

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de l'environnement



# Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de

## Magister

En biologie

**Option** : Biodiversité et conservation des zones humides

Présenté Par :

**ZERGUI Fatima Zohra**

### THÈME

**Contribution à l'étude phytochimique et possibilités de valorisation d'une espèce dunaire du littoral oranais**  
***Matthiola sinuata* (L).RBr.1812**

Soutenu le : /11/2016

Devant le jury composé de :

<b>Président :</b>	<b>Mr KERFOUF Sid Ahmed</b>	<b>Pr</b>	<b>UDL Sidi Bel Abbès</b>
<b>Encadreur :</b>	<b>Mme TOUMI née BENALI Fawzia</b>	<b>MCA</b>	<b>UDL Sidi Bel Abbès</b>
<b>Examinatrice :</b>	<b>Melle BENNABI Faiza</b>	<b>MCA</b>	<b>UDL Sidi Bel Abbès</b>

**Année universitaire : 2016 - 2017**





## Remerciements

*Louange à ALLAH, seigneur de l'univers, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bienfaits, je lui rends grâce.*

*Je remercie chaleureusement madame TOUMI Benali Fawzia maitre de conférences à l'université de Sidi-Bel-Abbés, en tant qu'encadreur de mon projet de Magister, qui s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.*

*J'exprime mes plus vifs remerciements à Monsieur KERFOUF Sid Ahmed professeur à l'université de Sidi Bel Abbés pour l'honneur qu'il m'a fait de présider le jury de ce travail.*

*Je tiens à présenter mes remerciements et ma grande estime à Melle BENNABI Faiza, maitre de conférences (A) à l'université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbés qui a accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens également à remercier Mr BOUAZZA Sofiane qui m'a aidé pour finaliser mon travail en domaine analytique et informatique.*

*Je remercie également Mr DIF Mustapha Mahmoud pour son aide dans la réalisation de ce modeste travail, tant sur le plan de la collecte des données et sur le plan de l'élaboration du mémoire et sa connaissance approfondie en matière d'expérimentation.*

*Je remercie Mr MEKJFI Nabil, responsable de laboratoire de biochimie végétale pour sa disponibilité tout au long de la période expérimentale et l'utilisation du matériel.*

*Mes sincères remerciements vont également à tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin dans la réalisation de ce travail; SENNOUS Kouider, Ben Abdrahmen Safia, BENYAMINA Abd Elfetah, SOLTANI Amina, , BENAÏSSA Youcef et tous ceux qui m'ont aidé dans l'expérimentation.*



## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire de fin d'étude :*

*A ma grand mère qui m'a encouragé et soutenue toute ma vie par sa bénédiction et ses prières.*

*A mon père qui m'a inculqué une bonne éducation, le chemin de la dignité et la voie de la sagesse.*

*A ma mère, qui m'a éclairé mon chemin*

*et À mes frères : que Dieu les Protège, Attou, Badro, Khaledet Farok*

*Je souhaite la réussite dans leur vie privée.*

*A ma très chère sœur : Zahia*

*A mes tante : Saliha, Attaouia ,Nabila et Souad*

*A mes cousins et cousines : Abdkader, Allaa, Fatiha, Hadjer,*

*Wafaa sans oublier la petite Chaimaa que je l'adore tellement*

*A tous mes collègues et ceux qui me connaissent.*

## Résumé

Les plantes constituent une source naturelle d'antioxydants tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, qui sont responsables de son activité biologique. La présente étude consiste à établir les conditions optimales d'expérimentation pour avoir le meilleur rendement en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) de la giroflée des dunes de la région de Marsat El Hadjadj et par conséquent leur pouvoir antioxydant.

Les paramètres d'extraction testés et leurs variations sont fixés en fonction de la conception expérimentale : Type de solvant organique (méthanol), concentration du solvant organique (50 %, 60 %, 70 %, 80 % et 90%), température d'extraction (30, 40, 50 et 60 °C) et le temps d'extraction (2h, 4h, 6h et 8h).

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu, la quantification des flavonoïdes par le procédé au trichlorure d'aluminium et hydroxyde de sodium, et celle des tanins condensés par la méthode à la vanilline sous conditions acides. L'activité antioxydante a été testée par la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH.

Les résultats montrent que la concentration la plus faible des phénols totaux est de **(2,748mg EAG/g)** observé dans l'extrait à (30°C, 4h, 80%). Alors qu'un maximum de **(6,866 mg EAG/g)** est marqué à (50°C, 6h, 50%), pour les flavonoïdes une plus petite valeur de **(2,452 mg EC/g)** est affichée à (40°C, 4h, 70%). Cependant, une valeur élevée de **(6,337 mg EC/g)** est trouvée à (60°C, 4h, 90%). Les concentrations des tannins condensés varient entre **(0,842 mg EC/g)** à (50°C, 4h, 80%) et **(33,506 mg EC/g)** à (30°C, 2h, 80%).

Selon l'analyse statistique, l'extrait optimale des phénols totaux se trouve dans les conditions (52,8283%,4h,60°C)avec une concentration de **(5,563 mg EAC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(5,329 ±0,205 mg EAG/g)** L'extrait optimale des flavonoïdes se trouve dans les conditions (90%, 5,55h, 40°C) une concentration prédit de **(6,023 mg EC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(5,292 ±0,179 mg EC/g)**. L'extrait optimale des tanins se trouve dans les conditions (70%, 4h, 37,474°C) une concentration prédit de **(12,40 mg EC/g)** les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(11,127 ±1,190 mg EC/g)**

Le test de l'activité antioxydante a révélé que l'optimum phénol total à un pouvoir antiradicalaire important dont la valeur IC50 est de **(4,450 mg/ml)** en comparaison avec l'extrait optimal des flavonoïdes **(7,168 mg/ml)** et ceux des tanins **(5,238 mg/ml)** et l'extrait standard **(6,194 mg/ml)**.

**Les mots clés :** Giroflée des dunes, polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés, activité antioxydante

## Abstract

The plants are a natural source of antioxidants such as phenolic acids and flavonoids, which are responsible for its biological activity. This study is to determine the optimal experimental conditions to have the best performance in phenolic compounds (total phenols, flavonoids and condensed tannins) in sea stock of the region of Marsat El Hadjadj and their antioxidant power.

The extraction parameters tested and their variations are determined according to the experimental design: organic solvent type (methanol), organic solvent concentration (50%, 60%, 70 %, 80% and 90%), temperature of mining (30, 40, 50 and 60 ° C) and the extraction time (2, 4, 6 and 8 hours).

The proportioning of total polyphenols was realized with Folin-Ciocalteu reagent, the quantification of flavonoids was performed by a method with aluminium trichloride and sodium hydroxide, and the condensed tannins were determined with the vanillin method under acidic conditions. The antioxidant activity was tested by the method of DPPH free radical scavenging.

The results showed that the lowest concentration of total phenols is (**2,871 mg GAE/g**) observed in the extract (30°C, 4h, 50%). While a maximum (**3.749 mg GAE/g**) is labeled at (60°C, 8h, 90%), for a smaller value of flavonoids (**1.539 mg CE/g**) is displayed at (30°C, 2h, 50%). However, a high value of (**5.939 mg CE/g**) was found at (60°C, 8h, 90%). The concentrations of the condensed tannins vary between (**0.541 mg CE/g**) at (30°C, 6h, 70%; 60°C, 8h, 60%) and (**14.712 mg CE/g**) in (30°C, 4h, 90%).

According to the statistical analysis, the optimal extract of total phenols is in the conditions (52,8283%, 4h, 60°C) with a concentration (**5,563 mg GAE/g**), the conditions of the theoretical optimum was remade in the laboratory to give a concentration (**5,329 ±0,205 mg GAE/g**). The optimal extract of flavonoids is in the condition (90%, 5,55h, 40°C) with concentration predicted of (**6.023 mg CE/g**), the conditions of the theoretical optimum was remade in the laboratory to give a concentration (**5,292 ±0,179 mg CE/g**). The optimal extract of tanins is in the condition (70%, 4h, 37,474°C) with concentration predicted of (**12,40 mg CE/g**), the conditions of the theoretical optimum was remade in the laboratory to give a concentration (**11,127 ±1,190 mg CE/g**).

The teste of antioxidant activity showed that the optimum total phenols in a major anti-radical power of the IC<sub>50</sub> value with (**4,540 mg/ml**) compared to the optimal extract flavonoids (**7,168 mg/ml**) and the optimal extract tannins (**5,238 mg/ml**)and standard extract (**6,194mg/ml**).

**Key words:** sea stock, polyphenols, flavonoids, condensed tannins, antioxidant activity.

( ) ( ) ( )

( ) :  
( 60 50 ±40 ±30) ( 90 80 70 60 50)  
.( 8 6 ±4 ±2)

.DPPH

4 30 ( /EAG 2,748)  
50 6 50 ( /EAG 6,866) 80  
( /EC 6.337) 70 4 40 ( /EC 2.452)  
4 50 ( /EC 0,842) 90 4 60  
80 2 30 ( /EC 33,506) 80

(سا 4 /52,8283%,60°C)

( /EAG 5,563)  
± 5,292 ) (90%, 5,55h, 40°C) ( /EAG 0,205 ± 5,329)  
(70%, 4h, 37,474°C. ) ( /EC 6,023)  
( /EC 0,179)  
( /EC 12,40) مع تركيز  
( /EC 1,190 ± 11,127)

( / 7,168)

( / 4,450)

( / 6,194 )

( / 5,238)

# TABLE DES MATIÈRES

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

## CHAPITRE I : LES DUNES LITTORALES

I.1. Introduction .....	03
I.2. définition d'une dune littorale .....	03
I.3. Formation des dunes littorales .....	03
I.4. Les types des dunes littorales .....	05
I.4.1. Dunes en barkhanes et cordons barkhanoïdes.....	05
I.4.2. Dunes linéaires .....	06
I.4.3. Dunes pyramidales ou en étoile .....	07
I.4.4. Dunes parabolique .....	07
I.5. Morphologie des dunes littorales.....	08
I.6. Ecologie des dunes littorales .....	10
I.7. Les moyens de lutte contre la disparition des dunes .....	12
I.8. Ecosystèmes dunaires littoraux en Algérie.....	12
I.9. Ecosystème dunaire du littoral en Algérie nord-occidentale .....	14
I.10. Aménagement du littoral .....	14

## CHAPITRE II : LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

II. Les métabolites secondaires .....	16
II.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires .....	16
II.2. Biosynthèse des métabolites secondaires.....	16
II.3. Classification des métabolites secondaires.....	17

II.3.1. Les composés phénoliques .....	17
II.3.1.1. Les principales classes des composés phénoliques .....	17
II.3.1.2. Les effets biologiques des polyphénols .....	25
II.3.2. Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes).....	26
II.3.3. Les composés azotés (dérivés des acides aminés) Alcaloïdes.....	26
II.3.3.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes .....	27

## **CHAPITRE III : L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

III.1. Introduction .....	28
III.2. Définition d'un radical libre .....	28
III.3. Différents type des ERO.....	29
III.4. Les antioxydants .....	30
III.4.1. Les antioxydants primaires .....	30
III.4.2. Les antioxydants secondaires .....	31
III.5. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant.....	23
III.6. Mécanismes physiologiques de l'inactivation des ERO .....	32
III.6.1. Système de défense primaire .....	32
III.6.2. Système de défense secondaire .....	34

## **CHAPITRE IV : ETAT DE CONNAISSANCE DU GIROFLEE**

### **DES DUNES**

IV. Etat de connaissance du Giroflée des dunes.....	35
IV.1. définition .....	35
IV.2. Généralités sur la famille des brassicacées .....	35
IV.3. Morphologie .....	35
IV.4. Ecologie .....	37
IV.5. Classification .....	37
IV.6. l'optimum écologique .....	38

## **CHAPITRE V : MATERIELS ET METHODES**

V. Matériels et Méthodes .....	41
V.1. Objectif du travail .....	41
V.2. Présentation de la zone d'étude .....	41

V.2.1. Géographie .....	42
V.2.2. Le couvert végétal .....	42
V.3. Matériel végétal .....	42
V.3.1. la récolte du matériel végétal .....	42
V.3.2. la conservation de la plante .....	42
V.3.3. la partie utilisée.....	42
V.4. Méthode d'extraction .....	42
V.5. Méthode de dosage des composés phénoliques .....	44
V.5.1. Dosage des phénols totaux .....	45
V.5.2. Dosage des flavonoïdes.....	47
V.5.3. Dosage des tanins condensée .....	47
V.6. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH .....	48
(1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl)	
V.7. Analyse statistique .....	49

## **CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

VI. Résultats et discussion .....	50
VI.1. Résultats de dosages des composés phénoliques .....	50
VI.1.1. Les phénols totaux .....	50
VI.1.2. Les flavonoïdes .....	50
VI.1.3. Les tanins condensés.....	51
VI.1.4. Teneurs des phénols totaux.....	51
VI.1.5. Teneurs des flavonoïdes totaux.....	51
VI.1.6. Teneurs des tanins condensés .....	52
VI.2. Optimisation des composés phénoliques.....	59
VI.2.1. Optimisation des phénols totaux .....	59
VI.2.2. Optimisation des flavonoïdes .....	59
VI.3. Résultat de l'activité antioxydante des extraits de la giroglée des dunes .....	61
Discussions .....	75
Conclusion.....	78
Référence bibliographique	
Biblio-net	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**Ac** : Absorbance du contrôle

**adj** : Ajusté

**At** : Absorbance du test effectué

**C** : Concentration

**CFT**: Concentration des flavonoïdes totaux

**CPT**: Concentration des phénols totaux

**CTC** : Concentration des tanins condensés

**D** : Durée

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**I %** : le pourcentage d'inhibition

**IC50** : Concentration inhibitrice de 50 % du radical de DPPH

**mg** : Milligramme

**mg EAG/g**: Milligramme équivalent acide gallique par gramme

**mg EC/g** : Milligramme équivalent catéchine par gramme

**mg/ml**: Milligramme par millilitre

**mm** : Millimètre

**nm** : Nanomètre

**R2** : Coefficient de détermination

**ROS** : Réactive oxygen species

**RSM** : Répense de surface méthodologique

**T** : Température

**U.V**: Ultraviolet

**µm** : Micromètre

**°C** : Degré celcuse

**95% CI** : Intervalle de confiance à 95 %

---

# Introduction générale

---

## Introduction Générale

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Huang et Ferraw, 1991 ; Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007)

Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Zeghad, 2009).

Plusieurs données récentes de l'industrie pharmaceutique montrent que, pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques, car ils représentent des structures privilégiées choisies par les mécanismes d'évolution sur une période de millions d'années (François et Dicko, 2010).

C'est la phytochimie (chimie des végétaux ) qui se charge d'étudier ces substances actives ,leur structure ,leur distribution dans la plante ,leurs modifications et les processus de transformation qui se produisent au cours de la vie de la plante ,de la préparation du remède végétal, puis durant le stockage .

Ces dernières années, les substances naturelles connaissent un intérêt croissant dans de nombreux domaines. En effet, avec un public de plus en plus réticent à consommer des produits contenant des molécules issues de la synthèse chimique, un certain nombre de secteurs industriels (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire) se tournent de nouveau vers l'incorporation de ces molécules d'origine naturelle, aux caractéristiques chimiques et biologiques originales, dans leurs formulations. La valorisation de ces principes actifs d'origine naturelle représente donc un potentiel économique énorme (Benyamina et Soltani, 2015).

Pour être valorisés, les composés bioactifs doivent d'abord être séparés de leur matrice végétale d'origine, quantifiés puis testés.

Dans ce contexte. Le travail a pour but d'identifier les meilleures conditions par conséquent le meilleur rendement des composés phénoliques qui présentent une famille importante des métabolites secondaires au sein de notre matériel végétal qui est la giroflée des dunes de la région de Marsat El Hadjaj ,selon différents paramètres que nous avons choisis

Pour cela ce modeste mémoire est composé de deux parties distinguées mais complémentaires :

La première partie est consacrée à une revue bibliographique dont le premier chapitre concerne quelques généralités sur les dunes littorales, le deuxième est un bref rappel sur les métabolites secondaires. Le troisième chapitre représente quelques informations sur l'activité antioxydante et un dernier chapitre consacré à une présentation de l'espèce étudiée qui est la giroflée des dunes.

La deuxième partie est consacrée à la démarche expérimentale. Amorcée par une présentation de la zone de prélèvement de notre échantillon, ensuite un second chapitre qui présente le matériel et les méthodes utilisées pour mener à bien la présente étude, dans le dernier chapitre l'ensemble des résultats est présenté et discuté.

Enfin une conclusion générale sur l'ensemble de ce travail scientifique réalisé ainsi que quelques perspectives ont été dégagées.

---

# Partie bibliographique

---

---

# **Chapitre I**

## **Les dunes littorales**

---

### **I.1. Introduction :**

Les milieux sableux littoraux sont des faciès à composition faunistique et floristique très particulière, comportant de nombreux éléments spécialisés, adaptés à la fois à la granulométrie du substrat et à la teneur en sels de sodium plus ou moins forte. Ces milieux répondent donc à des exigences écologiques particulières. Ils sont ainsi très fragiles, pouvant être profondément bouleversés quand ils subissent des pressions ou des interventions anthropozoogènes. **(Soldati et Jaulin, 2002)**

Les dunes littorales montrent une grande variété d'aspects parce que l'agent qui les modèle. le vent peut agir indépendamment de la gravité et parce que le matériau qui les constitue le sable est capable de changer aisément de forme Leur éloignement plus ou moins grand de la mer conditionne étroitement leur évolution Elles font l'objet d'une pression humaine inégale mais qui un peu partout s'est beaucoup accrue dans les temps récents Longtemps étudiées surtout d'un point de vue botanique les dunes littorales retiennent Aujourd'hui aussi l'attention d'autres spécialistes des sciences de la nature et les publications qui les concernent se multiplient. **( Paskoff ,2010)**

### **I.2. Définition d'une dune littorale :**

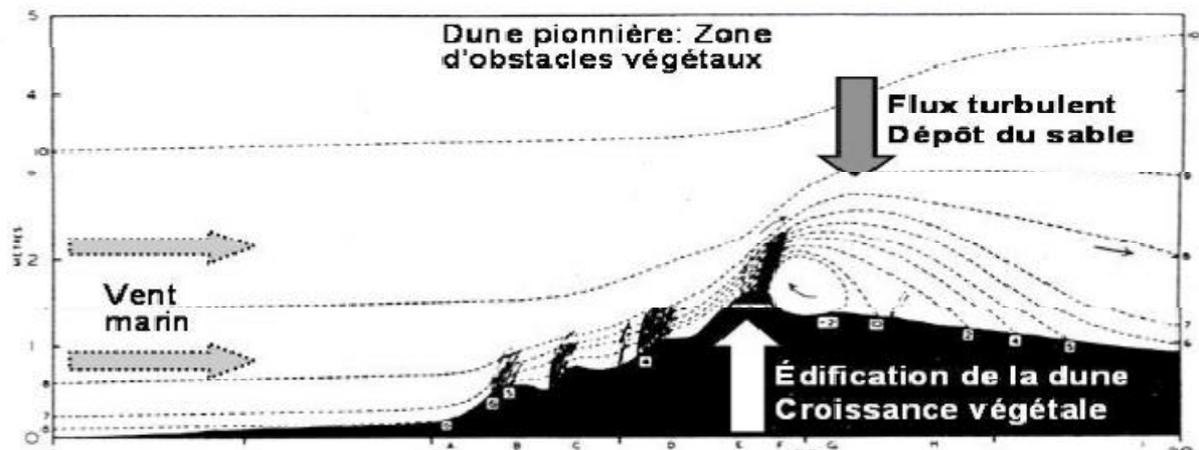
Les dunes littorales sont des formes de relief de taille variable (des petites dunes décimétriques aux grandes dunes kilométriques), constituées de sables déplacé et déposé par le vent. **(Paskoff ,2010)**

### **I.3. Formation des dunes littorales :**

La formation des dunes littorales nécessite des conditions particulières :

- Un stock de sable disponible apporté par les fleuves, la mer (bancs de sable au large) ou puisé dans les falaises.
- Un vent de mer dominant et de vitesse suffisante pour déplacer les grains de sable.
- Des obstacles aptes à piéger le sable : laisse de mer (débris divers et algues échoués sur la plage). **(Paskoff ,2010)**

Donc La formation d'un système dunaire implique l'action réciproque du vent, du sable et des végétaux, c'est ce que l'on dénomme trinôme dynamique **(Kim et Lumart, 1981)**. De cette interaction intime entre les facteurs physiques et les organismes vivants résultent une zonation typique ou chaque peuplement est affecté par des forces différentes (Parisod et Baudiere, 2006). L'obstacle est constitué principalement d'une végétation adaptée à ce milieu à substratmobile **(Figure 1)**.



**Figure 1 - La formation d'un système dunaire est due à l'action réciproque de trois composantes (Corre, 1971 In Parisod, 2006).**

La formation des dunes est d'abord conditionnée par l'accumulation de sable, matière première du système. Ce matériau provient des roches arrachées aux montagnes et transportées par les fleuves et les courants marins (alluvions). La nature chimique du sable (calcaire ou siliceux) est tributaire des roches traversées par les fleuves qui alimentent le système. La nature physique dépend du régime fluvial et de la longueur du trajet effectué par les alluvions (Parisod, 2006).

Le second ingrédient nécessaire à la formation des dunes est le vent (Baudiere et Simmoneau, 1974). Sur les côtes, les vents de terre sont violents mais soufflant de l'intérieur vers la mer, traversant des régions fixées par la végétation. Ils sont peu riches en sable et ont une influence mineure sur le système dunaire. A l'inverse, les vents marins qui soufflent de la mer vers la terre sont de moindre intensité mais plus constants. Ils traversent la portion nue de la plage, la zone intertidale et celle où les vagues et tempêtes inhibent toute végétation et y arrachent la portion fine du sable qui pourra s'accumuler pour former les dunes (Baudiere et Simmoneau, 1974).

Pour que ce sable transporté par le vent se dépose et s'accumule, il est nécessaire qu'un obstacle se mette au travers du vent qui modifiera son flux, tourbillon. Les végétaux jouent ce rôle (Corre, 1983).

Le vent joue aussi un autre rôle particulier puisqu'il assure le transport du sable. Il entretient aussi une forte salinité sur les zones vers lesquelles il pousse des embruns et s'oppose ainsi à la croissance verticale des végétaux. (Luttgeet al., 2002)

#### **I.4. Types des dunes littorales :**

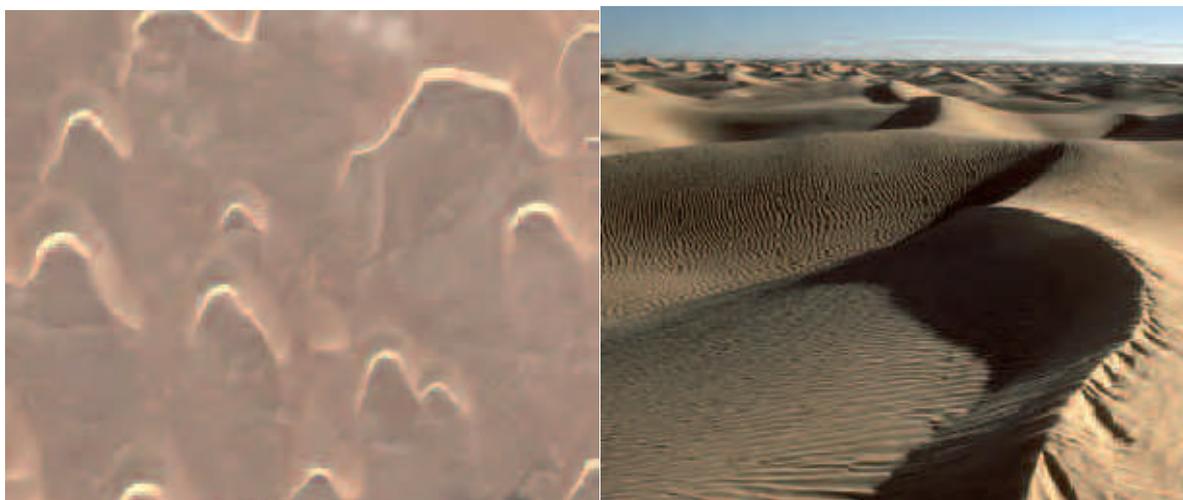
Les dunes existent partout dans le monde mais on les trouve surtout dans les déserts continentaux et littoraux ainsi que les côtes sableuses. En Europe les dunes sont uniquement littorales.

#### **I.4.1. Dunes en barkhanes et cordons barkhanoïdes**

Les types de dunes les plus simples sont ceux qui se forment sous des régimes de vent caractérisés par de petites variations de direction et sens. En l'absence de végétation, les dunes en demi-lune sont les formes dominantes dans les régimes de vent quasi-unidirectionnels. Ce type de dune a une morphologie stable jusqu'à des variations dans la direction du vent de 15° environ par rapport à la direction moyenne. Là où la disponibilité de sable est limitée, l'on trouvera des dunes isolées ou groupées, caractérisées par un versant au vent à faible pente et un versant sous le vent en croissant de lune avec les cornes orientés dans la direction du vent (**Parisod, 2006**).

Au fur et à mesure que la disponibilité de sable augmente, les cornes des barkhanes se joignent aux adjacentes, formant ainsi des cordons dunaires barkhanoïdes, avec la direction principale des crêtes perpendiculaire à la direction du vent ; et avec un versant clair orienté au vent et à faible pente, et un autre versant sous le vent présentant une pente à la limite d'équilibre du sable.

Si la dune continue de croître, on peut trouver des dunes en barkhanes composées, ou des dunes en barkhanes mineures qui se forment sur le versant au vent de la dune de plus grande taille. On peut également trouver des dunes en barkhanes sur les versants des grandes dunes en étoile, donnant lieu à des dunes complexes. (**Parisod, 2006**).

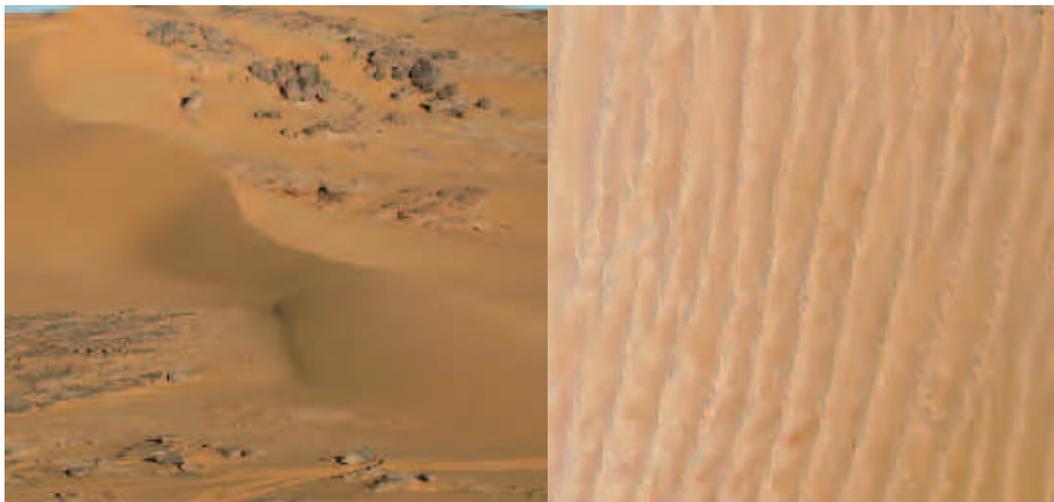


**Figure 2 : Dunes en barkhanes simples et composées. (Carlos Ley 2012)**

*(Web master 1)*

### **I.4.2. Dunes linéaires**

Les dunes linéaires se caractérisent par leur grande longueur, leur rectitude, leur parallélisme, leur espacement régulier et le rapport marqué entre la zone de dune et la zone interdunaire. Ces dunes sont transversalement symétriques et elles peuvent être sinueuses en plan. La position de la crête oscille en fonction de la variabilité saisonnière de la direction du vent. Les dunes linéaires se développent dans des zones avec des régimes de vent provenant d'un même secteur mais avec une importante variabilité directionnelle, ou dans des zones avec des régimes de vent bidirectionnels, et très rarement, dans des zones avec des régimes directionnels de vents complexes. **(Web master 1)**



**Figure 3 : Dunes linéaires.**  
*(Carlos Ley, 2012). (Web master 1)*

### **I.4.3. Dunes pyramidales ou en étoile**

Les dunes en étoile se caractérisent par leur grande taille et leur forme pyramidale, avec trois ou quatre bras qui partent d'une pointe centrale. Chaque bras présente une crête sinueuse, avec des versants d'avalanche qui alternent en fonction de la direction du vent dominant selon la saison. La partie supérieure des dunes en étoile présente une forte pente, avec des valeurs entre 15° et 30°. La base est très large et à pente faible, entre 5° et 10°.

Dans les flancs inférieurs, on peut observer la formation de dunes en demi-lune ou inverses mineures, donnant lieu à une dune en étoile complexe. Les dunes en étoile sont associées aux régimes de vent multidirectionnels, avec un transport net annuel relativement réduit.

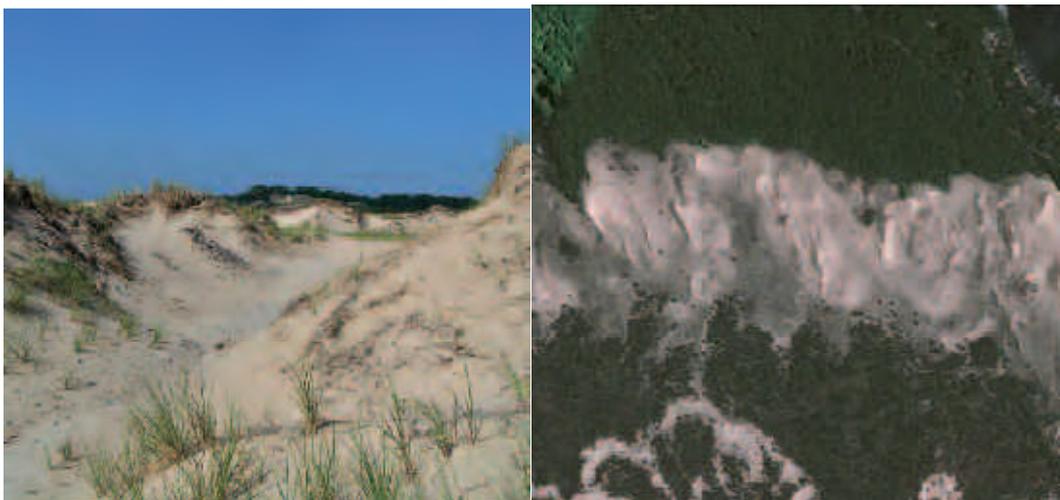


**Figure 4 : Dunes pyramidales ou en étoile.**

*(Carlos Ley, 2012) (Web master 1)*

#### **I.4.4. Dunes paraboliques**

Les dunes en parabole sont communes dans de nombreuses zones côtières et dans les zones semi-arides. Ces dunes se caractérisent par leur forme en U, avec les bras végétalisés partiellement stabilisés et inversés par rapport au sens du vent. Elles mesurent de 100 à 500 m de longueur et de 10 à 70 m de hauteur, elles présentent une zone active dans le bassin du U et un talus frontal d'envahissement. Les conditions nécessaires pour le développement des dunes paraboliques ne sont pas clairement déterminées. Normalement, elles sont associées à des zones avec un couvert végétal modéré et avec un régime de vent unidirectionnel.



**Figure 5 : Dunes paraboliques (Lac Michigan, Etats Unis)**

*(Carlos Ley, 2012). (Web master 1)*

## **I.5. Morphologie de dunes littorales :**

Dans les dunes côtières, la dominance des vents marins, la présence de végétation et, éventuellement, l'érosion provenant du piétinement ou du pâturage, ainsi que la position de la nappe phréatique donnent lieu à des formes dunaires très diverses.

Le flux du vent et du sable est modifié par les caractéristiques du couvert végétal : densité, morphologie, répartition et hauteur. Sur les côtes méditerranéennes, les denses formations végétales donnent lieu à des dunes hautes et étroites, avec une accumulation de sable de préférence sur le bord exposé au vent, suite à la forte réduction de la vitesse de l'air et, en conséquence, du transport par saltation. **(Baudiere et Simmoneau, 1974).**

Ce phénomène donne naissance à des dunes embryonnaires asymétriques à pentes plus marquées sur la face au vent. Dans d'autres zones biogéographiques, où les espèces formatrices de dunes présentent une croissance rampante (*Spinifex*: Nouvelle Zélande ; *Ipomoea/Canavalia*: Mexique), la réduction du flux d'air et de sable est faible, ce qui donne forme à des dunes asymétriques à pente plus marquée à l'abri du vent.

La formation de cordons dunaires continus a lieu dans les zones d'accrétion relativement forte et où la végétation est dense et haute, Hesp (2002). Les cordons dunaires établis varient largement en taille, allant de 1 ou 2 mètres jusqu'à plus de 30 mètres de haut dans certaines circonstances. Le couvert végétal et le type d'espèces présentes est aussi très variable selon la région biogéographique, le climat et l'histoire, la stabilité, l'exposition et la dynamique sédimentaire existante **(Hesp, 1991).**

Quand un système dunaire côtier est progradant, on assiste normalement à la formation d'une série de cordons dunaires parallèles, depuis le système le plus jeune, ou dune embryonnaire, situé sur la partie haute de la plage sèche, jusqu'aux plus anciens, des dunes grises ou tertiaires, qui dans les climats tempérés sont souvent complètement stabilisées par la végétation.

Dans la majorité des systèmes dunaires apparaît un zonage, en relation avec la distance à la mer, dans lequel des gradients de salinité, d'apport de sédiments et de régime de vents déterminent des types de végétation bien différenciés.

Ces types de végétation forment des bandes parallèles à la côte et, depuis la mer, on trouve les types suivants :

- **Avant-dunes** : Elles constituent la bande immédiatement postérieure à la plage, commençant à se développer à partir de la limite des pleines mers ordinaires. Ce sont

au début des monticules naissants, discontinus et très bas, de sable mobile ou vif car leur couverture végétale est très faible. Puis ces dunes embryonnaires se raccordent pour constituer une avant-dune continue. Dans ces zones, à sables basiques à cause des carbonates, la concentration saline est inférieure à celle de la plage car la mer (sauf cas exceptionnels) n'arrive jamais à les couvrir.

Néanmoins, la salinité due aux embruns y est assez élevée, au moins de 2%, conditions difficiles pour les végétaux. **(Baudiere et Simmoneau, 1974).**

- **Dunes blanches :** Les dunes blanches se trouvent à l'arrière des avant-dunes. Ce sont des monticules de sable d'une certaine hauteur, exposés au vent et, le plus souvent, hors de la portée de la mer. Leur forme très irrégulière comprend de forts bombements, des creux ou dépressions, des zones plates, et des pentes très fortes. En général le versant au vent est de pente faible, et le versant sous le vent plus escarpé.

La végétation est plus dense que dans la zone précédente et les sables sont en partie, semi fixés, sans exclure des secteurs de forte mobilité. Une végétation psammophile (amie du sable) peuple ces dunes, et correspondent au secteur de fort transit sableux. Ce groupe de plantes tend à fixer le sable grâce à des rhizomes très puissants, sa grande capacité de régénération naturelle, tant par semence que par de grands stolons, permet une colonisation rapide des zones de sable mobile.

La mobilité de ces dunes, leur très grande pauvreté en matière organique, leur forte teneur en carbonate de calcium et la perméabilité du sable en font un milieu écologiquement sec.

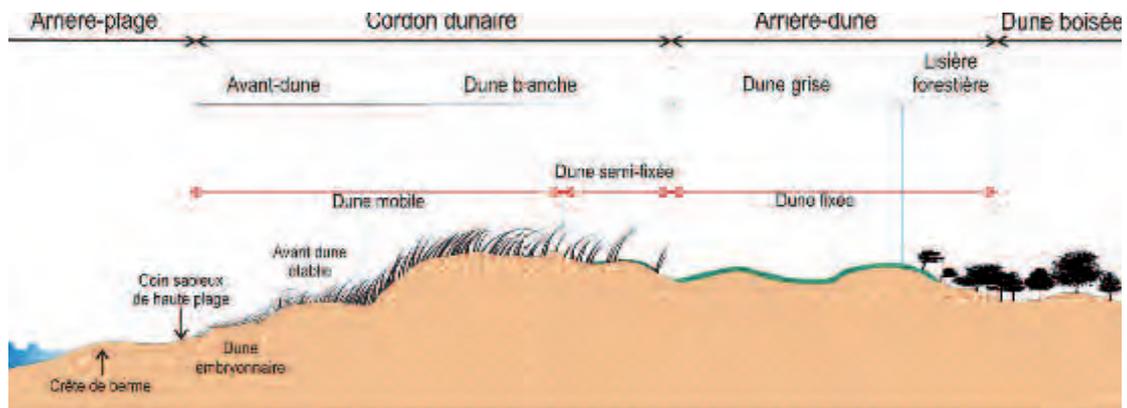
C'est pourquoi on y rencontre à la fois des plantes psammophiles, xérophiles, et quelques halophiles. **(Baudiere et Simmoneau, 1974).**

- **Dunes grises :** Ce sont des dunes semi-fixées ou stabilisées. Leur recouvrement végétal est supérieur à 50 ou 60 %, mais il n'est pas total, ce qui sera le cas de la bande végétale suivante, plus intérieure.

Les dunes grises sont à l'arrière du cordon de dune blanche, et bénéficient de sa protection.

Leur végétation comprend encore des psammophiles, mais en minorité. La faiblesse de la salinité et du transit sableux permettent la croissance d'une plus grande diversité d'espèces.

Ces dunes consolidées, comme les blanches, ont des formes complexes. Elles sont en général de plus faible altitude.



**Figure 6 : Profil d'un cordon dunaire.**

(Carlos Ley, 2012). (Web master 1)

### I.6. Ecologie des dunes littorales :

Le système dunaire est un écosystème dont la dynamique est le fait de l'action réciproque de facteurs physiques et d'organismes vivants végétaux. Depuis la mer jusqu'aux franges forestières, les complexes dunaires comportent successivement la plage, le haut de la plage, la dune embryonnaire, la dune vive ou blanche, la dune grise ou dune fixée (Doing, 1985 ; Hesp, 1988).

- **La plage nue** : ne comportant pas d'organismes végétaux car la force mécanique des vagues et du vent empêche leur fixation.
- **La dune pionnière (dune jaune)** : supporte des organismes adaptés pour éviter l'enfouissement par le sable.
- **La dune stabilisée (dune grise)** : présente des organismes variés tolérant les conditions maritimes.
- **La dune finale** : stabilisée, comporte des organismes moins spécialisés ; sa composition floristique est dictée par la chimie du substrat et la compétition.

Les dunes peuvent être considérées comme un milieu sec (Lee et Ignaciuk, 1985) et les plantes devront y entretenir des relations étroites avec l'eau et l'atmosphère (Vega *et al.* 2012).

La nature sableuse des sols des dunes a aussi une grande influence sur les peuplements végétaux qui doivent résister à de forts écarts thermiques en surface et à une migration très rapide de l'eau à travers le substrat vers les profondeurs. De plus, ces sables sont souvent pauvres en éléments nutritifs (lessivage et absence de colloïdes) et en matière organique, les sables des dunes contiennent aussi des grains de calcaires (Berghem, 2008)

Les espèces végétales des dunes sont pour ces raisons, souvent xérophiiles à mésoxérophiiles, calcicole (Zaffran, 1960). Les espèces salicoles seront bien représentées dans

des endroits ou principalement les eaux de pluie auront provoqué une forte décarbonatation du substrat. Tous ces facteurs écologiques très limitant concourent à créer des habitats originaux à hautes valeur patrimoniale, principalement à cause des espèces qu'ils abritent. Ces dernières décennies sont des habitats menacés par les pressions touristiques (**Messaouri, 2013**).

Les hauts de plages ne sont jamais recouverts sauf par les fortes marées qui y laissent des cordons d'algues arrachées aux côtes rocheuses. Ces algues en se décomposant libèrent de l'azote qui permet à différentes halophytes annuelles de se développer (**Floch et Leclerc, 2010**).

La dune embryonnaire est la zone où le sable est très mobilisable par le vent. Cette zone n'est jamais directement affectée par l'eau de mer, même aux plus fortes marées, mais seulement par les embruns. Le sable, très mobile dépourvu de réserves, oblige les plantes à des adaptations particulières (résistance à l'enfouissement, succulence,...etc.). Ces plantes des sables mobiles sont souvent qualifiées de psammophiles.

La dune mobile ou vive, encore appelée dune blanche correspond à un habitat où le sable très mobile est davantage retenu par une plus grande diversité de plantes psammophiles. Une forme de fixation est déjà avancée de la dune blanche indiquant une zone où l'apport de sable nouveau est réduit (**Géhu et al., 1994**).

Les dunes constituent un habitat naturel pour la protection des zones côtières. Elles tamponnent ainsi l'action érosive de la mer (**Mouliise et Barbel, 1999**). En plus de leur fonction paysagère et leur fonction d'habitat pour de nombreuses espèces végétales et animales, les formations dunaires permettent également de protéger les terres et les infrastructures humaines (**Paskoff, 1998**). Mais les actions directes et indirectes de l'homme modifient l'agencement original de ces dunes (**Corre, 1991**).

### **I.7. Les moyens de lutte contre la disparition des dunes**

Il existe un moyen des plus simples qui consiste à couvrir les dunes, soit par l'utilisation de la végétation, soit par des barrières placées en haut des dunes - le vent est ainsi ralenti et peut déposer le sable, - soit par un « chalumeau à dune » – cela consiste à placer deux barrières en V sur le haut d'une dune. Cette technique est très exigeante car il faut réadapter constamment le positionnement des barrières au changement des dunes.

Les techniques de lutte contre l'érosion éolienne consistent à freiner la vitesse du vent. Dans ce but, quatre techniques sont utilisées : les barrières « brise-vent », la couverture de

branchage, les plantations et enfin le modelage mécanique (de moins en moins utilisé). **(Parisod, 2006).**

### **I.8. Ecosystèmes dunaires littoraux en Algérie :**

L'Algérie constitue une entité écologique exceptionnelle dans la biosphère. Plusieurs types d'écosystèmes méditerranéens sont présents : steppiques, sahariens, montagneux de l'atlas tellien et les écosystèmes dunaires littoraux.

L'importance des ressources biologiques au double plan écologique et économique n'est plus à démontrer. Base de la vie sur terre, ces éléments constituent la matière première nécessaire au développement. Malheureusement et suite à une longue histoire d'occupation humaine, l'Algérie ne renferme plus à l'heure actuelle, d'écosystème terrestre vierge d'action anthropique c'est-à-dire inaltéré par l'homme. En conséquence, les communautés végétales propres à ces écosystèmes ou ce qu'il en résulte ne sont plus qu'une pale reflet de ce qu'elles étaient dans leurs conditions primitives **(Doc1, 1997).**

A la limite des milieux continentaux et marins c'est-à-dire dans les zones côtières, il existe une mosaïque d'écosystèmes terrestres et aquatiques qui malgré leur faible surface relative présentent un intérêt écologique (et très souvent économique) tout à fait exceptionnel.

Ces écosystèmes sont représentés dans la partie continentale par des systèmes de dunes littorales et de falaises rocheuses **(Ghodbani, 2010).**

Les écosystèmes terrestres côtiers abritent des communautés vivantes très spécifiques par suite des particularités micro-climatiques, topographiques et édaphiques qui les caractérisent **(Quéguinier, 2009).**

Les écosystèmes dunaires, ceux constitués par les falaises littorales, présentent un intérêt majeur au plan de la conservation des écosystèmes en méditerranée. Si les communautés vivantes inféodées aux faciès rocheux des cotes abruptes sont pour l'instant relativement moins menacées par la pression d'urbanisation et l'aménagement touristique du littoral, il en va tout autrement pour les écosystèmes dunaires. Dans la plus part des cas, les zones de dunes littorales ne sont pas actuellement abondantes. Elles abritent dans certains cas des phytocénoses limitées à un certain nombre de stations, parfois même endémiques **(Ghodbani, 2010).**

Les écosystèmes dunaires figurent également parmi ceux les plus menacés de disparition. Leur localisation en bord de plage les rend particulièrement vulnérables d'une part à cause du piétinement due à la sur fréquentation balnéaire, mais surtout par suite de leur

destruction pure et simple sous l'effet d'aménagement touristique en bord de mer (**Messaoui, 2013**).

La végétation joue un rôle fondamental dans la structure et le fonctionnement de l'écosystème dont elle constitue une expression du potentiel biologique. Cependant le couvert végétal naturel y est soumis à un double stress édaphoclimatique d'une part et anthropozoogène d'autre part (**Bouchtataet al., 2000**).

La répartition du manteau végétal reflète à travers la zonation bioclimatique la variation latitudinale des facteurs et des éléments climatiques. La spécificité de la végétation (dunaire) est marquée par un fort endémisme d'une part et d'autre part, un certain nombre d'espèces très spécialisées se sont adaptées au géo-système dunaire alors que d'autres ont été introduites (**Einstein, 2007**).

A proximité immédiate du rivage, ce sont les facteurs de dynamique côtière (marée, salinité, tempêtes) qui déterminent une végétation homogène. Au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la cote, les conditions locales (climat et sol) reprennent le dessus et c'est pourquoi les groupements végétaux de l'arrière dune sont plus diversifiés (**Stambouli et Bouazza, 2007**).

Afin de fixer les sables mobiles, des espèces très spécialisées ont été sélectionnées, communément liées au milieu très spécialisés que sont les zones désertiques et semi désertiques. Ces espèces sont soumises à un déterminisme édaphique contraignant caractérisé par une majorité de thérophytes et d'hémicryptophytes, psammophiles et xérophiles (**Hanifi, 2007**).

Selon certains travaux récents, les espèces inventoriées dans les milieux dunaires du littoral d'Afrique du nord notamment le long de la cote algérienne et particulièrement dans les milieux dunaires embryonnaires vifs sont : *Agropyrum junceum* L., *Ammophila arenaria* (L.) Link., *Anthemis marina* (L.), *Arenariacerastioi des Poir* et *Asparagacutifolius* (L.), *Calikemaritima* Scop., *Chamaerops humilis* L., *Ephedra fragilis* Moris, *Medicago marina* (L.), *Phillyrea media* (L.), *Pistacia lentiscus* (L.), *Polygonum maritimum* (L.), *Quercus coccifera* (L.), *Retama monosperma* (L.) Boiss, *Smilax aspera* (L.), etc. (**Quezel, 2002 ; Hanifi, 2006 ; Larid, 2006 ; Stambouli et al., 2009 ; Bendimered, 2014**).

#### **I.9. Ecosystème dunaire du littoral en Algérie nord-occidentale :**

Le littoral nord-ouest de l'Algérie regroupe des villes importantes avec à leur tête Oran, deuxième ville d'Algérie par sa grandeur. L'urbanisation et le développement des activités

économiques se sont accélérés ces dernières décennies et ont eu des impacts négatifs qui représentent actuellement des facteurs de risques qu'il faut gérer et maîtriser. La multiplicité des formes de dégradation de l'environnement nous renseigne non seulement sur le poids de l'action anthropique mais aussi sur la fragilité des écosystèmes composant le littoral. Cette fragilité des écosystèmes dans le littoral ouest de l'Algérie se manifeste à travers l'urbanisation et l'artificialisation de la cote, en plus de l'exploitation intensive des ressources naturelles comme le sable dunaire (**Ghodbani, 2010**).

Un grand nombre d'espèces citées ci-dessus sont présentes sur le littoral oranais afin de fixer le sable comme est le cas pour le cas pour *Ammophila arenaria* et *Retamamonosperma* (**Paskoff, 2005 ; Bourejda, 2013 et Bendimered, 2014**).

#### **I.10. Aménagement du littoral :**

En Algérie, l'intérêt porté au littoral est récent, la loi relative à la protection et la valorisation du littoral date du 05 février 2002. Depuis, les pouvoirs publics ont consenti dans ce domaine des efforts effectifs et une politique très ambitieuse a été mise en œuvre. En effet des plans d'aménagement côtiers ont été lancés dans à travers plusieurs wilayas littorales du pays (**Kacemi, 2011**). Le littoral est une entité géographique qui appelle une politique spécifique d'aménagement de protection et de mise en valeur. C'est une zone de contact entre la terre et la mer qui constitue aujourd'hui un espace de plus en plus sollicité, ce qui accentue sa fragilité (**Becet, 2000**).

Pour que le littoral conserve sa productivité et ses fonctions naturelles, il faut donc améliorer la planification et la gestion de son développement. En effet, l'aménagement des zones littorales doit se fonder sur une base scientifique tenant compte de ses caractéristiques géomorphologiques et climatiques et conciliant les exigences des divers secteurs économiques dont la survie dépend des écosystèmes (**Paskoff, 1993 ; Marcadonet et al. 1999**).

Le plan d'aménagement côtier (PAC) conformément aux dispositions de la loi relative à la protection et à la valorisation du littoral (Article.2), dans les communes riveraines de la mer et afin de protéger des espaces côtiers, notamment les plus sensibles, il est institué un plan d'aménagement côtier qui comporte l'ensemble des dispositions fixées par les lois et règlements en vigueur. Les modalités de sa mise en œuvre sont contenues dans le décret d'application N0 09-114 du 07 Avril 2009 (**Journal officiel algérien, 2009**).

---

# **Chapitre II**

## **Les métabolites secondaires**

---

## II. Les métabolites secondaires

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (Kansole, 2009).

### II.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et al, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).

### II.2. Biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mevalonate et du pyruvate (Verpoorte et Alfermann, 2000).

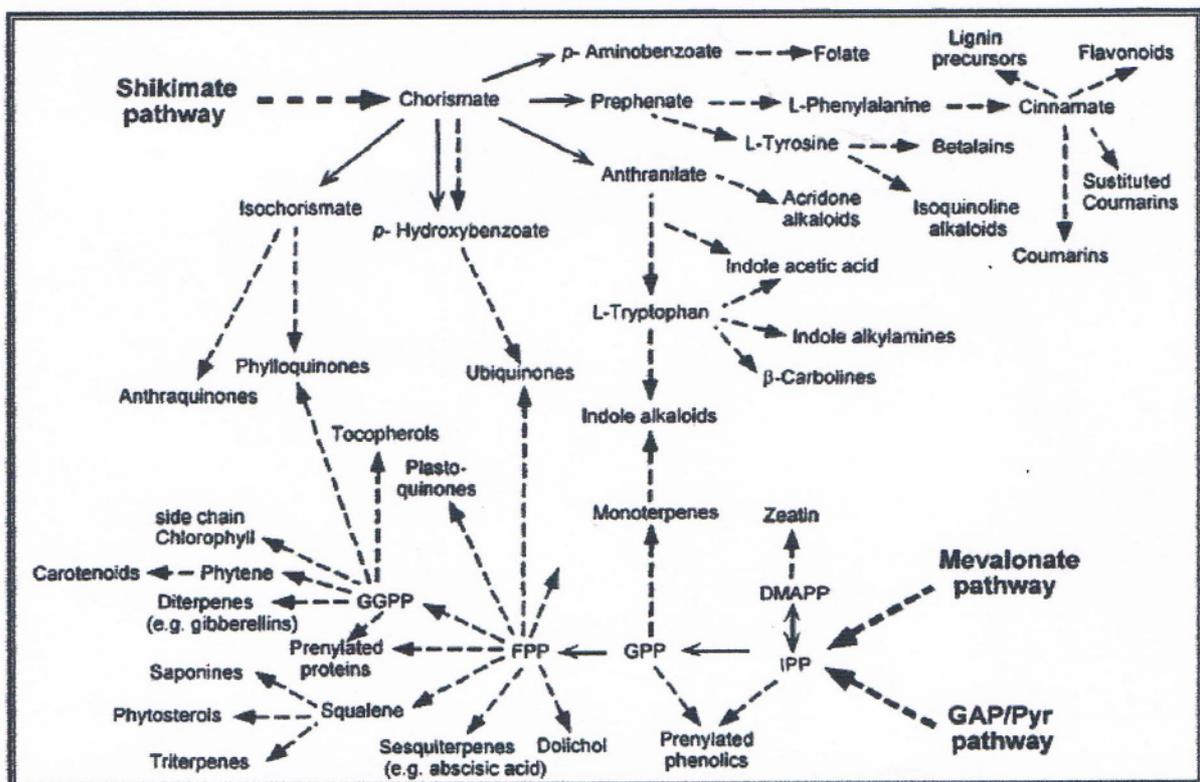


Figure 7: Biosynthèse des métabolites secondaires (Verpoorte et Alfermann, 2000 ; Wink, 2010).

## **II.3. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (Vermerris, 2006). On distingue trois classes principales :

### **II.3.1. Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. (Lebham, 2005). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisé en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (Hennebelle *et al*, 2004).

Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (Lugasi *et al*, 2003). Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et pro-anthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. (Beta *et al*, 2005).

#### **II.3.1.1. Les principales classes des composés phénoliques**

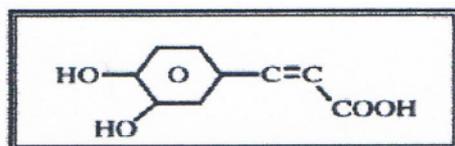
Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Bruneton, 1999). Les différentes classes de ces composés phénoliques, et les plantes qui les renferment sont représentées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Principales classes des composés phénoliques (Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006).**

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	exemples	Plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols Benzoïques	Ac. Gallique, Ac. Salysalique, vaniline	Artichaut Saule
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl6-méthoxybenzaldehyde	Saule
9	C6-C3	Acides phénols Cinnamiques	Ac. Coumarique Ac. Caféique	Romarin Marronnier d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp.
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, mangocétine	Racine de gentiane, Centaurée
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangénol, Pinosylvine	Raisin, pin
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde	Ginkgo Thym camomille
18	(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Matairésinol	Chardon
30	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone	Carcinia Hypeicum
N	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins	Marronnier d'inde, vigne

## 1. Acide phénolique

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique (**Pandey et Rizvi, 2009**).



**Figure 8 : Structure de l'acide caféique (Cowan, 1999).**

## 2. Tanins

Ils sont d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé. Se sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau de masse molaire entre 500-2000D, de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. (**Vermerris et al, 2006**).

Utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique importante parmi les caractéristiques des tanins le goût astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (**Peronny, 2005**).

### ✓ Structure et classification

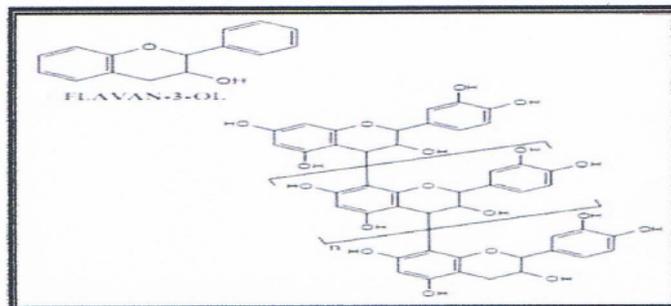
Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique : les tanins condensés et les tanins hydrolysables :

### ✓ Les tanins condensés (pro-anthocyanidines)

De structure plus complexe, on les appelle également pro-anthocyanidines, largement présents dans le règne végétal, et que l'on rencontre dans de nombreux produits alimentaires (fruit, légumes, boissons....) (**Peronny, 2005**).

Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannasses mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se

transforment en substances rouges : les phlobaphènes (exemple : rouge de cola) (Atefeibu ,2002). Ce sont des polymères de flavan -3 ols, appelés aussi catéchines et de flavan - 3,4-diols appelés leuco- anthocyanidines ou un mélange des deux (Atefeibu, 2002 ; Peronny, 2005).

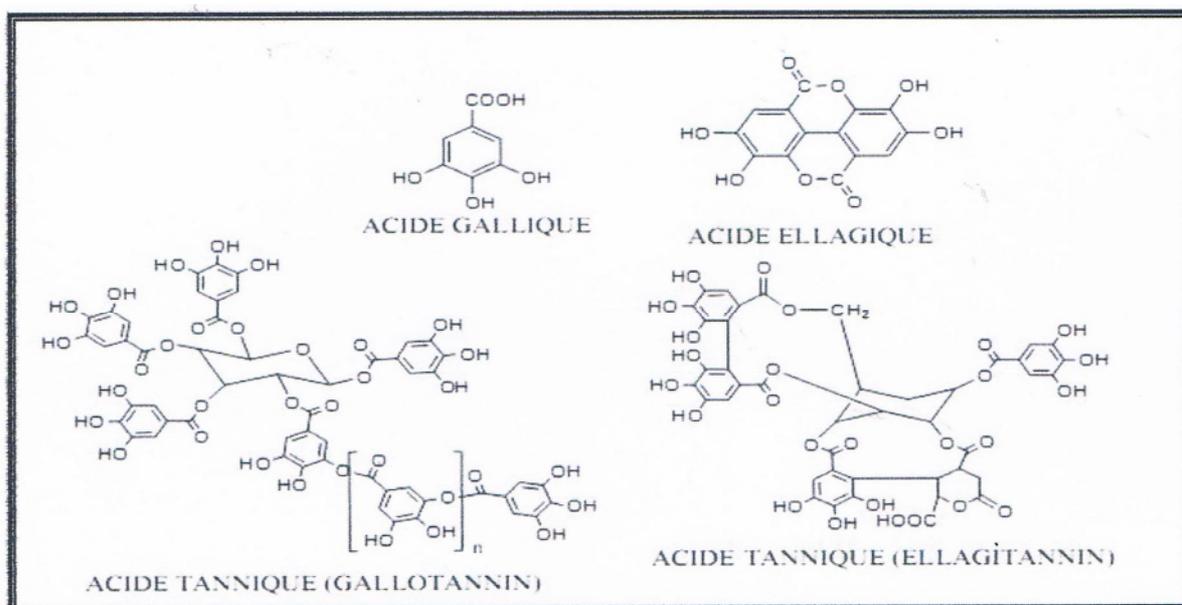


**Figure 9** : Structure des tanins condensés et leur monomère (Peronny, 2005).

#### ✓ Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose, ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (Macheix *et al*, 2005).

Ils sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbonées à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques (Bessas *et al*, 2007).



**Figure 10** : Structure des tanins hydrolysables et les acides associés (Peronny, 2005).

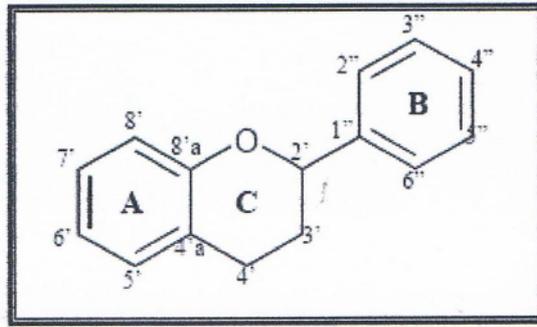
### 3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols.

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényle (Beecher, 2003 ; Williams et Grayer, 2004 ; Kueny-Stotz, 2008).

#### ✓ Structure chimique et classification

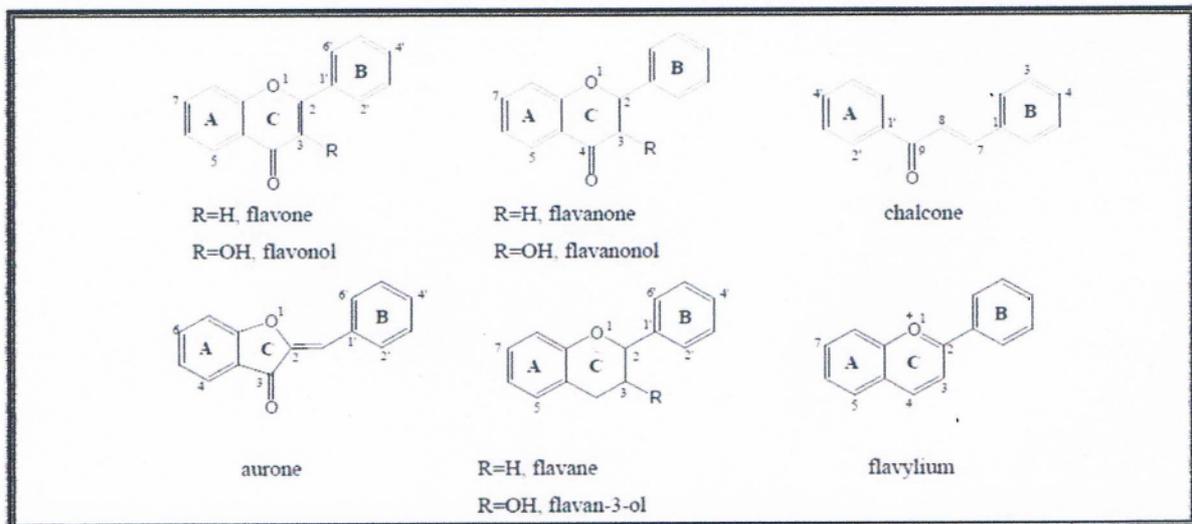
Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- $\gamma$ -pyran (Skerget *et al.*, 2005). Leur structure de base est celle d'un diphenylpropane à 15 atomes de carbone (C6-C3 -C6), constitué de deux noyaux aromatiques (ou anneaux) que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (figure 11) (Dacosta, 2003).



**Figure 11** : Squelette de base des flavonoïdes (**Girotti-Chanu, 2006**).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins

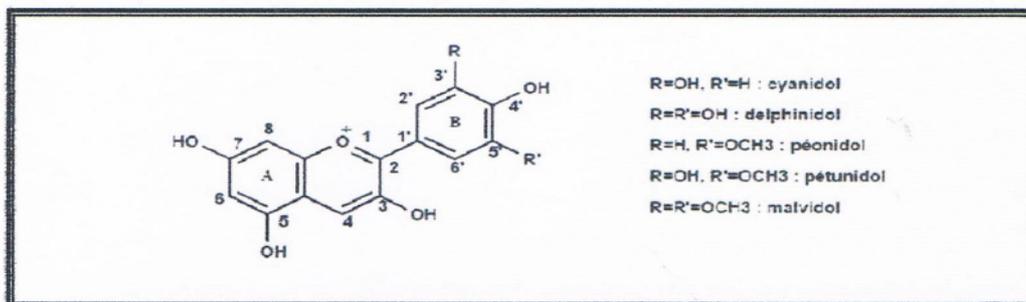


**Figure 12** : Structure des différentes classes des flavonoïdes (**Martinez et al , 2005**).

#### 4. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou

bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplis d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont du aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bessas *et al*, 2007**).



**Figure 13** : Structure générale des anthocyanes (Le cation flavylum).

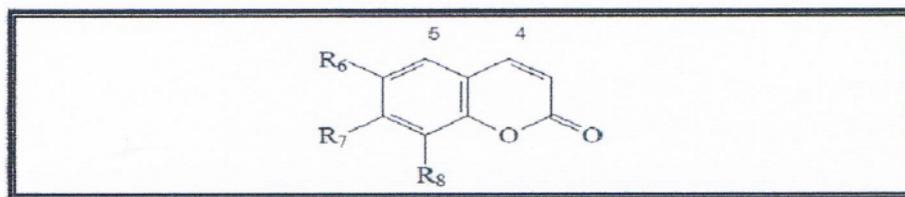
## 5. Coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels et donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : les Légumineuses, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Guignard ,1998 ; Deina *et al*, 2003 ; Booth *et al*, 2004**).

Les coumarines sont des substances phénoliques synthétisées à partir de la fusion des noyaux benzènes et  $\alpha$ - pyrone (**O'Kennedy et Thomes, 1997**). Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (**Hofmann, 2003**), Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les

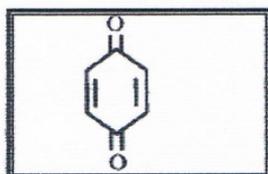
coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (**Hofmann, 2003**).



**Figure 14** : Structure de base de Coumarine

## 6. Les quinones

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétones. Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones. Elles sont responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et végétaux coupés ou lésés. En plus de fournir une source de radicaux libres stables, les quinones sont connues pour se complexer de manière irréversible avec les nucléophiles des acides aminés dans les protéines. Par conséquent, les quinones inactivent les protéines et altèrent leur fonction (**Arif et al, 2009**). On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons et les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).



**Figure 15** : Structure d'une molécule de quinone (**Cowan, 1999**).

### II.3.1.2. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique.

Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (**Bounatirou et al, 2007**).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (**Babar Ali et al , 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al , 2008**) et antioxydants (**Gomez-Caravaca et al , 2006**).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (**Makoi et Ndakidemi, 2007**).

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation : ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dessiner les formes pour éloigner les prédateurs. D'autre sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies (**Bruneton, 1999**).

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (**Bruneton, 1999**). Ces activités sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 2:** Activités biologiques de quelques composés phénoliques (**Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006**).

Composés	Phénoliques	Activité biologique
<b>Ac. Phénols</b>	Ac. Caféique Ac. Salicylique	Antibactérienne Antifongique, antioxydante
<b>Tanins</b>	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur
<b>Flavonoïdes</b>	Lutéoléine Catéchine Hespéridine Quercetine Naringénine	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
<b>Coumarines</b>	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antioedémateuse

### II.3.2. Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes)

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isoprénique (Bhat, Nagasampigi et Sivakumar, 2005).

### II.3.3. Les composés azotés (dérivés des acides aminés) Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux (Figure 16). Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de : réactif silicotungstique : réactif de Bertrand, réactif tétraiodomercurate de potassium : réactif de Valsler-Mayer, iodobismuthate de potassium : réactif de Dragendorff (Kansole, 2009).

En raison de leur puissante activité biologique, la plupart des alcaloïdes connus, environ 12.000, ont été exploités en tant que médicaments, stimulants, narcotiques et comme poisons. Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques (Ziegler et Facchini, 2008).

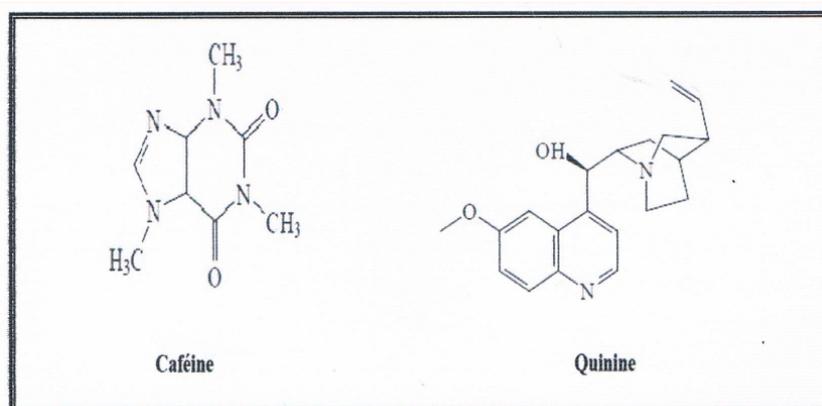


Figure 16 : Structure de quelques alcaloïdes.

#### II.3.3.1. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- Au niveau du système nerveux central comme antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine),

- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasymphatomimétiques, anti-cholinergiques et ganglioplégiques.

On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'anti-fibrillants, d'anti-tumoraux, et d'antipaludiques (**Bruneton, 1999**).

---

# **Chapitre III**

## **l'Activité antioxydante**

---

### III.1. Introduction

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert, 2005**).

### III.2. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003 ; Vansant, 2004**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxy ( $\text{ROO}\cdot$ ), Radical alkoxy ( $\text{RO}\cdot$ )], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (**ROS**). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde ( $\text{O}_2 \cdot^-$ ), radical hydroxyl ( $\text{OH}\cdot$ ), monoxyde d'azote ( $\text{NO}\cdot$ )], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), peroxydinitrite ( $\text{ONOO}^-$ )] (**Dacosta, 2003 ; Favier, 2003**). La figure 17 résume l'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie.

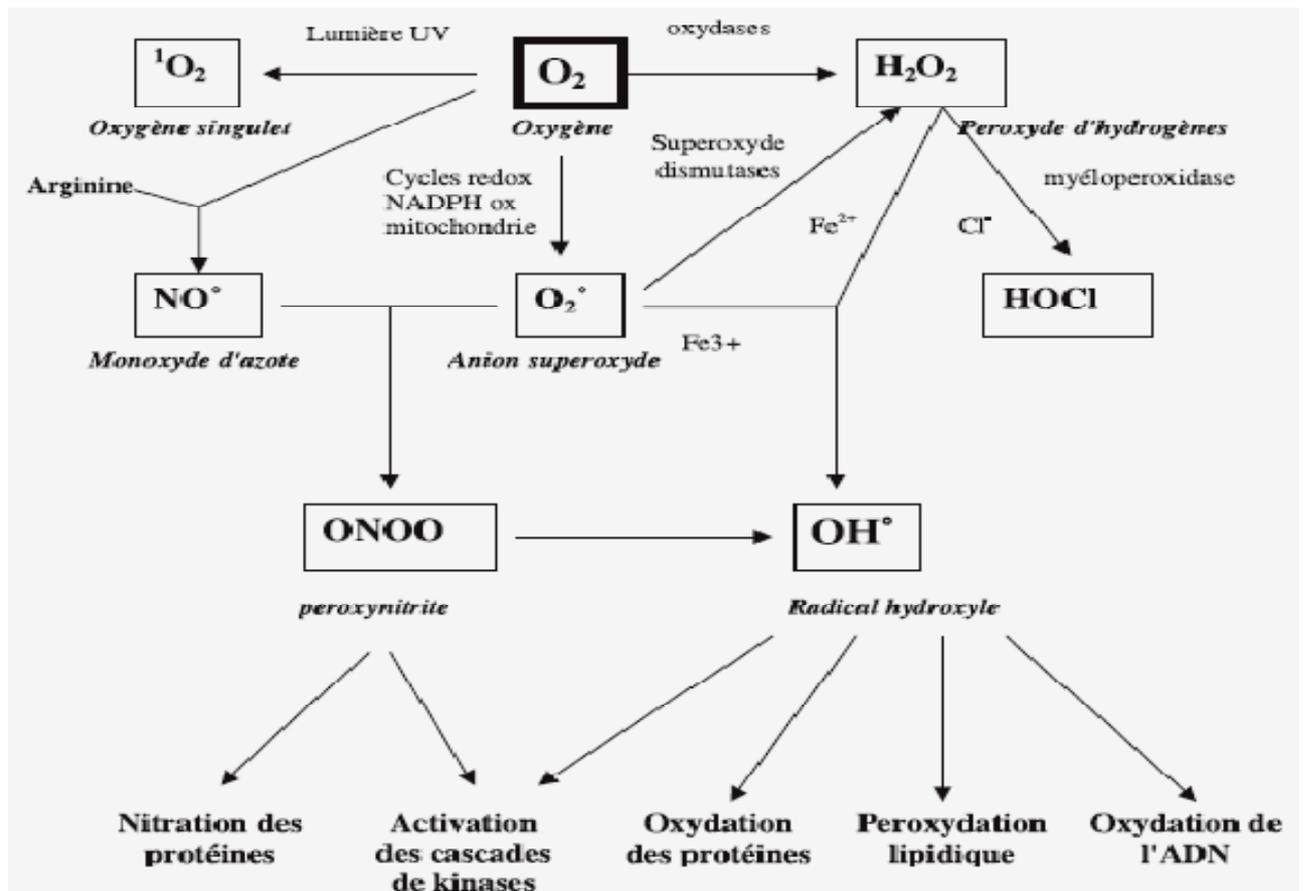


Figure 17 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène Impliquées en biologie (Favier, 2003).

### III.3. Différents type des ERO

(Le symbole • indique la présence d'un électron célibataire.)

- **L'anion -radical superoxyde ( $O_2^{\bullet}$ )** est issu de la réaction de l'oxygène avec un électron, souvent au niveau de la chaîne de transport d'électrons de la membrane mitochondriale ou au cours de la lutte des leucocytes contre les bactéries et les virus. Il semble être impliqué dans la protéolyse non enzymatique du collagène.
- **Le peroxyde d'Hydrogène ( $H_2O_2$ )**, provient d'une réaction entre deux anions superoxyde qui met fin au processus radicalaire. IL s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant.
- **Le radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ )**, est le produit de la réaction du peroxyde d'Hydrogène avec les ions métalliques comme par exemple le fer. Avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus instable et le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène.

- **L'oxyde nitrique (NO•)**, produit par la NO synthétase, est un vasodilatateur physiologique et joue aussi un rôle de messager interneuronal. Il peut avoir un rôle néfaste.
- **L'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>)** est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Il est à l'origine du vieillissement cutané, de la cataracte, de la dégénérescence musculaire liée à l'âge et de certains cancers de la peau.
- **L'anion hypochlorite (ClO<sup>-</sup>)** est produit à partir du peroxyde d'hydrogène par la myéloperoxydase (MPO). Il n'est présent que lors d'infections.
- **Le peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>)** est issu de la réaction entre (O<sup>•</sup>2) et (NO•) très néfaste pour les protéines et les gènes, il est impliqué dans l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde (**Potterat, 1997 ; Dacosta, 2003, Hennebelle, 2006**).

### III.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (**Vansant, 2004**).

Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**).

#### II.4.1. Les antioxydants primaires :

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense (**Figure 18**) est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**Lehucher-Michel, 2001**).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :

De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

### III.4.2. Les antioxydants secondaires :

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**).

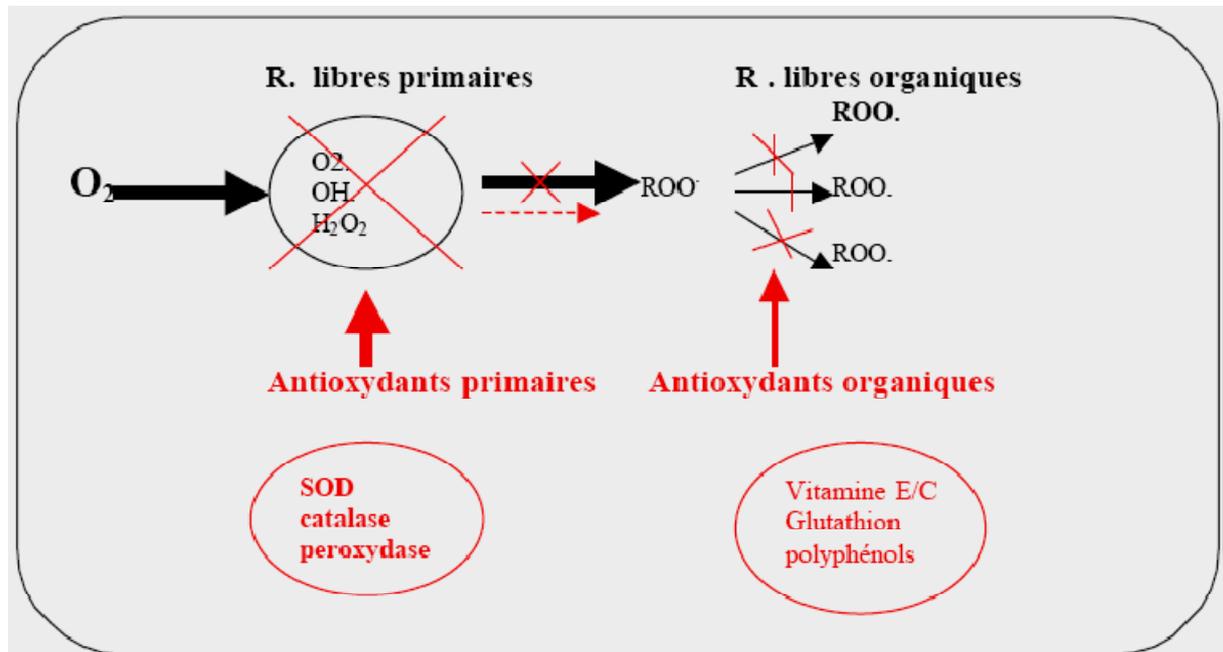


Figure 18 : les systèmes de défense contre les radicaux libres

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Kohen et Nyska, 2002**).

### III.5. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (**Favier, 2003**).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre

production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**Sohal, 2002**).

Le stress oxydant est responsable du dommage cellulaire lié au vieillissement, aux maladies cardio-vasculaires, au cancer et à la plupart des maladies dégénératives. Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols.) (**Kohen et Nyska, 2002**).

En l'absence d'agression extérieure particulière d'origine chimique ou radiative, les ERO sont produites physiologiquement à cause d'imperfection au niveau de la gestion de l'oxygène dans des processus comme la respiration mitochondrial., la phagocytose (au cours de laquelle survient une « flambée respiratoire ou choc respiratoire»), qui entraîne la production d'anion superoxyde, peroxyde et hypochlorite, toxique pour les agents infectieux mais aussi pour les cellules humaines (**Catalano et al, 2005**). L'activité de certaines enzymes cytoplasmique comme par exemple la xanthine oxydase conduit également à la formation des ERO (**Fridovich, 1970 ; Hennebelle, 2006**).



Les ERO sont également générées sous l'effet de stress environnementaux comme la pollution, l'exposition prolongée au soleil, l'absorption d'alcool ou de médicaments, l'effort intense et prolongé, ainsi que le tabagisme (une bouffée de cigarette contient environ 1014 radicaux) (**Panda et al, 1999 ; Pincemail et al, 2002 ; Fiorucci, 2006**). Dans les circonstances normales, cette surproduction est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense donc la balance antioxydant/pro-oxydant est en équilibre.

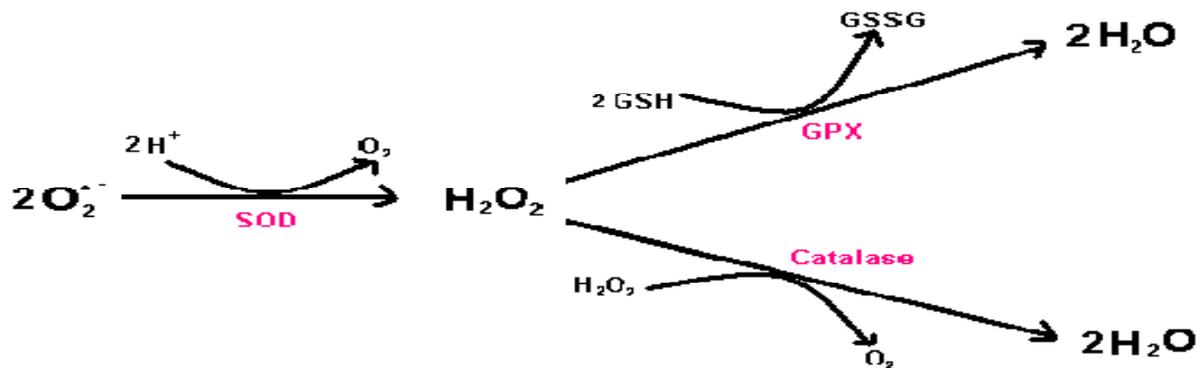
### **III.6. Mécanismes physiologiques de l'inactivation des ERO**

#### **III.6.1. Système de défense primaire**

- Les métaux susceptibles de catalyser la formation du radical hydroxyle (fer, cuivre) sont physiologiquement séquestrés et transportés grâce à des protéines comme la transferrine et l'albumine qui agissent en tant d'antioxydants primaires (**Pastre et Priymenko, 2007**).
- Certaines enzymes ont également un rôle de détoxification des ERO. Le superoxydedismutase (SOD) convertit le radical anion-superoxyde en peroxyde d'hydrogène, moins toxique. Ce dernier est secondairement soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase, soit transformé en eau lors d'une réaction couplée à

l'oxydation du glutathion(GSH), catalysée par la glutathion peroxydase(GPX). Le glutathion oxydé est atoxique et peut en outre, être réduit par la glutathion réductase, qui a pour coenzyme le NADPH (nicotineamideadenosinedinucleotide phosphate sous sa forme réduite) (Lehucher et al,2001 ; Hennebelle, 2006) (Figure 19).

Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification active peut être résumé dans le schéma suivant :



**Figure 19 : Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (Hennebelle, 2006).**

Les différents isoformes de SOD contiennent soit du manganèse (SOD mitochondriale), soit du cuivre et du zinc (SOD cytosolique), tandis que la GPX contient du sélénium. Ce n'est donc qu'indirectement que ces métaux possèdent une activité antioxydante (le cuivre est pro-oxydant sous forme libre) (Cuvelin et Berset, 1992 ; Surveswaran et al, 2007).

Un groupe d'antioxydant constitué de plusieurs composés de faible poids moléculaire sont capables de réagir directement ou indirectement avec les ERO. Le mécanisme indirect implique la chélation des métaux de transition pour empêcher la production du radical hydroxyle. Les antioxydants à action direct sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêchant ainsi d'attaquer les structures biologiques (Kohen et Nyska, 2002, Hennebelle, 2006). Ces molécules proviennent soit de sources endogène (glutathion), soit exogènes apportés par l'alimentation (tocophérols, caroténoïdes, flavonoïdes etc....) (Dacosta, 2003 ; Kohen et Nyska, 2002).

### **III.6.2. Système de défense secondaire**

C'est un système de protection contre les conséquences de l'oxydation des biomolécules, comme la dégradation des protéines dénaturées par le proteasome, l'intervention de ligase et endonucléases au niveau de l'ADN et, dernier rempart contre la cancérisation de la cellule, l'apoptose (**Catalano et al, 2005 ; Hennebelle, 2006**).

---

**Chapitre IV**  
**Etat de connaissance**  
**du Giroflée des dunes**

---

## **IV. Etat de connaissance du la giroflée des dunes**

### **IV.1. Définition**

**La Giroflée des dunes** (*Matthiola sinuata* (L.) R.Br.) fait partie de **la famille des Brassicacées** (*Brassicaceae*). Son autre nom commun est la Matthiole à feuilles sinuées. **(Web master 1)**

### **IV.2. Généralités sur la famille des brassicacées**

Les Crucifères constituent une famille homogène appelée maintenant les Brassicacées du nom latin Brassica, le chou.

Ce sont des herbes à feuilles isolées, presque toujours simples, leurs fleurs, régulières, en grappes, sont hermaphrodites, avec un calice qui comprend 4 sépales deux d'entre eux peuvent être renflés à la base, ils peuvent alors recevoir le nectar de deux glandes situées près de la base des étamines. La corolle est à 4 pétales non soudés (libres) qui alternent avec les sépales. On trouve dedans 6 étamines (organes mâles de la fleur) 2 petites et 4 grandes (parfois 4 seulement) et le pistil (organe femelle) qui comporte deux carpelles soudés. Il renferme des ovules fixés sur les placentas pariétaux (sur les côtés).

Le style est simple et se prolonge par le stigmate. La pollinisation est l'œuvre des insectes (le nectar les attire) ou bien il y a autofécondation.

Le fruit est une silique (fruit sec) allongée ou courte (on l'appelle alors silicule) selon les espèces. **(Web master 2)**

### **IV.3. Morphologie :**

La hauteur de cette plante psammophyte buissonnante laineuse bisannuelle varie de 20 à 60 cm. La densité de ses feuilles à la base est importante. Ces feuilles possèdent une surface recouverte de poils glanduleux. Elles sont plus ou moins dentées. La tige est épaisse. Les feuilles supérieures sont lancéolées à linéaires. La fleur a une couleur pourpre. Elle peut parfois être blanche. La silique a un aspect tomenteux. Elle est dressée et mesure parfois jusqu'à 10 cm!(*Schonfelder et al, 2014*)



**Figure 20 : *Matthiola sinuata* (L.) R.Br. à la Faute-sur-Mer en 2013.**

**Source (Web master 2)**

Cette plante est à la fois bisannuelle et vivace, elle se présente sous deux formes assez différentes : lors des premiers cycles de sa croissance, c'est une petite touffe de feuilles gris – bleues .le dessin des feuilles en forme de lances arrondies possédant un ergot est caractéristique .A un stade plus évolué, la plante est dressée, sur des tiges charnues, cylindriques et vert jaunes, ses petites fleurs violettes sont odorantes et se regroupent sous forme de grappes. (*Fournier, 1961*)



**Figure 21 : Fleurs et fruits.**

**Source (Web master 2)**

#### IV.4. Ecologie :

Il pousse sur la dune mobile voire aussi sur l'arrière-dune immédiate.

#### Phytosociologie :

Les communautés qui ont un aspect similaire, qui vivent dans des habitats similaires et, surtout, qui ont un noyau d'espèces végétales caractéristiques sont :

- *Ammophiletalia australis* 25.0.1 Communautés des avants-dunes et dunes meubles à semi-fixées, essentiellement méditerranéennes avec irradiation prépondérante et hyper-atlantique.
- *Koelerion albescentis* 36.0.2.0.1 Communautés atlantiques à nord-atlantiques des arrières-dunes à tapis bryo-lichénique important. (Fournier.1961)

#### IV.5. Classification

Tableau 3 : Classification de la Giroflée des dunes

Classification	
Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Brassicales</i>
Famille	<i>Brassicaceae</i>
Genre	<i>Matthiola</i>
Espèce	<i>Matthiola Sinuta</i>

#### IV.6. l'optimum écologique :

L'optimum écologique exprime la valeur d'un facteur écologique limitant pour laquelle l'activité biologique est optimale (**Web master 3**).

L'optimum écologique de notre espèce se résume dans la figure ci contre :

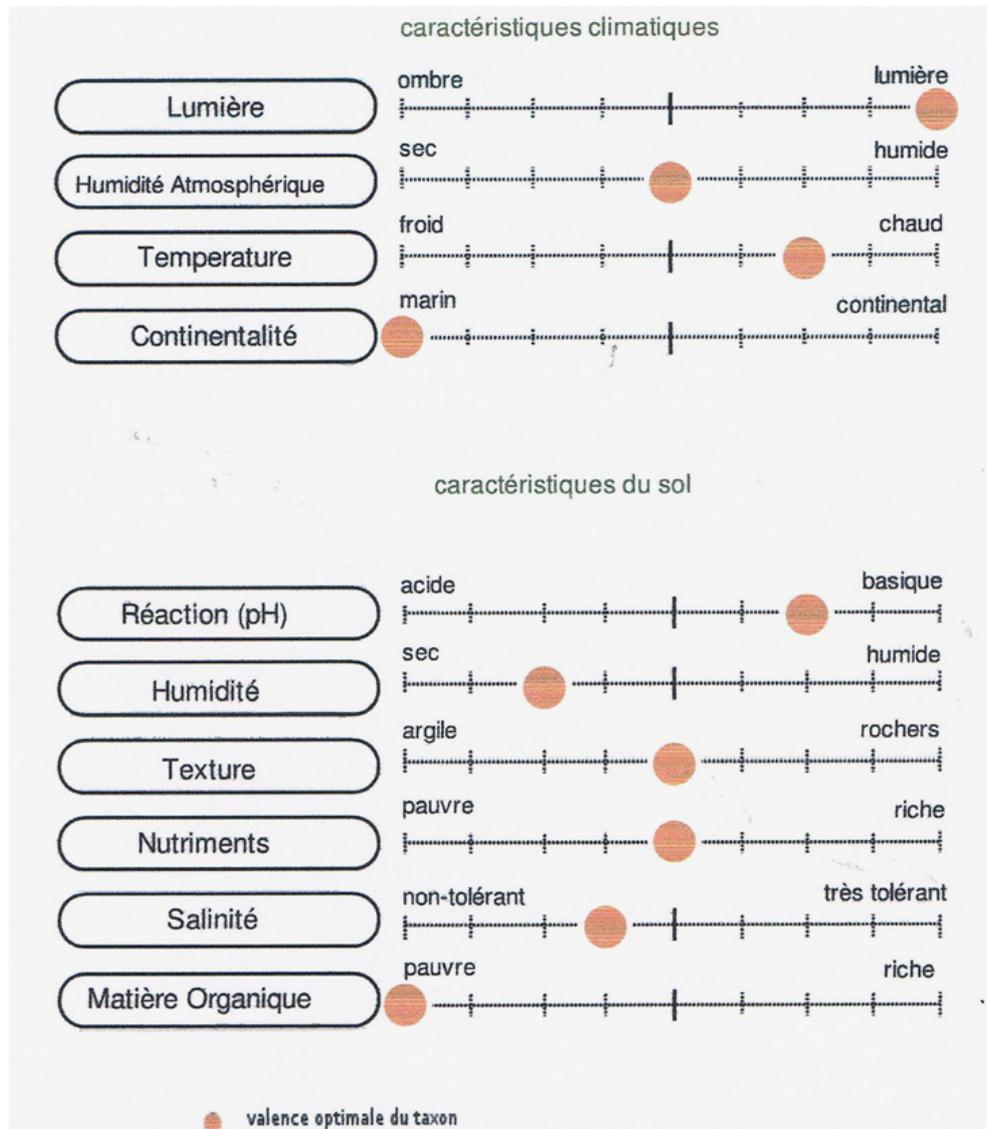


Figure 22 : Schéma des optimums écologiques de l'espèce. (Julve, 2015)

(Web master 4)

##### 1. Les caractéristiques climatiques :

Par rapport au climat, les facteurs climatiques sont des facteurs écologiques liés aux circonstances atmosphériques et météorologiques.

La giroflée des dunes est une espèce psammophyte qui pousse sur les sables des cotes méditerranéennes et atlantique

On prend en particulier la région méditerranéenne, Les cotes méditerranéennes à un climat tempéré ou « tempéré chaud » qui se caractérise par des étés chauds et secs et des hivers

doux et humides, le climat méditerranéen qui borde cette cote bénéficiant d'un ensoleillement annuel très important, la lumière est une source d'énergie qui répond aux besoins de chaque plante et favorise la photosynthèse qui est le seul moyen de créer de la matière organique à partir d'éléments minéraux en fabriquant par la suite tous les tissus qui la constituent, suivant la figure le taux de lumière limitant pour lequel l'activité soit optimale est très important : le plein soleil (c'est au moins 6 heures de soleil direct par jour, de préférence entre 10h et 16 heures)

Passant à l'humidité atmosphérique qui présente le taux de vapeur d'eau dans l'air, on constate d'après la figure que la giroflée des dunes s'adapte aux régions dont l'humidité de l'air est presque moyenne, elle tolère les températures élevées mais elle ne supporte pas le froid notamment la gelée comme la plus part des plantes, la giroflée a des feuilles soyeuses et charnues qui témoignent de son adaptation à la sécheresse, la pilosité de sa feuille la protège aussi du vent et de l'évaporation.

Suivant l'échelle et ce qui concerne la continentalité, comme on a cité avant, notre giroflée prospère dans les écosystèmes littoraux marins.

## **2. Les caractéristiques édaphiques :**

Le sol, milieu meuble et poreux, est le support naturel de la plante, permet son alimentation en eau et en sel minéraux.

Issu de l'évolution des roches, le sol est un système complexe formé de très nombreux composants minéraux et organiques soumis à des phénomènes physiques, chimiques et biologiques en constante interaction. (**Web master 5**)

La giroflée des dunes et comme les autres psammophiles, effectue son cycle dans un substrat sablonneux (le cas des écosystèmes dunaires côtiers), elle peuple les dunes blanches qui se trouvent à l'arrière des avant-dunes. Ce sont des monticules de sable d'une certaine hauteur, exposés au vent, la giroflée tend à fixer le sable grâce à des rhizomes très puissants. Le sol sableux possède un fort pourcentage en élément grossiers (de 86 à 100 % de sable, de 0 à 14% de limon et de 0 à 15 % argile), il est léger avec un pH situé entre 5.5 et 6.5. (La plupart des plantes vivaces poussent bien lorsque le pH du sol est situé entre 5.5 et 6.5), sec en surface, à très forte perméabilité, pauvre en élément nutritifs et en humus, à faible capacité de rétentions d'eau et d'échange d'ion et très sensible à l'érosion hydriques et éoliennes, dans les dunes la salinité due aux embruns, la giroflée est tolérante au stress salin comme celles des espèces halophiles, La mobilité des dunes blanches, leur très grande pauvreté en matière organique, leur forte teneur en carbonate de calcium et la perméabilité du sable en font un milieu écologiquement sec. C'est pourquoi on y rencontre à la fois des plantes psammophiles, xérophiles, et quelques halophiles.

---

# Partie expérimentale

---

---

# **Chapitre V**

## **Matériels et méthodes**

---

## V. Matériels et Méthodes

### V.1. Objectif du travail

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de quelques paramètres expérimentaux, à savoir, la nature du solvant organique et sa concentration, la température et le temps d'extraction, sur la teneur des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) contenus dans notre espèce qui est la giroflée des dunes – *Matthiola Sinuata* – récoltée dans la zone littorale de Marsat El Hadjadj (Wilaya d'Oran), ainsi que leur pouvoir antioxydant.

Nous rappelons que l'intérêt de cette recherche consiste à établir les conditions optimales d'expérimentation pour avoir le meilleur rendement en composés phénoliques et par conséquent leur pouvoir antioxydant, au niveau de cette plante. Pour cela, nous commençons par exposer les caractéristiques de la station de prélèvements de notre échantillon et qui représente notre zone d'étude

### V.2. Présentation de la zone d'étude

La station de la récolte se situe à Marsat El Hadjadj, elle est comprise entre la longitude 35°47'56''N et la latitude 0°9'46''O.

Marsat El Hadjadj ou Mers El Hadjadj, anciennement Port aux poules, est une commune algérienne de la wilaya d'Oran

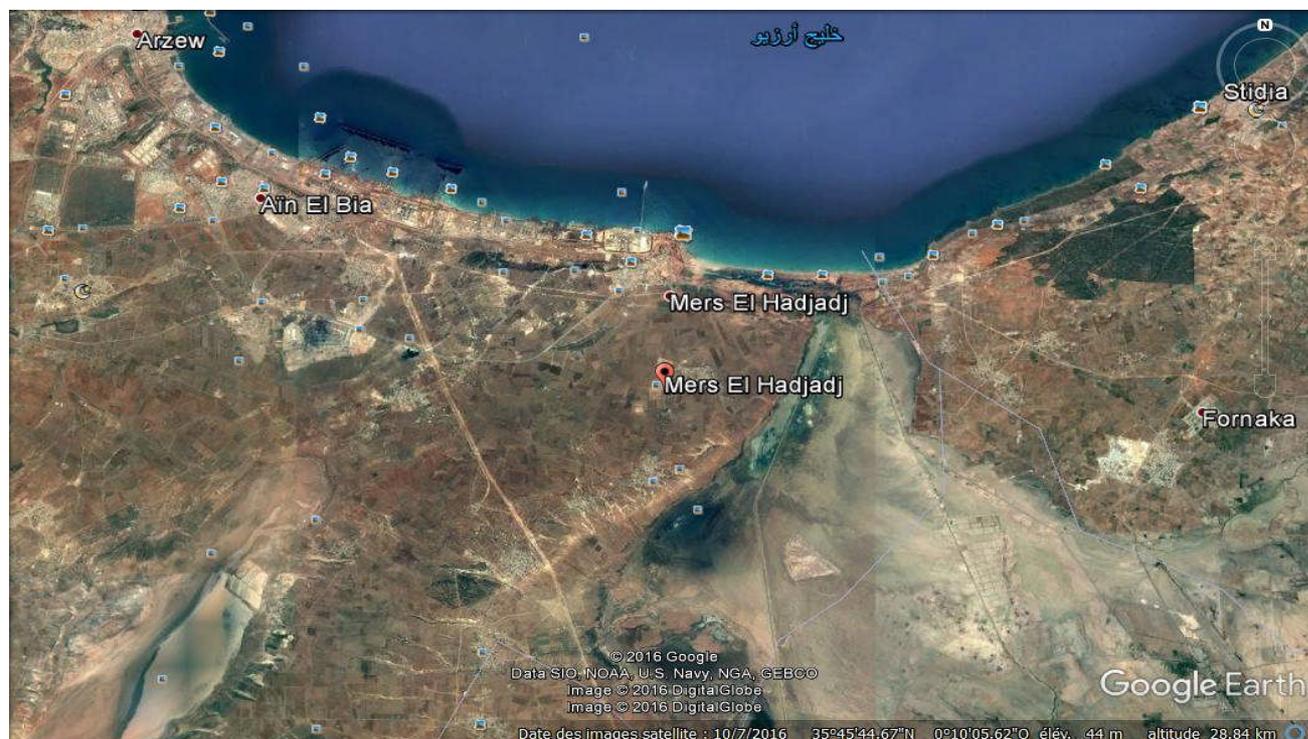


Figure 23: photo aérienne de la zone d'étude

Source (Google Earth , 2016)

### **V.2.1. Géographie**

Marsat El Hadjadj est située à l'extrême est de la wilaya d'Oran, entre les villes de Bethioua à l'est et de Fornaka (wilaya de Mostaganem).

La zone des dunes littorales est limitée : au Nord par la mer; à l'Est par la falaise et la colline du marabout de Sidi Mansour ; au Sud par la route National d'Oran à Mostaganem jusqu'au pont de la Macta, puis par la rivière *La Macta*; à l'Ouest par l'embouchure de cette rivière » (**Simonneau et Santa, 1951**).

Cette embouchure a depuis été colmatée et une nouvelle jonction avec la mer a été aménagée au travers du cordon dunaire près du pont de *La Macta*.

### **V.2.2. Le couvert végétal**

La superficie de cette zone est d'environ 180 ha. La végétation est caractérisée essentiellement par l'importance des peuplements de Genévriers oxycèdres sur les dunes littorales et par l'extrême variété de la flore sur la rive droite de la rivière *La Macta*. Les espèces halophiles et héliophiles y croissent avec les espèces littorales » (**Simonneau et Santa, 1951**), l'horizon forestier est fortement dégradé à l'Est de ces dunes.

### **V.3. Matériel végétal**

#### **V.3.1. la récolte du matériel végétal**

La plante – giroflée des dunes (*Matthiola Sinuata*)- a été récoltée de la zone de Marsat El Hadjadj – Wilaya d'Oran.

#### **V.3.2. la conservation de la plante**

Elle a été conservée pendant 1 mois dans un endroit obscur à l'abri de l'humidité et la chaleur.

#### **V.3.3. la partie utilisée : les feuilles et les fleurs**

### **V.4. Méthode d'extraction**

#### **L'extraction :**

L'extraction solide-liquide est une opération de transfert de matière entre une phase solide (qui contient la matière à extraire), et une phase liquide (solvant d'extraction) (**Herzi, 2013**).

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques Contenant dans les parties aériennes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

Nous rappelons que cette étude consiste à mettre en évidence une optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à doser au sein de la plante étudiée.

Pour cela, quatre paramètres sont choisis dans le processus d'extraction, et qui sont fixés selon la conception expérimentale ci-dessous :

- Solvant organique choisi pour l'extraction : le méthanol.
- Concentration du solvant organique : cinq concentrations sont préparées dans de l'eau distillée (50 %, 60 %, 70 %, 80 % et 90%).
- Température d'extraction : quatre températures sont utilisées (30, 40, 50 et 60 °C).
- Temps d'extraction : quatre différents temps sont choisis (2h, 4h, 6h et 8h).

Pour l'extraction des composés phénoliques une quantité de 7,5 grammes de la poudre (plante broyée après séchage) sont introduits dans des flacons à raison de 1,5 gramme mélangé avec 30 ml de solvant organique (méthanol) pour chaque concentration. Ensuite, les mélanges sont mis dans une étuve dans les conditions d'extraction qui sont fixées ci-dessus, (relatives aux facteurs temps et température).



**Figure 24 : Les différents facteurs d'extraction (Température, durée, concentration du solvant)**

**Clichet (Zergui . 2016)**

Après extraction les extraits sont filtrés à l'aide d'un papier watt man dans des tubes à essai codés, scellés avec du para film et conservés à la température ambiante, à l'abri de la lumière pour éviter l'évaporation du solvant (Satyajit et al ,2006).



**Figure 25: Les extraits obtenus après la filtration. Clichet (Zergui .2016)**



**Figure 26 : les tubes étiquetés, codés et scellés avec du para film. Clichet (Zergui .2016)**

Un autre extrait est préparé pour le teste d'activité antioxydante , 1.5 gramme de poudre végétale a été mis dans un flacon avec 30 ml de solvant. Après 24h, la solution est filtrée à l'aide d'un papier watt man, scellé avec du para film et conservée dans une température ambiante pour éviter l'exposition à la lumière et l'évaporation du solvant (Satyajit *et al* , 2006).

#### **V.5. Méthode de dosage des composés phénoliques**

La technique utilisée pour le dosage des composés phénoliques est la Spectrométrie d'absorption moléculaire de l'ultraviolet et du visible, cette dernière repose sur l'absorption des radiations lumineuses par la matière dans la plage spectrale s'étendant du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 180 et 1100 nm. Cette partie du spectre est désignée par l'UV/Visible, parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'oeil humain. D'une manière générale elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a, en revanche, beaucoup d'applications en analyse quantitative. Les calculs de concentration qui découlent de la loi de Beer Lambert ont donné naissance à la méthode connue sous le terme général de colorimétrie. Celle-ci s'applique non seulement aux composés qui possèdent un spectre d'absorption dans le visible mais aussi à tous ceux qui conduisent au moyen d'un réactif spécifique à un dérivé permettant une mesure d'absorbance (Rouessac, 2004). Les mesures d'absorption peuvent se faire avec tout un choix d'appareils qui vont des comparateurs de

couleurs et autres colorimètres visuels simples, aux spectrophotomètres automatiques adaptés à l'analyse multi composants comme le montre la (figure 27).



**Figure 27: Spectrophotomètre utilisé pour le dosage des composés phénoliques**  
(Snnous K , 2015)

### V.5.1. Dosage des phénols totaux

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi.

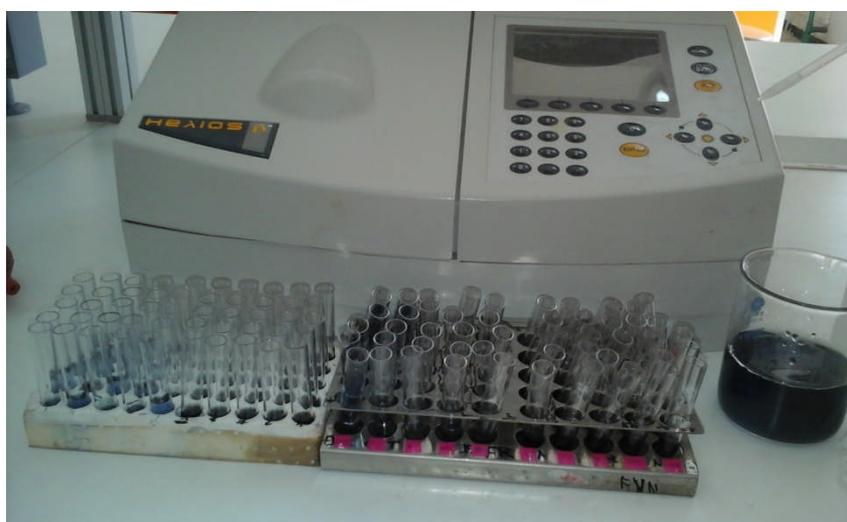
Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (**H3PW12O40**) et d'acide phosphomolybdique (**H3PMo12O40**). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribereau, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. (**Boizot et Charpentier, 2006**).



**Figure 28 : le dosage des extraits (Zergui . 2016)**

### Mise en œuvre pratique

Un volume de 200  $\mu$ l de l'extrait brut méthanolique est introduit dans des tubes à essai, le mélange (1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5%) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.



**Figure 29 : la lecture des absorbances des différentes concentrations d'extraction (Zergui . 2016)**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g) (Singleton et Rossi, 1965).

### **V.5.2. Dosage des flavonoïdes**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (Zhishen et al., 1999) avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm.

#### **Mise en œuvre pratique**

500 µl de l'extrait brut méthanolique des feuilles convenablement dilué sont mélangés avec 1500 µl d'eau distillée, suivis de 150 µl de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5%. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

### **V.5.3. Dosage des tanins condensée**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 550 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère. Les quantités des tannins sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par Julkunen-Titto (1985).

#### **Mise en œuvre pratique**

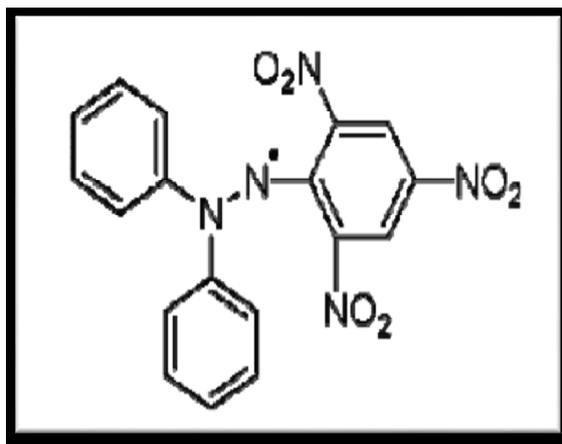
Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g) (Price et al., 1978).

## V.6. Détermination de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl)

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) (**figure 30**) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit en changeant de couleur et en virant vers le jaune (**figure 31**). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon.

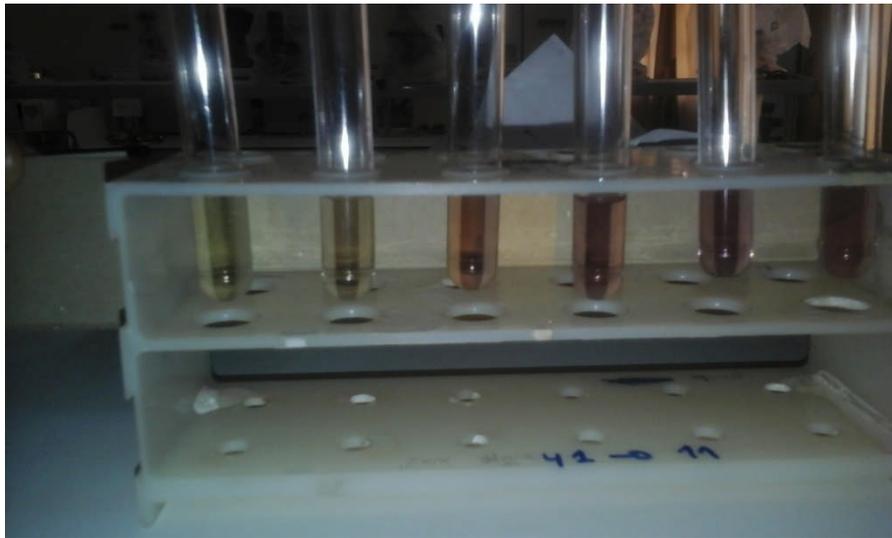


**Figure 30: Structure chimique du radical libre DPPH (Popovici et al., 2009)**

### Mise en œuvre pratique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de l'extrait de notre espèce sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou et al, (2013). On prépare pour chaque extrait six concentrations, en diminuant cette dernière chaque fois par la moitié, et par la même procédure on prépare le témoin (acide ascorbique). Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée.

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,950 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre



**Figure 31: le changement de couleur du DPPH lors de la réaction avec l'extrait (Zergui ,2016)**

#### **Calcul des pourcentages d'inhibitions :**

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I \% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

**Ac:** absorbance du contrôle

**At:** absorbance du test effectué

#### **Calcul des IC50 :**

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement en utilisant les graphes tracés des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

#### **V.7. Analyse statistique**

Les données rassemblées de l'extraction expérimentale sont analysées en utilisant le logiciel (IBM SPSS. Statistics. 23. 2015). Le modèle produit est examiné en utilisant l'analyse de la variance multivariée avec trois facteurs, suivi si significative par un test à postériori de Tukey. Les différences sont considérées comme significatives si  $p < 0,05$ , hautement significatif si  $p < 0,01$  ou fortement significatif si  $p < 0,001$ .

Cette méthode nous a incité à réaliser la méthode de surface de réponse (RSM) qui n'est qu'une partie du plan d'expérience selon le logiciel minitab V7, pour établir enfin les conditions optimales d'extraction.

---

# **Chapitre VI**

## **Résultats et Discussions**

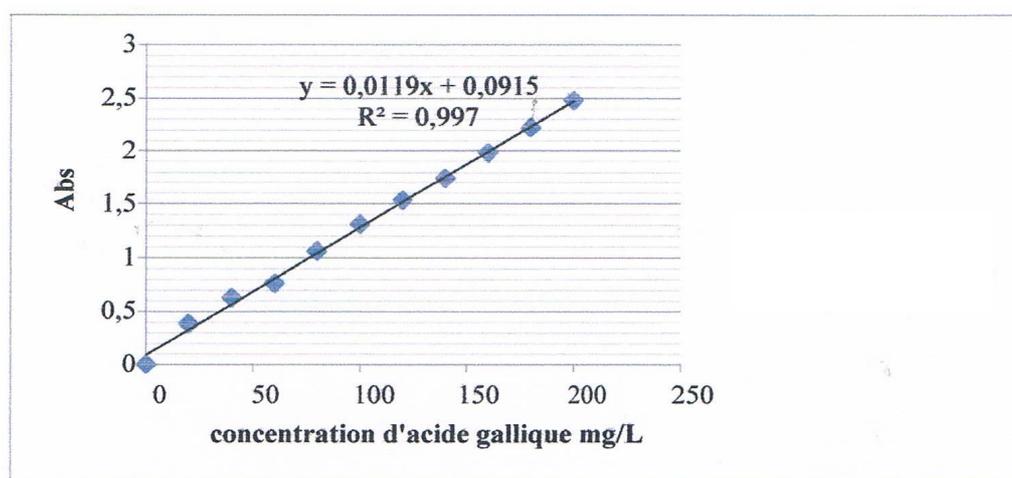
---

## VI. Résultats et discussion

### VI.1. Résultats des dosages des composés phénoliques

#### VI.1.1. Les phénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg Équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (**mg EAG/g**), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 32**).



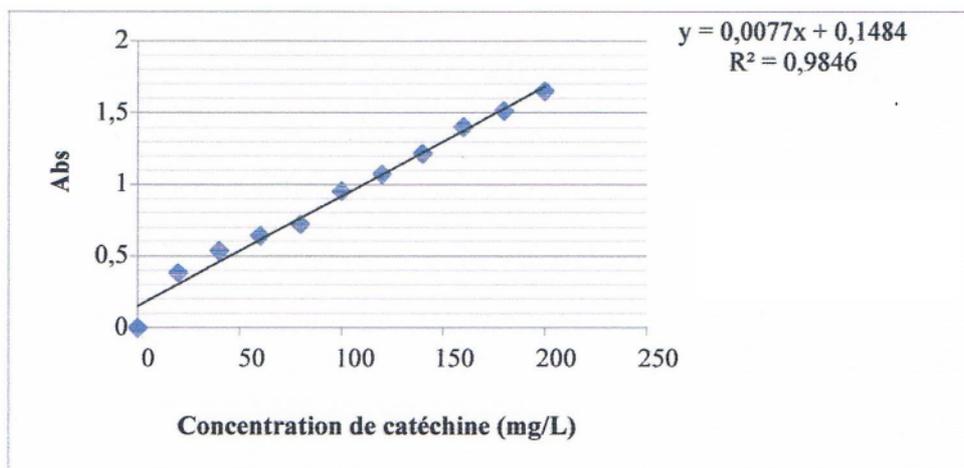
**Figure 32** : Courbe d'étalonnage des phénols totaux

Les résultats du dosage des PT obtenus selon les conditions d'expérimentation variées sont illustrés dans la **figure 35**.

On a fait ressortir la concentration la moins remarquable et qui est de (2.748 mg EAG/g) obtenue dans les conditions expérimentales de (30°C, 4h, 80%) alors qu'un maximum de (6,866 mg EAG/g) est signalé par les extraits sont aux conditions de (50°C, 6h, 50%).

### VI.1.2. Les flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire(**Figure 33**)réalisée par une solution étalon de catéchine à différentes concentrations, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits qui est exprimé en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche(**mg EC/g**).



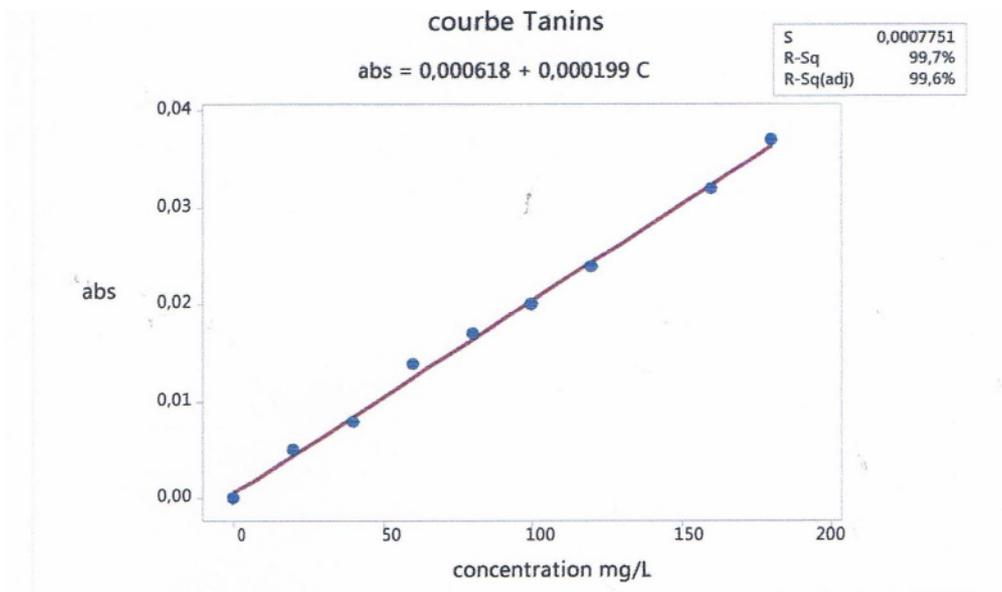
**Figure 33** : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

De la même manière que pour les phénols totaux ,les résultats du dosage des flavonoïdes illustrés dans la figure 36 indiquent une variation des concentrations en fonction des trois facteurs d'expérimentation (température, durée, concentration) en effet, la concentration des flavonoïdes la plus faible est de (6,337 mg EC/g) obtenue dans les conditions d'extraction de (60°C, 4h, 90%).

En revanche, les valeurs expérimentales (40°C, 4h, 70%) permettent d'avoir la teneur la plus importante des flavonoïdes (2.452 mg EC/g)

### VI.1.3. Les tanins condensés

La teneur des tanins condensés a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes de catéchine (**Figure 34**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (**mg EC/g**).

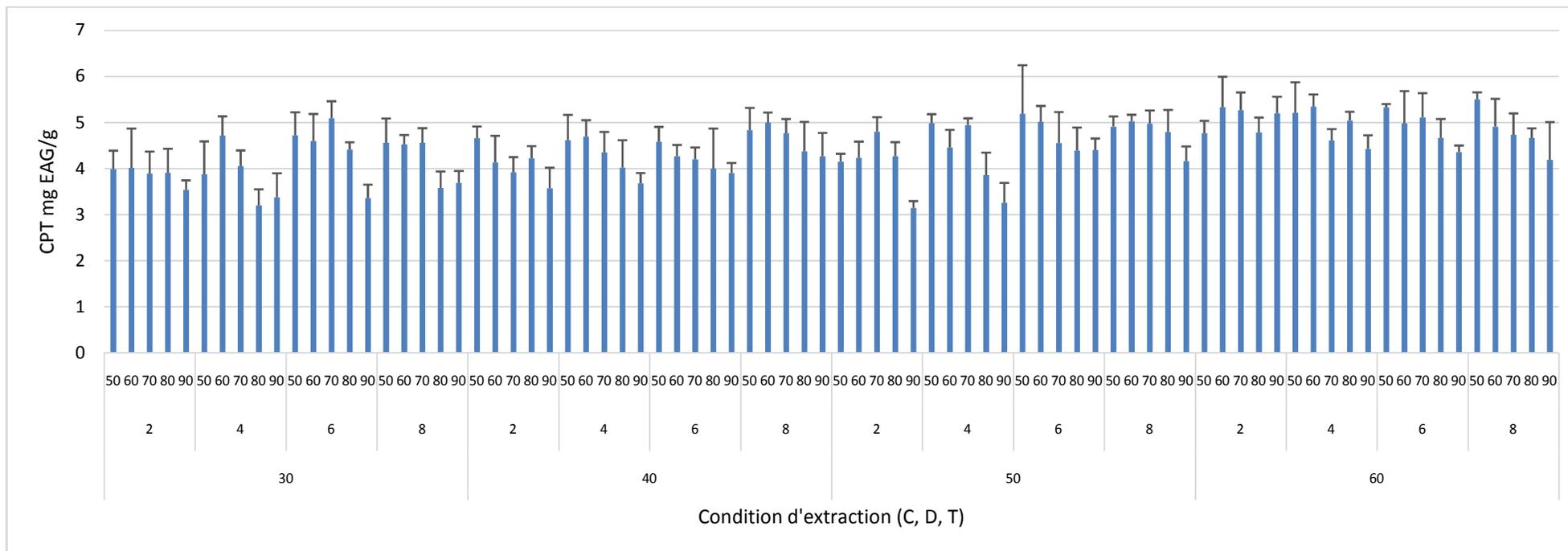


**Figure 34** : Courbe d'étalonnage des tanins condensés

Les résultats du dosage des tanins qui représentent la troisième fraction de l'extrait brut phénolique et qui sont eux aussi soumis aux mêmes conditions d'expérimentation variées sont illustrés dans la **figure 37**

Une fluctuation des concentrations des tanins est notée à chaque fois qu'on varie un paramètre avec une valeur minimale de (0,842 mg EC/g) enregistrée dans les conditions de (50°C, 4h, 80%) et une maximale de (33,506 mgEC/g) à (30°C, 2h, 80%)

## Graphes



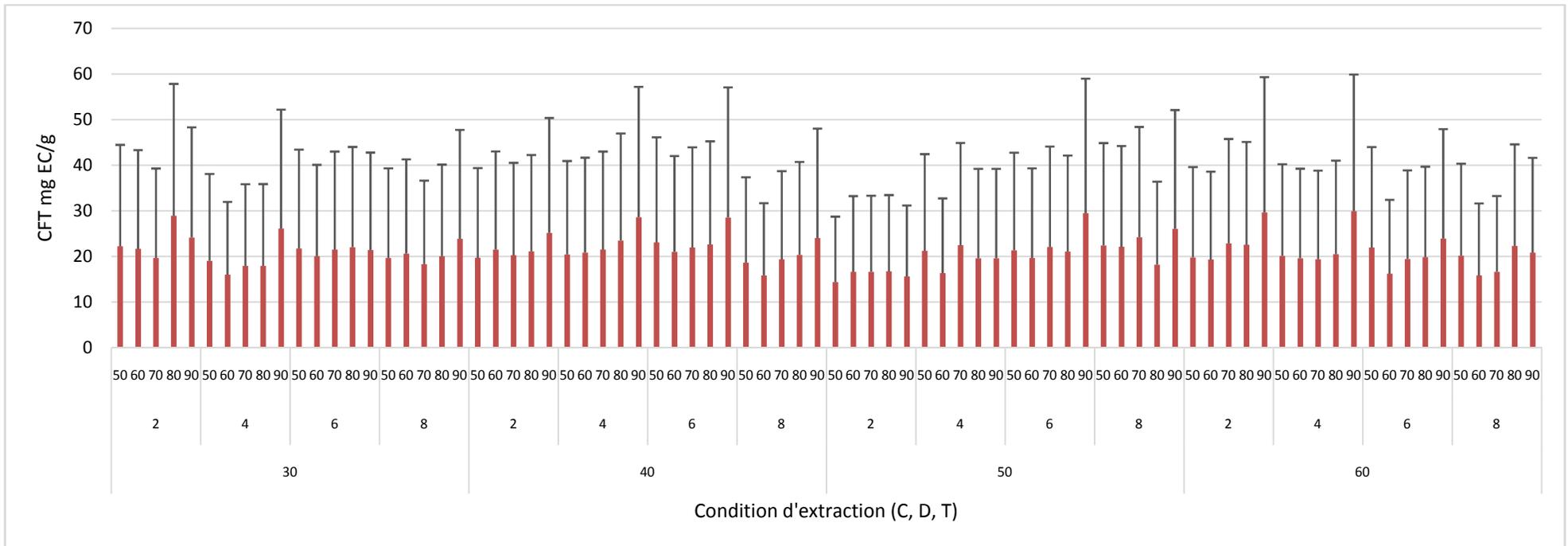
**Figure 35 :Représentation de la variation des concentrations des phénols totaux selon les conditions d'extraction choisies**

**CPT** : Concentration des phénols totaux (mg EAG/g)

[ C ] : La concentration du méthanol (%)

[ D ] : Durée de l'extraction (heure)

[ T ] : Température de l'extraction (°C)



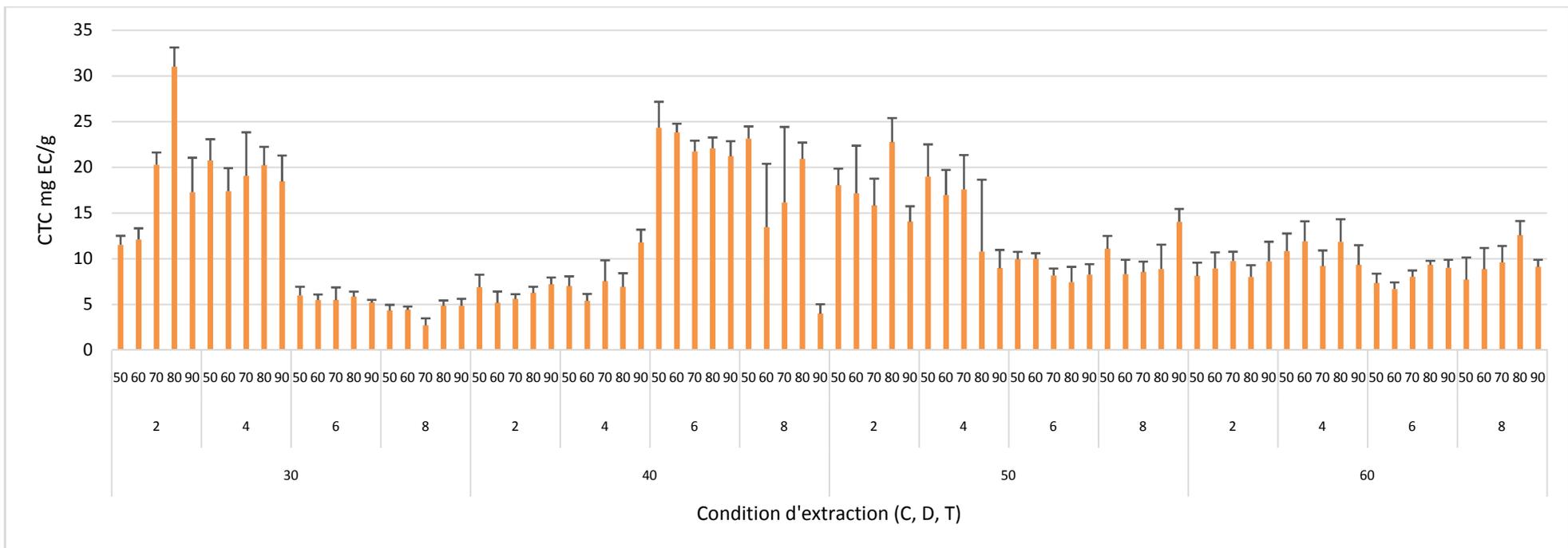
**Figure 36 :Représentation de la variation des concentrations des flavonoïdes selon les conditions d'extraction choisies**

**CFT : Concentration des flavonoïdes (mg EC/g)**

**[ C ] : La concentration du méthanol (%)**

**[ D ] : Durée de l'extraction (heure)**

**[ T ] : Température de l'extraction (°C)**



**Figure 37: Représentation de la variation des concentrations des tanins condensés selon les conditions d'extraction choisies**

**CTC : Concentration des tanins condensés (mg EC/g)**

**[ C ] : La concentration du méthanol (%)**

**[ D ] : Durée de l'extraction (heure)**

**[ T ] : Température de l'extraction (°C)**

## **VI-2 Interprétation statistique des résultats :**

L'analyse multivariée de la variance (MANOVA) appliquée dans cette étude en utilisant le logiciel (IBM SPSS. Statistics. 23. 2015) est une modélisation qui met en évidence l'effet des différents facteurs d'extraction (avec les différents niveaux), sur la variation des trois fractions phénoliques ensemble, ainsi que les interactions éventuelles sur chaque fraction, comme le montre clairement les tableaux (4,5,6,7,8)

### **VI-2-1 Pour les polyphénols :**

Pour valider le test MANOVA, plusieurs données sont impliquées, et donc avec la valeur élevée de la trace de Pillai, la faible valeur du lambda de Wilkes, de la trace de Hotelling et la plus grande racine de Rey, qui sont presque semblables.

Le logiciel SPSS génère un modèle avec des limites fortement significatives des différents facteurs avec ( $p < 0,001$ ) et qui indiquent leurs influence très puissantes sur l'ensemble des composés phénoliques (polyphénols), ainsi que sur les interactions entre les conditions d'extractions (tableau 4)

#### **➤ les phénols totaux**

Nous constatons, d'après le tableau 5 qu'une différence fortement significative est notée entre les températures ( $p < 0,001$ ), les durées d'extraction ( $p < 0,001$ ) et les concentrations du solvant ( $p < 0,001$ ) avec seulement une différence hautement significative ( $p = 0,009$ ) en indiquant que la variation des concentrations des PT est due principalement et en premier lieu au facteur concentration, avec un ECP de 0,417 puis le facteur température avec un ECP de 0,377 et enfin le facteur durée avec un ECP de 0,180.

En parallèle, quand il s'agit d'une interaction des facteurs, nous constatons comme l'indique le tableau 5, que toutes les interactions des facteurs influencent fortement et significativement les concentrations des phénols totaux ( $p < 0,001$ ), avec une plus grande valeur d'ECP (0,191), indiquant la plus forte interaction entre la température et la durée d'extraction (T\*D); l'influence de la température avec la concentration (T\*C) ou encore la durée, avec la concentration du solvant (D\*C) en donnant une valeur d'ECP de 0,101 et 0,078 respectivement.

Pour l'interaction entre les différentes températures le tableau 6 indique une différence fortement significative, affichée entre toutes les températures ( $p < 0,001$ ) avec un intervalle fortement significatif (30°C-60°C) ( $p = 0,002$ ) et deux intervalles non significatifs (30°C, 50°C) et (40°C, 60°C) dont ( $p = 0,081$ ).

Pour les durées d'extractions adaptées dans cette étude, les tests statistiques, nous indiquent qu'une différence hautement significative est observée pour les différentes interactions des valeurs de ce même facteur.

A l'exception des durées entre (6h et 8h) et (2h et 4h) qui marquent des différences non significatives. (Tableau 7).

Pour les intervalles des concentrations du solvant indiquées dans le tableau 15, nous constatons que la plus part des concentrations comparées deux à deux sont hautement significatives avec un  $p < 0.001$ , une différence hautement significative pour les concentrations (70%-80%), ( $p = 0,002$ ), une seulement significative pour les concentrations (50%-70%), ( $p = 0,014$ ), restant deux différences non significatives pour les concentrations (50%-60%) et (60%-70%) dont  $p = 0,551$  et  $p = 0,062$  respectivement .

#### ➤ **les flavonoïdes**

Nous constatons, d'après le tableau 5 qu'une différence hautement significative est notée entre les températures ( $p < 0.001$ ), les durées d'extraction ( $p < 0.001$ ) et les concentrations du solvant ( $p < 0.001$ ) en indiquant que la variation des concentrations des flavonoïdes est due principalement et en premier lieu au facteur concentration même cas pour les phénols totaux , avec un ECP de 0,689 puis le facteur durée avec un ECP de 0,141 et enfin le facteur température avec un ECP de 0,138.

En parallèle , quand il s'agit d'une interaction des facteurs , nous constatons comme l'indique le tableau 5, que toute les interactions des facteurs influencent fortement et significativement les concentrations des phénols totaux ( $p < 0.001$ ) avec une plus grande valeur d'ECP ( 0,637) , indiquant la plus forte interaction entre la température et la durée d'extraction (T\*D) ; l'influence de la température avec la concentration (T\*C) ou encore la durée avec la concentration du solvant (D\*C) en donnant une valeur d'ECP de 0,350 et 0,358 respectivement .

Pour l'interaction entre les différentes températures le tableau 6 indique une différence fortement significative, affichée entre toutes les températures ( $p < 0,001$ ) avec deux intervalles non significatifs (30°C vs 50°C et 60 °C) respectivement avec  $p = 0,212$  et  $p = 0,351$

Pour les durées d'extractions adaptées dans cette étude, les tests statistiques, nous indique deux différences hautement significatives ( $p < 0,001$ ) entre (6h et 4h) et (8h et 6h) une différence fortement significative entre (6h et 2h) , une différence fortement significative dont  $p = 0,006$  entre (8h et 4h) , une différence significative entre (8h et 2h) avec un  $p = 0.043$  , reste une différence non significative noté pour (2h et 4 h) dont  $p = 0,464$  .

Pour les intervalles de concentration du solvant indiquées dans le tableau 8, nous constatons que toutes les concentrations comparées deux à deux sont hautement significatives avec un  $p < 0.001$ .

#### ➤ **Les tanins condensés**

Nous constatons, d'après le tableau 5 qu'une différence hautement significative est notée entre les températures ( $p < 0,001$ ), les durées d'extraction ( $p < 0,001$ ) et les

concentrations du solvant ( $p < 0,001$ ) en indiquant que la variation des concentrations des tanins condensés est due principalement et en premier lieu au facteur durée, avec un ECP de 0,544 puis le facteur température avec un ECP de 0,294 et enfin le facteur concentration avec un ECP de 0,249

En revanche, quand il s'agit d'une interaction des facteurs, nous constatons comme l'indique le tableau 5, que toutes les interactions des facteurs influencent fortement et significativement les concentrations des tanins ( $p < 0,001$ ) avec une plus grande valeur d'ECP (0,910), indiquant la plus forte interaction entre la température et la durée d'extraction (T\*D); l'interaction de la durée avec la concentration (D\*C) ou encore la température avec la concentration du solvant (T\*C) en donnant une valeur d'ECP de 0,547 et 0,411 respectivement.

La comparaison entre les différentes températures le tableau 6 indique une différence hautement significative, affichée entre toutes les températures ( $p < 0,001$ ) avec une différence significative ( $p = 0,013$ ) entre les températures (40°C et 30°C) et entre (40°C et 50°C). Avec ( $p = 0,039$ ).

Pour les durées d'extractions adaptées, l'analyse statistique, nous indique trois différences hautement significatives entre la durée 8h et les autres durées, une différence fortement significative entre (2h et 6 h), une différence significative entre (2h et 4h), à l'exception de la durée (4h et 6h) qui marque une différence non significative dont ( $p = 0,222$ ). Pour les intervalles de concentration du solvant indiqués dans le tableau 8, nous constatons que la plus part des concentrations comparées deux à deux sont hautement significatives avec un  $p < 0,001$  et six différences non significatives pour les concentrations (50%-60%), ( $p = 0,948$ ) pour les concentrations (50%-70%), ( $p = 0,554$ ) pour les concentrations (60%-70%) ( $p = 0,937$ ) pour les concentrations (50%-80%) ( $p = 0,096$ ) pour les concentrations (60%-80%) ( $p = 0,409$ ) pour les concentrations (70%-80%) ( $p = 0,874$ ).

Suite à l'analyse multi variée de la variance (MANOVA), nous avons éliminé les concentrations les plus faibles des composés phénoliques, dont l'objectif d'entamer la méthode de surface de réponse (RSM) qui décèle les conditions optimales permettant d'avoir les concentrations maximales des différentes fractions phénoliques.

**Tableau 4:** Analyse multivariée des effets des trois facteurs sur les différents composés phénoliques

Effet		Valeur	F	ddlh	Eddl	p
Constante	a	0,998	49171,932	3,000	318,000	<0,001
	b	0,002	49171,932	3,000	318,000	<0,001
	c	463,886	49171,932	3,000	318,000	<0,001
	d	463,886	49171,932	3,000	318,000	<0,001
T	a	0,645	29,208	9,000	960,000	<0,001
	b	0,426	36,079	9,000	774,079	<0,001
	c	1,179	41,469	9,000	950,000	<0,001
	d	1,014	108,188	3,000	320,000	<0,001
D	a	0,744	35,208	9,000	960,000	<0,001
	b	0,356	45,474	9,000	774,079	<0,001
	c	1,528	53,750	9,000	950,000	<0,001
	d	1,314	140,148	3,000	320,000	<0,001
C	a	1,000	39,989	12,000	960,000	<0,001
	b	0,189	61,490	12,000	841,640	<0,001
	c	3,300	87,095	12,000	950,000	<0,001
	d	2,973	237,827	4,000	320,000	<0,001
T * D	a	1,632	42,405	27,000	960,000	<0,001
	b	0,029	81,501	27,000	929,366	<0,001
	c	12,397	145,392	27,000	950,000	<0,001
	d	10,547	375,010	9,000	320,000	<0,001
T * C	a	0,849	10,519	36,000	960,000	<0,001
	b	0,341	11,457	36,000	940,294	<0,001
	c	1,400	12,319	36,000	950,000	<0,001
	d	0,853	22,739	12,000	320,000	<0,001
D * C	a	0,970	12,751	36,000	960,000	<0,001
	b	0,265	14,824	36,000	940,294	<0,001
	c	1,929	16,972	36,000	950,000	<0,001
	d	1,368	36,473	12,000	320,000	<0,001
T * D * C	a	1,685	11,391	108,000	960,000	<0,001
	b	0,059	13,827	108,000	953,275	<0,001
	c	5,496	16,116	108,000	950,000	<0,001
	d	3,109	27,640	36,000	320,000	<0,001

<sup>a</sup>: Plan : Constante + T + D + C + T \* D + T \* C + D \* C + T \* D \* C ; **ddlh** :ddl de l'hypothèse ; **Eddl** :Erreur ddl ; **F** : valeur de Fisher ; **p** :Signification ; **a** : Trace de Pillai ; **b** : Lambda de Wilks ; **c** : Trace de Hotelling ; **d** : Plus grande racine de Roy ; **T** : Température ; **D** : Durée ; **C** : Concentration.

**Tableau 5:** Analyse univariée sur les effets des trois facteurs sur les différents composés phénoliques

Source	Polyphénols	SCIII	ddl	CM	F	p	ECP
Modèle corrigé	CPT	134,305	79	1,700	9,600	<0,001***	0,703
	CFT	183,528	79	2,323	30,919	<0,001***	0,884
	CTC	14688,825	79	185,934	67,835	<0,001***	0,944
Constante	CPT	8066,338	1	8066,338	45547,833	<0,001***	0,993
	CFT	7359,001	1	7359,001	97940,434	<0,001***	0,997
	CTC	46773,060	1	46773,060	17064,334	<0,001***	0,982
T	CPT	34,284	3	11,428	64,531	<0,001***	0,377
	CFT	3,836	3	1,279	17,019	<0,001***	0,138
	CTC	364,538	3	121,513	44,332	<0,001***	0,294
D	CPT	12,461	3	4,154	23,455	<0,001***	0,180
	CFT	3,934	3	1,311	17,454	<0,001***	0,141
	CTC	1046,114	3	348,705	127,219	<0,001***	0,544
C	CPT	40,508	4	10,127	57,184	<0,001***	0,417
	CFT	53,211	4	13,303	177,044	<0,001***	0,689
	CTC	290,758	4	72,690	26,520	<0,001***	0,249
T * D	CPT	13,358	9	1,484	8,381	<0,001***	0,191
	CFT	42,172	9	4,686	62,363	<0,001***	0,637
	CTC	8916,783	9	990,754	361,459	<0,001***	0,910
T * C	CPT	6,377	12	0,531	3,000	0,001***	0,101
	CFT	12,933	12	1,078	14,344	<0,001***	0,350
	CTC	613,093	12	51,091	18,640	<0,001***	0,411
D * C	CPT	4,802	12	0,400	2,259	0,009**	0,078
	CFT	13,380	12	1,115	14,840	<0,001***	0,358
	CTC	1059,953	12	88,329	32,225	<0,001***	0,547
T * D * C	CPT	22,515	36	0,625	3,532	<0,001***	0,284
	CFT	54,062	36	1,502	19,986	<0,001***	0,692
	CTC	2397,585	36	66,600	24,298	<0,001***	0,732
Erreur	CPT	56,671	320	0,177	0		
	CFT	24,044	320	0,075			
	CTC	877,115	320	2,741			
Total	CPT	8257,314	400				
	CFT	7566,574	400				
	CTC	62339,000	400				
Total corrigé	CPT	190,976	399				
	CFT	207,572	399				
	CTC	15565,940	399				

<sup>a</sup>.  $R^2 = 0,874$  ( $R^2_{adj} = 0,838$ ) ; <sup>b</sup>.  $R^2 = 0,997$  ( $R^2_{adj} = 0,996$ ) ; <sup>c</sup>.  $R^2 = 0,895$  ( $R^2_{adj} = 0,866$ ) ; **SCIII** : Somme des carrés de type III ; **CM** : Carré moyen ; **p** : Signification ; **ECP** : Éta-carré partiel ; **CPT** : Concentration des phénols totaux ; **CFT** : Concentration des flavonoïdes totaux ; **CTC** : Concentration des tanins condensés ; **T** : Température ; **D** : Durée ; **C** : Concentration.

**Tableau 6:** Comparaison multiple des composés phénoliques selon les températures d'extraction

Polyphénols	(I)	(J)	DM (I-J)	ES	p	IC 95 %	
						BI	BS
CPT	30	50	0,292077	0,0595140	0,081 <sup>Ns</sup>	0,174989	0,409165
	40	30	0,104174	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,012914	0,221262
	40	50	0,187903	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,070815	0,304991
	40	60	0,659333	0,0595140	0,081 <sup>Ns</sup>	0,542245	0,776421
	60	30	0,763507	0,0595140	0,002 <sup>**</sup>	0,646419	0,880595
	60	50	0,471430	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,354342	0,588518
33CFT	30	40	0,211140	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,134873	0,287407
	30	50	0,048530	0,0387653	0,212 <sup>Ns</sup>	0,027737	0,124797
	30	60	0,036243	0,0387653	0,351 <sup>Ns</sup>	0,112510	0,112510
	40	50	0,259670	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,183403	0,335937
	40	40	0,211140	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,287407	0,134873
	40	50	0,259670	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,183403	0,335937
CTC	30	50	1,073331	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	0,612690	1,533971
	30	60	2,575846	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	2,115206	3,036487
	40	30	0,586914	0,2341360	0,013 <sup>*</sup>	0,126273	0,126273
	40	50	0,486417	0,2341360	0,039 <sup>*</sup>	0,025777	0,947057
	40	60	1,988933	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	1,528292	2,449573
	50	60	1,502516	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	1,041875	1,963156

**I** : température comparable ; **J** : température comparée ; **DM** : Différence moyenne (I-J) ; **ES** : Erreur standard ; **p** : Signification ; **IC 95%** : Intervalle de confiance à 95 % ; **BI** : Borne inférieure ; **BS** : Borne supérieure ; \* : significative ; \*\* : hautement significative ; \*\*\* : fortement significative ; **NS** : Non significative.

**Tableau 7** : Comparaison multiple des composés phénoliques selon les durées d'extraction

Polyphénols	(I)	(J)	DM (I-J)	ES	p	IC 95 %	
						BI	BS
CPT	4	2	0,046891	0,0595140	0,431 <sup>Ns</sup>	-0,070197	0,163979
	6	2	0,365238	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,248150	0,482326
	6	4	0,318347	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,201259	0,435436
	8	2	0,384043	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,266955	0,501131
	8	4	0,337152	0,0595140	<0,001 <sup>***</sup>	0,220064	0,454240
	8	6	0,018805	0,0595140	0,752 <sup>Ns</sup>	-0,98283	0,135893
CFT	2	4	0,028445	0,0387653	0,464 <sup>Ns</sup>	-0,104712	0,047822
	6	2	0,193525	0,0387653	0,001 <sup>**</sup>	0,117258	0,269792
	6	4	0,165080	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,088813	0,241347
	8	2	0,078789	0,0387653	0,043 <sup>*</sup>	-0,155056	0,155056
	8	4	0,107234	0,0387653	0,006 <sup>**</sup>	-0,183501	0,183501
	8	6	0,272314	0,0387653	<0,001 <sup>***</sup>	0,196047	0,348581
CTC	2	8	4,120568	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	3,659928	4,581208
	4	2	0,527609	0,2341360	0,025 <sup>*</sup>	0,066969	0,988250
	4	6	0,286448	0,2341360	0,222 <sup>Ns</sup>	-0,174192	0,747089
	4	8	3,592959	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	3,132318	4,053599
	6	2	0,814057	0,2341360	0,001 <sup>**</sup>	0,353417	1,274698
	6	8	3,306511	0,2341360	<0,001 <sup>***</sup>	2,845870	3,767151

**I** : Duréecomparable ; **J** : Duréecomparée ; **DM** : Différence moyenne (I-J) ; **ES** : Erreur standard ; **p** : Signification ; **IC 95%** : Intervalle de confiance à 95 % ; **BI** : Borne inférieure ; **BS** : Borne supérieure ; \* : significative ; \*\* : hautement significative ; \*\*\* : fortement significative ; **NS** : Non significative.

**Tableau 8:** Comparaison multiple des composés phénoliques selon les concentrations d'extraction

Polyphénols	(I)	(J)	DM (I-J)	ES	p	IC 95 %	
						BI	BS
CPT	60	50	0,039700	0,0665387	0,551 <sup>Ns</sup>	0,091209	0,170608
	70	50	0,164079	0,0665387	0,014 <sup>*</sup>	0,033170	0,294987
	70	60	0,124379	0,0665387	0,062 <sup>Ns</sup>	0,006530	0,006530
	80	50	0,371607	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,240689	0,502515
	80	60	0,331907	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,200999	0,462816
	80	70	0,207528	0,0665387	0,002 <sup>**</sup>	0,076620	0,338437
	90	50	0,870591	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,739683	1,001500
	90	60	0,830891	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,699983	0,961800
	90	70	0,706513	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,575604	0,837421
	90	80	0,498984	0,0665387	<0,001 <sup>***</sup>	0,368076	0,629893
CFT	60	50	0,145692	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,060423	0,230961
	70	50	0,047149	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	-0,038120	0,038120
	70	60	0,192841	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,107572	0,278110
	80	50	0,273656	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,188387	0,358925
	80	60	0,419348	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,334079	0,504617
	80	70	0,226507	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,141237	0,311776
	90	50	0,891172	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,805903	0,976441
	90	60	1,036864	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,951595	1,122133
	90	70	0,844023	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,758754	0,929292
	90	80	0,617516	0,0433410	<0,001 <sup>***</sup>	0,532247	0,702785
CTC	60	50	1,973600	0,2617720	0,948 <sup>Ns</sup>	1,458588	2,488612
	70	50	1,370591	0,2617720	0,554 <sup>Ns</sup>	0,855579	1,885602
	70	60	0,603009	0,2617720	0,937 <sup>Ns</sup>	0,087997	1,118021
	80	50	0,340451	0,2617720	0,096 <sup>Ns</sup>	-0,174561	0,855579
	80	60	2,314051	0,2617720	0,409 <sup>Ns</sup>	1,799039	2,829062
	80	70	1,711042	0,2617720	0,874 <sup>Ns</sup>	1,196030	2,226053
	90	50	0,777659	0,2617720	<0,001 <sup>***</sup>	0,262648	1,292671
	90	60	1,195941	0,2617720	<0,001 <sup>***</sup>	0,680929	1,710952
	90	70	0,592932	0,2617720	<0,001 <sup>***</sup>	0,077920	1,107943
	90	80	1,118110	0,2617720	<0,001 <sup>***</sup>	0,603098	1,633121

**I** : concentration comparable ; **J** : concentration comparée ; **DM** : Différence moyenne (I-J) ; **ES** : Erreur standard ; **p** : Signification ; **IC 95%** : Intervalle de confiance à 95 % ; **BI** : Borne inférieure ; **BS** : Borne supérieure ; \* : significative ; \*\* : hautement significative ; \*\*\* : fortement significative ; **NS** : Non significative.

### VI.3. Optimisation des composés phénoliques

#### VI.3.1. Optimisation des phénols totaux

L'équation obtenue à partir de l'analyse RSM (tableau 9 et 10) nous a donné un optimum des phénols totaux par une concentration prédite de **(5,563 mg EAG/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été vérifiées au laboratoire et ont révélé une concentration de **(5,329±0,205mg EAG/g)**, les résultats sont illustrés graphiquement dans les figures 38 et 39.

**Tableau 9:** Présentation du modèle de prédiction de CPT

<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup>(adj)</b>	<b>Équation de régression</b>
75,69%	31,93%	$CPT = -4,54 + 0,125 C + 0,340 D + 0,176T - 0,00110C^2 + 0,0023D^2 - 0,00075T^2 + 0,00139C*D - 0,00024C*T - 0,00924D*T$

**R<sup>2</sup>** : coefficient de détermination ; **adj** : ajusté ; **T** : Température ; **D** : Durée ; **C** : Concentration

**Tableau 10:** Prédiction des réponses multiples CPT

<b>Concentration (%)</b>	<b>Durée (Heures)</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Réponse</b>	<b>Ajustement</b>	<b>Erreur standard d'ajustement</b>	<b>95% IP</b>
52,828	4	60	CPT	5,563	0,264	(4,608;6,518)

#### VI.3.2. Optimisation des flavonoïdes

L'équation obtenue à partir de l'analyse RSM (tableau 11 et 12) nous a révélé un optimum des flavonoïdes par une concentration prédit de **(6,023 mg EC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été vérifiées dans le laboratoire pour donner une concentration de **(5,292 ±0,179mg EC/g)**, Les résultats sont illustrés graphiquement dans les figures 40 et 41.

**Tableau 11:**Présentation du modèle de prédiction de CFT

<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup>(adj)</b>	<b>Équation de régression</b>
60,82%	16,74%	$CFT = -3,50 - 0,189 T - 0,360 D + 0,304 C + 0,00256 T^2 - 0,0219 D^2 - 0,00133 C^2 + 0,0070 T*D - 0,00122 T*C + 0,0038 D*C$

**R<sup>2</sup>** : coefficient de détermination; **adj** : ajusté ; **T** : Température ; **D** : Durée ; **C** : Concentration

**Tableau 12:** Prédiction des réponses multiplesc CFT

<b>Concentration (%)</b>	<b>Durée (Heures)</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Réponse</b>	<b>Ajustement</b>	<b>Erreur standard d'ajustement</b>	<b>95% IP</b>
90	5,555	40	CFT	6,023	0,554	(4,241; 7,805)

### VI.3.3.Optimisation des tanins condensés :

L'équation obtenue à partir de l'analyse RSM (tableau 13 et 14) nous a donné un optimum des tanins par une concentration prédite de **(12,40 mg EC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été vérifiées au laboratoire ont révélé une concentration de **(11,127 ±1,190mg EC/g)**, Les résultats sont illustrés graphiquement dans les figures 42 et 43.

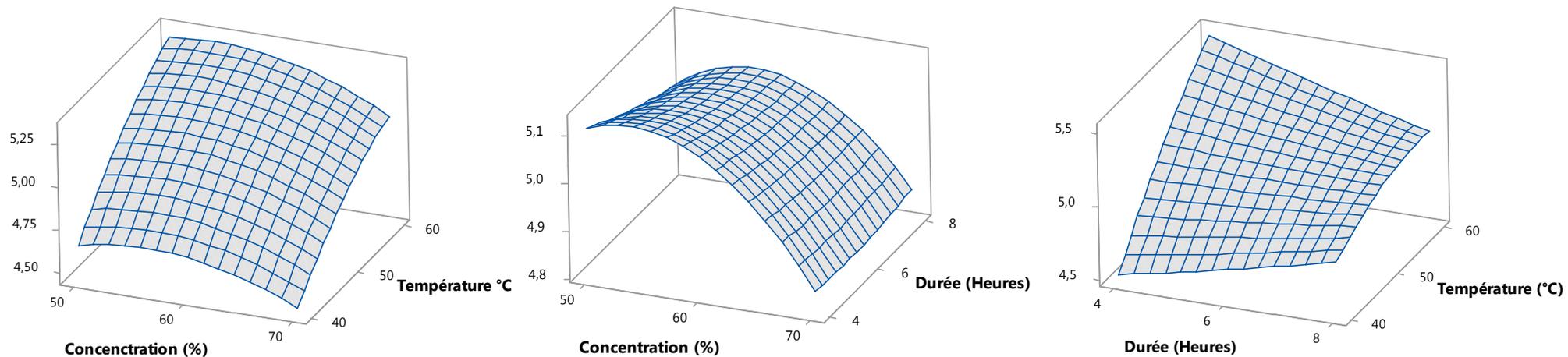
**Tableau 13:**Présentation du modèle de prédiction de CTC

<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup>(adj)</b>	<b>Équation de régression</b>
89,48%	77,64%	CTC = -56,2 + 1,764 T + 4,79 D + 0,222 C - 0,01741 T <sup>2</sup> + 0,141 D <sup>2</sup> + 0,00965 C <sup>2</sup> + 0,0343 T*D - 0,00854 T*C - 0,1428 D*C

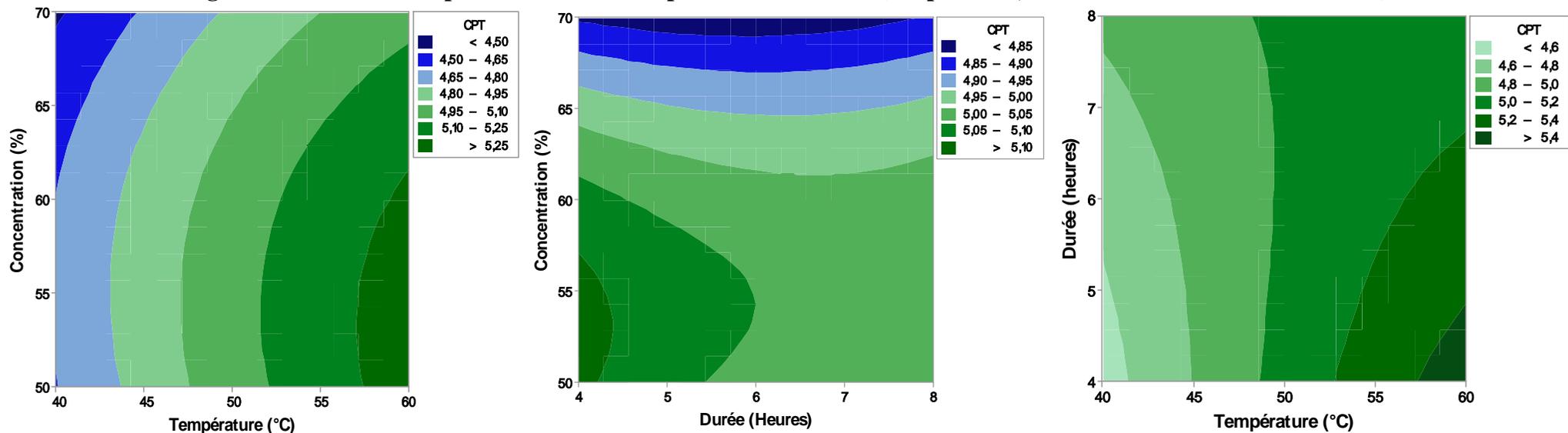
**R<sup>2</sup>** : coefficient de détermination; **adj** : ajusté ;**T** : Température ;**D** : Durée ; **C** : Concentration

**Tableau 14:** Prédiction des réponses multiplesc CTC

<b>Concentration (%)</b>	<b>Durée (Heures)</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Réponse</b>	<b>Ajustement</b>	<b>Erreur standard d'ajustement</b>	<b>95% IP</b>
70	4	37,474	CTC	12,40	1,07	(8,66; 16,13)



**Figure 38: surfaces de réponses selon les trois prédicteurs de CPT (température, durée et concentration du solvant)**



**Figure 39: diagramme de contour selon les trois prédicteurs de CPT (température, durée et concentration du solvant)**

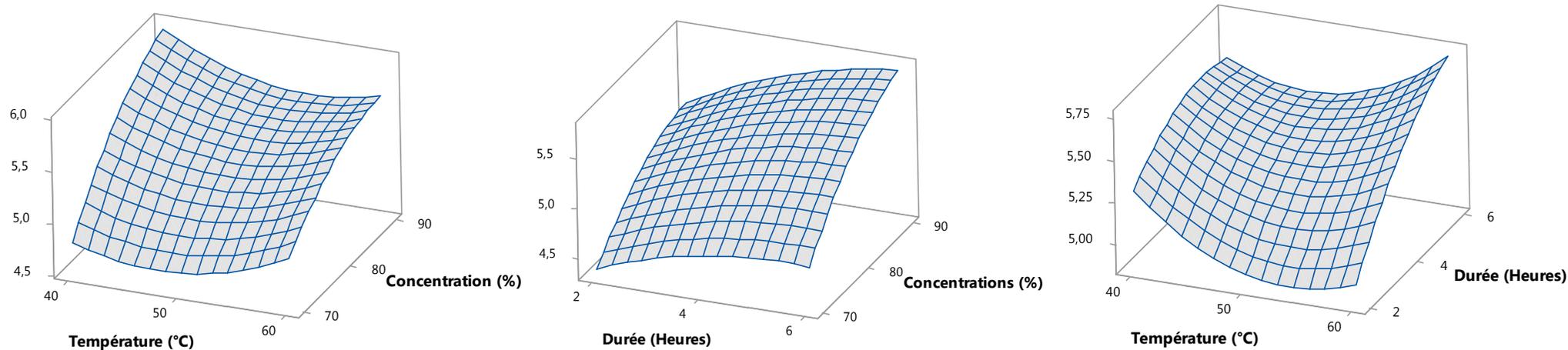


Figure 40: surfaces de réponses selon les trois prédicteurs de CFT (température, durée et concentration du solvant)

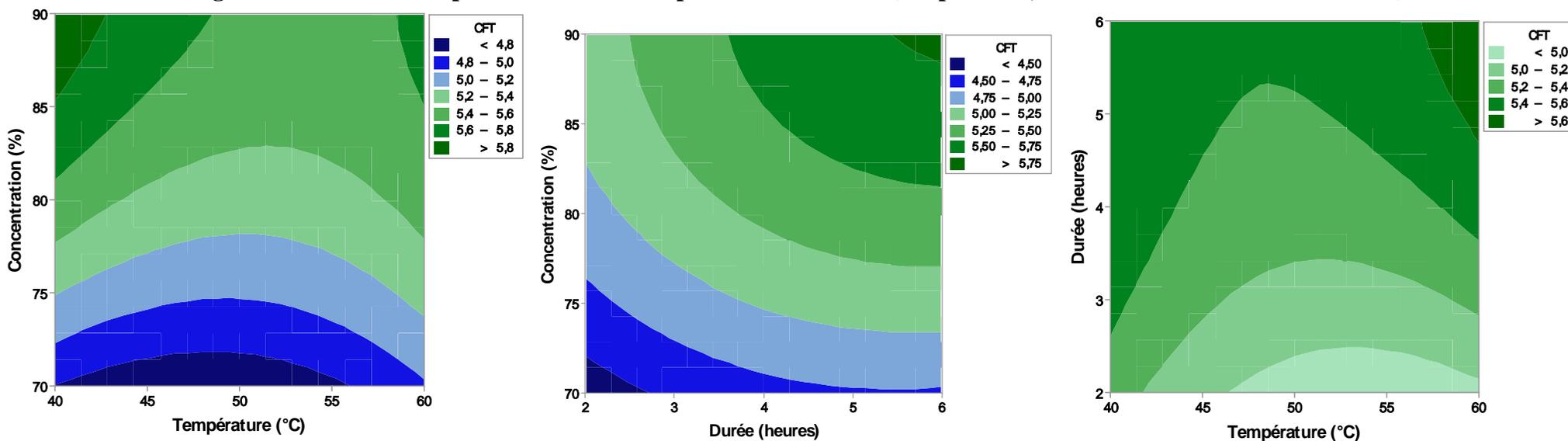


Figure 41: diagramme de contour selon les trois prédicteurs de CFT (température, durée et concentration du solvant)

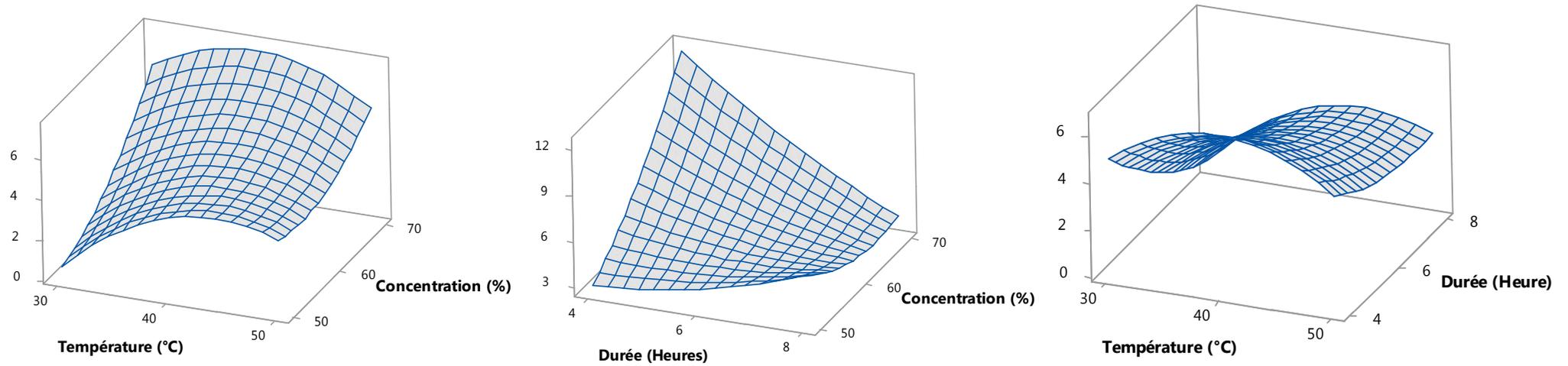


Figure 42 : surfaces de réponses selon les trois prédicteurs de CTC (température, durée et concentration du solvant)

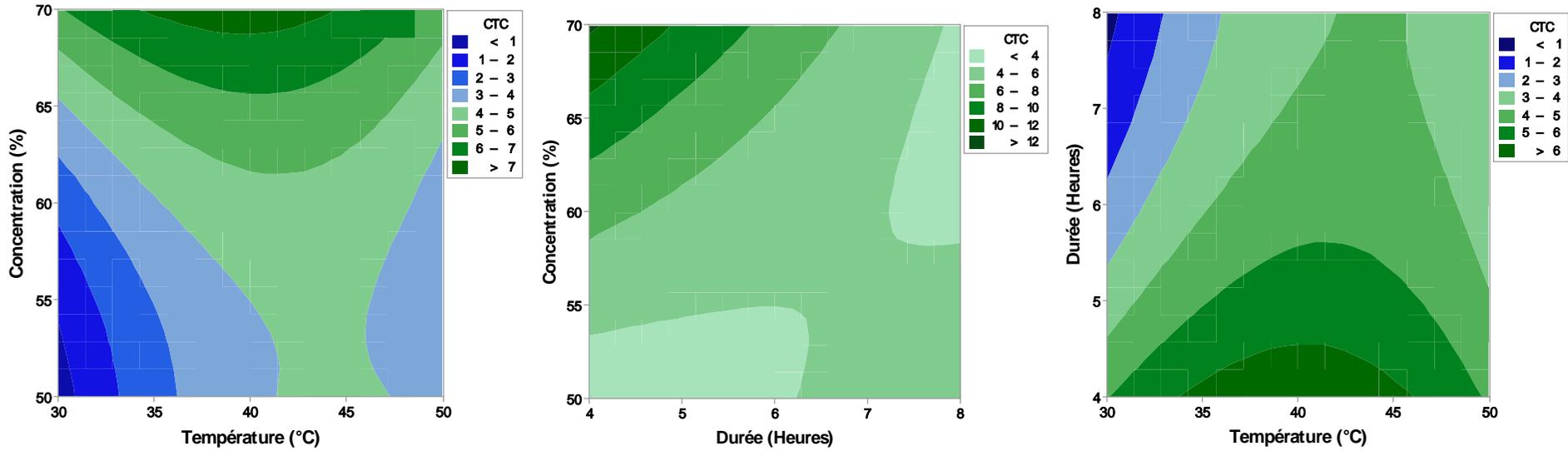


Figure 43 : diagramme de contour selon les trois prédicteurs de CTC (température, durée et concentration du solvant)

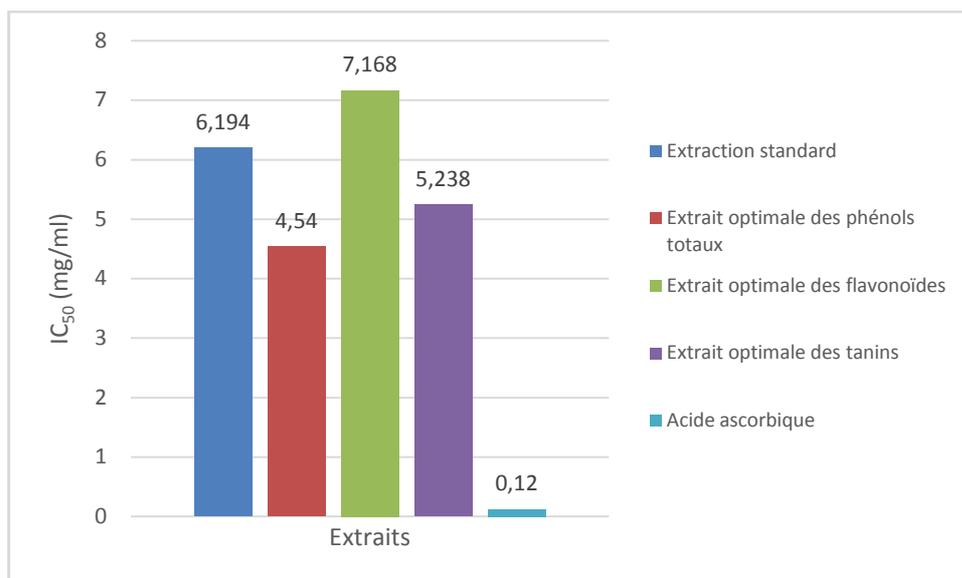
#### VI-4- Valorisation de *MatthiolaSinuata* par la détermination du pouvoir antioxydant

L'activité anti radicalaire des différents extraits a été évaluée par le test au DPPH, qui se manifeste par un virage de coloration du violet au jaune .celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité et l'efficacité des résultats ; il est aussi employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (Yi et al., 2008).

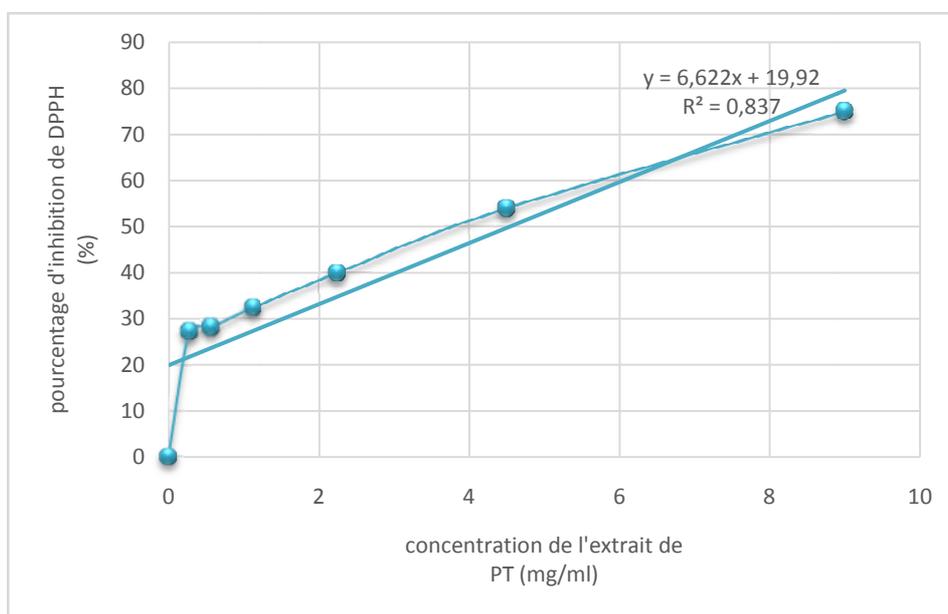
Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (ozkan et al, 2007).les composés phénoliques contenus dans les extraits de *Matthiolasinuata* sont de ce fait, responsables de cette activité antioxydante.

Nous rappelons que l'activité antioxydante des extraits est déterminée à partir des IC 50, qui correspondent à la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

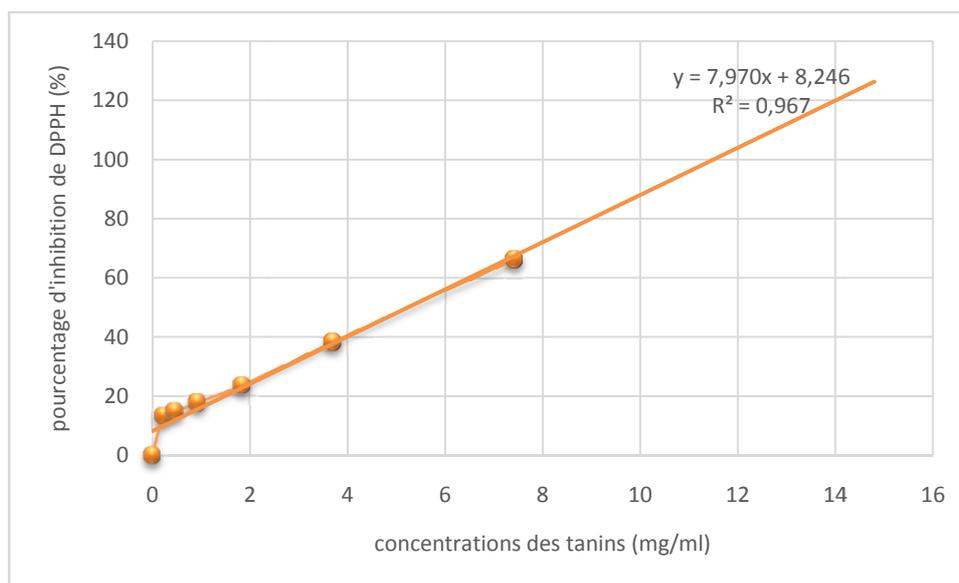
Ainsi, les résultats de cette étude sont portés et illustrés dans les figures ci-contre (44-45-46-47-48)



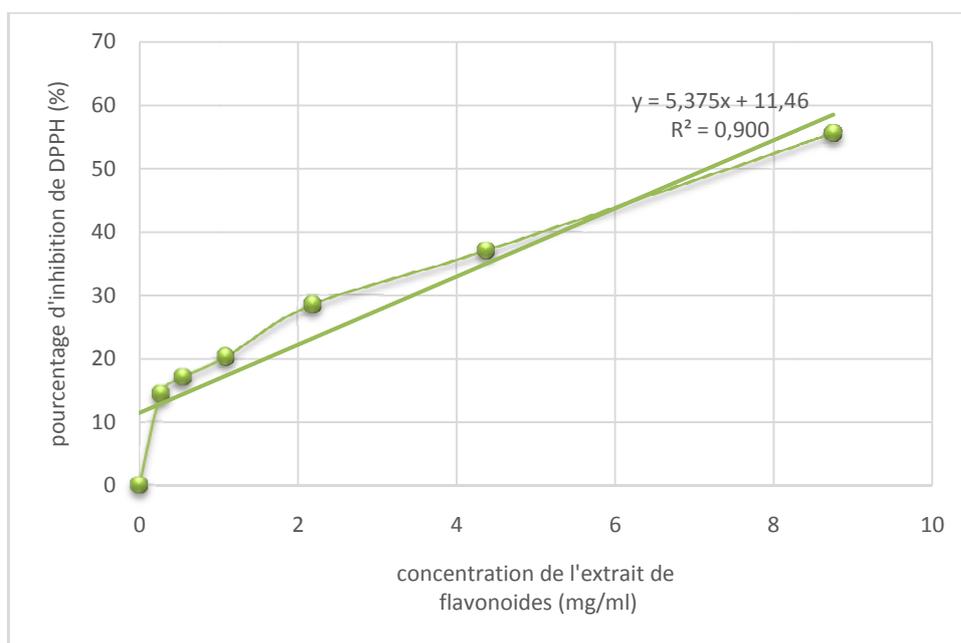
**Figure 44 :** Concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres du DPPH dans les extraits testés.



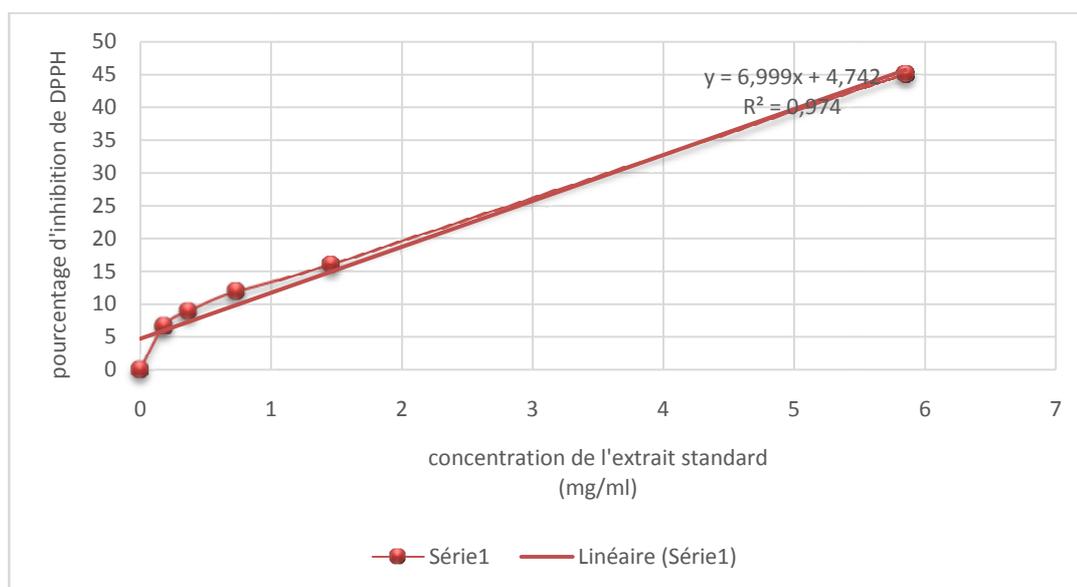
**Figure 45 :**Le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la concentration des phénols totaux.



**Figure 46 :**Le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la concentration des tanins condensés.



**Figure 47 :**Le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la concentration des flavonoïdes.



**Figure 48 :**Le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la concentration de l'extrait standard.

La valeur IC<sub>50</sub> est un paramètre largement utilisé pour mesurer l'activité de piégeage des radicaux libre. Un IC<sub>50</sub> inférieur indique une activité antioxydante supérieure (Maisuthisakul et al., 2007).

Selon les résultats enregistrés présentés dans les figures(44-45-46-47-48), nous constatons une activité considérable des extraits optimaux des phénols totaux et des tanins ainsi que les flavonoïdes par rapport à l'extraction standard.

Nous rappelons que l'activité antioxydante est testée sur les concentrations optimales des composés phénoliques obtenues selon l'analyse d'optimisation.

Le test de l'activité antioxydante a montré que l'optimum des phénols totaux à un pouvoir antiradicalaire important dont la valeur  $IC_{50}$  est de (4,540 mg/ml), par contre l'extrait optimum des tanins assure une activité antioxydante qui permet l'inhibition  $IC_{50}$  moins intéressante, à raison de (5,238 mg/ml), encore moins importante l'activité antioxydante del'extrait optimal des flavonoïdes (7,168 mg/ml). Quant à l'extrait standard(l'extrait brut), il ne permet qu'une inhibition  $IC_{50}$  de (6,194 mg/ml).

En revanche, l'activité antioxydante de l'acide ascorbique, avec la même méthode, assure une  $IC_{50}$  de 0,12 mg/ ml.

Même si l'activité antioxydante des différents extraits phénoliques de l'espèce dunaire *Mattiolasinuata* permette une inhibition d' $IC_{50}$  plus ou moins similaires, le résultat reste non satisfaisant si on le compare à celui du témoin (Acide Ascorbique).

---

# Conclusion

---

## Conclusion

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de quelques paramètres expérimentaux : la nature du solvant organique et sa concentration, la température et le temps d'extraction, sur la teneur des composés phénoliques de la giroflée des dunes récoltée dans la région de *Marsat El Hadjadj - la wilaya d'Oran* - et établir les conditions optimales d'expérimentation pour avoir le meilleur rendement en composés et par conséquent leur pouvoir antioxydant.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu, la quantification des flavonoïdes par le procédé au trichlorure d'aluminium et hydroxyde de sodium, et celle des tanins condensés par la méthode à la vanilline sous conditions acides. L'activité antioxydante a été testée par la méthode du piégeage des radicaux libres DPPH.

Les résultats montrent que la concentration la plus faible des phénols totaux est de **(2,748mg EAG/g)** observé dans l'extrait à (30°C, 4h, 80%). Alors qu'un maximum de **(6,866 mg EAG/g)** est marqué à (50°C, 6h, 50%), pour les flavonoïdes une plus petite valeur de **(2,452 mg EC/g)** est affichée à (40°C, 4h, 70%). Cependant, une valeur élevée de **(6,337 mg EC/g)** est trouvée à (60°C,4h, 90%). Les concentrations des tanins condensés varient entre **(0,842 mg EC/g)** à (50°C, 4h, 80%) et **(33,506 mg EC/g)** à (30°C, 2h, 80%).

Selon l'analyse statistique, l'extrait optimale des phénols totaux se trouve dans les conditions (52,8283%,4h,60°C)avec une concentration de **(5,563mgEAC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(5,329 ±0,205 mg EAG/g )** L'extrait optimale des flavonoïdes se trouve dans les conditions (90%, 5,55h, 40°C) une concentration prédit de **(6,023 mg EC/g)**, les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(5,292 ±0,179 mg EC/g)**. L'extrait optimale des tanins se trouve dans les conditions (70%, 4h, 37,474°C) une concentration prédit de **(12,40 mg EC/g)** les conditions de l'optimum théorique ont été refait dans le laboratoire pour donner une concentration de **(11,127 ±1,190 mg EC/g )**

Vu l'importance des constatations et la pertinence des résultats il serait fort intéressant de pousser l'étude d'avantage en songeant à :

La valorisation des extraits de la giroflée des dunes par des tests de divers activités biologiques notamment antimicrobienne, anticancéreuse, immuno-stimulante et toxicologique.

La mise en valeur des résultats de cette méthode d'extraction pour améliorer les rendements et étudier la possibilité d'exploitation de ces extraits à l'échèle industrielle.

---

# Références bibliographiques

---

# Références bibliographiques

## A

- Abderrazak M. et Joël R. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 2007. pp 177.
- Ares AM, Nozal MJ, Bernal J (2013) Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. J Chromatogr A 1313:78–95
- Arif T, Bhosale J D, Kumar N, Mandal T K, Bendre R S, Lavekar S, Dabur R. Natural products-antifungal agents derived from plants. J Asian Nat Prod Res. 2009 ; 11, 7 : 626 – 638.
- Atefeibu E.S.I. 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. 2002 pp 33

## B

- Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.
- Baudiere A. and Simoneau P., 1974- Les groupements à *Carynephorus canescens(L.) P. Beaux* et et *Ephedra distachya L.* du littoral roussillonnais. Vie et milieu.24(1) :21-42.
- Becet, J-M. 2002- *Le droit de l'urbanisme littoral*, Presses Universitaires Rennes
- Beecher G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. J. Nutri., 2003, 133 (10), 3248S-3254S.
- Bendimered F.Z., 2014 - Etude des caractères morpho-physiologiques et biochimiques d'adaptation aux conditions naturelles et de stress d'une plante xérophile et psammophile: cas de *Ammophila arenaria (L.) Link.* du littoral oranais.Th.Doc.Univ.SBA.220p +ann.
- Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Panovska, T.K., Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus L.* and *Pistacia atlantica Desf.*, Advances in Food Sciences, 2007, 29 (3): pp 155-161,.
- Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. 2007
- Bhat S.V., Nagasampigi B.A. et Sivakumar M. Chemistry of Natural Products; Ed 1: NAROSA, SPRINGER; 2005, pp: 115-252.
- Bjo`rkman M, Klingen I, Birch ANE, Bones AM, Bruce TJ-A, Johansen TJ, Meadow R, Mølmann J, Selja°sen R, Smart LE, Stewart D (2011) Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health—influences of climate, environment and agronomic practice. Phytochemistry 72:538–556

- Boizot, N ; Charpentier, J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006, pp 79-82.
- Booth N.L., Dejan N., Richard B., Stoci E. New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2004, Vol. 50; pp 120-123.
- Bouchetata T. and Bouchetata A., 2005- Dégradation des écosystèmes steppiques et stratégie de développement durable. Mise au point méthodologie appliquée à la wilayas de Naama (Algérie).
- Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Flleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barosso J.G., Pedro L.G. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff.et Link. *Food Chemistry*; 2007, Vol. 105; pp 146-155.

## C

- Cartea ME, Velasco P (2008) Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochem Rev* 7:213–229
- Catalano A., Rodilossis S., Caprari P., Coppola V., Procopio A., 2005. 5 Lipoxygenase regulates senescence like growth arrest by promoting Ros-dependent p53 activation. *EMBOJ*, 4 :17-179.
- Corre J.J., 1983- Structure de la végétation littorale. Les relations entre les euplements végétaux : une conséquence de leur action sur le milieu. *Acta Oecologia. Oecol. Gener.*, 4 (1) :3-12.
- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Micobial. Rev.* 1999 ; 12 (4); pp 564 – 582.
- Cuvelin M.E., Berset C., 1992. Use of a new test for determining comparative antioxidant activity of BHA, BHT,  $\alpha$  Tocopherol and extracts from rosemary and sage. *Chem Soc*, 73:645-652.

## D

- Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. 2003, pp 317
- Doing H., 1985 - Coastal fore-dune zonation and succession in various part of the world : *Vegetation* 61 :65-75.

## F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities . *C. R. Biologies*. 2008, Vol. 331 ; pp 372-379.

- Fellah S, Romadhane M, Abderraba M-Extraction et etude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*.L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie-Journal de la Société Algérienne de Chimie J.Soc. Alger, Chin. ; 2006, Vol, 16 ; N° 2 ; pp 193-202.
- Fernandez X., Cabrol-bass D., Analyse des arômes, Techniques-Ingénieur. Sept. 2007, Vol. 10 ; pp. 32-33.
- Fiorucci S., 2006. Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, 211p.
- Fridovich I., 1970. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milkxanthine oxidase. *J Biol Chem*, 231: 899-911.

## G

- Gehu J.M., 1998 - Variation floristiques et synchronologie des Ammophilaies européoafricaine. Labo. de botanique. Paris V. pp: 1-10
- Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005, Vol 3(4) ; pp 162-169.
- Ghodbani T., 2010- Environnement et littoralisation de l'ouest algérien.Carnets géographiques n 1 oct.
- Girotti –Chanu C. Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine , flavone extraite de *mirotea de bilis* .thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon. 2006, pp 136.
- Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A.,

## F

- Fernandez-Gutierrez, A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006, Vol. 41 ; pp 1220-1234.

## H

- Hanifi N., 2007-.Etude de la régénération des populations végétales selon un transect bioclimatique Nord-Sud en Algérie.Thèse de Doctorat d'Etat en sciences de végétale. La Nature, Biologie végétale.Univ.Sci.Tech.Houari boumediène,Bab-Ezzouar Alger , 201p.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* 2004, Vol. 1 ; pp 3 – 6.

- Hennebelle, T. Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants, Thèse de doctorat, Chimie Organique et Macromoléculaire, Lille1, 2006, pp 304.
- Hennebelle T. Investigation chimique, chimio-taxonomique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larenda*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologie de Lille-Lille 1, Ecole Doctorale Sciences de la Matière du Rayonnement et de l'Environnement. France. 2006
- Hesp P.A., 1988 – Morphology, dynamics and internal stratification of some established foredunes in southeast Australia. *Sedimentology*, 55 :17-41.
- Hoffman L., 2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg, 245p.

## J

- Jahangir M, Kim HK, Choi YH, Verpoorte R (2009) Health affecting compounds in Brassicaceae. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 8:31–43

## K

- Kacemi, M. 2004- *Recommandations pour l'élaboration des PDAU et des POS dans les zones littorales*, Dar El Gharb.
- Kansole, M.M.R. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. 2009 in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, Vol. 51(22); pp 6509-6515.
- Kim J. et Lumaret J.P. , 1981-Ecologie de *Psammodymus porcillis* (Col.Aphodiidae), insecte sabulicole des dunes littorales du golfe du Lion. *Annls. « Soc.Entomol.Fr.,(N.S),17,(4),p 449- 462*
- Kohen R., Nyska A., 2002. Oxidation of biological systems, oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30:620-650.

## L

- Lee J.A. et IGNACIUK R., 1985- The physiological ecology of strandline plants. Vol. 62, n 13, pp.319-326 (17ref).
- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. *Press Med*, 30: 1076-1081.

- Lin L-Z, Harnly JM (2010) Phenolic component profile of mustard greens, Yu Choy, and 15 other Brassica vegetables. *JAF* 58:6850–6857
- Lugasi, A ; Hovari, J ; Sagi, K.V ; et Biro, L. The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegediensis* 2003, 1-4: 119-125.

## M

- Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes ; 2005.
- Mian KH, Mohamed S (2001) Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *JAF* 49:3106–3112
- Moulis D., and Barbel P., 1999- Restauration des dunes. Réhabilitation et gestion des dunes littorales Méditerranéennes Françaises. Collection: Manuels et Méthodes. BRGM Ed., 75-91.

## N

- Novelli G.P., 1997. Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiol Pharmacol.* 48:517-527.

## P

- Panda K., Chatopardhayaya R., Fhosh M.K., 1999. Vitamin C prevents cigarette smoke induced oxidative damage of proteins and increased proteolysis. *Free Radicals. Biol Med*, 27: 1064-1079.
- Pandey KB et Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009, Vol. 2 (5) ; pp 270 – 278.
- Parisod CH. and Baudiere A., 2006- Flore du littoral sableux. Description et conservation de la plage roussillonnaise en tant que théâtre écologique de l'évolution. *Bulletin de la société vaudoise des sciences Naturelles*, 90 :47-62.
- Paskoff R., 1998- Les littoraux, impacts des aménagements sur leur évolution. Paris, Armand Collin. 52 (1998,4)
- Pastre J., Priymenko N., 2007. Intérêt des antioxydants de l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Med. Vet*, 158(4) : 180-189.
- Peronny S. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie. 2005, pp 151
- Podsedek A (2005) Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. *LWT Food Sci Technol* 40:1–11

- Potterat O., 1997. Antioxydant and free radical scavengers of natural origin. *Curent OrganicChemistry*, 1:415-440.

## Q

- Quezel P., et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. 1963 sheets/fs13 4/fr/, mis à jour 2009, visité le 07/02/2009.

## S

- Schonfelder P, et Ingrif . guide photo de la flore de méditerranée ,Delachaux et niesltlé , Paris .2014 page 152
- Soldati F. and Jaulin S. , 2002- Etude de la faune invertébrée des milieuxhalophiles du littoral du Languedoc Roussillon :Caléoptères carabiques,Scarabaeoidea et Tenebrinidae des complexes dunaires littoraux.OPIE-Languedoc-Rousillon-Tome I-p50.
- Stambouli-Meziane H . and Bouazza M. , 2007 –Le climat et les faciès de végétation dunaire dans la région de Tlemcen (Oranie,Algérie).

## U

- Uchida S., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Nonaka G., Nishioka I., Niwa M., Ozaki M. Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med Sci Res* 1987, Vol. 15; pp 831-832.

## V

- Vega, I. A.; Arribére, M. A.; Almonacid, A. V.; Guevara, S. R.; Castro-Vazquez, A.,2012- Apple snails and their endosymbionts bioconcentrate heavy metals and uranium from contaminated drinking water. *Env. Sci. Poll. Res.*, 19: 3307–3316.
- Vermerris, W. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1- 4020-5163-8 (HB). 2006
- Verpoorte R. et Alfermann A.W. Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism; Ed: KLUWER ACADEMIC; 2000, pp: 1- 23.
- Villantoro-Pulido M, Priego-Capote F, Alvarez-Sanchez B, Saha S, Philo M, Obregon-Cano S, De Haro-Bailon A, Font R, Del Rio-Celestino M (2013) An approach to the phytochemical profiling of rocket [*Eruca sativa*(Mill.) Thell]. *J Sci Food Agric* 93:3809–3819

## **W**

- Williams C.A., Grayer R.J. Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep., 2004, Vol. 21(4); pp 539-573.

## **Z**

- Ziegler J, Facchini PJ. Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. Annu Rev Plant Biol. 2008, Vol. 59; pp 735 – 769.

# Biblio-net

**Web master 1 :**

<http://search.sosodesktop.com/search/web?fcoid=417&q=carlos+ley+conservation+des+dunes+pdf>

Consulté le 15/04/2016 à 9h45

**Web master 2 :**

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Girofl%C3%A9\\_des\\_dunes](https://fr.wikipedia.org/wiki/Girofl%C3%A9_des_dunes) consulté le 02/12/2015 à 11h37

**Web master 3 :**

<https://www.aquaportail.com/definition-8548-optimum-ecologique.html> consulté le 22/08/2016 à 21h15

**Web master 4 :**

<http://www.tela-botanica.org> consulté le 22/08/2016 à 20h50

**Web master 5 :**

<https://www.ird.fr/fr/info/expo/atexpo/page4.htm> consulté le 24/08/2016 à 23h15