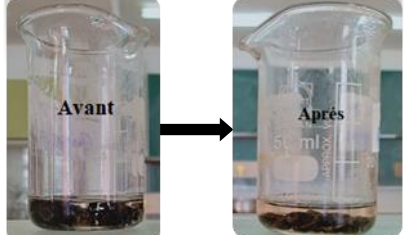
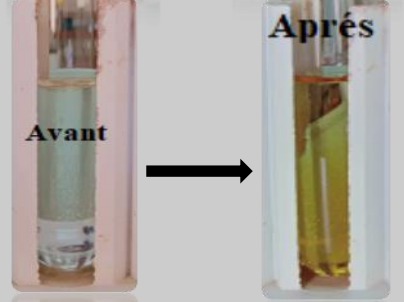
Le criblage phytochimique permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans la plante, nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites primaires et secondaires au niveau des tissus végétaux des deux parties pulpe et graine, ces tests sont classés : négatif (-) ou positif (+).

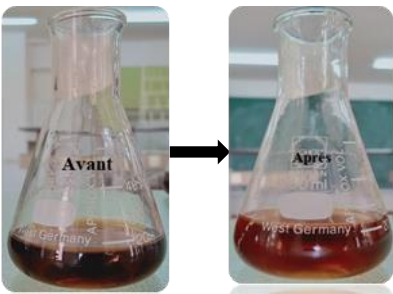
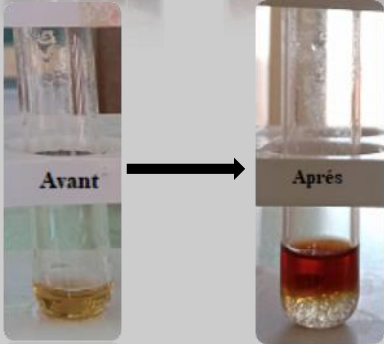




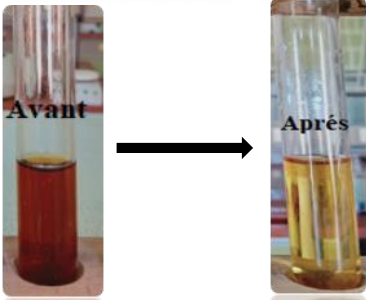
Les deux tableaux ci-dessous (**Tableau III.3**) (**Tableau III.4**) regroupe les résultats obtenus au terme des tests préliminaires pour ce criblage phytochimique.













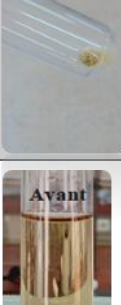

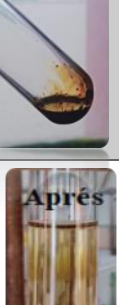



Nos résultats sont en bon accord avec les travaux phytochimiques qui été réalisés précédemment dans d'autres études.

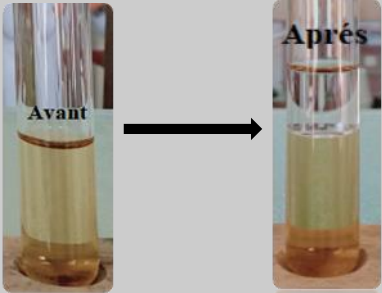
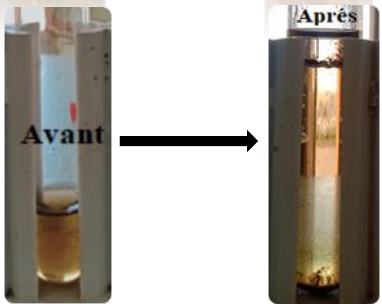
**Tableau III.3:** Résultats de criblage phytochimique du Pulpes du Fruit de *W. robusta*.

Classe de composé chimique	Pulpes	Photo	Observation
Huiles essentielles	+		Des traces

Amidon	-		Pas de couleur bleu-violet
Sucres réducteurs	++		Précipité rouge brique
Saponosides	+++		Apparition d'une mousse persistante
Anthocyanes	-		Coloration bleu violacé
Leuco anthocyanes	-		Aucun coloration rouge
Tanins	-		Aucun coloration vert


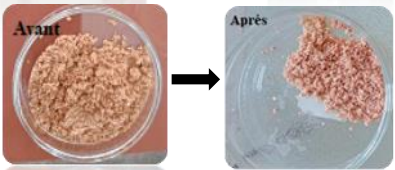
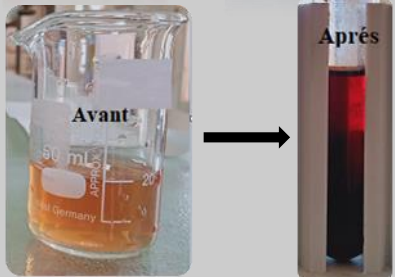
Les tanins condensés		-		Aucun précipité
Les tanins galliques		-		Aucun Coloration bleu-noir
Alcaloïdes	Mayer	+		Précipité Blanc
	Bouchardat	++		Précipité Orange
	Dragendorff	++		Précipité Vert
	UV	-		Aucun Florescence
Coumarines		+		Coloration jaune

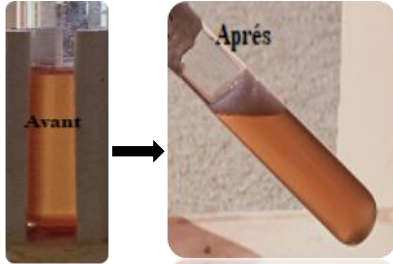
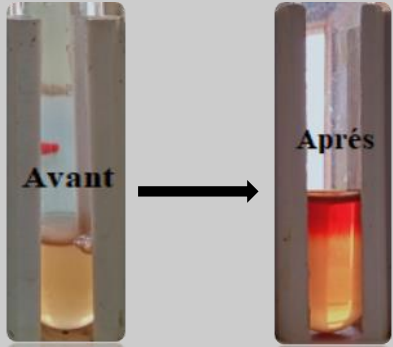
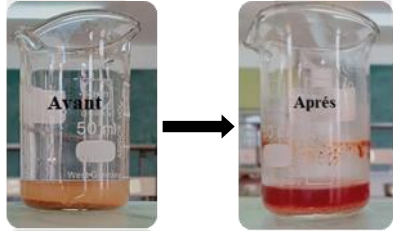
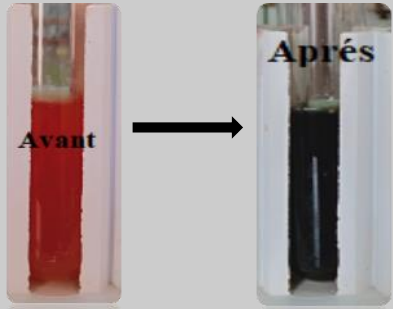
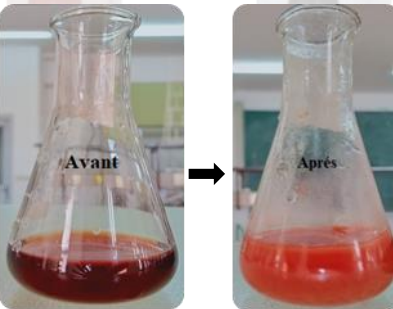
Quinones			+++	  	Coloration jaune
Polyphénols			+	  	Précipité noir-vert
Poly terpènes et stérols			-	  	La couleur ne passe pas au vert
Cardénolides			+	  	Coloration verte bleue dans la phase acide
Recherche lipoides			+	  	Noir-vert
Flavonoïdes	Test 1	1	+	  	Coloration jaune clair

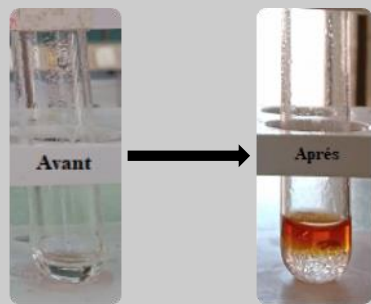

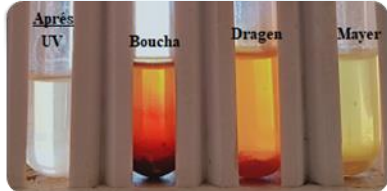

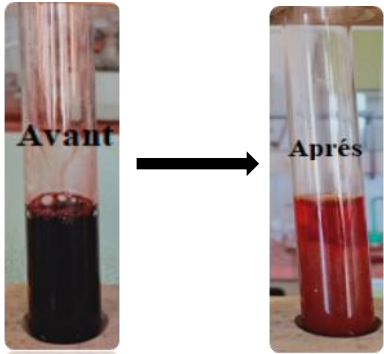
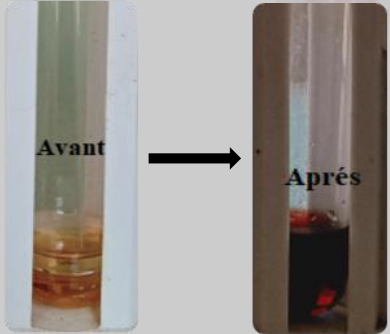
Flavonoïdes	Test 1	2	+		Coloration jaune
	Test 2		-		Autre coloration

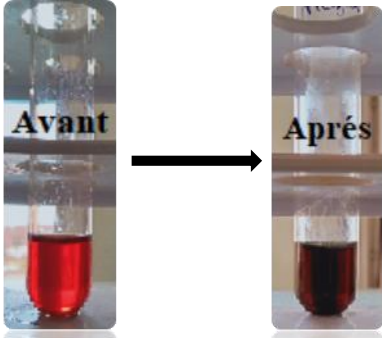
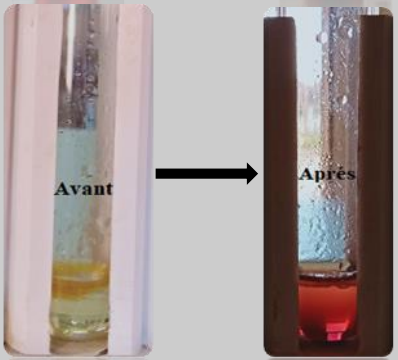
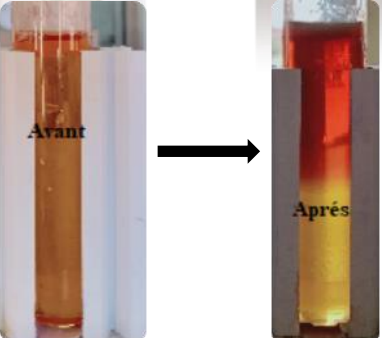

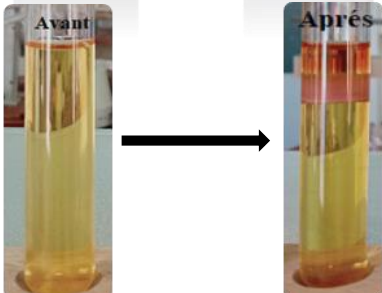
(+) : Présence faible, (++) : Présence moyenne, (+++) : Présence forte, (-) : Absence.

Tableau III.4 : Résultats de criblage phytochimique du Graines du Fruit de *W. robusta*.

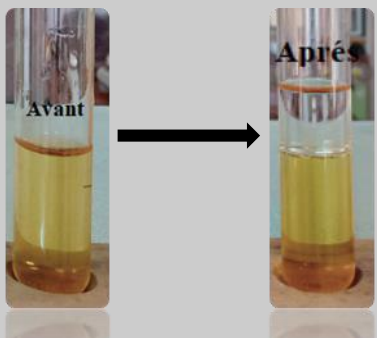
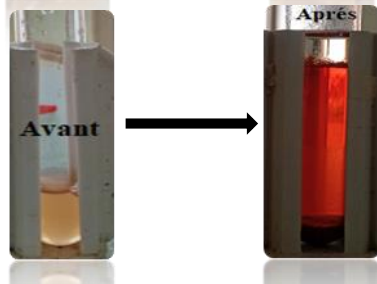
Classe de composé chimique	Graines	Photo	Observation
Huiles essentielles	+		Des traces
Amidon	-		Pas de couleur bleu-violet
Sucres réducteurs	+++		Précipité rouge brique

Saponosides	+++		Apparition d'une mousse persistante
Anthocyanes	-		Coloration bleu violacé
Leuco anthocyanes	+++		Apparition d'une couleur rouge
Tanins	+		Coloration vert
Les tanins condensés	++		Apparition d'un précipité

Les tanins galliques		-		Aucun Coloration bleu-noir
Alcaloïdes	Mayer	+++		Précipité Blanc
	Bouchardat	+++		Précipité Rouge brune
	Dragendorff	+++		Précipité Orange
	UV	+++		
Coumarines		-		Aucun Coloration jaune
Quinones		+++		Coloration rouge

Polyphénols			+++		Précipité noir-vert
Poly terpènes et stérols			++		Coloration violette
Cardénolides			-		aucun coloration verte bleue dans la phase acide
Recherche lipoïdes			+		Rouge
Flavonoïdes	Test 1	1	+		Coloration jaune clair



Flavonoïdes	Test 1	2	+		Coloration jaune
	Test 2		++		Coloration Rouge-orange indique la présence des Flavones

(+) : Présence faible, (++) : Présence moyenne, (+++) : Présence forte, (-) : Absence.

### III.3. Détermination de la teneur en matière grasse

L'extraction par l'hexane de la poudre du fruit de *W. robusta* sur un appareil de Soxhlet, nous a permis d'obtenir les lipides (matière grasse) à partir des pulpes et graines. Le tableau ci-dessous (**Tableau III.5**) présente les résultats d'extraction.

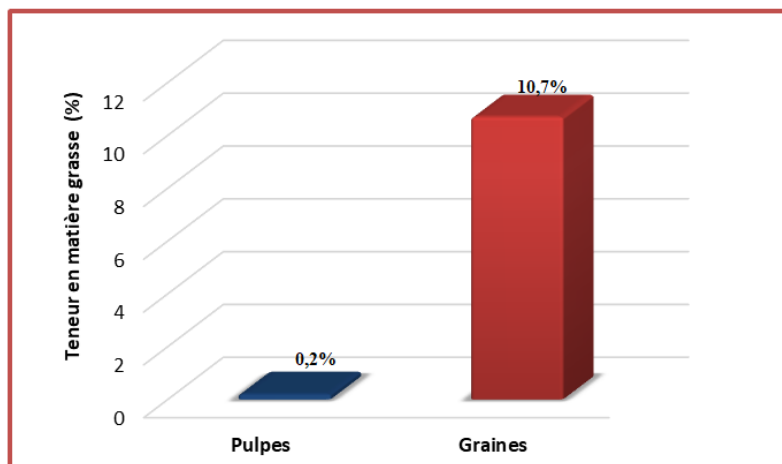
**Tableau III.5:** Les poids du ballon vide et après l'évaporation.

L'échantillon	Poids du ballon vide « P <sub>2</sub> »	Poids du ballon après l'évaporation « P <sub>1</sub> »
Pulpes	109,83 g	109,87 g
Graines	105,93 g	108,07 g

- La teneur en matière grasse (%) en graine et en pulpe est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Teneur en matière grasse (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)}{M_E} \times 100$$

Les résultats sont présentés dans la (**Figure III.3**).



**Figure III.3** : Détermination de la teneur en matière grasse des pulpes et des graines de *W. robusta*.

D'après les résultats enregistrés dans la figure précédente, on remarque que les graines présentent la teneur la plus élevée en matière grasse par rapport les pulpes. Cette fraction présente tous les composés lipidiques ou les huiles fixes. Ceci s'explique du fait que la graine est un organe utilisé par la plante pour le stockage des nutriments.

#### III.4. Détermination de la teneur en fibres brutes

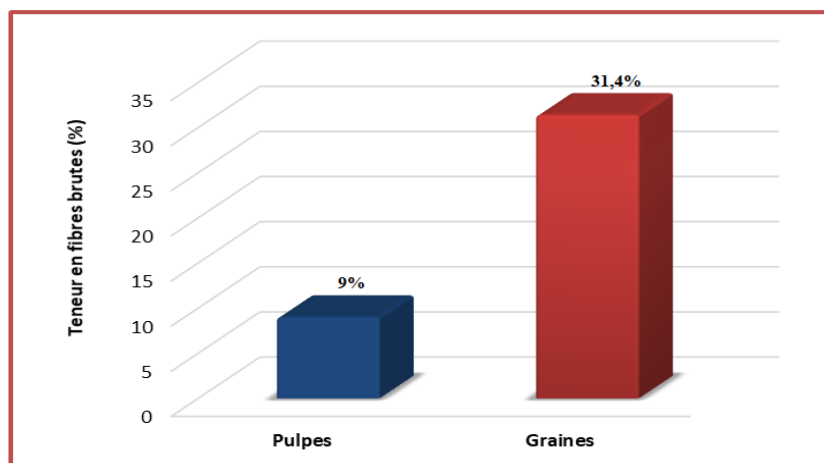
Les fibres brutes indiquent cumulatif des substances chimiquement et partiellement très différentes. Les résultats obtenus de deux parties du fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines) sont illustrés sur la (Figure III.4).

**Tableau III.6** : Les poids du creuset vide et après séchage.

L'échantillon	Poids du creuset vide « P <sub>2</sub> »	Poids du creuset + échantillon après séchage « P <sub>1</sub> »
Pulpes	118,43 g	119,33 g
Graines	119,03 g	122,17 g

➤ La teneur en fibres (%) est calculée selon l'équation ci-dessous ;

$$\text{Teneur en fibres (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)}{M_E} \times 100$$

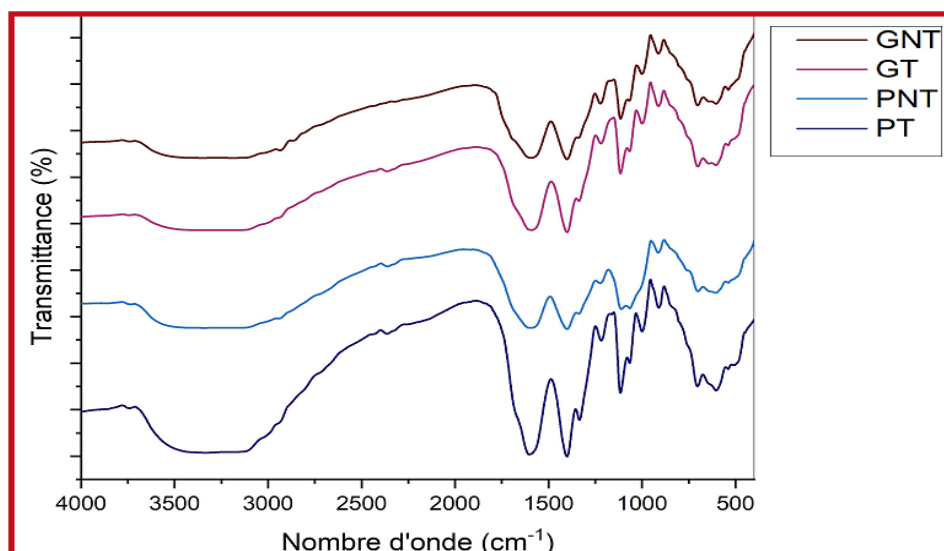


**Figure III.4 :** Détermination de la teneur en fibres brutes des pulpes et des graines de *W. robusta*.

Les résultats que nous avons obtenus, montre une différence très significative entre le taux de fibres dans les pulpes et celui des graines. Ceci peut s'expliquer par la richesse des graines par les fibres alimentaires qui présentent des polymères glucidiques.

### III.5. Analyse des fibres par spectroscopie IR-TF

Les spectres infrarouges des fibres du fruit de *W. robusta* (Pulpes et Graine) non traitées (PNT), (GNT) et traitées (PNT), (GNT) sont donnés dans la figure III.6.



**Figure III.5 :** Spectres IRTF des fibres du Fruit de *W. robusta* exprimés (Pulpes et Graine) traitées et non traitées.

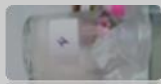



- On observe à **3355 cm<sup>-1</sup>** une large bande correspond à la vibration d'élongation de la liaison O-H intramoléculaire dans pulpe et graine.
- On observe à **2920cm<sup>-1</sup>** et à **2835cm<sup>-1</sup>** deux bandes fines correspond à la vibration d'élongation symétrique et asymétrique de la liaison C-H de groupement méthyle et méthylène de chaînes latérales dans pulpe et graine.
- On observe à **2350 cm-1** une bande fine correspond à la vibration d'élongation symétrique et asymétrique de la liaison C-H de groupement méthyle et méthylène de chaînes latérales dans pulpe et graine (traitées).
- On observe à **1650 cm-1** une bande fine de moyenne intensité correspond à la vibration en mode de flexion de la liaison O-H dans pulpe et graine.
- On observe à **1402 cm-1** une bande fine correspond à la vibration de déformation de la liaison C-H asymétrique des groupements OCH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> dans pulpe et graine.
- On observe à **1325 cm-1** une bande fine correspond à la vibration de flexion de la liaison O-H dans pulpe et graine.
- On observe à **1290 cm-1** une bande fine correspond à la vibration de déformation de la liaison C-H groupement méthyle et méthylène de chaînes latérales dans pulpe et graine.
- On observe à **1120 cm-1** une bande fine correspond à la Vibration déformation de la liaison C-H aromatique dans pulpe et graine.
- On observe à **1082 cm-1** une bande fine de moyenne intensité qui correspond à la Vibration déformation de la liaison C-H d'alcool secondaire et éther aliphatique dans pulpe et graine.
- On observe à **1000 cm-1** une bande fine correspond à la vibration d'élongation de la liaison C-O dans pulpe (traitées) et graine.
- On observe à **895 cm-1** une bande fine de faible intensité correspond à la Vibration d'élongation et déformation des liaisons C-O-C, C-C-O et C-C-H dans pulpe et graine.

- On observe à **710 cm<sup>-1</sup>** une bande fine de très faible intensité correspond à la vibration de déformation des hydroxyles O-H.
- On observe à **620 cm<sup>-1</sup>** une bande fine de moyenne intensité correspond à la vibration de flexion en dehors du plan de la liaison C-O-H.

### III.6. Rendement des extractions (Soxhlet)





La détermination des rendements est réalisée à partir du poids des extraits obtenus, après évaporation à sec par rapport au poids initial. Les rendements sont calculés pour chaque extraction et les résultats ainsi obtenus sont illustrés sur le tableau suivre :

**Tableau III.7** : Résultats d'extraction les pulpes.

Extrait	Image	Aspect	Couleur	Rendement
<b>Ether de pétrole</b>		Traces sur les parois	Blanc	0,12%
<b>Acétate d'éthyle</b>		Visqueux (Traces sur les parois)	Jaune pastel	0,68%
<b>Méthanol</b>		Visqueux	Rouge brique	71,91%
<b>Aqueux</b>		Poudre	Noir	6,60%

Les résultats obtenus montrent que parmi tous les extraits obtenus à partir de l'échantillon de pulpe, l'extrait méthanol possède le rendement le plus élevé (71,91%) suivi par l'extrait aqueux avec (6,60%) puis les deux extraits l'éther de pétrole et l'acétate d'éthyle (0,12% ; 0,68%) respectivement.

Tableau III.8 : Résultats d'extraction des graines.

Extrait	Image	Aspect	Couleur	Rendement
Ether de pétrole		Liquide visqueux	Jaune canari	10,40%
Acétate d'éthyle		Visqueux (Traces sur les parois)	Marron	0,44%
Méthanol		Visqueux	Rouge brique	9,13%
Aqueux		Poudre	Pale mauve	2,97%

Pour les graines, le rendement le plus élevé a été obtenu par l'éther de pétrole (10,40%), suivi de l'extrait méthanol (9,13%) puis les deux extraits aqueux et l'acétate d'éthyle (2,97% ; 0,44%) respectivement.

Une comparaison entre les rendements obtenus à partir des graines et de la pulpe de *W. robusta* montre une différence significative. Tous ces résultats sont présentés dans la (Figure III.5).

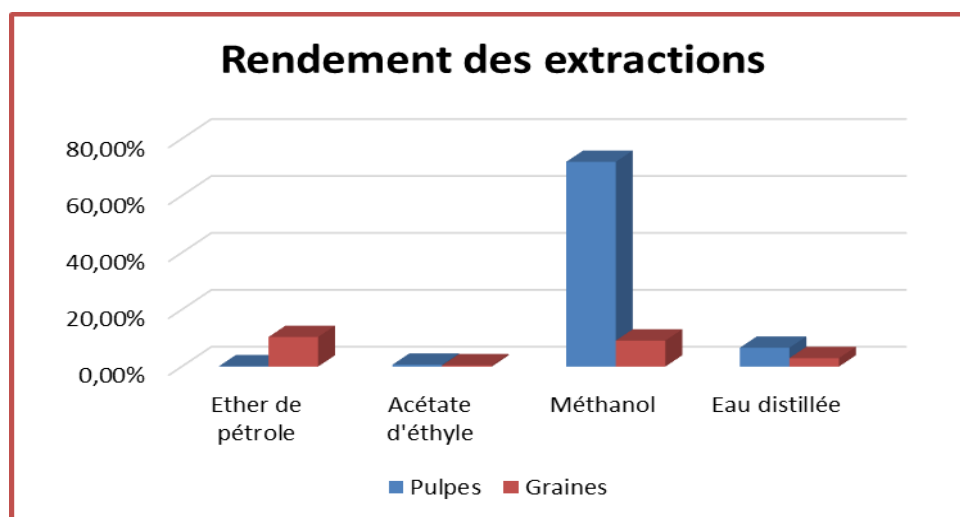


Figure III.6 : Rendements obtenus à partir des graines et de la pulpe de *W. robusta* exprimés en pourcentage (%).

L'utilisation des solvants de polarités croissantes permet d'obtenir les composés de l'extrait brut selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Alors, le degré de solubilité pour les pulpes prouve que le méthanol est le solvant le plus efficace pour extraire des composés phénoliques(71,91%) par contre le degré de solubilité de les graines prouve que l'éther de pétrole est le plus efficace pour extraire des composés phénoliques(10,40%).

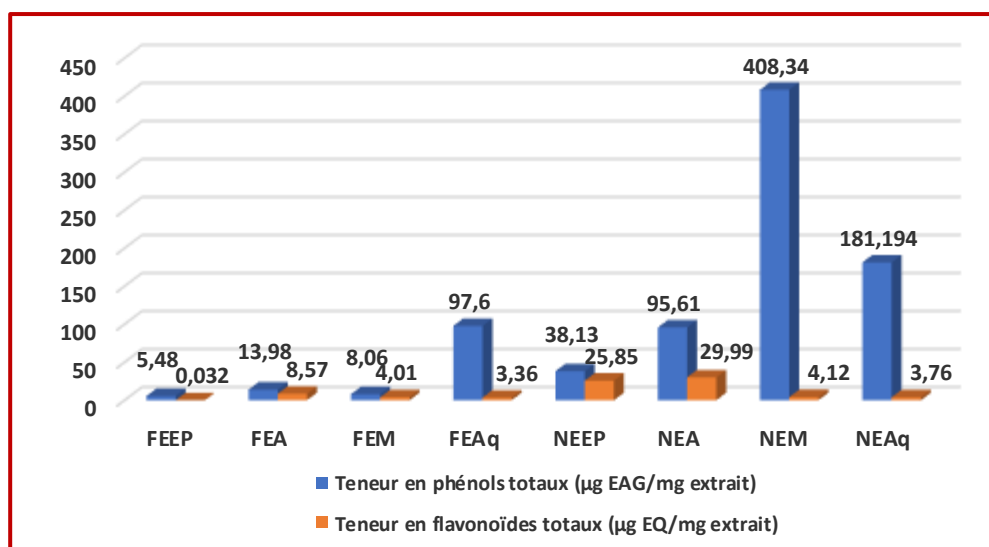
### III.7. Quantification des polyphénols

- Courbes d'étalonnages

Les courbes d'étalonnage sont élaborées par des solutions standards de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes préparés à des concentrations différentes.

#### III.7.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

Les teneurs des polyphénols totaux sont déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = 0,005 X + 0,0213$ ) exprimée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg}$ ). Pour les flavonoïdes totaux, une courbe d'étalonnage ( $y = 0.0112x + 0.1293$ ) réalisée grâce à une solution mère de quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ ). Les résultats de l'analyse sont résumés dans le (Tableau III 9).



**Figure III.7:** Teneur en phénols et flavonoïdes totaux à partir des graines et de la pulpe de *W. robusta*.

Tableau III. 9 : Teneur en phénols et flavonoïdes totaux de *W. robusta*.

Partie analysée	Extrait	Teneur en phénols totaux ( $\mu\text{g EAG/mg}$ extrait)	Teneur en flavonoïdes totaux ( $\mu\text{g EQ/mg}$ extrait)
Pulpe	Extrait éther de pétrole	5,48 $\pm$ 1,6	0,032 $\pm$ 0,01
	Extrait acétate	13,98 $\pm$ 1,6	8,57 $\pm$ 0,8
	Extrait méthanol	8,06 $\pm$ 0,9	4,01 $\pm$ 0,1
	Extrait aqueux	97,6 $\pm$ 3,1	3,36 $\pm$ 0,3
Graines	Extrait éther de pétrole	38,13 $\pm$ 1,7	25,85 $\pm$ 1,3
	Extrait acétate	95,61 $\pm$ 1,5	29,99 $\pm$ 1,2
	Extrait méthanol	408,34 $\pm$ 4,5	4,12 $\pm$ 0,7
	Extrait aqueux	181,194 $\pm$ 4,8	3,76 $\pm$ 0,3

D'une manière générale les moyennes des teneurs des polyphénols totaux restent plus élevées à celles obtenues pour les flavonoïdes totaux dans les deux parties étudiées. Les résultats montrent également que les teneurs des polyphénols et flavonoïdes totaux varient significativement en fonction des deux parties de fruits, ou les graines sont plus riches en ces composés que la pulpe.

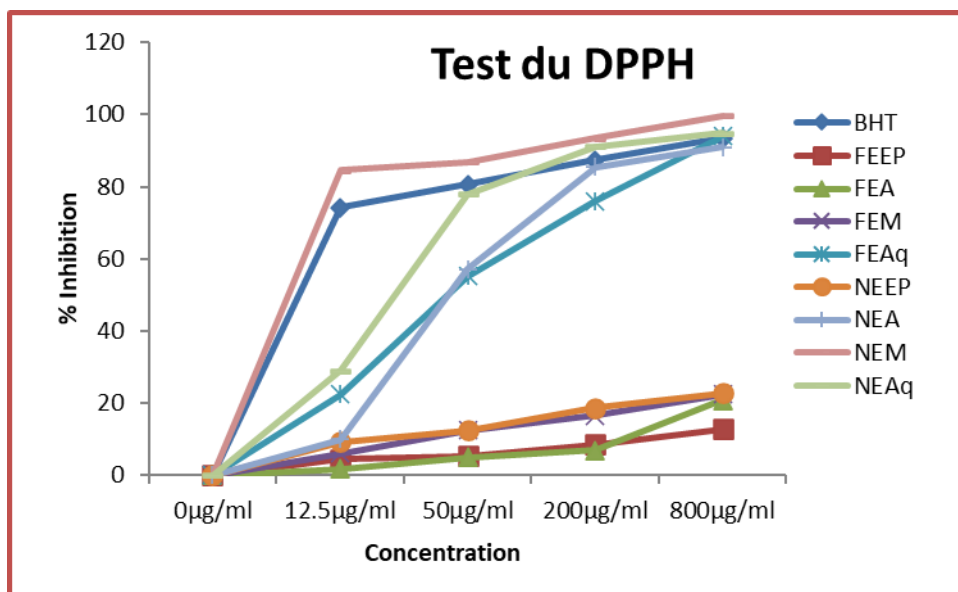
### III.7.2. Activité antioxydante

#### III.7.2.1. DPPH radical libre

Le pouvoir antioxydant des extraits des parties (graines et pulpe) de *W. robusta* ainsi que celui du BHT (produit de référence) à des concentrations différentes vis-à-vis du DPPH a été évaluée par rapport à la réduction qui s'accompagne par le changement de la couleur violette (DPPH $\cdot$ ) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm, cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

En faisant varier la concentration des extraits des deux parties aériennes et en calculant le pourcentage d'inhibition correspondant nous avons déduit la valeur correspondante à l'IC<sub>50</sub> (concentration des extraits permettant d'inhiber 50% du radical DPPH). Les résultats sont représentés dans la (Figure III.8) et le (Tableau III.10).





**Figure III.8:** Pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits de *W. robusta*.

**Tableau III. 10 :** Les valeurs d'  $IC_{50}$  de différents extraits de *W. robusta*.

Partie analysée	Extrait	$IC_{50}(DPPH)$ ( $\mu g/ml$ )
<b>Pulpe</b>	Extrait éther de pétrole	>800
	Extrait acétate	>800
	Extrait méthanol	>800
	Extrait aqueux	$40.14 \pm 1.8$
<b>Graines</b>	Extrait éther de pétrole	>800
	Extrait acétate	$41.88 \pm 1.7$
	Extrait méthanol	<12.5
	Extrait aqueux	$25.99 \pm 0.06$

D'après ces résultats, on aperçoit que :

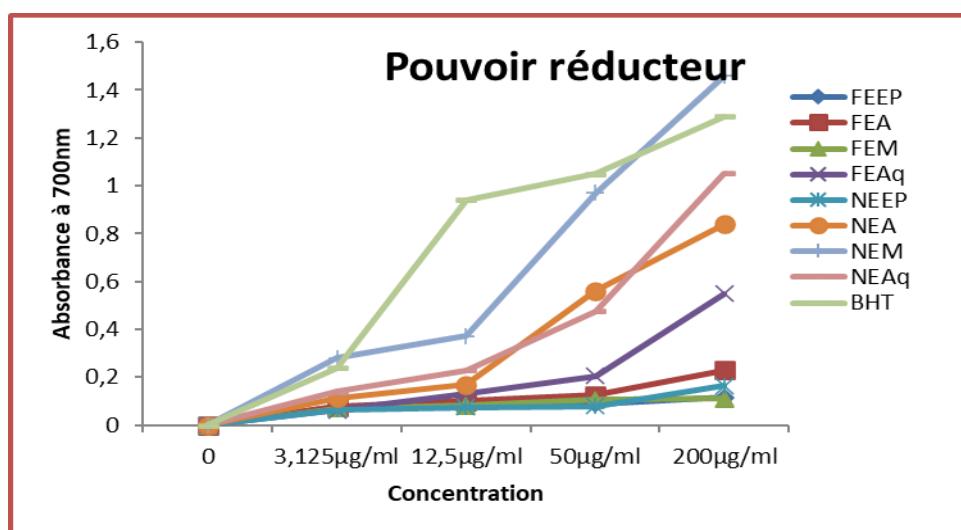
- Les plus faibles activités antioxydantes des pulpes de *W. robusta* sont en faveur des extraits l'éther de pétrole, méthanol et l'acétate d'éthyle avec des concentrations d'inhibition à 50% doit être supérieur à (800  $\mu g/ml$ ) sont largement supérieur à ceux enregistré pour BHT (inférieur à 12.5  $\mu g/ml$ ), par contre l'extrait aqueux a donné une forte activité antioxydantes avec  $IC_{50}$  égale à  $40,14 \pm 1,8 \mu g/mg$ .

- les plus faibles activités antioxydantes des graines de *W. robusta* sont en faveur des extraits l'éther de pétrole avec des concentrations d'inhibition à 50% doit être supérieur à (800 µg/ml) sont largement supérieur à ceux enregistré pour BHT, et l'extrait aqueux et l'acétate d'éthyle lui activité antioxydante moyenne avec de concentration d'inhibition à 50% ( $25.99 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ ) et ( $41.88 \pm 1.7 \mu\text{g/ml}$ ) respectivement, sont un peu plus haut à ceux enregistré pour BHT, par contre l'extrait méthanol a une forte activités antioxydantes avec  $\text{IC}_{50}$  (inférieur à  $12.5 \mu\text{g/ml}$ ), sont les mêmes que celles enregistré pour BHT.
- La meilleure activité antioxydante est attribuée à l'extrait méthanolique des graines de *W. robusta* par une concentration  $\text{IC}_{50} < 12.5 \mu\text{g/ml}$  pour piéger 50% de radical DPPH, ce qui montre que cette fraction renferme les composés les plus actifs.

### III.7.2.2. Pouvoir réducteur

Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols (en particulier les flavonoïdes) à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^{2+}$  en fer ferrique  $\text{Fe}^{2+}$ . En traçant la courbe d'absorption obtenue à partir de nos différents extraits étudiés (**Figure III.9**), il a été observé que le pouvoir réducteur du fer est proportionnel à l'augmentation de la concentration de nos extraits.

Les résultats présentés sur la (**Figure III.9**) montrent que le pouvoir réducteur des échantillons augmente avec l'augmentation de la concentration (une absorbance élevée à 700 nm correspond à un pouvoir réducteur élevé).



**Figure III.9:** Le pouvoir réducteur des différents extraits de *W. robusta*.

**Tableau III.11** : Les valeurs  $A_{0.5}$  de différents extraits de *W. robusta*.

Partie analysée	Extrait	IC <sub>50</sub> (pouvoir réducteur) (µg/ml)
Pulpe	Extrait éther de pétrole	>200
	Extrait acétate	>200
	Extrait méthanol	>200
	Extrait aqueux	167.83 ± 3.7
Graines	Extrait éther de pétrole	>200
	Extrait acétate	45.70 ± 1.02
	Extrait méthanol	22.46 ± 2.6
	Extrait aqueux	67.67 ± 1.6

D'après ces résultats, on aperçoit que :

- Dans notre travail (**Tableau III.11**), nous avons pu constater que l'extrait aqueux des pulpes de *W. robusta* a manifesté un pouvoir réducteur plus important avec  $A_{0.5}$  égale à  $167.83 \pm 3.7$  µg/ml, par contre dans les extraits l'éther de pétrole, méthanol et l'acétate d'éthyle a manifesté un pouvoir réducteur plus faible ( $A_{0.5}$  = supérieur à 200 µg/ml).
- Nous remarquons que l'extrait méthanol des graines de *W. robusta* a manifesté un pouvoir réducteur plus important ( $A_{0.5}$  =  $22.46 \pm 2.6$  µg/ml), par contre le pouvoir réducteur le plus faible a été enregistré dans l'extrait l'éther de pétrole avec, suivi par les extraits l'acétate d'éthyle et aqueux.
- Nous concluons que l'extrait méthanol a une forte activité de réduire le fer avec une valeur de  $22.46 \pm 2.6$  µg/ml pour des graines de *W. robusta*.

### III.7.2.3. Activité de piégeage radical du superoxyde par le diméthylsulfoxyde alcalin (DMSO)

Dans la méthode DMSO alcalin, un radical superoxyde  $O_2$  est généré par l'addition d'hydroxyde de sodium à l'air saturé DMSO, le superoxyde généré reste stable dans la Xsolution qui réduit le nitro bleu tétrazolium (NBT) de couler jaune en formazan de couleur pourpe. La (**Figure III.10**) montre les résultats obtenus de l'activité superoxyde DMSO alcalin des extraits du Fruit de *W. robusta* (Pulpes et graines) comparé avec le standard BHT.

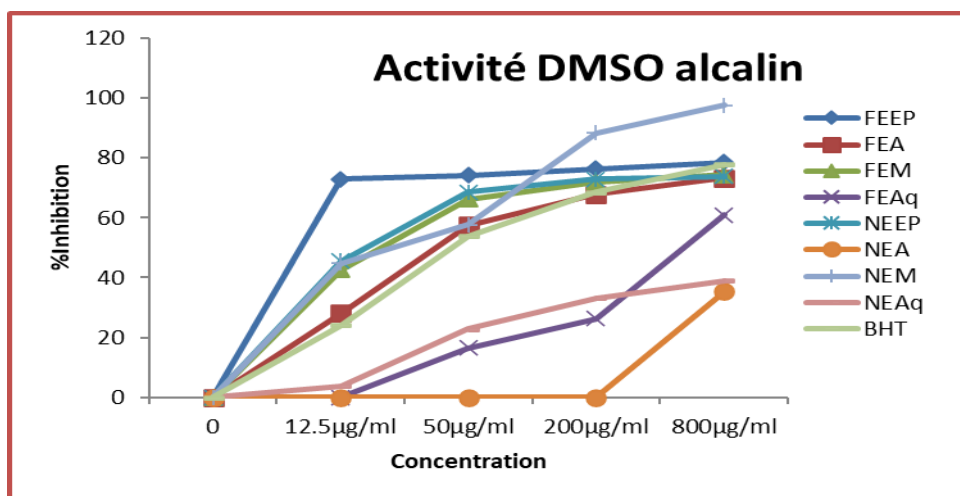


Figure III.10: Pourcentage d'inhibition de DMSO alcalin par les différents extraits de *W. robusta*.

Tableau III. 12 : Les valeurs d'IC<sub>50</sub>.

Partie analysée	Extrait	IC <sub>50</sub> (DMSO alcalin) (µg/ml)
Puple	Extrait éther de pétrole	<12,5
	Extrait acétate	35.7±3.2
	Extrait méthanol	18.5±4.07
	Extrait aqueux	568.4±4.4
Graines	Extrait éther de pétrole	12.9±4.3
	Extrait acétate	>800
	Extrait méthanol	21.3±3.8
	Extrait aqueux	>800

D'après ces résultats, on aperçoit que :

- D'après les valeurs de la (Figure III.10) ; on remarque que l'extrait de l'éther de pétrole des pulpes possède une forte activité superoxyde DMSO alcalin avec une valeur d'IC<sub>50</sub> inférieure à 12.5 µg/ml, il possède une activité supérieure à celle de standard BHT ayant une IC<sub>50</sub> 40.21 ± 0.3 µg/ml, suivie par les extraits l'acétate d'éthyle et méthanol avec une valeur d'IC<sub>50</sub> 35.7 ± 3.2 µg/ml et 18.5 ± 4.07 µg/ml respectivement. Ils ont également une activité plus forte que le BHT standard qui

a une  $IC_{50}$  de  $40,21 \pm 0,3 \mu\text{g/ml}$ , par contre l'extrait aqueux possède une activité oxyde faible DMSO alcalin avec une valeur d' $IC_{50}$   $568.4 \pm 4.4 \mu\text{g/ml}$ .

- En plus, l'extrait de l'éther de pétrole des graines possède une forte activité superoxide DMSO alcalin avec d' $IC_{50}$  égale à  $12.9 \pm 4.3 \mu\text{g/ml}$ , il possède aussi une activité supérieure à celle de standard BHT, suivie par l'extrait méthanol avec  $IC_{50} = 21.3 \pm 3.8 \mu\text{g/ml}$
- La meilleure activité superoxide DMSO alcalin est attribuée à l'extrait l'acétate d'éthyle des pulpes de *W. robusta* avec une valeur d' $IC_{50}$   $35.7 \pm 3.2 \mu\text{g/ml}$ , ce qui montre que cette fraction renferme les composés les plus actifs.

# **Conclusion**

## Conclusion

La connaissance et l'utilisation des plantes médicinales constituent le véritable patrimoine de l'humanité. Leur importance dans le domaine de la santé publique a été fortement soulignée ces dernières années en raison des thérapies qu'elles proposent. Cette diversité de propriétés biologiques est certainement liée à l'efficacité thérapeutique d'un éventail de molécules bioactives synthétisées par les plantes et utilisées comme médicaments.

Ce travail rapporte des études phytochimiques et biologiques sur divers extraits obtenus à partir de la pulpe et des graines du fruit du palme de *Washingtonia robusta*. Dans cette étude, l'analyse de sa composition chimique nous a permis de caractériser la présence de différentes familles de biomolécules tels que les saponosides, alcaloïdes, quinones, sucres réducteurs, polyphénols, flavonoïdes, les lipides et autres métabolites

Cette étude nous a permis également d'établir la matière sèche, la teneur en matière minérale, en graisse et en fibre du fruit de *washingtonia robusta*, don leurs valeurs sont respectivement (P : 85,5% ; G : 92%), (P : 4% ; G : 1%), (P : 0,2% ; G : 10,7%), (P : 9% ; G : 31,4%).

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée sous l'effet de quatre solvants de polarité croissante, nous a permis d'obtenir des extraits bruts avec des rendements acceptables. La quantification des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux a été déterminé par dosage colorimétrique. Celle-ci nous a permis de confirmer que cette palme est riche en composés phénoliques.

Le pouvoir antioxydant des extraits préparés à partir des (graines et pulpe) de *W. robusta* a été évalué par trois méthodes : test de radicaux libres DPPH, le pouvoir réducteur (réduction de fer) et la méthode de radical superoxyde DMSO. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux présentent les fractions les plus actives, ce qui montre que ces fractions exhibent les composés les plus actifs.

# **Références**

# **Bibliographiques**



Références bibliographiques

- [1] LAZLI, A., BELDI, M., GHOURI, L., NOURI, N., (2018). «Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous » (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien) Laboratoire d'écologie fonctionnelle et évolutive, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf. Algérie, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 23p.
- [2] LUCILA, A., ALFONSO, A.G., BENJAMIN, T.W., GALLO-REYNOSO, J.P., (2019). «Phytochemistry of Washingtonia robusta» research Center for Food and Development AC, 156-160p.
- [3] <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/469/washingtonia>, (09/04/2023).
- [4] BRUNETON, J., DANIELLE, R., ODILE, C., (2007). Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème Édition botanique. Pharmacognosie phytothérapie. Groupe liaisons. Collection porphyre4-4507.
- [5] BERCHET & PRESL J., (1820). «Arecaceae».
- [6] <https://www.decodujardin.fr/mediterraneeenes/1641-palmier-washingtonia-2100000015429.html>, (09/04/2023).
- [7] MAAOUI, M., (2014). «Livre LANTES ORNEMENTALES PLANTES ORNEMENTALES DES ZIBAN» Centre de Recherche scientifique et technique sur les régions arides , 162-163p.
- [8] PUCCIO, P., «Washingtonia robusta» MONACO NATURE ENCYCLOPEDIA <https://www.monaconatureencyclopedia.com/washingtonia-robusta/?lang=fr> , (09/04/2023).
- [9] EDWARD F. GILMAN, DENNIS G. WATSON., (1994). «Washingtonia robusta -- Washington Palm» Fact Sheet ST-670 , Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2p.
- [10] P.SERVAIS, SEBA, P., (2018). «washingtonia filifera» <http://www.tilo-botanica.eu/espece-t-z/washingtonia-filifera.html>, (10/04/2023).
- [11] [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/130075/tab/taxo](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/130075/tab/taxo), (10/04/2023).
- [12] DARDOUR, M ., DAROUI EL, A ., BOUKROUTE, A ., BERRICHI, A., (2012). «Inventaire Et état Sanitaire Des Arbres D'alignement De La Ville De Saïdia (maroc Oriental)»1p.
- [13] <https://www.aujardin.info/plantes/washingtonia-robusta.php>, (11/04/2023).

- [14] <https://www.boutique-vegetale.com/p/washingtonia-robusta-palmier-du-mexique#palmier-du-mexique-palmier-de-washington-washingtonia-robusta-mexican-washingtonia>, (11/04/2023).
- [15] <https://www.superfoodevolution.com/palm-tree-fruit.html>, (11/04/2023).
- [16] <https://www.thespruce.com/mexican-fan-palm-care-guide-5704076>, (09/04/2023).
- [17] <https://www.gardenershq.com/Washingtonia-robusta.php#:~:text=Washingtonia%20robusta%20can%20be%20planted,What%20is%20this%3F&text=These%20plants%20thrive%20in%20either,as%20there%20is%20good%20drainage>, (11/04/2023).
- [18] <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2023/CHAPITRE%201.%20LES%20METABOLITES%20SECONDAIRES%20LICENCE.pdf>, (12/04/2023).
- [19] <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/becol/2022/Pr-LABBANI-M%20C3%A9tabolisme%20Secondaire.pdf>, (20/04/2023).
- [20] [https://fsnv.univ-bba.dz/wp-content/uploads/2020/04/Cours\\_Phytochimie\\_Boumerfeg\\_S..pdf](https://fsnv.univ-bba.dz/wp-content/uploads/2020/04/Cours_Phytochimie_Boumerfeg_S..pdf), (23/04/2023).
- [21] MARTIN, A., (2000). Centre national de coordination des études et recherches sur la nutrition et l'alimentation (France), Centre national de la recherche scientifique (France), Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris; Londres ; New York : Tec & doc ; 610 p.
- [22] CHEVALLIER, L., (2009). Nutrition : principes et conseils. Elsevier Masson Edt (3ème édition), Paris, 272 p.
- [23] APFELBAUM, M., ROMON, M., DUBUS, M., (2009). Diététique et nutrition. Issy-les-Moulineaux : Elsevier-Masson, 516 p.
- [24] BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M E., BERSET, C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel–Wissenschaft and Technologie. (28): 25-30.
- [25] BENBROOK, M., (2005). Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.The organic center : 6-8.
- [26] MANSOUR, S., (2015). "Évaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : ArtemisiaabsinthiumL ,Artemisia herba alba Asso et Hypericumscarboides - Etude in vivo -," thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Algerie, pp. 1-105.

- [27] **BERKAL, G., BOUCHAMA, S.**, (2016). "Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : Euphorbiacharacias L. Présenté," mémoire de master, Universités des FrèresMentouri Constantine 1, Algérie, pp. 1-60.
- [28] **HARBONE, J.B.**, (1993). Introduction to Ecological Biochemistry, 4P thP Ed. Academic Press: London.
- [29] **BOUCHOUKA, E.**, (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, 24p.
- [30] **GHNIMI, W.**, (2015). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: Ricinuscommunis et Jatropha curcas .Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité cetylcholinestérase . Thèse de doctorat. Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie), 26p.
- [31] **CHANFORN, C.**, (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechiométrique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat : Université D'AVIGNON et des PAYS de VAUCLUSE.
- [32] **BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAM, S.**, (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99: pp: 191-203.
- [33] **FETTAH, A.**, (2019). Thèse de doctorat en Chimie Organique et Phytochimie sur Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant - antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoides de la région Beni Souik, Biskra. Université Mohamed Khider Biskra.
- [34] **BELYAGOUBI, N., BENHAMMOU, N.**, (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse Doctorat en Biologie, pp: 8-11. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen
- [35] **BRUNETON, J.**, (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4ème Ed.), p.1268.
- [36] **LAOUNI, S.**, (2015). Thèse de doctorat Chimie Industrielle sur Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Université Mohamed Khider Biskra
- [37] **Livre Encyclopedia of Medicinal Plants** (2nd Edition) 2001 Larousse.

- [38] **PERONNY, S.**, (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle.
- [39] **ATEFEIBU, E.S.I.**, (2002). Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar. P.33.
- [40] **REGUIA, M.H.**, (2014). Mémoire Master en Chimie Pharmaceutique sur Etude phytochimique et l'activité antioxydant de l'Acacia erhenbergiana de la région de Tindouf. Université Mohamed Khider Biskra
- [41] **ISERIN, P.**, (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins. Larousse, Paris.
- [42] **DEIANA, S., GESSA, CE., PALMA, A., PREMOLI, A., SENETTE, C.**, (2003). Influence of organic acids exuded by plants on the interaction of copper with the polysaccharidic components of the root mucilage, *Organic Geochemistry*, vol. 34 (pp: 651-660).
- [43] **BOOTH, D.B., J.R. KARR., S. SCHAUMAN, C.P. KONRAD, S.A. MORLEY, M.G. LARSON, and S.J. BURGES.**, (2004). Reviving urban streams: land use, hydrology, biology, and human behavior. *Journal of the American Water Resource Association*, October 1351-1364
- [44] **COWAN, M.M.**, (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
- [45] **COHEN A. J.**, (1979). Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man." *Food and Cosmetics Toxicology* 17(3) ; pp:277-289.
- [46] **ABDELLI, W.**, Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. 2017, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis
- [47] **CECCON, J.**, (2015). "Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés : la (-)-Swainsonine, la (+)-6-Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (-)-Détoxinine," thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Français, pp. 1-151.
- [48] **MALECKY, M.**, (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
- [49] **BENAISSA, O.**, (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.

- [50] **BRUNETON**, (1993). *Phytochimie et plantes médicinales*; Paris, Pharmacognosie 2 édition, Techniques et documentation, Lavoisier, pp.200-274.
- [51] **SIMON, J.E., MORALES, M.R., PHIPPEN, W.B., VIEIRA, R.F., HAO, Z.**, (1999). « Basil: A source of aroma compounds and apopular culinary and ornamental herb », InJanick, J. (Ed.),*Perspectives on New Crops and New Uses*,ASHS Press: Alexandria, VA, USA, pp. 499–505.
- [52] **EL HAIB, A.**, (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique [Thèse de doctorat en Chimie organique et catalyse. Université de Toulouse 3]*.
- [53] **LUTZ**, (1940) : Lutz, 1940. *Bulletin de la Société de plantes à huile essentielle. Chmical and Biology.* 22, pp 497
- [54] **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.**, (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* PPUR presses polytechniques.
- [55] **ZENK, MH., et JUENG, M.**, (2007). *Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. Phytochemistry*, 68: 2757- 2772p.
- [56] **Phytochemical Society of Europe.** (1991). *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids: Oxford science publications, British*
- [57] **ERMAN, W. F.**, (1985). *Chemistry of monoterpenes, part B*, Marcel Dekker, New York.*European Journal of Pharmacology.* 1991; 201:35-39
- [58] **ABETTI, S.**, (2014). *Mémoire de Master en Sciences et Techniques sur Etude phytochimique et pouvoirs antioxydant et vasodilatateur des extraits de trois plantes du nord de Maroc (Daphne gnidium, Origanum elongatum, Cistus salviifolius).*
- [59] **SAKHRAOUI, N.**, (2022). *Mémoire de Master en «La passiflore (Passiflora Caerulea) Investigation pharmacologique, phytochimique et biologique» Université Mohamed Khider de Biskra.*
- [60] <https://ceed-diabete.org/blog/focus-sur-le-stress-oxydant/>, (28/04/2023).
- [61] **TUO, KARIM, M.**, (2015). *Thèse doctorat en Pharmacologie des Substances Naturelles sur Criblage Phytochimique, activité antioxydant et antiplasmodiale in vitro de cinq plantes utilisées traditionnellement en Côte D'ivoire contre le Paludisme. L'Université Félix Houphouët-Boigny.*
- [62] **ROUANA, S., BOUDOUR, H.**, (2020). *Mémoire de Master en «Etude de l'activité antioxydante de quelques composés de synthèse organique» University of Jijel.*

- [63] **PARIS, R., et MOYSE, M.,** (1965). Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. 412 p.

# **Annexes**

## *Annexes*

➤ **Les solvant utilisées sur l'extraction :**

<b>Solvant</b>	<b>Hexane</b>	<b>Éther de pétrole</b>	<b>Acétate d'éthyle</b>	<b>Méthanol</b>	<b>Eau</b>
<b>Formule</b>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> OH	H <sub>2</sub> O
<b>Point d'ébullition</b>	68,7 °C	40 à 65 °C	77,1 °C	64,7 °C	100 °C

➤ **Principales bandes infrarouges observées dans les fibres :**
























<b>Nombre d'onde (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Bandes</b>
<b>3375–3340</b>	Vibration d'élongation de la liaison OH intramoléculaire
<b>3310–3230</b>	Vibration d'élongation de la liaison OH intramoléculaire
<b>2938–2920</b>	Vibration d'élongation symétrique de la liaison C-H
<b>2840–2835</b>	Vibration d'élongation symétrique de la liaison C-H
<b>1770–1760</b> <b>1740–1720</b>	Vibration d'élongation de la liaison C=O conjuguée de cétone Vibration d'élongation de la liaison C=O non conjugué de cétone.
<b>1650–1640</b>	O-H flexion de l'eau absorbée
<b>1610–1590</b> <b>1515–1505</b>	Vibration d'élongation de la liaison C=C aromatique
<b>1470–1455</b> <b>1430–1422</b>	Vibration déformation de la liaison C-H asymétrique de groupements OCH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> .
<b>1375–1365</b>	Vibration en mode de flexion de la liaison C-H dans le plan



<b>1330–1350</b>	Vibration en mode de flexion de la liaison O-H dans le plan
<b>1315</b>	Vibration de rotation de CH <sub>2</sub> dans le C <sub>6</sub>
<b>1282–1277</b>	Vibration déformation de la liaison C-H
<b>1268</b>	Vibration d'élongation du cycle de Guaiacyle
<b>1235–1230</b>	Vibration d'élongation C-C plus C-O plus C=O
<b>1162–1125</b>	Vibration d'élongation de la liaison C-O-C asymétrique
<b>1140</b> <b>1128–1110</b>	Vibration déformation de la liaison C-H Aromatique dans le plan
<b>1086–1075</b>	Vibration déformation de la liaison C-H d'alcool secondaire et éther aliphatique
<b>1047–1004</b>	Vibration d'élongation de la liaison C-O
<b>996–985</b>	Vibration d'élongation de la liaison C-O
<b>895-894</b>	Vibration d'élongation et déformation des liaisons C-O-C, C-C-O et C-C-H
<b>662-663</b>	Vibration en mode flexion en dehors du plan de la liaison COH

➤ **Les matériels utilisés :**

- Un Bain Marie a été utilisé afin de chauffer.

Bécher 500ml +250ml+100ml	Agitateur magnétique	Pierre ponce	Entonnoir	Creuset
				
Mortier	Creuset en porcelaine avec couvercle	L'eau distillée	Eprouvette graduée	Four
				
Thermomètre	Barreau	Chauffe ballon	Spatule	Etuve
				
Ballons 100ml+250ml + 500ml+1000ml	Montage Soxhlet	Réfrigérant	Ampoule à décanter	Tubes à essais
				
Rotavap	Erlenmeyer	Balance électrique	Montage Clevenger	Chambre UV
				

## Résumé

Le présent travail a été entrepris dans le but de présenter une description botanique et pharmacologique de palmier « *washingtonia robusta* » de famille *Arecaceae*, suivie par une étude phytochimique et par la suite d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits naturels, issus des fruits (pulpes et graines) de cette palme.

En effet, la détermination de la composition chimique de notre espèce a montré clairement la présence des teneurs assez importantes en fibres, et en matières grasses dans les graines plus que les pulpes. D'autre part, la teneur en matières minérales dans les pulpes est plus élevée que les graines.

Le criblage phytochimique montre l'existence d'un polymorphisme chimique très important on biomolécules dans cette palme à savoir les deux parties étudiées.

La quantification par dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux sur les extraits obtenus par les méthodes de Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) montre la richesse des pulpes et des graines de « *washingtonia robusta* » en ces composés. Les résultats montrent que les teneurs des polyphénols et flavonoïdes totaux varient significativement en fonction des deux parties de fruits, où les graines sont plus riches en ces composés que la pulpe.

L'activité antioxydante a été évaluée par trois tests (DPPH, pouvoir réducteur et DMSO) appliqués sur les extraits préparés, les résultats obtenus indiquent que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux exhibant une excellente activité, cela signifie que ces fractions renferment les composés les plus actifs.

**Mots clés :** *washingtonia robusta* – biomolécules - polyphénols – activité antioxydante.

## ملخص

يتضمن هذا العمل تقديم وصف نباتي ودوائي لنخيل "*Washingtonia robusta*" من عائلة *Arecaceae*، تليها دراسة كيميائية نباتية ومن ثم تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات الطبيعية المتحصل عليها. من ثمار هذا النبات (اللب والبذور). إن تحديد التركيب الكيميائي لهذه العينة قد أظهر بوضوح وجود مستويات عالية إلى حد ما من الألياف والدهون في البذور أكثر من اللب. من ناحية أخرى، فإن المحتوى المعدني يوجد في اللب أكثر من البذور.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود العديد من الجزيئات الحيوية المهمة جداً في هذه النخلة، والتي تم الكشف عنها في كلتا العينتين. يُظهر القياس الكمي عن طريق فحص إجمالي البوليفينول والفلافونويد الكلي على المستخلصات التي تم الحصول عليها بواسطة طرق Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم ( $AlCl_3$ ) ثراء اللب والبذور لنخيل "*Washingtonia robusta*" من هذه المركبات. أظهرت النتائج أن محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد تختلف اختلافاً كبيراً اعتماداً على العينتين، غير أن البذور أغنى بهذه المركبات من اللب.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاثة اختبارات (DPPH, pouvoir réducteur, DMSO) المطبقة على المستخلصات المحضرة، تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن المستخلص الميثانولي والمستخلص المائي يظهران نشاطاً ممتازاً، وهذا يعني أن هذه المستخلصات تحتوي على المركبات الأكثر نشاطاً.

**الكلمات المفتاحية :** واشينطونيا روببستا - الجزيئات الحيوية - بوليفينولات - نشاط مضاد للأكسدة.

## Abstract

The present work was undertaken with the aim of presenting a botanical and pharmacological description of the "*Washingtonia robusta*" palm tree of the *Arecaceae* family, followed by a phytochemical study and subsequently to evaluate the antioxidant power of natural extracts, from the fruit (pulp and seeds) of this plam.

The determination of the chemical composition of our species has clearly shown the presence of fairly high levels of fiber and fat in the seeds more than the pulp. On the other hand, the mineral content gives the pulps more than the seeds.

Phytochemical screening shows the existence of several very important chemical polymorphism or biomolecules in this palm, revealed in the two parts studied.

Quantification by assay of total polyphenols and total flavonoids on the extracts obtained by the Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride ( $AlCl_3$ ) methods shows the richness of the pulps and seeds of *w. robusta* in these compounds. The results show that the contents of total polyphenols and flavonoids vary significantly depending on the two parts of the fruit, the seeds are richer in these compounds than the pulp.

The antioxidant activity was evaluated by three tests (DPPH, reducing power and DMSO) applied to the prepared extracts, the results obtained indicate that the methanolic extract and the aqueous extract exhibiting excellent activity, this means that these fractions contain the most active compounds.

**Key words :** *washingtonia robusta* - biomolecules - polyphenols - antioxidant activity.