

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا للعلوم البيولوجية بوهران  
Ecole Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran



# MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biologie Moléculaire

## Les vertus thérapeutiques de la Stévia : Extraction des glycosides de stéviol à partir des feuilles de la *Stevia rebaudiana*.

Présenté par :

Mlle DJEZZAR Wafaa

Mlle REFRAF Dounia

Devant le jury :

Mme. BOUHADIBA S	MCB	ESSB Oran	Présidente
Mme. BELHADJ H	MCB	ESSB Oran	Encadreur
Mme. SEDIKKIOUI L	MCB	ESSB Oran	Examinatrice
M. KHELIL O	MCB	ESSB Oran	Examinateur

Année universitaire : 2019/2020

# Remerciements

*Avant tout, on remercie **DIEU** tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail. Sans oublier, **Nos Parents** qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.*

*Nos sentiments de reconnaissance vont en premier lieu à notre encadrant **Madame BELHADJ Hanane**, Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités, Votre sérieux et Votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude, l'expression de notre respectueuse considération et pour toutes Vos qualités scientifiques et humaines.*

*Nous remercions **Monsieur DAHMAN Abdelkader** ainsi que notre collègue **Mlle Amieur Hind**, pour nous avoir gracieusement fourni la biomasse utilisée lors de ce projet.*

*Nous tenons aussi à adresser nos vifs remerciements à tous les **enseignants** qui ont contribué à notre formation.*

*Nous remercions nos collègues de la promotion « **ESSBO** » de l'année 2020, pour leurs esprits conviviaux, leurs soutiens et Leurs coopérations.*

*Enfin nous remercions les **membres du jury** de nous avoir honorés en acceptant de juger ce modeste travail.*

# Dédicace

« *Les études sont avant tout Notre unique et seul atout* ».

*Je dédie ce travail marquant ma vie :*

*A la mémoire de mon frère Adel, Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point prier pour toi  
comme il se doit.*

*Toi, qui m'as doté d'une éducation digne, ton amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*Tu as fait plus qu'un frère puisse faire pour que sa sœur puisse suivre le bon chemin dans sa vie et ces  
études.*

*Je n'oublierai jamais ta phrase qui m'as toujours inspiré et m'as toujours renforcé !*

*« Suivez le difficile jusqu'à ce que vous trouviez le facile » qu'Allah ait pitié de ton âme.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a  
épargné aucun effort pour me rendre heureuse ; mon adorable mère Zouaouia.*

*A mon père REFRAF Kouider, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours  
été ma source de force pour affronter les obstacles de la vie !*

*Ames chères frères : khalil et Housseem ; en témoignage de la fraternité qui nous uni et des  
souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous  
souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A tous mes amis, spécialement mon très cher ami Youcef qui m'a toujours encouragé, et à qui je  
souhaite beaucoup de succès.*

*A mon adorable sœur Hanane : Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments d'affection et  
d'amour.*

*A mon binôme et amie intime DJEZZAR Wafaa, je tiens à t'exprimer mes sincères  
remerciements pour ton grand aide et soutien ; je te souhaite tous mes vœux de bonheur, de santé et de  
réussite.*

**A tous ceux que j'aime,**

**Merci !**



## *Dédicace*

*Ce mémoire est le fruit d'un travail de plusieurs années mais il n'aurait jamais pu voir le jour sans les personnes qui m'ont entouré, soutenue et conseillé. . . . . Je dédie ce travail :*

*À celui qui m'a donné la force et le courage, a celui qui a tellement sacrifié pour moi, et m'a fourni toute la confiance et les conseils durant toutes les années de ma formation : Mon Père.*

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite : Ma Mère.*

*« Que Dieu Les Garde Et Les Protège ».*

*À ma sœur HANANE sans oublier mes deux chers Frères ABD ALFHADI et AYEMAN qui ont été et sont encore source de mon Bonheur.*

*À toute la famille DJEZZAR et DJENNAS.*

*À Toutes mes amies surtout : NIHED et RACHDA.*

*À Mon cher binôme DOUNIA qui a partagé avec moi les bons comme les mauvais moments pendant la réalisation de cet humble travail.*

*À tous ceux qui me connaissent de près ou de loin ;*

*D. WAFIA.*

## *Table Des Matières*

**REMERCIEMENTS**

**RESUME**

**ABSTRACT**

**ملخص**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**LISTE DES ABREVIATIONS**

**INTRODUCTION GENERALE**

### **PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **Chapitre I : Description générale de *Stevia rebaudiana Bertonii***

I.1) Découverte de <i>Stevia rebaudiana Bertonii</i> .....	3
I.2) Classification et Description botanique .....	3
I.3) Cycle de développement .....	4
I.4) Intérêt et Utilisation de <i>Stevia</i> .....	5

#### **Chapitre II : Généralités sur les méthodes d'extraction des plantes**

II.1) La macération.....	6
II.2) La décoction.....	6
II.3) L'infusion.....	6
II.4) L'extraction par Soxhlet.....	7
II.5) Extraction assistée par Ultrason (EAU).....	7
II.6) Extraction assistée par Enzyme (EAE) .....	7

#### **Chapitre III : Techniques de séparation**

III.1) Chromatographie sur couche mince (CCM).....	8
III.2) Chromatographie liquide haut performance (HPLC).....	8
III.3) Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	9
III.4) La spectrométrie de masse (MS).....	9

#### **Chapitre IV : Etude phytochimique des feuilles de *Stevia rebaudiana* (les glycosides de stéviol)**

IV.1) Structure chimique.....	10
IV.2) Biosynthèse des glycosides de stéviol .....	10

IV.3) Extraction et dosage des glycosides de stéviol.....	11
---	----

**Chapitre V : les vertus thérapeutiques de *Stevia rebaudiana***

V.1) Stévia et Diabète .....	12
V.2) Stévia et Obésité.....	12
V.3) Stévia et Hypertension .....	13
V.4) Stévia et Cancer.....	13
V.5) Activité antibactérienne et antifongique.....	13
V.6) Activité antivirale.....	14

**PARTIE II : MATERIEL ET METHODES**

I. Présentation générale du site de prélèvement des échantillons .....	15
II. Méthodes et Techniques utilisées .....	16
II.1) Matériel Végétal .....	16
II.2) Prélèvement des échantillons.....	17
II.3) Traitement des échantillons .....	19
II.3.1) Extraction des glycosides de stéviol par infusion.....	19
II.3.2) Extraction assistée par Ultrasons.....	23

**PARTIE III : RESULTATS ATTENDUS ET DISCUSSIONS**

I. Le bilan phytochimique.....	25
I.1) Analyse de l'extrait finale .....	25
I.2) Analyse de l'extrait primaire.....	26
II. Extraction des glycosides de stéviol par infusion .....	31
III. Extraction assistée par Ultrasons.....	33
IV. Comparaison entre les deux méthodes .....	34

<b>CONCLUSION</b> .....	35
-------------------------	----

**REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES**

**ANNEXES**

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Classification de la <i>Stevia rebaudiana</i> selon L'APGIII.....	<b>03</b>
<b>Figure 2</b> : Description botanique de la <i>S. rebaudiana</i> (Lesniarek J, 2015).....	<b>04</b>
<b>Figure 3</b> : Situation géographique de la région de « Oued Metlili - W.Ghardaïa » (Google Map data, 2020).....	<b>16</b>
<b>Figure 4</b> : Feuilles fraîches de <i>S. rebaudiana</i> (Belhadj H, 2020).....	<b>17</b>
<b>Figure 5</b> : Culture de <i>S. rebaudiana</i> dans une exploitation agricole de la localité d'Oued Metlili (Amieur H, 2019).....	<b>17</b>
<b>Figure 6</b> : Feuilles séchées de <i>S. rebaudiana</i> (Djezzar W & Rafraf D, 2020).....	<b>18</b>
<b>Figure 7</b> : Poudre des feuilles séchées de <i>S. rebaudiana</i> (Rafraf D & Djezzar W, 2020).....	<b>18</b>
<b>Figure 8</b> : Montage de l'extraction par infusion (Lycée Sud-Médoc-Gironde- France, 2010).....	<b>20</b>
<b>Figure 9</b> : Filtration à l'aide d'un buchner (Lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).....	<b>20</b>
<b>Figure 10</b> : Papier pH pour mesurer la solution (l'extrait) avant et après l'ajout de l'hydroxyde de calcium (lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).....	<b>20</b>
<b>Figure 11</b> : Papier pH pour mesurer la solution (l'extrait) avant et après l'ajoute de l'acide citrique (lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).....	<b>21</b>
<b>Figure 12</b> : Bandelettes réactives au glucose (lycée Sud-Médoc-Gironde- France, 2010).....	<b>21</b>
<b>Figure 13</b> : Cuve à Chromatographie (Djezzar W & Rafraf D, 2020).....	<b>22</b>
<b>Figure 14</b> : Révélation à l'aide de lampe UV (Djezzar W & Rafraf D, 2020)....	<b>22</b>

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Pouvoir sucrant, masse molaire et formule chimique des glycosides de stéviol (Geuns Jan M C, 2011).....	<b>26</b>
<b>Tableau 2</b> : Composition proximale des feuilles de Stévia (Manish T & Rema S, 2006).....	<b>27</b>
<b>Tableau 3</b> : Composition en acide gras de l'huile de feuille de <i>Stevia rebaudiana</i> (Lemus-Mondaca R et al., 2012).....	<b>28</b>
<b>Tableau 4</b> : Vitamines hydrosolubles des extraits des feuilles de <i>Stévia rebaudiana</i> (matière sèche) (Kimi IS et al., 2011).....	<b>28</b>
<b>Tableau 5</b> : Les Flavonoïdes isolés à partir des feuilles de Stévia (Cario Franck, 2002).....	<b>29</b>
<b>Tableau 6</b> : Les huiles essentielles retrouvées dans les feuilles de Stévia d'après les travaux de (Manish T & Rema S, 2006 ;Cario Franck, 2002).....	<b>29</b>
<b>Tableau 7</b> : Composition phytochimique des feuilles de Stévia.....	<b>30</b>
<b>Tableau 8</b> : Différentes conditions opératoires pour l'extraction des glycosides de stéviol (Steviol glycoside extraction from <i>Stevia rebaudiana</i> using different methods) (Ursula Wölwer-Rieck, 2018).....	<b>31</b>
<b>Tableau 9</b> : Rendement de l'extraction et pureté de l'extrait en stévioloside en fonction du solvant utilisé.....	<b>32</b>



## *Liste des Abréviations*

°	Degré
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
kg	Kilogramme
g	Gramme
h	Heure
l	Litre
ml	Millilitre
µl	Microlitre
m	Mètre
cm	Centimètre
mm	Millimètre
Km	Kilomètre
min	Minute
S	Seconde
KHz	KiloHertz
m / z	Masse/ Charge
m/v	Masse/ Volume
pH	Potentiel Hydrogène
OMS	L'Organisation mondiale de la santé
APG III	Angiosperms Phylogeny Group III
ADN	Acide DesoxyriboNucleique
ARN	Acide ribonucléique
EAU	Extraction assistée par Ultrason
EAE	Extraction assistée par Enzyme
CCM	Chromatographie sur couche mince
HPLC	Chromatographie liquide haut performance
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
MS	La spectrométrie de masse
FAO	L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
Lampe UV	Lampe à rayons ultraviolets

## Résumé

*Stevia rebaudiana Bertoni* est une source potentielle d'édulcorants qui a attiré l'attention des chercheurs pendant de nombreuses années. Cet intérêt croissant est principalement lié à leur teneur élevée en édulcorant par rapport au sucre classique (jusqu'à 300 fois) et à leur aptitude en tant que composés à faible teneur en calories, ce qui peut résoudre tant de problèmes de santé principalement le diabète.

Notre travail est porté spécifiquement sur les fins thérapeutiques de la « stévia » ainsi qu'à l'application de deux méthodes d'extraction des glycosides de stéviol. Cela consistait d'une part, l'utilisation d'une méthode traditionnelle par infusion, en utilisant de l'eau distillée chaude comme extracteur et sans n'avoir appliqué aucune source d'énergie auxiliaire. Les conditions d'extraction optimales étaient les suivantes: temps d'extraction 30 min; rapport [feuilles / eau] : (10%) ; température (70 °C); en appliquant un degré intermédiaire de broyage. D'autre part, mettre en évidence une méthode moderne : la technique de sonication, en utilisant aussi de l'eau distillée chaude et un appareil de sonication avec un temps d'extraction de (30 min) ; rapport [feuilles / eau] : (100g/l), Une évaporation est effectuée sous pression dans un rota-vapeur sous une température de (40°C). La sonication présente un meilleur rendement en termes d'analyse théorique faisant appel à des résultats attendus qui font que l'analyse des deux extraits (primaire et final) révèle une concentration en glycosides de stéviol plus importante et un criblage phytochimique distinct qui représente l'aspect qualitatif des feuilles de la « stévia » récoltée dans les champs de la région de Ghardaïa.

Notre travail s'inscrit alors dans le cadre de la valorisation et l'introduction de la « stévia » dans le secteur agroalimentaire Algérien afin d'exploiter sa valeur nutritif pour des fins diététiques.

### **Mots clés :**

*Stevia rebaudiana Bertoni*, Edulcorant, Glycosides de stéviol, Vertus thérapeutiques, Extraction, Ghardaïa, Bilan phytochimique.

## Abstract

*Stevia rebaudiana Bertoni* is a potential source of sweeteners that has caught the attention of researchers for many years. This growing interest is mainly related to their high content of sweetener compared to conventional sugar (up to 300 times) and their suitability as low calorie compounds, which can solve so many health problems mainly diabetes .

Our work is focused specifically on the therapeutic purposes of “stévia” as well as the application of two methods of extracting steviol glycosides. On the one hand, this involved the use of a traditional infusion method, using hot distilled water as an extractor and without having applied any auxiliary energy source. The optimal extraction conditions were as follows: extraction time 30 min; [leaf / water] ratio: (10%); temperature (70 °C); by applying an intermediate degree of grinding. On the other hand, highlight a modern method: the sonication technique, also using hot distilled water and a sonication device with an extraction time of (30 min); [leaf / water] ratio: (100g / l), Evaporation is carried out under pressure in a rotavapor at a temperature of (40 ° C). The sonication have a better yield in terms of theoretical analysis using expected results which means that the analysis of the two primary and final extracts reveals a higher concentration of steviol glycosides, and a distinct phytochemical screening which represents the aspect quality of the leaves of the “stevia” harvested in the fields of the Ghardaïa’s region.

Our work is therefore part of the promotion and introduction of “stevia” in the Algerian food industry in order to exploit its nutritional value for dietary purposes.

### **Keywords:**

*Stevia rebaudiana Bertoni*, Sweetener, Steviol glycosides, Therapeutic virtues, Extraction, Ghardaïa, Phytochemical balance.

## ملخص

ستيفيا ريباوديانا بيرتوني هي مصدر محتمل للمحليات التي لفتت انتباه الباحثين لسنوات عديدة. يرتبط هذا الاهتمام المتزايد بشكل أساسي بمحتواها العالي من المحليات مقارنة بالسكر التقليدي (حتى 300 مرة) ومدى ملائمتها كمركبات منخفضة السرعات الحرارية، والتي يمكن أن تحل العديد من المشاكل الصحية بشكل رئيسي مرض السكري.

يركز عملنا بالتحديد على الأعراض العلاجية لـ "الستيفيا" وكذا تطبيق طريقتين لاستخراج جليكوسيدات ستيفيول. من ناحية، تضمن استخدام طريقة نقع تقليدية، باستخدام الماء المقطر الساخن كمسخلص وبدون تطبيق أي مصدر طاقة إضافي. تتمثل ظروف الاستخلاص المثلى كما يلي: وقت الاستخلاص 30 دقيقة؛ نسبة الأوراق إلى الماء (10%)؛ درجة الحرارة (70 درجة مئوية)؛ و تطبيق درجة متوسطة من الطحن. من ناحية أخرى، تسليط الضوء على طريقة حديثة: و التي تتمثل في تقنية الموجات فوق الصوتية، وذلك أيضًا باستخدام الماء المقطر الساخن وجهاز الموجات فوق الصوتية مع وقت استخلاص (30 دقيقة)؛ نسبة الأوراق / الماء (100 غ/ل)، وتطبيق عملية التبخير تحت الضغط بجهاز (مبخر دوراني) عند درجة حرارة (40 درجة مئوية). نظريًا تعد تقنية الموجات فوق الصوتية الأفضل باستخدام النتائج المتوقعة مما يعني أن تحليل المستخلصين الأساسيين والنهائيين يكشف عن تركيز أعلى من جليكوسيدات الستيفول، وفحص كيميائي نباتي مميز الذي يمثل جودة أوراق "الستيفيا" التي تم حصادها في حقول منطقة غرداية.

لذا فإن عملنا هو جزء من التقييم وإدخال "الستيفيا" في قطاع الأغذية الزراعية الجزائرية من أجل استغلال قيمتها الغذائية لأغراض الحمية.

### الكلمات المفتاحية:

ستيفيا ريباوديانا بيرتوني، محلي، جليكوسيدات ستيفيول، الفضائل العلاجية، الاستخراج، غرداية، فحص كيميائي نباتي.

A decorative border in a dark green color, featuring symmetrical, swirling floral and leaf-like patterns that frame the central text.

# **INTRODUCTION**

## Introduction

« *Je pense que d'ici peu, à cause de ces deux épidémies : obésité et diabète de type 2, nous allons commencer à voir une diminution de l'espérance de vie* » a déclaré le **Pr Claude Bouchard (2015)**. Cette phrase décrit une situation inquiétante voir alarmante sur l'ensemble de la société.

Dans le même contexte, il est clairement évident que le facteur principal de ces deux «épidémies» que d'autres, c'est la consommation alimentaire mal équilibrée. Des chercheurs de l'université de Harvard ont montré que plus de la moitié du fardeau mondial des maladies résultait d'une mauvaise alimentation (par manque, par excès ou par déséquilibre) (APSARes, 2008).

De nos jours, l'alimentation mondiale s'est complètement transformée. Ce phénomène peut s'expliquer par les profondes mutations économiques et sociales ayant conduit à un bouleversement des modes de vie au cours du temps (APSARes, 2008). Cette modification des modes alimentaires s'est traduite par une forte augmentation de la consommation des aliments chimiquement modifiés, comme l'utilisation des sucres artificiels ce qui mène à une incidence à long terme sur la santé, engendrant des maladies cardiaques, des cancers ou d'autres maladies chroniques.

Alors en raison de la sensibilisation des consommateurs quant à leur implication dans la pathogénèse de maladies, l'industrie alimentaire a actuellement montré un grand intérêt pour l'utilisation d'édulcorants à faible teneur en calories au lieu des sucres et dérivés (Shahidi F & Ambigaipalan P, 2015). Plus précisément, certains fabricants d'aliments et de boissons ont remplacé les sucres simples (fructose, glucose et saccharose) par des édulcorants naturels non caloriques pour réduire les calories (Mitchell H, 2008 ; Liu S & Manson J-E, 2001), cette approche est en train de devenir une alternative dans le but de produire des aliments plus sains.

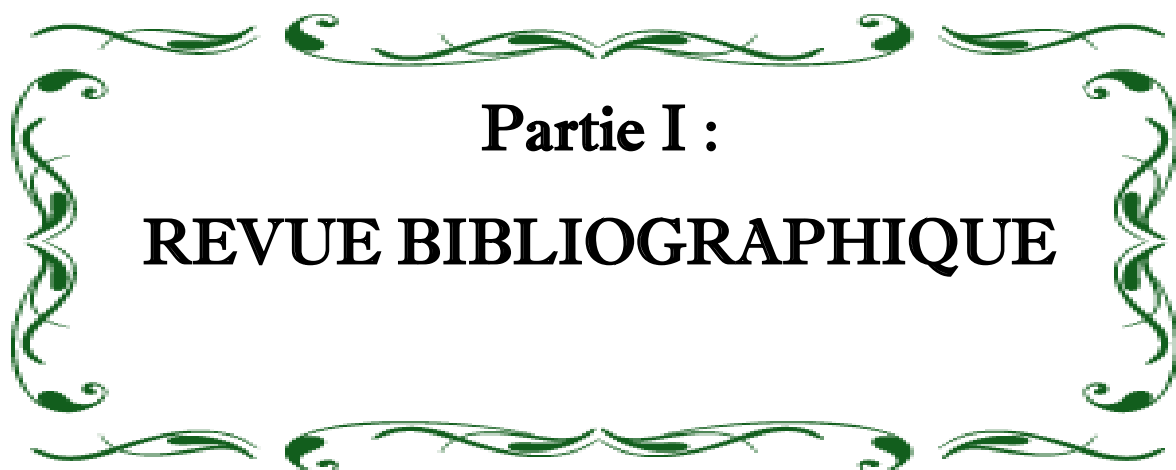
À cet égard, la « Stévia » est peut-être mieux connue comme une alternative aux sucres. Mais dans le monde botanique, c'est un genre d'environ 240 espèces d'herbes et d'arbustes de la famille des plantes, les *Asteraceae*. Parmi les espèces, cependant, il n'y en a qu'une qui présente un niveau élevé de douceur, son nom est *Stevia rebaudiana*, originaire du Paraguay utilisée par les Indiens Guarani depuis plusieurs siècles pour sucrer leur boisson traditionnelle et traiter diverses maladies et affections (Carole F, 2020). Cette plante possède

des molécules sucrantes qui sont des diterpènesglycosylés, aussi appelés « glycosides de stéviol », dont les principaux sont le rébaudioside (A) et le stéviolside à très fort pouvoir sucrant (près de 300 fois plus sucrées que le saccharose). Le rébaudioside (A) a le meilleur profil de saveur, tandis que le stéviolside est responsable de l'arrière-goût amer caractéristique de la Stévia, parfois signalé comme un goût de « réglisse ». Ces derniers pouvaient avoir aussi des propriétés thérapeutiques, notamment anti-hyperglycémique, anti-hypertenseur, anti-inflammatoire, anti-tumoral, anti-diarrhéique... montré par plusieurs études (Verónica L-C et al., 2019).

En Algérie la consommation moyenne de sucre atteint 30 kg par an par personne, soit trois fois la norme recommandée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), cette surconsommation du sucre a fait augmenter le nombre de diabétiques dans notre pays à plus de 4 millions (Liberté, 2019). C'est ce que génère un état d'alerte et justement pour pallier ce problème, La Stévia est le nouvel argument séduction de l'industrie agroalimentaire en Algérie qui peuvent avoir un réel impact notamment sur les problèmes nutritionnels.

Le but de ce mémoire est de poser un regard critique sur les propriétés de la *Stevia rebaudiana*, et ces intérêts thérapeutiques : Est-elle meilleure ou tout simplement égale aux autres édulcorants ? Présente-t-elle des risques avérés pour la santé ?

Pour répondre à ces questions, ce travail présentera dans un premier lieu une description générale de la plante étudiée (*Stevia rebaudiana*). Les deuxièmes et troisièmes chapitres seront consacrés aux différents procédés d'extraction des plantes ainsi que les techniques de séparations. Par la suite, nous nous focaliserons sur l'étude phytochimique des feuilles de *Stevia rebaudiana* (des glycosides de stéviol). Par ailleurs, nous nous intéresserons aux vertus thérapeutiques de *Stevia rebaudiana*. En dernier lieu, nous avons visé, pratiquement, à l'utilisation de deux méthodes d'extraction : l'une conventionnelle : par infusion facile a réalisée et largement utilisée dans les différentes études scientifiques, et l'autre moderne : c'est l'extraction assistée par ultrason qui est généralement utilisée pour améliorer les rendements et de réduire le temps d'extraction.

A decorative border made of green, stylized scrollwork and floral motifs, framing the central text.

**Partie I :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**



## Chapitre I : Description générale de *Stévia rebaudiana Bertoni*

### I.1) Découverte de *Stevia rebaudiana Bertoni*

La Stévia est originaire des zones d'altitudes du Nord-est du Paraguay (Rio Monday), cette région était originellement peuplée par les indiens Guarani, les premiers à avoir eu accès à cette herbe. Cette plante a été découverte au monde scientifique par le botaniste suisse-italien Moises Santiago Bertoni en 1899 puis en 1905 décida de la classer dans le genre *Stevia* et l'a nommée par la suite : *Stevia rebaudiana Bertoni*.

Le chimiste paraguayen Ovidio Rebaudi mentionna la présence d'un composé sucrant (la substance active) dans la plante en 1900. Le principe sucrant de *Stevia rebaudiana Bertoni* est le « stéviol » qui s'agit d'une famille de molécules de diterpènes glycosylés « stéviol glycosides » qui a été cristallisé et identifié qu'en 1931 par les deux chimistes français M. Bridel et R. Lavieille. À la fin des années 1970, des équipes japonaises ont isolé de nouveaux glycosides de stéviol, tels que le rébaudioside A, le rébaudioside C, les rébaudiosides D et E, le dulcoside A (Barbet-Massin C, 2015). En décembre 2011, les glycosides de stéviol sont autorisés dans l'Union Européenne en tant qu'édulcorant alimentaire et porte le numéro E960 (Règlement (UE) N° 1131/2011).

### I.2) Classification et Description botanique

La taxonomie utilisée pour classer la stévia sera l'APG III ou Angiosperm Phylogeny Group III ; datant de 2009, dernière version de la classification APG. Cette classification botanique est construite sur la phylogénétique, c'est-à-dire basée principalement sur l'étude des molécules informatives telles que les acides nucléiques (ADN ou ARN) et les protéines (APG III, 2009 ; Reymond M & Jauzein F, 2007).

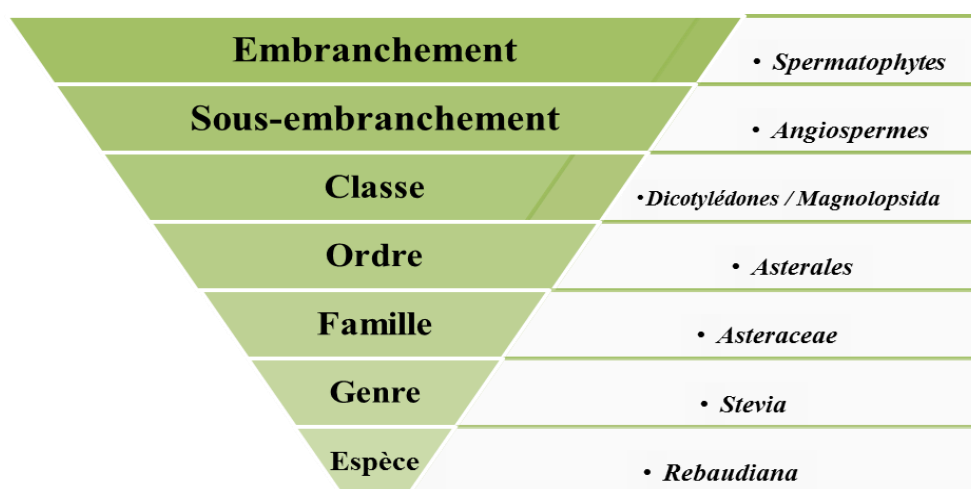
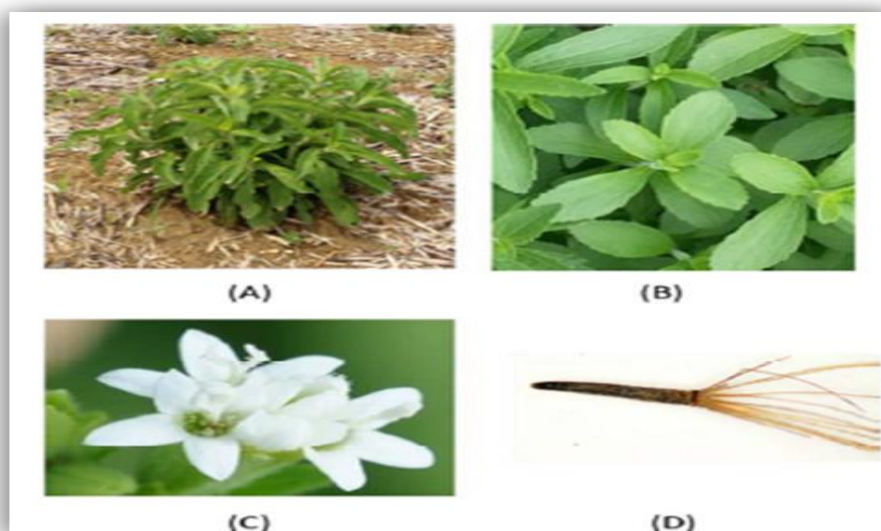


Figure 1 : Classification de la *Stevia rebaudiana* selon l'APG III.

La *S rebaudiana* est une plante herbacée pluriannuelle, qui peut prendre l'aspect d'une haute herbe ou d'un arbrisseau. En effet, elle mesure entre 30 et 70 cm en milieu naturel et jusqu'à 1,80 m dans des milieux de culture en terre fertile. Les fleurs sont petites (15 à 17 mm), blanches, hermaphrodites et auto-incompatibles (Lesniarek J, 2015). Elle possède des feuilles crénelées, lancéolées contenant la saveur sucrée.



**Figure 2 :** Description botanique de la *S.rebaudiana* (Lesniarek J, 2015).

(A) Pied en reprise de végétation à la sortie de l'hiver ;

(B) Feuilles ;

(C) Fleurs ;

(D) Akène fertile de *S. rebaudiana*.

Le système racinaire est fibreux, filiformes et pérenne, se ramifiant fortement mais superficiellement. Les racines renferment des réserves importantes en nutriments, mais ne contiennent pas ou très peu de stéviolosides (Aboudrare A, 2009) (Voir Annexe 2).

### **I.3) Cycle de développement**

La Stévia est une espèce pérenne dans son habitat naturel. Son cycle de croissance peut être divisé en 4 phases:

La première phase inclut la germination et l'établissement, la seconde concerne la croissance végétative, la troisième englobe l'initiation du bouton floral, la pollinisation et la fertilisation et la quatrième représente la croissance et le remplissage des graines.

Toutefois, les conditions environnementales (la température, la photopériode, la lumière, l'alimentation en eau et en élément minéraux) et les différentes méthodes de culture entraînent une variation sur la durée de chaque phase (Aboudrare A, 2009).

#### **I. 4) Intérêt et utilisation de la Stévia**

La stévia présente un intérêt agronomique et économique important car elle a la capacité de régénéré et s'adapter à une large gamme d'environnements et peut être récoltée 3 à 4 fois par an (Aboudrare A, 2009). Toutes les parties de la plante, excepté les racines peuvent être utilisées dans différentes domaine, sous forme fraîche ou sèche, entière ou en poudre.

##### ➤ **Utilisations Médicinales:**

- Tanins, flavonoïdes, glycosides de stéviol : activité antimicrobienne notamment sur *Salmonella typhi*, *Aeromonashydrophila*, *Vibriocholerae*, *Bacillus subtilis*, *Staphilococcus aureus*.
- Flavonoïdes : activité antioxydante.
- Glycosides de stéviol : régime diététique (diminution des apports caloriques et diminution du cholestérol), alimentation pour diabétique, amélioration de la régénération cellulaire, augmentation de la coagulation sanguine, activité diurétique, activité anti-inflammatoire, inhibition de la formation des cavités et des plaques dentaires, utilisation dermatologique (eczéma, acné...)...

##### ➤ **Utilisations Alimentaires et culinaires:**

Édulcorant pour sucrer divers aliments: thé, café, boissons, jus, yaourts, chewing-gum, biscuits, cakes, pâtisserie, confiserie, salades, sauces, plats cuisinés...; régime pour perte de poids (obèses et minceurs) et diabétiques; colorant, odorant et savourant; source d'anti-oxydants; utilisation pour diminuer le désir de consommation du tabac.

##### ➤ **Autres utilisations:**

La stévia est une source nutritionnelle important pour l'organisme dû à sa composition chimique et ses propriétés fonctionnelle et sa richesse en éléments nutritifs essentiels tels que les protéines, glucides, lipides, macro et oligo-éléments, vitamine, huile essentielle. Ainsi elle utilise dans la production des régulateurs de croissance des plantes. (Debnath M, 2008; Aboudrare A, 2009 ; Lemus-Mondaca R et al., 2012 ; Giuffré L et al., 2013).

## Chapitre II : Généralités sur les méthodes d'extraction des plantes

L'extraction est par définition la séparation des molécules actives d'une matrice donnée (Voir annexe 3).

Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction, elle se présente ainsi comme une interaction solide-liquide (Ben Amor B, 2008). Suivant la manière et le moyen utilisé, on a plusieurs techniques.

Parmi les techniques d'extractions classiques, on retrouve les extractions cités sous-dessous :

**II.1) La macération :** est une méthode d'extraction simple qui consiste à tremper la matière première (grossière ou en poudre) dans un solvant à froid avec une agitation fréquente pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs).

Le point essentiel de cette méthode est le choix du solvant, qui délimite les classes de composés récupérés à partir des échantillons (Azmir J et al., 2013).

**II.2) La décoction :** est une préparation en faisant bouillir des herbes dans un liquide généralement de l'eau, il est normalement préféré pour les racines, les rhizomes, l'écorce.

Il y a une différence mineure par rapport au processus d'infusion commun, qui est le supplément constant de chaleur, pour garder l'herbe finement divisée saturée dans l'eau bouillante (Moreau C, 2014).

**II.3) L'infusion :** Est utilisée quand les principes actifs de la plante sont hydrosolubles et peuvent facilement être obtenus à partir du tissu de la plante, durant laquelle le solvant est chauffé, est donc ajoutée à la plante moulue ou écrasée, suivie du refroidissement du mélange et une filtration. La préparation du thé est l'exemple type de cette opération (Ben Amor B, 2008 ; Benfares A, 2015).

**II.4) L'extraction par Soxhlet :** Est une technique qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction. Dans un système conventionnel de Soxhlet (Voir annexe 3), la matière végétale est placée dans une cartouche et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller,

portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée (Ben Amor B, 2008).

Aujourd'hui, on remarque une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction permettant de réduire à la fois, le temps d'opération, la consommation de solvant et d'améliorer le rendement de l'extraction. Parmi ces techniques modernes : L'extraction assistée par l'ultrason et l'extraction assistée par enzyme :

**II.5) Extraction assistée par ultrason :** L'extraction assistée par ultrason est réalisée à l'aide d'un système de sonde à ultrasons et qui consistent à faire passer de l'énergie ultrasonique sous forme d'ondes à travers un solvant liquide contenant des particules solides (Preedy V-R, 2015)(Voir annexe 3).

**II.6) Extraction assistée par enzyme (EAE) :** Chez certaines plantes, certains composés phytochimiques dans leurs matrices sont dispersés dans le cytoplasme cellulaire, et les métabolites secondaires sont retenus dans le réseau polysaccharide-lignine par hydrogène ou liaison hydrophobe et ne sont pas accessibles par un procédé d'extraction par solvant (Azmir J et al., 2013). Le prétraitement enzymatique a été considéré comme un moyen efficace pour libérer les composés liés et d'augmenter le rendement global (Rosenthal A, 1996). Des enzymes spécifiques telles que la cellulase, l' $\alpha$ -amylase et la pectinase ajoutées pendant l'extraction améliorent la récupération en brisant la paroi cellulaire et en hydrolysant les polysaccharides structurels et les corps lipidiques (Rosenthal A, 1996 ; Singh RK, 1999).

## **Chapitre III : Techniques de séparation**

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

Dans ce présent travail on s'est focalisé sur trois types de chromatographie, ainsi que la technique de spectrométrie de masse :

### **III.1) Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse de mélanges en séparant les composés du mélange. L'expérience est menée sur des phénomènes d'adsorption : une plaque de verre ou une feuille semi-rigide de plastique ou d'aluminium, qui est recouverte d'une fine couche de matériau adsorbant, généralement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose est appelée phase stationnaire, une fois l'échantillon appliqué sur la plaque, les composés de la phase mobile se déplacent sur la surface de la phase stationnaire. La migration se produit de telle manière que les composés qui ont une plus grande affinité pour la phase stationnaire se déplacent lentement tandis que les autres composés se déplacent rapidement. Le succès de ce mode de chromatographie est dû notamment à la facilité de sa mise en œuvre et à la possibilité de son emploi dans le domaine analytique que dans le domaine préparatif (Boucheloukh H, s.d.) (Voir annexe 4).

### **III.2) Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :**

La chromatographie liquide haute performance appelé CLHP (HPLC en anglais), est une technique instrumentale qui permet de séparer les composants d'un mélange non volatile, thermosensible, de polarité élevée afin de les identifier et les quantifier (Boucheloukh H, s.d.). L'expérience consiste à pomper un mélange d'échantillon (solutés) dans un solvant (connu sous le nom de phase mobile) à haute pression à travers un tube appelé « colonne chromatographique », cette colonne peut contenir des "granulés" poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire) ce qu'on appelle la phase stationnaire (Voir annexe 4).

- La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.
- Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité

entre la phase mobile et la phase stationnaire.

- En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé « chromatogramme » (Académie de Rouen, 2010).

La HPLC est très utilisée comme méthode d'analyse qualitative et quantitative, la plupart des contrôles de qualité et divers dosages de l'industrie chimique ainsi dans la plupart des analyses biologique...etc. (Thierry Brière, s.d.).

### **III.3) Chromatographie en phase gazeuse (CPG):**

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation des molécules volatiles ou susceptibles d'être vaporisés. Ils constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans le four et un détecteur.

L'injecteur est un dispositif permettant l'introduction et la vaporisation de l'échantillon dans le chromatographe où l'injection se fait à haute température. Le transport des substances de l'échantillon évaporées fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé « gaz vecteur », qui constitue la phase mobile. Le four est l'élément essentiel pour une excellente stabilité thermique (20° à 450°C) qui assure un chauffage et refroidissement très rapides, dans laquelle se trouve la colonne qui peut être de trois types : colonne remplie ou colonne capillaire ou semi-capillaire. Les substances de l'échantillon traversent la totalité de la colonne où est placée la phase stationnaire, à la sortie se trouve un détecteur relié à un enregistreur (Boucheloukh H, s.d.) (Voir annexe 4).

### **III.4) La spectrométrie de masse (SM) :**

C'est une technique de mesure des rapports masse/charge ( $m/z$ ) des molécules individuelles et ionisées, grâce à la perte ou au gain d'une charge électrique, et de leurs produits de fragmentations. L'existence d'isotopes se traduit par la présence de plusieurs pics moléculaires. Cette technique permet l'analyse de fragments moléculaires obtenus par ionisation. Elle permet de recueillir des informations sur la nature, la composition et la structure des espèces présentes dans l'échantillon analysé ainsi que leur quantification (Université d'Ouargla, 2014) (Voir annexe 4).

## **Chapitre IV : Étude phytochimique des feuilles de *Stevia rebaudiana* (les glycosides de stéviol)**

La particularité de cette plante résulte nettement dans les molécules qui sont responsable de son gout sucré et qui suscitent notre intérêt : *les glycosides de stéviol*.

### **IV.1) Structure chimique**

Les données phytochimiques de la « stévia » confirme qu'elle possède des molécules glucidiques leur offrant un gout sucré plus communément appelé glycosides de stéviol. La concentration de ces substances peut aller jusqu'à 30% dans les feuilles sèches (Geuns J, 2003), ils sont tous issus d'une même molécule ; également appelé stéviol, ce précurseur représente la partie aglycone ou génine, c'est-à-dire non sucrée. Dont, on peut comparer leur synthèse à celle des gibbérellines (Voir annexe 05), tandis que la partie sucrée est exprimée par le suffixe-osidique. A partir de la structure de base du stéviol, on obtient alors la formation des glycosides que l'on retrouve en proportions différentes, et qui ont des propriétés organoleptiques distinctes (Brahmachari G et al., 2011 ; Koyama E et al., 2003 ; Richman A et al., 2005) (Voir annexe 05).

### **IV.2) Biosynthèse des glycosides de stéviol**

Les glycosides de stéviol appartiennent aux terpénoïdes et leur synthèse commence dans les chloroplastes, la première partie de cette synthèse est commune à celle de l'acide gibbérellique puis après formation de l'acide, les voies se séparent.

Pour les glycosides, vient alors la seconde étape qui consiste à former le stéviol, qui sera ensuite glycosylé dans le cytosol. Ils sont alors le résultat de différentes glycosylations par le biais de différentes glycosyl transférases à partir du stéviol (Brandle J.E & Telmer P.G, 2007 ; Shibata H et al., 1995). Cette glycosylation est la dernière étape qui permet d'obtenir les glycosides eux-mêmes (Voir annexe 5).

### **IV.3) Extraction et dosage des glycosides de stéviol :**

L'extraction se fait à partir d'un composé solide, la plante. Il s'agit d'obtenir un extrait enrichi en glycosides de stéviol.

Dans un premier temps, lors d'une extraction solide-liquide, il est nécessaire d'effectuer une étape de broyage des feuilles séchées (AFSSA, 2007). Ceci favorise l'action du solvant en augmentant la surface de contact. Dans un second temps, l'extraction à proprement



parler s'effectue avec un extracteur contenant de l'eau ou un solvant dans lequel le composé recherché est soluble. Un solvant dissout plus facilement un composé qui comporte des groupements fonctionnels identiques ou proches. L'eau et l'éthanol sont des solvants souvent utilisés et peuvent se mélanger. En fonction de la thermolabilité du composé, la température du solvant doit être contrôlée (Poirot R, 2007). Dans ce concept, l'infusion qui est une technique d'extraction par l'eau chaude est évidemment approuvée par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO).

À cet égard, la chromatographie liquide haute performance (HPLC) est la technique la plus communément utilisée pour le dosage des glycosides et plus récemment les colonnes HILIC (Hydrophilic Liquid Interaction Chromatographic) ont été utilisées pour le dosage des glycosides de stéviol (Woelwer-Rieck U, 2012).

## **Chapitre V : Les vertus thérapeutiques de *Stevia rebaudiana***

### **V.1) Stévia et diabète**

En Algérie, on estime que plus de 4 millions (Liberté, 2019) de personnes sont diabétiques et que la majorité concernée sont des adultes diabétiques de type 2. Le diabète est dû à une augmentation du taux de glucose. Il peut présenter certaines complications, notamment s'il n'est pas bien pris en charge. Ce dernier favorise aussi l'apparition de pathologies cardiaques et de signes tels que l'hypertension. Il est donc important de trouver au maximum des aides nutritionnelles pour aider les patients dans leur vie quotidienne en essayant d'éviter ou de retarder le risque de complications sur le long terme de cette pathologie. La Stévia peut, en se substituant au sucre, apporter une réelle aide (Leverrier Z, 2014).

Dans une étude clinique menée sur des volontaires humains sains, les chercheurs montrent que le taux de glucose plasmatique après un traitement par un extrait aqueux de stévia est significativement abaissé.

Ces auteurs ont réalisé des tests de tolérance au glucose chez des sujets adultes avant et après l'ingestion, soit d'extraits aqueux de feuilles de *Stevia rebaudiana* (20g/jour, en prises de 5g à intervalles réguliers de 6 heures) durant une période de 3 jours, soit de (250 mg) d'une solution d'arabinose. Ils ont pu ainsi montrer que la glycémie, mesurée après le traitement à base de stévia, était significativement plus basse dans le groupe de personnes ayant ingéré l'extrait que dans le groupe témoin et ceci à chaque moment du test (Benfares A, 2015) (Voir annexe 6).

### **V.2) Stévia et obésité**

L'épidémie d'obésité associée en syndrome métabolique augmente en prévalence chaque année. Le contrôle de poids est devenu dès lors un objectif indispensable à atteindre pour réduire le risque de développer d'autre pathologie associée (TranC & Jornayvaz F, 2015).

La Stévia pourrait faire partie intégrante des régimes proposés aux personnes en surpoids ou obèses. En effet, elle permettrait de conserver le fameux « goût sucré » mais sans apporter de calories supplémentaires. En tant qu'édulcorant naturel, elle présente l'avantage d'être acalorique (Wagner V, 2012) et elle possède contrairement à tous les édulcorants une possibilité de gérer plus facilement la prise de poids et la sensation de satiété.

### **V.3) Stévia et hypertension**

L'hypertension artérielle est définie par une augmentation de la pression sanguine au niveau artérielle. Cette pression est nécessaire pour que le sang irrigue correctement les organes et permette leur fonctionnement. Plus la pression artérielle est élevée, plus le risque de développer une maladie cardiovasculaire augmente (Tran C & Jornayvaz F, 2015), elle est habituellement accompagné par le diabète de type 2 et d'une dyslipidémie. Une intervention pharmacologique idéale aurait pour but de baisser la pression artérielle ainsi que la glycémie et les lipides, ce que le stéviol possède, donc il semble avoir des effets antihypertenseurs et un fort potentiel pour être utilisé dans le traitement de ces patients en tant qu'accompagnant voir même en les substituant si à l'avenir les études tendent à confirmer ses propriétés (Voir annexe 6).

### **V.4) Stévia et cancer**

Le sucre pose un risque pour la santé en contribuant à environ 35 millions de décès dans le monde chaque année. Ce dernier présente des effets néfastes ne s'arrêtent pas au diabète, syndrome métabolique, à l'hyper-ou hypoglycémie, à l'hypertension, à l'obésité et aux maladies cardiaques. Le sucre et le cancer forment une étroite mortelle (Sircus M, 2013).

Certaines études suggèrent que la stévia pourrait même être utile pour prévenir ou combattre certains cancers. Motohiko Ukiya, Shingo Sawada et al en (2013) ont découvert que les dérivés du glycoside de stéviol avaient un impact toxique sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses. Ceux-ci comprenaient la leucémie, le cancer du sein, du poumon et de l'estomac (Voir annexe 6).

On enregistre aussi d'autres effets thérapeutiques de la stévia :

### **V.5) Activité antibactérienne et antifongique:**

Quatre extraits de solvant différents (acétate d'éthyle, l'acétone, le chloroforme et l'eau) des feuilles de *Stevia rebaudiana* ont été étudiés contre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Aeromonashydrophila* et *Vibrio cholerae*. *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Epidermophyton* espèces ont été utilisés pour tester l'activité anti-fongique.

L'extrait à l'acétone avait un potentiel antibactérien plus efficace que les autres extraits qui étaient actifs contre les espèces *Epidermophyton* et *Candida albicans* (Tomita-Toshio SN et al., 1997).

#### **V.6) Activité antivirale :**

L'activité antivirale (rotavirus) de l'extrait aqueux chaud de *Stevia rebaudiana* a été validée in vitro par (Takahashi et al), en effet la réplication du virus est inhibée par le mécanisme de blocages de toute liaison virus-cellule (TakahashiK et al., 2001).



**PARTIE II :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## **I. Présentation générale du site de prélèvement des échantillons**

A Ghardaïa, la « stévia » est considéré comme particulièrement attractive plus exactement dans la localité de « Oued Metlili » d'où on a apporté notre matériel végétal.

La Wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord du Sahara septentrional. Son chef-lieu est situé à 600 km au Sud d'Alger, ses coordonnées géographiques sont 3.40° de longitude Est et 32.29° de latitude Nord et son altitude est de 530 m (Bouagga A, 2010). Cette région est limitée du côté nord par la Wilaya de Laghouat (200 km), à l'est par la Wilaya de Ouargla (200 km), au sud-ouest par la Wilaya d'Adrar (400 km) et à l'ouest par la Wilaya d'El-Bayadh (350 km) (Merdaoui Z, 2007).

Les caractères du climat saharien sont dus tout d'abord à la situation en latitude, au niveau du tropique, ce qui entraîne de fortes températures, et au régime des vents qui se traduit par des courants chauds et secs (Ozenda, 1991). Le climat saharien est caractérisé notamment par la faiblesse et l'irrégularité des précipitations, une luminosité intense, une forte évaporation et de grands écarts de température (Bouagga A, 2010). Ghardaïa présente une pluviométrie de type saharien avec une moyenne annuelle de 67.37 mm. Le nombre moyen de jours de pluie par an est de 20 à 30. Les vitesses moyennes annuelles du vent sont de (3.1 m/s) à (4.4 m/s) à (10 m) du sol. Les températures moyennes maximales mensuelles varient de 14,9 °C en janvier à 43,2 °C en juillet (maximum enregistré à Ghardaïa : 47 °C) (Merdaoui Z, 2007).

Notre échantillon est issu de la localité de « Oued Metlili » située à 40 km au sud de la wilaya de Ghardaïa. Elle tire son nom de l'oued qui la traverse. Ces oueds furent pour longtemps, la seule ressource hydrique des oasis. Enfin, la région de Ghardaïa présente un grand potentiel agricole avec un sol très riche et un sous-sol renfermant des ressources hydriques importantes ainsi ses conditions climatiques sahariennes xériques constitue une biodiversité naturelle de la flore saharienne.

Notre travail, repose sur un échantillonnage des feuilles de « stévia » récolté dans les champs de « Noumrat » par le précurseur et l'exploiteur agricole Monsieur DAHMANE Abdelkader.



**Figure 3 :** Situation géographique de la région de « Oued Metlili –W.Ghardaïa »  
(Google Map data, 2020).

## II. Méthodes et Techniques utilisées

### II.I) Matériel Végétal :

Le matériel végétal utilisé est la *S. rebaudiana*. Cette espèce a déjà fait l'objet de nombreux travaux scientifiques indiquant qu'elle a un excellent pouvoir sucrant. Moises Santiago Bertoni a dit à propos de son goût : « Lorsque l'on observe cette plante (*Stevia rebaudiana*), rien de particulier ne retient l'attention, mais, lorsque même un petit morceau de feuille est placé dans la bouche, on est impressionné par son goût sucré. Un petit fragment de feuille peut sucrer la bouche pour plus d'une heure». Cela est dû aux glycosides de stéviol : ce sont les édulcorants naturels contenu dans ces feuilles.

Les principaux composants sont : les stéviolosides, les rebaudiosides A, les rebaudiosides C et les dulcosides A.

## II.2) Prélèvement des échantillons

- Les feuilles vertes fraîches de *Stevia rebaudiana Bertoni* (Figure 4) ont été récoltées dans la région d'Oued Metlili (un champ de culture) le (27/08/2019) (Figure 5) se situant dans la wilaya de Ghardaïa.



**Figure 4:** Feuilles fraîches de *S. rebaudiana* (Belhadj H, 2020).



**Figure 5 :** Culture de *S. rebaudiana* dans une exploitation agricole de la localité d'Oued Metlili (Amieur H, 2019).



- Après avoir été triées et séchées à l'air ambiant (Figure 6), les feuilles de la stévia ont été broyées à l'aide d'un tritrateur électrique et sont réduites en poudre (Figure 7).



**Figure 6 :** Feuilles séchées de *S. rebaudiana* (Djezzar W & Rafrac D, 2020).



**Figure 7 :** Poudre des feuilles séchées de *S. rebaudiana* (Rafrac D & Djezzar W, 2020).

- Les échantillons en poudre ont été stockés dans des sacs en polyéthylène à 4°C jusqu'à leur utilisation.

### **II.3) Traitement des échantillons**

Dans le cadre général de l'extraction des glycosides de stéviol, il est intéressant de savoir un peu plus sur ces composants qui donnent tant de douceur et de saveurs agréables à notre goût.

De par ses propriétés gustatives, la Stévia a fait l'objet de nombreuses analyses afin de pouvoir identifier ses molécules édulcorantes. Seuls les glycosides de stéviol sont spécifiques à *Stevia rebaudiana* et sont responsables de son goût sucré.

Le but souhaitable de cette étude consiste à déterminer la meilleure méthode d'extraction. Pour cette fin, deux protocoles expérimentaux ont été retenus pour la réalisation de notre recherche: Une méthode conventionnelle (soit par Infusion) et une autre, moderne (par sonication).

#### **II.3.1) Extraction des glycosides de stéviol par infusion**

Afin d'extraire les glycosides de stéviol à partir de la poudre des feuilles séchées de la *S. rebaudira*, l'élaboration d'un protocole inspiré d'une méthode ancienne que les Guaranis (populations amérindiennes des régions de l'Amérique latine) utilisaient afin d'extraire le sucre et cela en faisant simplement infuser les feuilles de stévia (Wagner V, 2012). Le même procédé a été utilisé pour extraire les glycosides de cette feuille.

Le protocole élaboré s'accroît sur quatre étapes : infusion, filtration, purification et enfin des tests de reconnaissance.

##### **1) Préparation de l'extrait aqueux à 10% : solide –liquide (infusion) :**

- (10g) du matériel végétal sec (feuilles broyées) a été mélangé avec un volume de (100 ml) d'eau distillée chaude (solvant), qui a été maintenu en ébullition pendant 30 min à (70°C) (Figure 8).

##### **2) Filtration :**

- Après refroidissement, la solution obtenue est ensuite filtrée à l'aide d'un buchner et du papier filtre (Figure 9)
- Le processus est répété avec le résidu obtenu 5 fois jusqu'à épuisement total du matériel végétal.



**Figure 8 :** Montage de l'extraction par infusion.

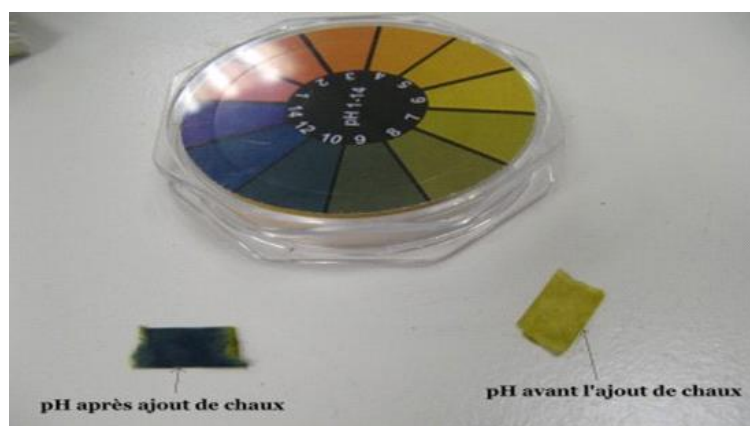


**Figure 9:** Filtration à l'aide d'un buchner.

(Lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).

### 3) Purification :

- Le filtrat obtenu contient de nombreuses particules en suspension. Afin de les éliminer, les étapes suivantes a été réalisé (Avant de réaliser cette étape le pH de la solution a été mesuré à l'aide de papier pH) :
- (1g) d'hydroxyde de calcium (chaux) de formule  $Ca(OH)_2$  ont été pesés puis ajouté à la solution (l'extrait). Celui-ci a précipité, il a un rôle de flocculant pour qu'elles forment de plus grosses particules et qu'elles soient ensuite filtrées.
- Ensuite le pH de l'extrait obtenu a été mesuré : celui-ci est basique (environ 10) alors que le pH de la solution avant l'ajout de chaux était neutre. Donc il faut trouver un moyen de le ramener à 7. Dans ce but, L'ajout de 1g d'acide citrique, couramment utilisé dans l'agro-alimentaire, afin de ramener le pH de la solution à 7.



**Figure 10 :** Papier pH pour mesurer la solution (l'extrait) avant et après l'ajoute de l'hydroxyde de calcium (lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).



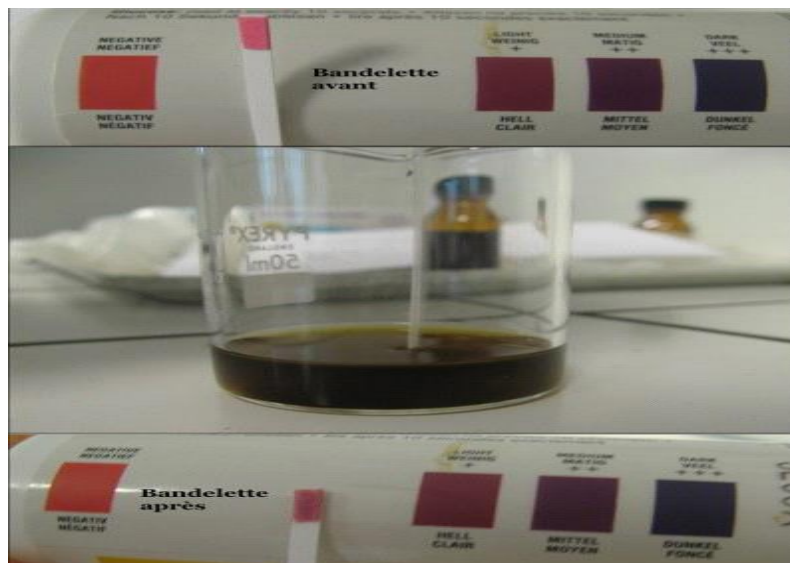
**Figure 11 :** papier pH pour mesurer la solution (l'extrait) avant et après l'ajoute de l'acide citrique (lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).

#### 4- Tests de reconnaissance :

##### ➤ *Glucose :*

- Tout d'abord, à l'aide de bandelettes spéciales réagissant au contact du glucose, une vérification de l'extrait obtenu a été faite.

La bandelette est devenue rose légèrement foncée, indiquant une très légère quantité de glucose, quantité qui sera de toute manière supprimée dans les étapes suivantes de l'extraction industrielle (qui nécessitent du matériel spécifique).



**Figure 12:** Bandelettes réactives au glucose (lycée Sud-Médoc-Gironde-France, 2010).

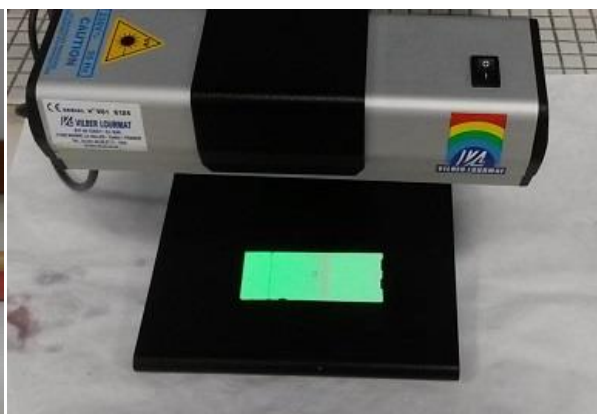
➤ **Glycosides**

Afin de révéler la présence de glycosides (les édulcorants naturels) présents dans la stévia. Une chromatographie a été réalisée de notre extrait avec le protocole suivant:

- Tout d'abord, une préparation de l'éluant sous une hotte ( vapeurs toxiques):  
**Butyl acétate/ méthanol/ eau distillée (15:10:2)** ; soit 15mL de Butyl acétate, (10ml) de méthanol et (2ml) d'eau distillée.
- Puis une préparation de témoin : une solution aqueuse de glycosides de (25 ml) en ajoutant (2,5g) de poudre (contenant 95% de glycosides dont Rebaudioside A, C et stévioides).
- Ensuite préparation de papier a chromatographie (**couche mince de silice**) en déposant une goutte de témoin et une goutte d'extrait à l'aide d'une *micropipette*, puis en fixant le tout à l'aide d'un *sèche-cheveux*. (L'opération a été réalisée en triple).
- Le papier CCM a été placé dans la cuve à chromatographie (Figure13) contenant l'éluant puis recouvrir la cuve et suivre le développement de la migration de l'éluant à travers le papier, on arrête la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur, ensuite le chromatogramme a été séché à l'air libre (Cette étape de chromatographie a été réalisée 2 fois, afin de tester plusieurs révélateurs).
- le papier CCM a été placé sous les rayons d'une lampe UV (Figure 14). Ceux-ci ont révélé la présence de glycosides.



**Figure 13** : cuve à chromatographie.



**Figure 14** : Révélation à l'aide de lampe à UV.

(Djezzar W & Rafrat D, 2020).

### **II.3.2) Extraction assistée par Ultrasons**

Ce procédé correspond à une extraction solide - liquide avec en plus, une agitation provoquée par ultrasons : c'est une sonification, réalisée grâce à un appareil appelé sonicateur qui permet de transformer l'énergie électrique en vibration mécanique longitudinale le long d'une sonde.

De part cette méthode d'extraction, on cherche à faire une comparaison entre les rendements aqueux des deux méthodes d'extraction : infusion et sonication.

Afin d'obtenir l'extrait aqueux qui contient les glycosides de stéviol à partir de la poudre des feuilles de stévia séchée, on procédé comme suit :

- (100g) de matière végétale a été immergé dans (1l) d'eau distillée chaude, est exposée aux ultrasons pendant 30min.
- Ce processus est répété avec le résidu obtenu 5 fois jusqu'à épuisement total du matériel végétal.
- Ensuite, une évaporation est effectuée sous pression dans un rota-vapeur sous une température de (40°C), pour éviter toute dégradation de composés existants dans l'extrait.

A decorative border in a dark green color, featuring intricate floral and scrollwork patterns. It consists of four main curved sections, one on each side, and two horizontal sections at the top and bottom, all connected by smaller decorative elements.

**PARTIE III :**  
**RESULTATS ATTENDUS**  
**ET DISCUSSIONS**

Pour mettre en exécution le plan de notre expérimentation, nous avons tout préparé : notre échantillon (feuilles sèches de stévia), le protocole à suivre, tout allait se réaliser au niveau du laboratoire de notre école supérieure en sciences biologique (ESSBO), mais malheureusement et en raison des conditions du confinement (suite à la propagation de la pandémie Covid-19 dans notre pays, on n'a dû interrompre subitement notre expérimentation.

Or, en ce temps de confinement rien ne nous dit qu'il ne faut pas gérer de telle situation complexe. Donc on a essayé à exprimer fortement notre pratique et notre travail sur un point de vue purement théorique.

D'une part, et tout au long de la partie matériel et méthodes, nous avons essayé de projeter toutes les étapes qu'on aurait dû faire. Cela consistait à enrichir le travail et donner un aperçu global sur notre expérimentation.

D'autre part, la présentation des résultats de notre étude était supposée être comme suit :

Après Extraction (non exécuter), et dans le but d'estimer la composition chimique de **l'extrait final** (glycosides de stéviol), Il a été voulu soumettre nos échantillons à un laboratoire de contrôle de qualité. D'un côté, afin de déterminer le profil chimique de l'extrait final des feuilles de la stévia. Et d'un autre côté, en mettant en évidence le bilan phytochimique de toutes les substances naturelles présentes dans **l'extrait primaire** (l'extrait brut).

Ceci nous mène à une étude comparative et discutable de l'ensemble des constituants présents dans les feuilles de « stévia » collectées dans la région de Ghardaïa.

Ce qui est référencié dans la littérature de d'autres études similaires, et à partir des teneurs révélés, on pouvait savoir si la quantité et la qualité des substances chimiques présentes dans la stévia est similaire ou différente d'une culture à une autre.

On peut englober les résultats probables comme suit :

- Dans un premier lieu, il a été possible de démontrer que **l'extrait finale** que nous avons obtenus contenait peu de glucose mais des glycosides qui sont des édulcorants à l'origine du fort pouvoir sucrant de la feuille de stévia. Cette dernière contient tous ces glycosides : stévioides, rebaudiosides A, rebaudiosides B, rebaudiosides C et les dulcosides A.
- Ensuite, les extraits obtenus et purifiés ne contiennent que les Rebaudiosides A, puisque ce sont ceux qui ont un goût le plus proche au sucre. Cette purification se fait par la séparation de ces glycosides grâce à une Chromatographie liquide haut performance HPLC.



## I. Le bilan phytochimique

### I.1) L'analyse de l'extrait finale :

Il s'agit bien sûr des glycosides de stéviol qui confèrent à la stévia leurs propriétés d'édulcorantes puissantes.

Le stéviol est le plus abondant (>50% des glycosides de stéviol), s'en suit le rébaudioside A (>30% des glycosides de stéviol) qui est également le plus sucrant. Les rébaudiosides B à F, moins abondants, sont plus sucrant que le stéviol. Le dulcoside A est le moins sucrant. Leur concentration dans les feuilles varie de 4 à 20% du poids sec (Rengassamy C, 2015).

Les teneurs des quatre principaux glycosides de stéviol sont normalement les suivantes :

- ✓ stéviol (5-10%)
- ✓ rébaudioside A (2-4%)
- ✓ rébaudioside C (1-2%)
- ✓ Dulcoside A (0,5-1%)

Ces proportions dépendent bien entendu des génotypes utilisés. A l'état naturel les feuilles de *Stevia rebaudiana Bertoni* contiennent entre 5 et 10 % des glycosides de stéviol, selon les conditions climatiques, la saison, etc. L'amélioration des conditions culturales, la sélection variétale, permettent aujourd'hui de disposer de cultures dont les feuilles ont des teneurs en glycosides de stéviol supérieures à 20 %.

A ce propos, le pouvoir sucrant des glycosides de stéviol (évalué en comparaison de celui du saccharose) varie entre 50 et 450 fois celui du sucre. Parmi les glycosides de stéviol, c'est le rébaudioside A qui possède le pouvoir sucrant le plus élevé (350-450 fois) et les meilleures caractéristiques organoleptiques (absence d'arrière-goût et de persistance en bouche) (DGCCRF, 2006).

Ce tableau présente le potentiel « sucrant » des différents glycosides de stéviol ainsi que leurs masses molaires :

**Tableau (1) :** Pouvoir sucrant, masse molaire et formule chimique des glycosides de stéviol  
(Geuns Jan M C, 2011).

Composé	Formule	Masse molaire (g/mol)	Pouvoir sucrant
<b>Stévioside</b>	$C_{20}H_{30}O_3$	804,38	<b>250-300</b>
<b>Rébaudioside A</b>	$C_{44}H_{70}O_{23}$	966,43	<b>300-450</b>
<b>Rébaudioside B</b>	$C_{38}H_{60}O_{18}$	804,38	<b>300-350</b>
<b>Rébaudioside C (Dulcoside B)</b>	$C_{44}H_{10}O_{22}$	950,44	<b>50-120</b>
<b>Rébaudioside D</b>	$C_{50}H_{80}O_{28}$	1128,48	<b>250-400</b>
<b>Rébaudioside E</b>	$C_{44}H_{70}O_{23}$	966,43	<b>150-300</b>
<b>Rébaudioside F</b>	$C_{43}H_{68}O_{22}$	936,42	<b>200</b>
<b>Dulcoside A</b>	$C_{38}H_{60}O_{17}$	788,38	<b>50-120</b>
<b>Stéviolbioside</b>	$C_{32}H_{50}O_{13}$	642,33	<b>100-125</b>
<b>Rubusoside</b>	$C_{32}H_{50}O_{13}$	642,33	<b>200</b>

### I.2) L'analyse de l'extrait primaire :

Depuis les origines de l'homme, les plantes sont utilisées à des fins nutritives mais également médicinales. L'effet médicinal, produisant un effet physiologique sur le corps humain, réside dans la composition chimique des plantes. Ces constituants bioactifs sont en majorité des alcaloïdes, des tanins et des polyphénols (Edeoga H et al., 2005), mais dans la stévia, il y a aussi beaucoup de terpènes et de flavonoïdes.

Les substances phytochimiques présentes sont entre autres, l'austroïnuline, le  $\beta$ -carotène, le dulcoside, la niacine, la riboflavine, le stéviol, le stévioside, la thiamine, etc. (Jayaraman S et al., 2008).

On estime qu'il s'agit des constituants représentés ci-dessous :

**Tableau (2) :** Composition proximale des feuilles de Stévia (Manish T & Rema S, 2006).

Composants	Teneur (g%)
<b>Protéines</b>	20,42 ± 0,57
<b>Glucides</b>	35,20 ± 1,26
<b>Lipides</b>	4,34 ± 0,02

La teneur totale en protéines dans les feuilles de stévia se situe autour de (10 à 20 g/100 g) de matière sèche (Sic Zablur J et al., 2013), ce qui en fait une bonne source protéique. Les acides aminés rencontrés chez *S. rebaudiana* sont au nombre de dix-sept (17), dont neuf (9) sont des acides aminés essentiels (Arginine, Lysine, Histidine, Phénylalanine, Leucine, Méthionine, Valine, Thréonine, Isoleucine) et huit (8) acides aminés non essentiels (Aspartate, Serine, Acide Glutamique, Proline, Glycine, Alanine, Cystéine, Tyrosine) (Abou-Arab AE et al., 2010), ce qui fait d'elle une bonne source nutritive.

La stévia est une bonne source nutritionnelle de glucides puisqu'elle en contient (35 à 62 g/100 g) de matière sèche (Sic Zablur J et al., 2013), D'après (Braz de Oliveira et al., 2011), les stéviosides et rébaudiosides, possèderaient des propriétés fonctionnelles importantes notamment sur le contrôle du diabète.

L'homme n'est pas capable de synthétiser tous les lipides dont il a besoin, il doit donc avoir un apport extérieur. La stévia peut répondre à ce besoin, car dans l'huile de ses feuilles six acides gras ont été identifiés (Tableau 3). Parmi ces acides gras, il y a une forte concentration en acide linoléique, cette valeur élevée peut contribuer à maintenir un rapport d'acide gras idéal dans le régime alimentaire humain (Lesniarek J, 2015).

**Tableau (3) :** Composition en acide gras de l'huile de feuille de *Stevia rebaudiana*  
(Lemus-Mondaca R et al., 2012).

Acides gras	g/100 g
Acide palmitique (C16)	27,51
Acide palmitoléique (C16-1)	1,27
Acide stéarique (C18)	1,18
Acide oléique (C18-1)	4,36
Acide linoléique (C18-2)	12,40
Acide linoléique (C18-3)	21,59

**Tableau (4) :** Vitamines hydrosolubles extraits des feuilles de *Stevia rebaudiana*  
(matière sèche) (Kimi IS et al., 2011).

Vitamines	Feuilles (mg/100 g)
Vitamine B1 (Thiamine)	0,00 ± 0,00
Vitamine B2 (Riboflavine)	0,43 ± 0,02
Vitamine B3 (Niacine)	0,00 ± 0,00
Vitamine B6	0,00 ± 0,00
Vitamine B9 (Acide folique)	52,18 ± 0,21
Vitamine C (Acide L-ascorbique)	14,98 ± 0,07

Une étude menée par (Kimi IS et al en 2011), détermine les concentrations des vitamines hydrosolubles extraites des feuilles de stévia (Tableau 4). Les résultats montrent que trois vitamines sont présentes (vitamine B2, B9 et C), dont deux d'entre elles sont en proportion beaucoup plus élevée dans les feuilles. De plus, la vitamine la plus présente dans les feuilles est la vitamine B9.

- **Composition en flavonoïdes** : Huit flavonoïdes ont été isolés à partir des feuilles de Stévia:

**Tableau (5)** : Les Flavonoïdes isolés à partir des feuilles de Stévia (Cario Franck, 2002).

• <b>Glucosyl-3-O-quecétine</b>	• <b>Arabinosyl-3-O-quecétine</b>
• <b>Quercirtine</b>	• <b>Rhamnosyl-3-O-kaempférol</b>
• <b>Flavonemétoxylé en 5, 7, 3'</b>	• <b>Glucosyl-4'-O-apigénine</b>
• <b>Flavonemétoxylé en 3, 6, 4'</b>	• <b>Glucosyl-7-O-lutéoline</b>

- **Composition en huiles essentielles** : Huit huiles essentielles sont retrouvées dans les feuilles de Stévia:

**Tableau (6)** : Les huiles essentielles retrouvées dans les feuilles de Stévia d'après les travaux de (Manish T & Rema S, 2006 ;Cario Franck, 2002).

• <b><math>\beta</math>-caryophyllène</b>	• <b><math>\alpha</math>-humulène</b>
• <b>trans <math>\beta</math>-tarnesène</b>	• <b>caryophyllèneoxyde</b>
• <b>nérélidol</b>	• <b>linalol</b>
• <b><math>\alpha</math>-terpinèol</b>	• <b>terpinène-4-o</b>

- **La composition phytochimique** : des feuilles de stévia est présentée dans le tableau ci-dessous. Parmi les dérivés stéroliques, on peut citer le stigmastérol, le  $\beta$ -sitostérol et le campestérol (Manish T & Rema S, 2006).

**Tableau (7) :** Composition phytochimique des feuilles de Stévia.

Constituants	Concentration
<b>Tanins</b>	++++
<b>Alcaloïdes</b>	+++
<b>Glycosides cardiaques</b>	++
<b>Saponines</b>	++
<b>Stérol et Tri-terpène</b>	++
<b>Antraquinones</b>	+
<b>Glycosides cyanogéniques</b>	-

- › Concentration très forte : +++++
- › Concentration élevée : +++
- › Concentration moyenne : ++
- › Concentration faible : +
- › Résultat négatif : -

Il a été démontré dans l'étude de Zehra Can et Nimet Baltas (2016) et de François N. Muanda et al (2011), que la plante *Stevia rebaudiana* est non seulement riche en glycosides de stéviol, mais aussi par une puissance antioxydant naturel et anti-inflammatoire et même antimicrobiennes dû aux flavonoïdes, les huiles essentielles et les tanins.

Signalant finalement, que la composition quantitative de *S. rebaudiana* peut varier d'une culture à une autre, alors que la composition qualitative n'est pas modifiée. Il est souvent reporté que les variations relatives aux différentes méthodes de cultures (composition du sol, ensoleillement, irrigation, récolte...), entraînent une variation sur la teneur en molécules d'intérêt, la composition chimique restant invariée (Lesniarek J, 2015). Toutefois, l'environnement est l'acteur prépondérant dans les variations de quantité de glycosides de stéviol, mais de nombreux autres critères interviennent (Aboudrare Abdellah, 2009 ; Ceunen S & Geuns JMC, 2013 ; Oddone B, 1999 ; Periche A et al., 2015 ; Yang Yet al., 2015 ; Ceunen S et al., 2012) :

- ✓ La photopériode : plus elle est longue, plus la quantité de glycosides sera importante,
- ✓ L'âge : une plante jeune contient moins de glycosides qu'une plante plus âgée,
- ✓ Le moment de récolte : la concentration en glycosides diminue pendant la période de floraison,
- ✓ Le climat, le sol, l'irrigation, variété...

## II. Extraction des glycosides de stéviol par infusion

La plupart des technologies récentes d'extraction des glycosides de stéviol commencent par une infusion comme extraction primaire, pour cette première étape, de nombreux paramètres différents ont été testés en laboratoire comme : le ratio plante-solvant, le type de solvant, la température et le temps de l'infusion qui sont des paramètres essentiels pour optimiser le rendement d'extraction (Ursula W-R, 2018).

Tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide). En effet, à taux de solide donné, la surface de contact entre le solide et le liquide augmente lorsque la taille de la particule diminue à travers l'augmentation de la surface spécifique (Mohammad Mounir, 2007). Alors, l'utilisation de Stevia se forme de poudre permet de faciliter le contact entre le solvant et les glycosides de stéviol ce qui accélère leur dissolution.

**Tableau (8):** Différentes conditions opératoires pour l'extraction des glycosides de stéviol (Steviol glycoside extraction from *Stevia rebaudiana* using different methods) (Ursula W-R, 2018).

Authors	Date	Temp. (°C)	Infusion time	Solvent-liquid ratio	Particle size (µm)	Solvent
Liu <i>et al.</i>	1997	64	7 h	ND <sup>a</sup>	ND	Methanol
Pasquel <i>et al.</i>	2000	25-100	1 h	20	ND	Water
Erkucuk <i>et al.</i>	2009	78-100	2 cycles (Soxhlet)	10	500	Water-methanol
Jaitak <i>et al.</i>	2009	Ambient	12 h	100	250	Methanol-water 80: 20
Teo <i>et al.</i>	2009	100	1 h	300	500	Water
Liu <i>et al.</i>	2010	100	2 h	10	1000	Water
Rai <i>et al.</i>	2012	78	56 min	14	ND	Water
Lorenzo <i>et al.</i>	2014	100	30 min	42	Not grinded	Water
Das <i>et al.</i>	2015	71	51 min	40	ND	Water
Periche <i>et al.</i>	2015	50	5 min	100	ND	Water

<sup>a</sup>ND = not communicated.

Dans la littérature, plusieurs solvants sont retrouvés polaires ou non (Afandi A et al., 2013). D'emblée, il paraît logique que les solvants polaires seront préférés aux solvants apolaires, car les glycosides sont des molécules polaires. Parmi les solvants polaires, la famille des alcools est la plus étudiée, notamment une molécule, le méthanol. Seul ou en association, le méthanol offre de bons résultats d'extraction. Abou-arab et al (2010) comparent

les rendements d'extraction entre l'eau, le méthanol et le mélange eau - éthanol. L'étude révèle que le méthanol extrait mieux les stévioides qu'une extraction à l'eau.

Cependant, la pureté en stévioides est plus faible pour l'extraction au méthanol qu'à l'eau. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Jaroslav et al. (2007). Les conclusions pour le mélange eau - méthanol sont les mêmes. Ainsi, les meilleurs rendements en stévioides sont obtenus avec l'extraction au méthanol, suivi de l'extraction au mélange eau - méthanol puis l'extraction à l'eau. En revanche, cet ordre est inversé quand il s'agit de pureté de l'extrait en stévioides (Voir annexe 3).

**Tableau (9) :** Rendement de l'extraction et pureté de l'extrait en stévioides en fonction du solvant utilisé.

Solvant	Rendement d'extraction	Pureté de l'extraction en stévioides
<b>Eau</b>	+	+++
<b>Eau-méthanol</b>	++	++
<b>méthanol</b>	+++	+

*Plus il y a de '+', plus le critère est élevé*

Afandi et al. (2013) s'intéressent également à l'eau, au méthanol et au mélange de ces deux en tant que solvant, mais contrairement aux études précédentes, c'est dans l'extraction du rébaudioside A. Leurs résultats montrent que similairement au stévioides, les rendements d'extraction sont meilleurs lorsque le méthanol est utilisé.

Afin d'obtenir des rendements plus élevés en glycosides de stéviol, les feuilles de stévia peuvent être prétraitées avec des solvants apolaires comme le chloroforme ou l'hexane pour enlever les huiles essentielles, les lipides, la chlorophylle et d'autres substances apolaires (Afandi et al., 2013).

Rai et al. (2012) étudient également un procédé d'extraction des glycosides de stéviol, ils firent varier le ratio [feuilles – eau] (1:5 à 1:20), ils jouent également sur la température (30 à 90°C) et le temps de contact (10 à 120 min). Ils obtiennent des conditions optimales d'extraction correspondant à une température de (78°C) pendant un temps de (56 min) avec un ratio [feuilles – eau] de (1:14 m/v). À ces conditions, la quantité de stévioides extraite est de (10,45 g/100 g) de feuilles sèches.



De plus, la température joue un rôle prépondérant. Bien que les glycosides de stéviol soient des composés thermostables et relativement polaires (Teo CC et al., 2009 ; Erkucuk Aet al., 2009), quand la température augmente à (150°C), les rendements diminuent considérablement. Cela serait le fait qu'à température modérée, l'eau solubiliserait plus les composés polaires et à haute température elle solubiliserait plus les composés non polaires (Yildiz-Ozturk E et al., 2014).

Les paramètres influençant de manière significative les propriétés de transfert et donc la qualité d'extraction sont principalement la température, le temps de contact et le type de solvant, car ils jouent un rôle important sur des paramètres physico-chimiques tels que la viscosité, la tension superficielle ou encore la diffusivité (Yildiz-Ozturk E et al., 2014 ; Jentzer JB et al., 2015).

### **III. Extraction assistée par Ultrasons :**

Selon l'étude de Benfares A (2015), Le calcul du rendement de cette méthode, par rapport au poids total de la poudre des feuilles montre que le stévia a donné une masse en extrait sec de (18.63g/100g).

De la part de la sonication, l'effet mécanique de la cavitation ultrasonique augmente le contact de surface entre les solvants et les échantillons et la perméabilité des parois cellulaires. Les propriétés physiques et chimiques des matériaux soumis aux ultrasons sont altérées et perturbent la paroi cellulaire végétale, faciliter la libération des composés et améliorer le transfert de masse des cellules végétales au solvant.

#### **IV. Comparaison entre les deux méthodes**

La plupart des études consultées déclare l'efficacité de la technique d'extraction assistée par ultrasons aux techniques classiques telles que le Soxhlet ou la macération ou l'infusion...etc. Pour extraire les composés actifs de diverses matières végétales.

A cet effet, l'extraction par sonication est une technologie simple et relativement peu coûteuse qui peut être utilisée à la fois dans les petits et les grandes échelles d'extraction phytochimique. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. L'utilisation des ultrasons permet aussi d'effectuer des changements dans les conditions d'opération telles que diminuer la température ou la pression, contrairement à certaines techniques classiques. Ainsi, le temps requis avec cette méthode est largement inférieur au temps nécessaire pour obtenir un rendement identique par macération au solvant, par infusion ou par extraction au Soxhlet (Wang L et al., 2006).

L'analyse des composantes d'extraits bruts effectuée par l'étude de Liu et al. (2010) a révélé que la quantité relative de rébaudioside A augmenté dans les extraits assistée par ultrasons par rapport aux extraits obtenus par le procédé classique, et les extraits assistée par ultrasons à meilleure qualité.

Selon la littérature, la sonication a simultanément amélioré le processus d'hydratation et de gonflement, tout en facilitant de masse des constituants solubles vers le solvant d'extraction (Annegowda H et al., 2012).

Ce qui nous a permis de conclure que l'extraction assistée par ultrason permettent d'améliorer les d'extraction existants en raison des avantages qu'ils offrent dont un temps d'extraction plus court, une température d'extraction modérée ce qui est un bénéfice pour les composés sensibles à la chaleur (Pradal D, 2016).



**CONCLUSION**

## Conclusion

Le sucre fait partie de notre alimentation quotidienne et est indispensable à la vie. Cependant, nous savons également que la consommation de sucre entraîne une dépendance, ce qui fait que l'on en mange de plus en plus. Une consommation excessive de ce dernier entraîne de nombreux troubles, dont le diabète, l'obésité, des réactions inflammatoires, certaines formes de cancers, une pression artérielle élevée.....etc.

Depuis ces vingt dernières années, pour pallier ces problèmes sans supprimer le goût des denrées alimentaires, des édulcorants intenses, en particulier l'aspartame, l'acésulfame-k et la saccharine ont commencé à se substituer au sucre. Toutefois, les problèmes sanitaires sont encore présents et ne cessent d'augmenter, engendrant des désagréments de santé considérables. Mais depuis 2011, les glycosides de stéviol ont fait une entrée remarquable dans le monde.

En tant que biotechnologistes, il est intéressant de tenir compte du potentiel nutritionnel de cette herbe sucrée du Paraguay : *Stevia rebaudiana Bertoni*, afin de satisfaire les besoins d'un secteur agroalimentaire en pleine évolution, et apporter aux industriels de nouveaux procédés visant à l'amélioration qualitative des produits alimentaires transformés et l'innovation de nouveaux produits naturels à base de stévia ( le produit signifie plutôt « sucrer sans calories »).

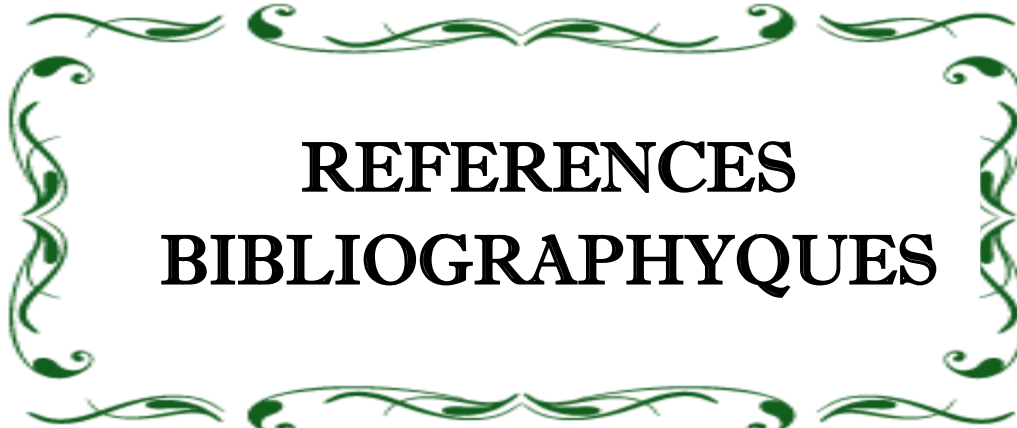
En effet, aujourd'hui, les patients diabétiques ou en surpoids sont demandeurs de ces produits naturels, non pas comme traitements potentiels, mais afin d'adoucir leur régime et ne pas se priver de tout goût sucré. Nous espérons voir un jour le stévioloside et le rébaudioside A dans le marché Algérien, en tant que principes actifs de spécialités anti-diabète ou anti-hypertenseur, anti-cancérogènes .....etc.

D'autre part, dans ce travail, nous avons voulu évaluer l'état des connaissances concernant la *Stevia rebaudiana*, les multiples bénéfices de l'usage de cette dernière ainsi que ses avantages à l'échelle thérapeutique par rapport aux autres édulcorants.

Par ailleurs, il existe une grande variété de techniques d'extraction pour l'isolement optimal des glycosides de stéviol à partir des feuilles de stévia. Cependant, la plupart de ces techniques nécessitent un équipement spécifique et / ou des conditions de travail coûteuses. Les méthodes proposées dans ce travail (l'infusion et la sonication) sont faciles à appliquer, à faible coût, et est respectueuse de l'environnement. Selon la littérature l'extraction par

sonication présente des meilleurs résultats et le rendement est toujours supérieur à celui obtenu par l'infusion.

Enfin, La substitution du sucre par la stévia représente une des solutions, mais elle doit être complétée par une éducation de la population, une modification de l'alimentation, une activité physique et une responsabilisation personnelle. Pour le plus grand bien de notre santé.

A decorative border in a dark green color, featuring symmetrical, flowing floral and scrollwork patterns that frame the central text.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHYQUES**

Abou-Arab,AE., Abou-Arab, AA., Abu-Salem, MF. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana*Bertoni plant. *Afr. J. Food Sci*, 4, 269-281. <http://www.academicjournals.org/ajfs>

Aboudrare, A. (2009). Une nouvelle plante sucrée au Maroc *Steviarebaudiana* Exigences, techniques culturelles et potentialités. Bulletin mensuel d'information et de liaison du *PNTTA*, 174, 1-6.[https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta\\_174.pdf](https://www.agrimaroc.net/bulletins/btta_174.pdf)

Abudula, R., Jeppesen,PB., Rolfsen, SED., Xiao, J., Hermansen, K. (2004). Rebaudioside A potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: studies on the dose-, glucose-, and calcium-dependency. *Metabolism*, 53(10), 1378–1381. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2004.04.014>

Académie de Rouen.(20 janvier 2010). *HPLC Principe et appareillage*. [En ligne].Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine. Cours, 11p. Consulté le 7/05/2020 sur : <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9>.

Afandi, A., Sarijan, S., Shaha, Rk. (2013). Optimisation of rebaudiosideA extraction from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and quantification by high performance liquid chromatography analysis.*Journal of Tropical Resources and Sustainable Science*,1,62-70. <http://umkeprints.umk.edu.my/id/eprint/1714>

Annegowda, H., et al. (2012). Effect of extraction techniques on phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Bauhinia purpurea*: HPTLC determination of antioxidants. *Food analytical methods*, 5(2): p. 226-233. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9228-y>

APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161.<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>

Apisariyakul, A., Dhampipit, J., Sinchaisri, T., Rujanavet, C., Chaipompatana, S., Kuntamuangli, N., et al. A pharmacological study of stevioside from stevia. In: Suttajit, M., Apisariyakul, A., Buddhasukh, D., Sukehotiratana, M., Chokethaworn, N., Monosroi, A.,et al. (Mai 1991). *Stevia Research, Proceedings from the First Stevia Research Symposium*. Thailand: Chiang. 72-86.

A.P.S (Algérie Press Service). (2015). *Plantes aromatiques et médicinales en Algérie: une marche potentielle non structurée*. Université Mohamed khider-Biskra Faculte des Sciences de la Nature et de la vie. Exacts et de la vie .Département des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinale des Aurès.

Consulté sur : [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Association des professionnels de santé pour une alimentation responsable (APSARes).(2008). *Alimentation et santé publique : un constat inquiétant*. In : site d'information [En ligne]. Consulté le (1/05/2020) sur :<<http://www.information.info/image-sante-notre-alimentation-est-elle-la-cause-de-nos-maladies>>

Avis de l'AFSSA relatif à une autorisation provisoire, pour une durée de deux ans, d'emploi de steviol, extraits de *Steviarebaudiana*, en tant qu'édulcorant en alimentation humaine dans le cadre de l'article 5 de la directive 89/107/CEE. Saisine n° 2006-SA-0231. 2007.

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, volume 17, p 426-436.<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

Babulka, P. (2007). *Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne* : Hongrie (139p).

Consulté sur : [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Barbet-Massin, C. (2015). *Sélectionner et cultiver Stevia rebaudiana Bertoni en milieu tempéré: exploration de la variabilité de la teneur et de la composition en glycosides de steviol*. Doctoral dissertation.Institut National Polytechnique de Toulouse. Consulté sur :<http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00003080/>



Benabdallah H. (2015-2016). *Techniques d'extraction, de purification et de conservation*. Consulté le (7/05/2020) sur : <https://fsnv.univsetif.dz/telecharger/polycopie/benabdallah%20hassiba.pdf>.

Ben Amor, B. (2008). *Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC)*. Doctoral dissertation. Université de La Rochelle, Français. Consulté sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00399131/>

Benayad, N. (2008). *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des alimentaire stockées*. Mém master II : Univ Rabat Maroc ,113p. Consulté sur : <http://www.unesco.org/mab/doc/mys/2007/FinalReportMOR.pdf>

Benfares, A.(2015). *Etude chimique et activité antioxydante de Steviarebaudiana*. Mémoire de Master Sciences et Techniques. Faculté des Sciences et Techniques - Fès. Consulté sur : [http://memoirepfe.fst-usmba.ac.ma/get/pdf/Etude%20chimique%20et%20activite%20antioxydante%20de%20Stevia%20Rebaudiana%20-%20BENFARES%20Aziza\\_2816.pdf](http://memoirepfe.fst-usmba.ac.ma/get/pdf/Etude%20chimique%20et%20activite%20antioxydante%20de%20Stevia%20Rebaudiana%20-%20BENFARES%20Aziza_2816.pdf)

Benhouhou, S. (2015). *A brief over view on the historical use of medicinal aromatics of Algeria* consulté. Université Mohamed khider-Biskra Faculte des Sciences de la Nature et de la vie. Exacts et de la vie .Département des sciences Agronomique, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région médicinale des Aurès. Consulté sur : [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Boeckh,EMA., Humboldt, G. (1981). Efeitoscardiocirculatorios do extratoaquoso total em individuos normais e do esteviosideoemratos. CiencCult, 32, 208–210.

Bouacherine, B., Hafidha, R.(2017). *Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de BEN SROUR (M'sila)*. Ph.Ddiss. Université de m'sila. Consulté sur : <http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/handle/123456789/1472>

Bouagga, A. (2010). *Contribution à l'étude des modes d'exploitation et de gestion des parcours camelins en milieu saharien (cas de la région du Ghardaïa)*. PhDdiss.

Consulté sur : <https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/4569>

Boucheloukh, H. (s. d). *Méthodes d'Analyses Chromatographiques*. [En ligne]. Université de Jijel Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique. Cours, 115p.

Consulté le (7/05/2020)

sur ::[http://elearning.univjijel.dz/elearning/pluginfile.php/8209/mod\\_resource/content/1/cours%20boucheloukh.pdf](http://elearning.univjijel.dz/elearning/pluginfile.php/8209/mod_resource/content/1/cours%20boucheloukh.pdf) .

Brahmachari, G., Mandal, C., Roy, R., Mondal, S., Brahmachari, A.K. (2011). Stevioside and related compounds – molecules of pharmaceutical promise: a critical overview. *Arch Pharm*, 344, 5-19. <https://doi.org/10.1002/ardp.201000181>

Brandle, J.E, Telmer, P.G.(2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68, 1855-1863. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.010>

Braz De Oliveira, AJ., Correia, Goncalves, RA., Cantuaria, Chierrito, TP., Muller Dos Santos M., Mera DeSouza, L., Gorin, P.A.J., et al. (2011). Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Food Chemistry*, 129, 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.057>

Bridel. M., Lavieille, R. (1931). Le principe à saveur sucrée du Kaà-hê-é (*Steviarebaudiana*) Bertoni. *Bulletin de la Société Chimique et Biologique*, 13, 636-655.

Can Zehra and Nimet Baltas. (2016). "Bioactivity and enzyme inhibition properties of *Stevia rebaudiana*." *Current Enzyme Inhibition* 12(2), 188-194. <https://doi.org/10.2174/1573408012666160402001925>

Cario, F. (2002). ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DES SCIENCES, DE L'INFORMATION ET DES BIBLIOTHÈQUES .Rapport de recherche bibliographique – *Steviarebaudiana Bert.*

Consulté sur : <http://enssibal.enssib.fr/bibliotheque/documents/dessid/rrbcario.pdf>

Carole, F.(9 janvier 2020). *Meet Stevia Rebaudiana: The Plant Behind the Hype*. In: site of Here By Design [En ligne].

Consulté le (1/05/2020) sur : <<https://www.herebydesign.net/meet-stevia-rebaudiana-the-plant-behind-the-hype/>>

Ceunen, S., Geuns, J.M.C. (2013). Spatio-temporal variation of the diterpenesteviol in *Stevia rebaudiana* grown under different photoperiods. *Phytochemistry*, 89, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.01.007>

Ceunen, S., Werbrouck, S., Geuns, J.M.C. (2012). Stimulation of steviol glycoside accumulation in *Stevia rebaudiana* by red LED light. *Journal of Plant Physiology*, 169, 749-752.

Chabrier, Jean-Yves. (2010). "*Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*". Doctoral dissertation. UHP-Université Henri Poincaré.

Disponible sur : <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739123>

Chatsudthipong, V., Muanprasat, C. (2009). Stevioside and related compounds : Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics*, 121(1), 41-54. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.09.007>

Chemat, F. (2014). *Eco-extraction du végétal: Procédés innovants et solvants alternatifs*. Dunod, 322 p, 1-26 et 91-117.

Chenier, J., Billa, M., Gautronneau, C. (29 décembre 2010). *Les recettes de la stévia- Découverte de la stévia : tout savoir sur ses origines, son extraction, sa commercialisation et ses usages dans la vie quotidienne*. In : site Overblog [En ligne].

Consulté le (16/06/2020) sur : <http://recettes-stevia.over-blog.com/>

Chen, T.H., Chen, S.C., Chan, P., Chu, Y.L., Yang, H.Y., Cheng, J.T. (2005). Mechanism of the hypoglycemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*. *Planta Med*, 71(2), 108-113. <https://doi.org/10.1055/s-2005-837775>

Combette, P., Roudil, D., Despaux, G. (2001). Emulsion characterisation by focused ultrasonic waves. *Ultrasonics*, volume 39 (5), 329-334.

[https://doi.org/10.1016/S0041-624X\(01\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0041-624X(01)00067-1)

Debnath, M. (2008). Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 45-51.

Consulté sur : <http://www.academicjournals.org/JMPR>

Destinataire : Direction Générale de la Consommation de la Concurrence et de la Répression des Fraudes, DGCCRF. (2006). Steviol glycosides Extrait de *Steviarebaudiana* Bertoni. Disponible sur : <http://www.stevia-natura.fr/upload/editorHTML/File/Textes/Dossier%20Steviol%20glycosidesV4.pdf>

Edeoga, H., Okwu, D., Mbaebie, B. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4, 685-688. <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3127>

Erkucuk, A., Akgun, Yesil-Celiktas, O. (2009). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves : identification and optimization. *J. Supercritical Fluids*, 51, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.07.002>

Food and Agriculture Organization. *Steviol glycosides*. 5p. [Enligne].

Consulté le (08/06/2020) sur <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa/additives/specs/monograph1/additive-442.pdf>

Fournier, P. (1948). *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Editeur Paul Le chevalier. Tome II. 504 pages. Pages 286 à 291.

Geuns, J.M.C. (2011). *La Stévia et les glycosides de stéviol – Rien que la vérité sur la stévia ou la politique mise à nu*. Editions Euprint

Geuns, J.M.C. (2003). *Stevia rebaudiana, a sweetsimple story*. NVGO Congres: Gezondheidsbevorderende voedingsmiddelen, Veldhoven (NEDERLAND), Consulté sur : <http://bio.kuleuven.be/biofys/ESC/French/SafetyStevia.htm>

Geuns, J. (2003). Stevioside. *Phytochemistry*, 64, 913-921. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00426-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00426-6)

Giuffré, L., Romaniuk, R., Ciarlo, E. (2013). *Stevia, ka'ahe'e, wild sweet herb from south America - An overview*. *Emir. J. Food Agric*, 25, 746-750. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i10.16405>

Goettemoeller, J., Ching, A. (1999). *Seed germination in Stevia rebaudiana*. In: J. Janick (ed.), Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, 510-511. Disponible sur: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.408.4135&rep=rep1&type=pdf>

Helliwell, C.A., Sullivan J.A., Mould R.M., Gray J.C., Peacock W.J., Dennis E.S. (2001). A plastid envelope location of Arabidopsis ent-kaurene oxidase links the plastid and endoplasmic reticulum steps of the gibberellins biosynthesis pathway. *Plant J*, 28, 201-208. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01150.x>

Huches, J., Huches, M.A. (1994). Multiple secondary plant product UDP-glucose glucosyltransferases genes expressed in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cotyledons. *DNA Seq*, 5, 41-49. <https://doi.org/10.3109/10425179409039703>

Humboldt, G., Boech, EM. (1977). Efeito do edulcorante natural (stevioside) e sinte' tico (sacarina) sobre o ritmocardiacoenratos. *Arq Bras Cardiol*, 30, 257-277.

Jaroslav, PL., Elena, V., Ostr, Pl., Karsek, Mr., Karolnka, B., Pavla, K., et al. (2007). Comparison of two different solvents employed for pressurized fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: methanol versus water. *Anal. Bioanalytical Chem*, 388, 1847-1857. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1404-y>

Jayaraman, S., Manoharan, M., Illanchezian, S. (2008). In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 1143-1149. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i4.14700>

Jentzer, J.B., Alignan, M., Vaca-Garcia, C., Rigal, L., Vilarem, G. (2015). Response surface methodology to optimise Accelerated Solvent Extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Food Chemistry*, 166, 561-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.078>

Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Poulsen, C.R., Hermansen, K. (2000). Stevioside acts directly on pancreatic  $\beta$ -cells to secrete insulin; Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive  $K^+$  channel activity. *Metabolism* 49 (2), 208-214. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)91325-8](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)91325-8)

Jeppesen, P.B., Gregersen, S., Rolfsen, S.E.D., Jepsen, M., Colombo, M., Agger, A., Xiao, J., Kruhøffer, M., Ørntoft, T., Hermansen, K. (2003). Antihyperglycemic and blood

pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism* 52:372–378. <https://doi.org/10.1053/meta.2003.50058>

Jooken, E., Amery, R., Monballiu, A., Boudewijn, M. (2013). *Correlation between Structure and Taste of Steviol Glycosides: Some Preliminary Results*. In: Geuns, J.M.C. (Ed.), Proceedings of the 7th Stevia symposium, organised by E,USTAS 2013 – Knowledge on tour in Europe, Heverlee, 85-93p. Consulté sur: <https://lirias.kuleuven.be/1664976?limo=0>

Kennelly, Edward, J. (2002). Sweet and non-sweet constituents of Stevia rebaudiana. Dans : KINGHORN A.D. Stevia : The genus Stevia. London, Taylor & Francis. *Chemistry*, 68-86. <https://doi.org/10.1201/9780203165942-12>

Kimi, I.S., Yang, M., Lee, O.H., Kang, S.N. (2011). The antioxidant activity and the bioactive compound content of Stevia rebaudiana water extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1328-1332. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.003>

Kinghorn, A.D., Soejarto, D.D. (2002). Discovery of terpenoid and phenolic sweeteners from plants. *Pure Appl Chem*, 74(7), 1169–1179. <https://doi.org/10.1351/pac200274071169>

Koyama, E., Kitazawa, K., Ohori, Y., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A., Ui, M. (2003). In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food Chem Toxicol*, 41, 359-374. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00235-1)

Kunzelman, J.I., Durako, M.J., Kenworthy, W.J, Stapleton, A., Wright, J.L. (2005). Irradiance-induced changes in the photobiology of *Halophilajohnsonii*. *Marine Biology*, 148(2), 241. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0070-x>

Laborde, J-L., Bouyer, C., Caltagirone, J-P., Gérard, A. (1998). Acoustic bubble cavitation at low frequencies. *Ultrasonics, volume 36*, 1–5, 589-594. [https://doi.org/10.1016/S0041-624X\(97\)00105-4](https://doi.org/10.1016/S0041-624X(97)00105-4)

Lardry, J-M., Haberkom, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la Revue*, 61:14-7. [https://doi.org/10.1016/S1779-0123\(07\)70308-X](https://doi.org/10.1016/S1779-0123(07)70308-X)

Lemus-Mondaca, R., Vega-Galvez, A., Zura-Bravol, Ah-Hen, K. (2012). Stevia Rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener : A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132, 1121-1132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>

Leng, Pengfei, Zhiming Zhang, Guangtang Pan, and Maojun Zhao. (2011). "Applications and development trends in biopesticides." *African Journal of Biotechnology* 10(86): 19864-19873. <https://doi.org/10.5897/AJBX11.009>

Lesniarek, J. (2015). *Steviarebaudiana B: Réels enjeux de santé publique ou campagne marketing ?*. Thèse de doctorat : Pharmacie : université Joseph Fourier Faculté De Pharmacie De Grenoble, 192p. Consulté sur : <https://pdfs.semanticscholar.org/7c96/a57cd06833cc90195f9ce8de4a2f5c159c3e.pdf>

Leverrier, Z. (2014). *La Stévia : Une plante révolutionnaire dans le paysage des édulcorants actuels ?*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université claudobernard-Lyon 1, n°140, 173p. Consulté sur : <http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Liberté. (29-05-2019). *L'Algérien consomme 30 kg de sucre par an !*. In : site de Liberte-Algerie [En ligne]. Consulté le (28/04/2020) sur : <<https://www.liberte-algerie.com/radar/lalgerien-consomme-30-kg-de-sucre-par-an-316894>>

Liu Jie, Li, Jin Wei, Tang, Jian . (2010). l'extraction des ultra-sons assisté glucides totaux de Steviarebaudiana Bertoni et l'identification des extraits. *Aliments et Bioproduits Traitement* 88 /2-3. 215- 221.

Liu, S., Manson, J.E. (2001). Dietary carbohydrates, physical inactivity, obesity, and the "metabolic syndrome" as predictors of coronary heart disease. *Curr. Opin. Lipidol.*, 12, 395–404. <https://doi.org/10.1097/00041433-200108000-00005>

Manish, T., Rema, S. (Mai-Juin 2006). Preliminary studies on Stevia rebaudiana leaves : Proximal Composition, Mineral analysis and Phytochemicals screening . *J. Med. Sci*, 6 (3), 321-326. <http://dx.doi.org/10.3923/jms.2006.321.326>

Mark, S. (27 fév 2013). *CANCER ET SUCRE – STRATÉGIE POUR AFFAMER LE CANCER*. In : site de Greenmedinfo [En ligne]. Consulté le (10/05/2020) sur : <<https://guerir-du-cancer.fr/cancer-sucre-strategie-affamer-cancer/>>

MC Garvey, D.J., Croteau, R. (1995). Terpenoidmetabolism.*Plantcell*, 7, 1015-1026.<https://dx.doi.org/10.1105%2Ftpc.7.7.1015>

Mebarki, N. (2010). *Extraction de l'huile essentielle thymus fontanesii et application a la formation d'une forme médicale antimicrobienne*. Mémmag: UniversitéMentouri de Constantine. Algérie (119p). Consulté sur : [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Melis, M.S.A. (1996). Crude extract of Stevia rebaudiana increases the renal plasma flow of normal and hypertensive rats. *Braz J Med BiolRes*, 29(5), 669–675. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9033821/>

Melis, M.S., Sainati, A.R. (1991). Effect of calcium and verapamil on renal function of rats during treatment with stevioside.*J Ethnopharmacol*, 33(3), 257–262.[https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90086-S](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90086-S)

Melis, M.S., Sainati, A.R. (1991).Participation of prostaglandins in the effect of stevioside on rat renal function and arterial pressure.*Braz J Med BiolRes*, 24(12), 1269–1276.Consulté sur :<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1843878/>

Merdaoui, Z. (2007).*CARACTÉRISATION RADIOMÉTRIQUE DES SITESBouzareah and Ghardaïa*. Mémoire de magister. Consulté sur : [https://www.cder.dz/vlib/cder\\_ft/cder\\_ft\\_00013\\_txt.pdf](https://www.cder.dz/vlib/cder_ft/cder_ft_00013_txt.pdf)

Mitchell, H.(Ed.). (2008). *Sweeteners and Sugar Alternatives in FoodTechnology*.John Wiley& Sons: Hoboken, NJ, USA.

Mizushina, Y., Akihisa, T., Ukiya, M., Hamasaki, Y., Murakami-Nakai, C., Kuriyama, I.,et al. (2005). Structural analysis of isosteviol and related compounds as DNA polymerase and DNA topoisomerase inhibitors.*Life Sci*, 77 (17), 2127-2140.<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.03.022>

Mohammad Mounir, S. (2007). Département Génie des procédés Industriels. La Rochelle, Université de La Rochelle.

Mohd-Radzman, N.H., Ismail, W.I.W., Jaapar, S.S., Adam, Z., Adam, A. (2013).Stevioside from Stevia rebaudianaBertoni increases insulin sensitivity in 3T3-L1 adipocytes. *EvidBasedComplement Alternat*, 1–8p. <https://doi.org/10.1155/2013/938081>



Mokkadem, A. (1999). Cause dégradations des plantes médicinales aromatique d'Algérie. *Revue vie et Nature* n°7, 24,26.

Consulté sur : [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Moreau, C. (avril 2014). *Techniques d'extraction (macération, hydrodistillation, décoction, extraction liquide-liquide*. [En ligne]. Lycée International Grenoble, 10p.

Consulté le (7/06/2020) sur : [http://www.pdfocours.com/Telecharger\\_Exercices\\_DOC\\_Corriges\\_Cours\\_Gratis.php?q=extraction+par+mac%C3%A9ration+pdf](http://www.pdfocours.com/Telecharger_Exercices_DOC_Corriges_Cours_Gratis.php?q=extraction+par+mac%C3%A9ration+pdf)

Muanda, Francois N, RachidSoulimani, BabakarDiop, and AmadouDicko.(2011). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana*Bertonileaves. *LWT-Food Science and Technology* ,44(9), 1865-1872. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.002>

Naghibi, N., Niaz, A., Syed Wadood, A. (2005). *Antispasmodic activity of teucriumstocksianumboiss*. Department of pharmacy: university of Malakand, Pakistan (174p).

Consulté sur: [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=2380](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2380)

Nait Sidi Ahmed, A. (2012). *Mise en place d'un procédé d'extraction et de pré-purification demolécules bioactives à partir d'une culture énergétique «Salixmiyabeana SX67»*. Maitrise en génie chimique, Université de Sherbrooke, Canada.

Consulté sur : <http://hdl.handle.net/11143/10603>

Nakamura, Y., Sakiyama, S., Takenaga, K. (1995). Suppression of syntheses of high molecular weight nonmuscle tropomyosins in macrophages. *Cell Motil Cytoskeleton*, 31(4), 273–282. <https://doi.org/10.1002/cm.970310404>

Neyrat, P. (2011). *Edulcorants*. Article, Disponible sur le site : <http://www.e-sante.fr/edulcorants/2/guide/480>

Nordentoft, I., Jeppesen, P.B., Hong, J., Abudula, R., Hermansen, K. (2008). Isosteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factors in islets of the diabetic KKAY mouse. *DiabetesObesMetab*, 10(10), 939–949.<https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2007.00836.x>

Oddone, B. (1999). How to grow Stevia. *Guarani Botanicals Inc*, 1-30.

Ozenda, P. (1991). *Flore du sahara* (3<sup>ème</sup> édition mise à jour et augmentée) Paris, Editions du CNRS. 662 p

Pande, S.S., Priyanka, G. 2013. Plant tissue culture of Stevia Rebaudiana (Bertoni) : A review. *Jour. of Pharmacognosyand Phytotherapy*, 5, 26-33.<https://doi.org/10.5897/JPP13.0258>

Parent-Massin, D. (2011). "Édulcorants intenses: Point d'actualité sur leur sécurité d'emploi et les dernières innovations." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 46(1): H27-H34.[https://doi.org/10.1016/S0007-9960\(11\)70006-2](https://doi.org/10.1016/S0007-9960(11)70006-2)

Periche, A., Castello, M.I, Heredia, A., Escriche, I. (2015). Influence of drying method on steviol glycosides and antioxydants in Stevia rebaudiana leaves. *Food Chemistry*, 172, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.029>

Poirot, R. (2007). *Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale*. Thèse, 129p.

Consulté le (09/06/2020) sur <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000596/>.

Pradal, D. *Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire*, 2016, Lille 1.

Preedy, V. R. (2015). *Coffee in health and disease prevention*. Academic Press.

Rai, C., MajumdarGc, De S. (2012). Optimization of process parameters for water extraction of stevioside using Response Surface Methodology. *Separation Science and Technology*, 47, 1014-1022.<https://doi.org/10.1080/01496395.2011.641055>

Règlement (UE) N° 1131/2011 de la commission du 11 novembre 2011 modifiant l'annexe II du règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil en ce

qui concerne les glycosides de stéviol. Journal officiel de l'Union européenne. L 295/205.  
12 Novembre 2014.

Rengassamy, C. (2015). *La stévia (Steviarebaudiana), sa place au sein des édulcorants et son avenir thérapeutique*. PhDdiss : 41-195p.

Disponible sur : <http://petille.univ-poitiers.fr/notice/view/46582>

Reymond, M., Jauzein, F. (2007). *Classification phylogénétique de la lignée verte*. In site Tela Botanica (en\_ligne).

Disponible sur : <https://www.tela-botanica.org/2007/05/article1634/> (Consulté le 3/06/2020)

Richman, A., Swanson, A., Humphrey, T., Chapman, R., MC Garvey, B., Pocs, R., Brandle, J. (2005). Functional genomics uncovers three glucosyltransferases involved in the synthesis of the major sweetglucosides of *Stevia rebaudiana*. *Plant J*, 41, 56-67.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02275.x>

Robinson, B.L. (1930). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*. The Gray Herbarium of Harvard University, Cambridge, MA.

Consulté sur: <https://www.jstor.org/stable/i40082703>

Rosenthal, A., Pyle, D., Niranjana, K. (1996). Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 402-420.

[https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)80004-F](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)80004-F)

Savita, S.M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A.G., Ramakrishna, P. (2004). *Stevia rebaudiana*—A functional component for food industry. *J. Hum. Ecol.* 15, 261–264.

<https://doi.org/10.1080/09709274.2004.11905703>

Schauenberg, P et Paris, F. (1974). *Guide des plantes médicinales* : Ed. Delachaux et Niestlé, Paris, , 396 P

Serio, L. (2010). *La Steviarebaudiana, une alternative au sucre*. *Phytothérapie*, 8, 26–32.

<https://doi.org/10.1007/s10298-010-0526-4>

Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *J. Funct. Foods.*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>

Shibata, H., Sawa, Y., Oka, T. et al. (1995). Steviol and steviol-glycoside: glucosyltransferase activities in *Stevia rebaudiana* Bertoni—purification and partial characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 321, 390–396. <https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1409>

Shibata, H., Sonoke, S., Ochiai, H., Nishihashi, H., Yamada, M. (1991). Glucosylation of steviol and steviol-glucosides in extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Physiol*, 95, 152–156. <https://doi.org/10.1104/pp.95.1.152>

Shivanna, N., Naika, M., Khanum, F., Kaul, V.K. (2013). Antioxydant, antidiabetic and renal protective properties of *stevia rebaudiana*. *J Diabetes Complications*, 27(2), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.10.001>

SicZablur, J., Voca, S., Dobricevic, N., Jezek, D., Bosiljkov, D., Brncic, M. (2013). *Stevia rebaudiana* Bertoni - A review of nutritional and biochemical properties of natural sweetener. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78, 25–30. <https://hrcak.srce.hr/99317>

Singh, R.K., Sarker, B.C., Kumbhar, B.K, Agrawal, Y.C., Kulshreshtha, M.K. (1999). Response surface analysis of enzyme assisted oil extraction factors for sesame, groundnut and sunflower seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 36(6), 511–514

Soejarto, D.D. (2002). *Ethnobotany of Stevia and Stevia rebaudiana*. Dans: KINGHORN A.D. *Stevia : The genus Stevia* London, Taylor & Francis, 40–67.

Takahashi, K., Matsuda, M., ohashi, K. et al. (2001). Analysis of anti-rotavirus activity of extract from *Stevia rebaudiana*. *Antiviral Research*, 49 (1), 15–24. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(00\)00134-0](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(00)00134-0)

Tanaka, O. (1982). Steviol-glycoside : new natural sweeteners. *Trends Anal Chem*, 1, 246–248. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(82\)80079-4](https://doi.org/10.1016/0165-9936(82)80079-4)

Teo, Cc., Tan, Sn., Yong, Jwh., Hew, Cs., Ong, Es. (2009). Validation of green-solvent extraction combined with chromatographic chemical fingerprint to evaluate quality of

SteviarebaudianaBertoni. *J. Separation Science*, 2,612-622.  
<https://doi.org/10.1002/jssc.200800552>

Thierry Brière. (s. d). *CHROMATOGRAPHIELIQUIDE*. [En ligne].Université de La Réunion. Cours, 72p.

Consulté sur :[http://www.chimie-briere.com/CHROMATO/Cours\\_1/Cours%201.pdf](http://www.chimie-briere.com/CHROMATO/Cours_1/Cours%201.pdf)  
(Consulté le 7/05/2020).

Thurzova, L., ed. (1978). *Les plantes-santé qui poussent autour de nous*. Elsevier Séquoia Bruxelles.4-268p.

Tomita-Toshio, S.N., Arai, T., Shiraishi, H. et al. (1997). Bactericidal activity of a fermented hot- water extract from *Stevia rebaudiana*Bertoni towards enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and other foodborne pathogenic bacteria. *Microbiology and Immunology*, 41 (12), 1005-1019. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1997.tb01961.x>

Toskulkao, C., Sutheerawatananon, M., Wanichanon, C., Saitongdee P., Suttajit, M., (1995).Effects of stevioside and steviol on the intestinal glucose absorption in hamsters.*J.Nutr. Sci. Vitaminol.*, 41(1), 105-113. <https://doi.org/10.3177/jnsv.41.105>

Tran Christel, Jornayvaz François. (2015). Edulcorants artificiels et diabète : faux amis ?*In: Revue médicale suisse*, vol, 11(477), p. 1246-1249.  
<https://archive-ouverte.unige.ch/unige:96963>

Ukiya, M1., Sawada, S., Kikuchi, T., Kushi, Y., Fukatsu, M., Akihisa, T. (2013). Cytotoxic and apoptosis-inducing activities of steviol and isosteviol derivatives against human cancer cell lines. *Chemistry & Biodiversity – Vol, 10(2)*, 177-88.  
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201200406>

Université d’Ouargla. (2013-2014). *Spectrométrie de Masse (SM)*. [En ligne]. Cours, 6p.  
Consulté sur : [https://elearn.univ-ouargla.dz/2013-2014/courses/TECHSPECTRO/document/CoursTP/chap1\\_spect\\_masse.pdf?cidReq=TECHSPECTRO](https://elearn.univ-ouargla.dz/2013-2014/courses/TECHSPECTRO/document/CoursTP/chap1_spect_masse.pdf?cidReq=TECHSPECTRO) (Consulté le 8/05/2020).

Ursula, Wölwer-Rieck. (31 oct.2018 ). *Steviol Glycosides: Cultivation, Processing, Analysis and Applications in Food*. Royal Society of Chemistry.

Yadav, Ak., Singh, S., Dhyani, D., Ahuja, Ps. (2011). A review on the improvement of stevia [Stevia rebaudiana (Bertoni)]. *Can. J. Plant Sci*, 91, 1-27. <https://doi.org/10.4141/cjps10086>

Yamada, A., Ohgaki, S., Noda, T., Shimizu, M. (1985). Chronic toxicity of dietary stevia extracts. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 26 (2), 169-183. <https://doi.org/10.3358/shokueishi.26.169>

Yang, Y., Huang, S., Han, Y., Yuan, H., Gu, C., Wang, Z. (2015). Environmental cues induce changes of steviolglucosides contents and transcription of corresponding biosynthetic genes in Stevia rebaudiana. *Plant physiology and biochemistry*, 86, 174-180. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.12.004>

Yannick, M. (1986). Culture «in vitro» de Stevia rebaudiana (Bertoni) et production de stevioside et de rebaudioside. Thèse de doctorat. L'université des sciences et technique de lilloflandresartois, France. Consulté sur: <https://docplayer.fr/20720176-culture-in-vitro-de-stevia-rebaudiana-bertoni-et-production-de-stevioside-et-de-rebaudioside.html>

Yasukawa, K., Kitanaka, S., Seo, S. (2002). Inhibitory effect of stevioside on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Biol Pharm Bull*, 25(11), 1488–1490. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.1488>

Yildiz-Ozturk, E., Tag, O., Yesil-Ceeliktas, O. (2014). Subcritical water extraction of steviol glycosides from Stevia rebaudiana leaves and characterization of the raffinate phase. *J. of Supercritical Fluids*, 95, 422-430. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.017>

Veillet, S. (2010). *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : Entre Tradition et Innovation - Chapitre 4 : Enrichissement exogène de l'huile d'olive par ultrasons*. Docteur en Sciences, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France. Consulté sur <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00518042/>

Verónica, López-Carbón, Ana Sayago, Raúl González-Domínguez, and Ángeles Fernández-Recamales. (2019). "Simple and Efficient Green Extraction of Steviol

Glycosides from Stevia rebaudiana Leaves." *Foods*, 8(9),p402.

<https://www.mdpi.com/2304-8158/8/9/402#>

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. et Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, volume 9(2), 161-169  
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.04.014>

Wang, L., Waller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300 – 312.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>

Wagner, Véronique. (2012). "De Steviarebaudiana à la Stevia: Parcours chaotique de l'herbe sucrée" parmi les édulcorants. PhD diss., Université de Lorraine.

Consulté sur : <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732517>

Woelwer-Rieck, U. (2012). The Leaves of Stevia rebaudiana (Bertoni), Their Constituents and the Analyses Thereof: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 886-895.  
<https://doi.org/10.1021/jf2044907>



**ANNEXES**



## **Annexe 1 : plantes médicinales et Edulcorants**

### **I. Plantes médicinales :**

Les plantes médicinales peuvent être définies comme toute plante ou partie employée à des fins thérapeutiques ou contenant des substances pouvant fournir des médicaments par voie de synthèse ou d'hémi-synthèse (Fournier P, 1948).

Ainsi défini par la pharmacopée française comme une «drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». La drogue est donc la partie de la plante la plus riche en principe actif, elle est issue de plantes fraîches ou desséchées, et utilisée à des fins thérapeutiques (Chabrier J-Y, 2010).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont aussi des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavonoïdes, tanins... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (Schauenberg P & Paris F, 1997).

En effet, dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour les soigner (Benayad N, 2008).

Pour traiter les blessures et les maladies. L'utilisation des arômes était également connue des civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques mais aussi thérapeutiques (Lardry J-M &Haberkoïn V, 2007).

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été fait aux IXème siècles par Ishà-Ben-Amran et Abdallah-Ben- Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVIIème et au XVIIIème siècle (Benhouhou S, 2015). Même pendant le colonialisme français de 1830 à 1962. Les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales. En1942, Fourment et Roque ont publiés un livre de 200 espèces végétales d'intérêt médicinales, la plupart d'entre elles sont du Nord d'Algérie et seulement 6 espèces sont localisées au Sahara (Benhouhou S, 2015). Dans d'autre ouvrage montré que l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatique (Mokkadems, 1999).

Aujourd'hui l'Algérie constitue un importateur net de plantes aromatique et médicinales, elle importe presque la totalité de ses besoins en plantes aromatique, médicinales et huiles essentielles. C'est pour cela que l'Algérie devrait rendre le marché des plantes médicinales une filière à part entière profit de son riche potentiel, à l'instar des autres pays du Maghreb (A.P.S, 2015).

Les plantes médicinales sont utilisées en pharmacie humain et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit à l'état naturel, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments, (Naghibi N, 2005; Babulka P, 2007 ; Mebarki N, 2010), elle sont très importantes comme plantes économiques, elles contiennent des principes actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies, après leur isolement, et on peut aussi les employer dans les industries pharmaceutiques, alimentaires, des cosmétiques et des parfums.

Parmi les derniers médicaments obtenus à partir des plantes, on trouve le Taxol, isolé de l'if (*Taxusbaccata*, taxaceae) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques. L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisiaannua*, Asteraceae) est utilisée dans le traitement des formes résistantes de la Malaria. On peut encore citer la galanthamine, obtenue de la perce-neige (*Galanthusnivalis*, Amaryllidaceae) utilisée depuis peu dans le traitement de la maladie d'Azheimer. (Bouacherine R & Benrabia H, 2017).

Pour finir il ne faut pas oublier que les plantes médicinales sont aussi utilisées dans la thérapeutique vétérinaire. Citons comme exemple le Serpolet (*Thymus serpyllum*L.) qui est utilisé comme antiseptique, ou contre les entérites et les parasitoses des volailles (Chabrier J-Y, 2010).

## **II. Les édulcorants :**

Un édulcorant, par définition, est « une substance d'origine naturelle ou de synthèse donnant une saveur sucrée » (Dictionnaire Larousse). En règle générale, le terme « édulcorant » fait référence à des substances dont le but est d'améliorer le goût d'un aliment, pour faciliter l'administration de médicaments en tant qu'excipients, pour leurs propriétés fonctionnelles en industrie agroalimentaire (pour maintenir une texture onctueuse par exemple) ou encore comme substitut du sucre dans le traitement de

pathologies chroniques ou de troubles nutritionnels (diabète, hypertension, obésité) (Parent M, 2011; Wagner V, 2012).

Ils sont répartis en diverses catégories parmi lesquelles on trouve les édulcorants de synthèse ou artificiels et les édulcorants dits naturels.

❖ *Les édulcorants de synthèse* : comportent les édulcorants « intenses » et les édulcorants « de charge » (ou « nutritifs ») :

✓ Les édulcorants « intenses » : possèdent un pouvoir sucrant très élevé. Parmi ces édulcorants : On retrouve la saccharine, Les cyclamates, L'aspartame et L'acésulfame K (Neyrat P, 2011).

✓ Les édulcorants « nutritifs », de « charge » ou « de masse » : Il s'agit de sucres comme le saccharose, le fructose, le galactose ou l'isoglucose qui sont des denrées alimentaires et des polyols (Neyrat P, 2011). Ces derniers sont des édulcorants sans sucres, ils appartiennent à la famille des glucides mais pas des sucres. Ils sont également utilisés, volume pour volume, en quantité similaire à celle du sucre (les plus connus étant le sorbitol, le xylitol, le mannitol, l'isomalt, le maltitol, le lactitol, erythritol) (Wagner V, 2012).

❖ *Les édulcorants naturels* : sont issus de plantes qui contiennent des principes actifs sucrés. Ils imitent bien le goût du sucre et permettent une meilleure gestion de la prise de sucre. Parmi les édulcorants naturels on retrouve la réglisse, le sirop d'agave, le sirop d'érable, les sirops de céréales, le miel, le kitul, la caroube, le tagatose et **la Stévia** (Wagner V, 2012).

On s'intéresse vivement dans ce travail à mieux caractérisée la Stévia en tant qu'une plante merveille qui sert à donner cette propriété sucrante (édulcorant naturel).

## **Annexe 2 : *Stevia rebaudiana Bertoni***

**La Stevia** est une plante endémique du Paraguay que l'on trouve aussi au Brésil, dans le Matto Grosso, On la rencontre principalement sur les hauts plateaux du Paraguay, du nord de la région de L'Amambay jusqu'à celle de Mondaih où Les sols sont riches en humus, Cependant, elle est aujourd'hui cultivée dans de nombreux pays asiatiques comme le Japon, la Chine Populaire, Taiwan, L'Indonésie et le Laos (Yannick M, 1986).



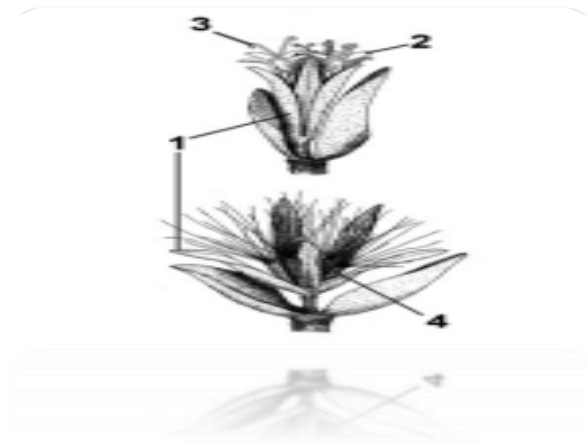
**Figure 1 :** partie aérienne d'un plant de *Stevia rebaudiana Bertoni* naturel (Argentine) (Lemus-Mondaca R, 2012).



**Figure 2 :** *Stevia rebaudiana Bertoni* dans son habitat (Giuffré L, 2013).



**Figure 3 :** Fleurs de *Stevia rebaudiana* (Yadav A.K et al., 2011).



**Figure 4 :** Schéma d'une fleur de *Stevia rebaudiana* avec ses organes reproductifs

- (1) involucre ;
- (2) corolle ;
- (3) pistil ;
- (4) akène avec ses aigrettes.



**Figure 5 :** Dessin analytique de *Stevia rebaudiana* (Soejarto DD, 2002).

- (a) Spécimen provenant d'un plant sauvage du Paraguay ;
- (b) Spécimen provenant d'un plant en culture ;
- (c) Feuille ;
- (d) Capitule avec fleurons ouverts.
- (e) Anthère avec poils surmonté d'un fleuron.



**Figure 6 :** Graines de *Stevia rebaudiana* (Yadav A.K et al., 2011).

- a : graine stérile ;
- b : graine fertile.

✚ **Les graines** contenues dans l'akène sont relativement petites et légères car elles mesurent de 2,5 à 3 mm (Pande SS & Priyanka G, 2013) et portent à leurs extrémités des poils fins leur servant de transport par le vent (Aboudrare A, 2009). Il est possible de reconnaître la viabilité d'une graine grâce à sa couleur : les

graines fertiles sont généralement de couleur foncée ou sombre, tandis que les graines stériles sont de couleur claire ou pâle (Goettemoeller J & Ching A, 1999).



**Figure 7:** Feuilles fraîches de la plante *Stevia rebaudiana* (Aboudrare A, 2009).

- ✚ **Les feuilles de Stévia** sont opposées, subsessiles avec des entrenœuds de 2 à 4 cm. Elles sont la plupart du temps pétiolées d'un pétiole court de 3 à 4 mm avec des nervures réticulées ou pennées. Sur la face inférieure, les feuilles présentent trois nervures primaires bien marquées, ainsi que des nervures secondaires qui sont peu marquées à la face supérieure. Celles-ci ont une longueur variant entre 3 et 5 cm et une largeur d'environ 2cm. Une odeur assez forte se dégage lorsque les feuilles sont broyées. Plus les feuilles sont âgées, plus les glycosides sont abondants (Leverrier Z, 2014). Les feuilles contiennent plus de carbohydrates (cellulose, fibres solubles) et de cendres, mais moins de lipides et de protéines (Shivanna N et al., 2013).
- ✚ **La tige** est mince, semi-ligneuse, de couleur verte et possède des rameaux opposés décussés espacés de 2 à 4 cm. Elle comporte aussi des poils courts, fins et de couleur blanchâtre. La tige est annuelle et renferme des stéviosides mais bien moindre par rapport aux feuilles et fleurs (Aboudrare A, 2009).

### Annexe 3 : Les procédés d'extraction des plantes

Les plantes ont fourni aux humains un bon nombre de leurs besoins essentiels, y compris des agents vitaux pendant des siècles. Étant donné que seulement 1 à 10% des espèces végétales supérieures disponibles ont été examinées biologiquement, la découverte de médicaments à partir de plantes devrait rester un élément essentiel dans la recherche de nouveaux médicaments (Kunzelman JI et al., 2005), en particulier avec le développement de méthodes d'analyse hautement sensibles et polyvalentes qui incluent la recherche plus loin pour les méthodes d'extraction pratiques. Signalons également qu'il existe des méthodes conventionnelles d'extraction des métabolites ou ils se basent le plus souvent sur l'affinité des molécules pour différents solvants et sur l'utilisation de chauffage et/ou d'agitation (Azmir J et al., 2013), et des techniques modernes semblent plus prometteuses comme les extractions assistées par enzymes ou encore par ultrasons...etc. Lorsque ces derniers utilisent peu ou pas d'agents chimiques toxiques, des ressources renouvelables ou encore lorsqu'elles présentent une faible demande énergétique, elles peuvent être considérées comme des technologies « verte » (Azmir J et al., 2013).

En effet, Le choix de la méthode utilisée doit les prendre en considération, en fonction de la biomasse à extraire, des métabolites désirés et des moyens mis à disposition (Azmir J et al., 2013).

En ce qui concerne les procédés d'obtention des glycosides de stéviol à partir des feuilles de stévia ; l'extraction, la purification sont maîtrisées. Il existe plusieurs méthodes permettant d'extraire les glycosides de stéviol à partir du végétal *S. rebaudiana*, mais pour en obtenir à usage alimentaire, le règlement l'Union Européenne n°231/2012 autorise une seule méthode : l'extraction à l'eau. Le Comité Européen s'est dirigé vers ce type d'extraction plutôt qu'une autre, pour des raisons liées à la sécurité. En effet, une extraction à l'eau est plus sécuritaire d'un point de vue sanitaire car elle n'implique pas l'utilisation d'agents chimiques.



## A. L'extraction par Soxhlet :

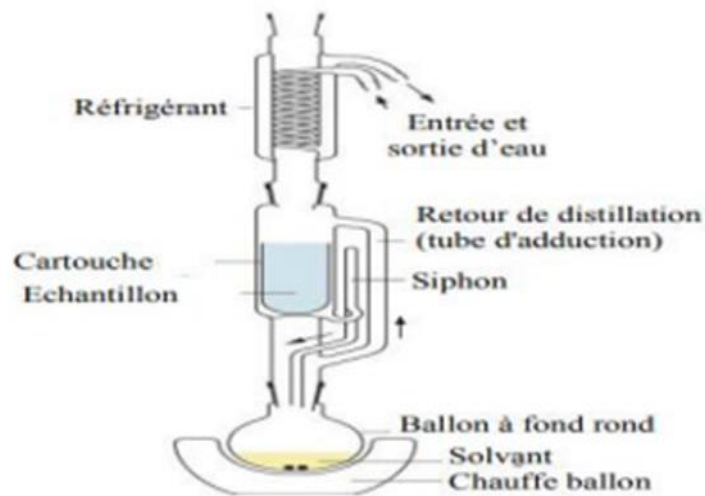
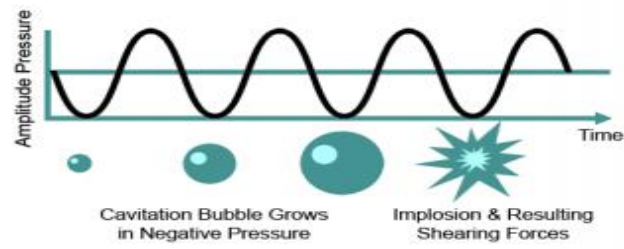
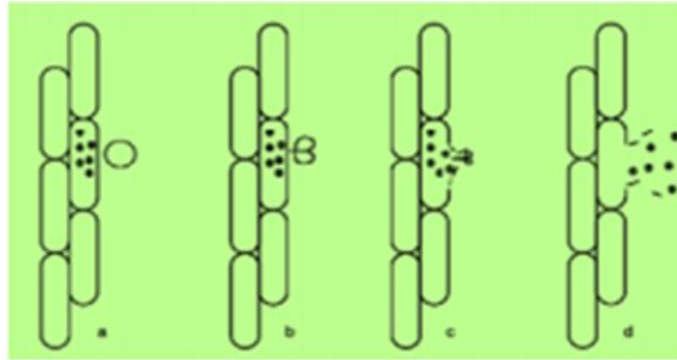


Figure 1 : Extracteur de Soxhlet.

**B. Extraction assistée par ultrason:** La succession de compression et de décompression créée par les ultrasons de puissance à basses fréquences provoque des turbulences dans le milieu de propagation (Combette et al., 2001). Des bulles, dites de cavitation, se créent pendant les phases de décompression. Celles-ci implosent lors des phases de compression, provoquant la cavitation (Figure 2) (Laborde et al., 1998). En présence de matériel biologique, les bulles de cavitation qui implosent à proximité de cellules, brisent les parois cellulaires. Cette sonolyse facilite l'extraction de molécules d'intérêts, puisqu'elle permet de libérer le contenu intracellulaire. (Vilkhu et al., 2008 ; Veillet, 2010 ; Nait Sidi Ahmed, 2012 ; Chemat, 2014).



**Figure 2 :** l'impact de l'implosion d'une bulle de cavitation à la surface d'une cellule végétale.

## Annexe 4 : Les techniques de séparation

### A. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

- Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:
- 1) **La cuve chromatographique** : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
  - 2) **La phase stationnaire** : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
  - 3) **L'échantillon** : environ un microlitre ( $\mu\text{l}$ ) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
  - 4) **L'éluant** : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon (Boucheloukh H, s.d.).

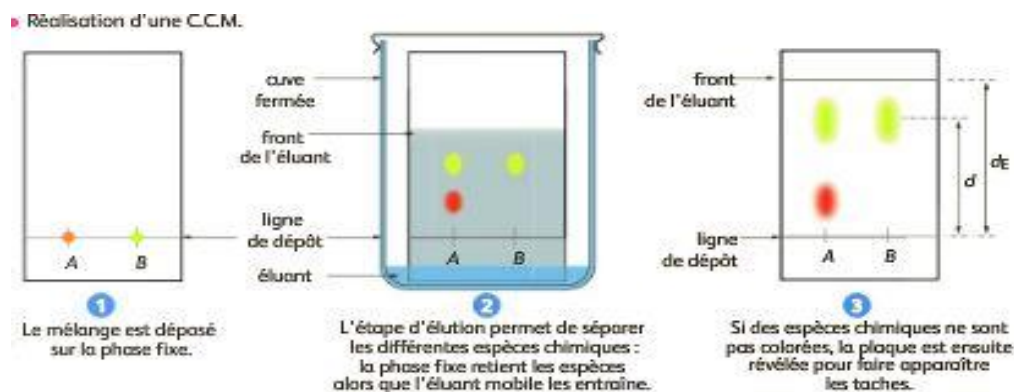
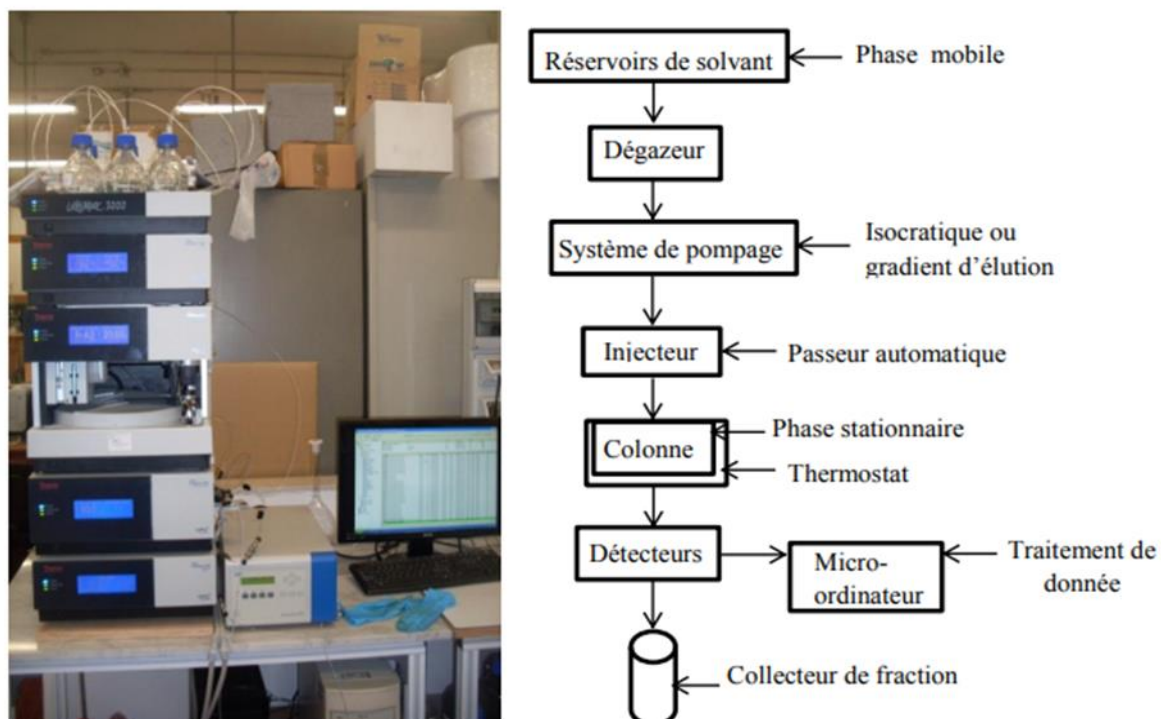


Figure 1 : les différentes étapes de séparation chromatographique sur CCM.

### B. Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :

Un appareil d'HPLC comprend différents modules: un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un système de pompage permettant d'effectuer des éluions graduées, un injecteur, une colonne, un détecteur et un système d'acquisition de données. Il nécessite également un dispositif de dégazage (Figure2) (Benabdallah H, 2016).

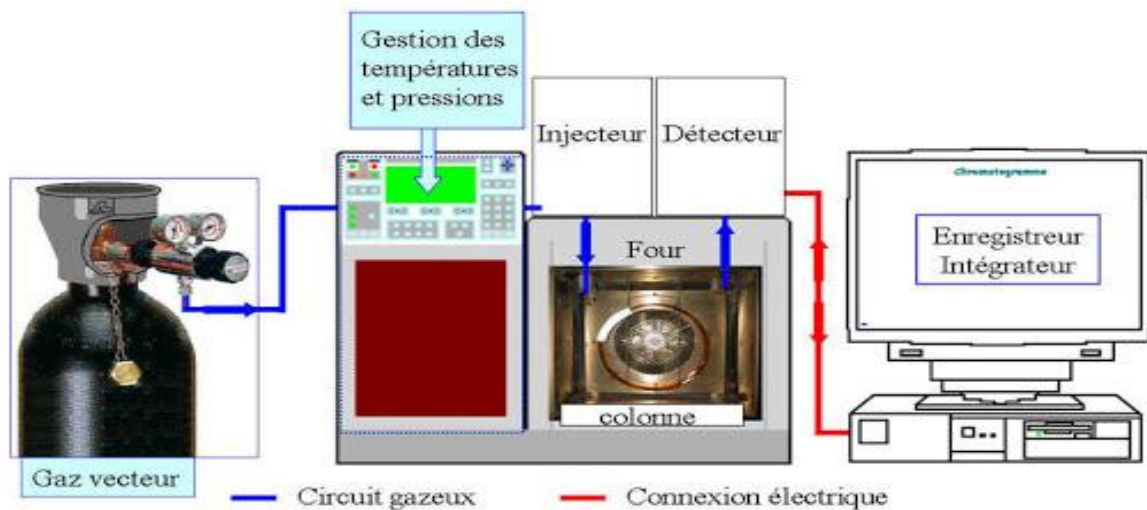
## Chromatographie Liquide Haute Performance



**Figure 2 :** Les composants d'un chromatographe liquide à haute performance  
(Appareil Dionex)

### C. Chromatographie en phase gazeuse (CPG):

Le spectromètre de masse est un des détecteurs les plus puissants pour la chromatographie gazeuse. On appelle GC-MS (Gaz Chromatography-Mass Spectroscopy) la combinaison de la chromatographie gazeuse et de la spectrométrie de masse. Un spectromètre de masse mesure le rapport masse sur charge ( $m/z$ ) des ions qui ont été produits à partir de l'échantillon par une source d'ionisation qui est assez énergétique pour briser des liaisons chimiques dans les molécules de l'échantillon et forme beaucoup de fragments ; qui sont très utiles pour identifier l'espèce moléculaire qui entre dans le spectromètre de masse à partir du spectre de fragmentation ou par comparaison avec bibliothèque de spectre (Boucheloukh H, s.d.).

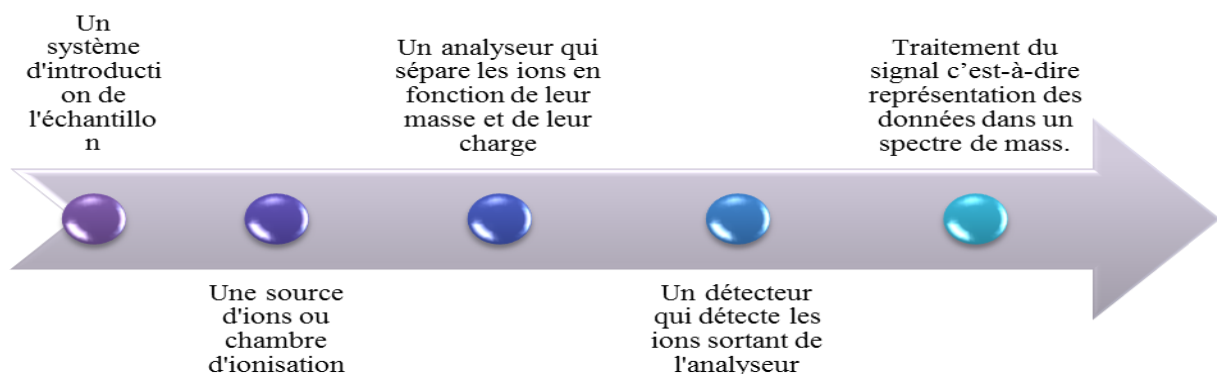


**Figure 3 :** photo d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse.

#### D. La spectrométrie de masse (SM) :

➤ Le spectromètre de masse doit assurer les opérations suivantes:

- 1) Volatiliser (Séparer les molécules les unes des autres): On passe de l'état de matière condensée à un état gazeux.
- 2) Ioniser (Transformer les molécules en ions): Grâce à des champs électriques
- 3) Mesurer les rapports  $m/z$  : La masse moléculaire est calculée à partir du rapport masse sur charges ( $m/z$ ) (Université d'Ouargla, 2013-2014)).



**Figure 4:** Composition d'un Spectromètre de Masse.

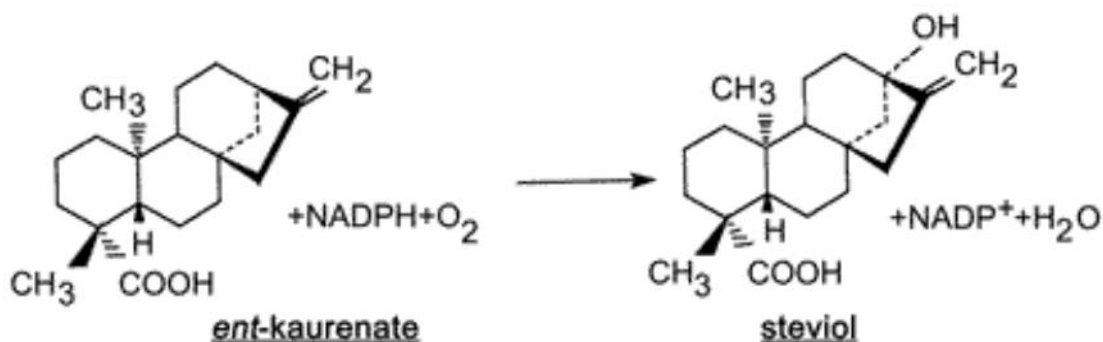
## Annexe 5 : La compositions chimique des glycosides de stéviol

### A. Le stéviol et glycosides de stéviol :

L'acide ent-kaurénoïque hydroxylé, également appelé stéviol (figure 1), est le précurseur d'hétérosides présents essentiellement dans les feuilles de Stévia. On en retrouve également dans les tiges et les fleurs, mais en moindre quantité. Il n'y a aucune trace de ces hétérosides dans les racines de la plante (Kennelly E.J, 2002; Tanaka O, 1982). Parmi ces hétérosides on retrouve les glycosides de stéviol.

Dans la Stévia, On peut comparer la synthèse du stéviol à celle des gibbérellines, qui sont des hormones végétales stimulant la croissance, jusqu'à l'obtention du ent-kaurenate.

Il s'agit d'une hydroxylation unique par une 13-hydroxylase, Elle hydroxyle l'ent-kaurenate en position 13 pour former le stéviol (figure 1) et c'est grâce à cette réaction que s'effectue la divergence avec la voie de biosynthèse des gibbérellines. En effet, dans la synthèse conduisant aux gibbérellines l'ent-kaurenate est tout d'abord hydroxylé en position 7a puis en 13. Or dans la voie qui conduit à la formation de stéviol, il n'y a qu'une hydroxylation en position 13 (Geuns J, 2003).



**Figure 1 :** Synthèse du stéviol par 13-ent-kaurenate hydroxylase.

Dans le cas des glycosides de stéviol, la partie aglycone est représentée par la molécule de stéviol. Son squelette permet une liaison de type ester en R1 et une liaison de type osidique en R2. L'action des glycosyl transférases sur ce squelette permet l'ajout d'une ou plusieurs unités de rhamnose ou de glucose en position C13 et / ou C19 du stéviol. Néanmoins, ces enzymes seraient dépendantes de la présence d'UDP-glucose (Uridine Di-Phosphate-glucose). Les UDP-glycosyltransférases (UGTs) permettent enfaite le transfert d'un résidu de sucre à partir d'un donneur activé vers une molécule qui

l'accepte. Dans ce cas, le donneur est l'UDP-glucose et le receveur est le stéviol (Hughes J&Hughes M.A, 1994).

### **B. Caractéristiques organoleptiques :**

Des études ont testé l'hypothèse d'une relation entre la structure chimique et le goût des glycosides de stéviol, Selon l'étude de Jooken et al. (2013) ; Le nombre d'unités de sucre attachées au groupement hydroxyl du stéviol (position C13) pourrait, en revanche, influencer sur les caractéristiques organoleptiques des glycosides de stéviol, les composés les moins amers ayant un nombre plus élevé d'unités de sucre.

### **C. Biosynthèse des glycosides de stéviol :**

Le stéviol possède deux groupements hydroxyles qui peuvent être glycosylés, ces glycosylations vont s'effectuer grâce à des glycosyl transférases. Leur action consiste à fixer des chaînes latérales contenant une ou plusieurs unités de glucose et / ou de rhamnose. La première glycosylation est obtenue sur l'hydroxyle en position 13 et dépend d'UGT85C2. Elle transforme le stéviol en stéviol monoside. La transformation du stéviol monoside en stéviolbioside est catalysée par une UGT qui n'a pas encore pu être identifiée, ou qui pourrait être l'UGT74G1 (Richman A et al., 2005). Ensuite l'UGT74G1 va catalyser la réaction qui transforme le stéviolbioside en stévioside en agissant sur le groupement carboxyle en position 19. Le stévioside est pris en charge par l'UGT76G1 pour produire le rébaudioside B. Ce dernier subit à son tour l'action de l'UGT74G1, ce qui le convertit rébaudioside A. Le rébaudioside A est le produit final de la synthèse des glycosides de stéviol. En conclusion de cette synthèse, dans le cytosol on obtient deux glycosides majoritaires qui sont le stévioside et le rébaudioside A

La première étape correspond à la synthèse de l'acide ent-kaurénoïque (ou ent-kaurenate). Cette synthèse emprunte la voie du MEP qui est un enchaînement de réactions à l'intérieur des chloroplastes. Il commence avec le pyruvate et le G3P (glyceraldéhyde-3-phosphate) qui subissent l'action de la DXS (1-déoxyxylulose-5-phosphate synthase) et deviennent du 1-déoxyxylulose-5-phosphate (DXP). Sur le composé formé vient s'ajouter l'action de la DXP réductoisomérase (DXR), ce qui permet l'obtention du MEP (2-C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate).

Après avoir obtenu le MEP, 5 étapes sont encore nécessaires pour arriver à former l'IPP (isopentényldiphosphate). Ces 5 étapes sont catalysées par 5 enzymes qui agissent dans cet ordre précis :

CMS (4-diphosphocytidyl-2-C-méthyl-D-érythritol synthase)

CMK (4-diphosphocytidyl-2-C-méthyl-D-érythritol kinase)

MCS (4-diphosphocytidyl-2-C-méthyl-D-érythritol 2,4 cyclodiphosphatesynthase)

HDS (1-hydroxy-2-(E)-butenyl-4-diphosphate synthase)

HDR (1-hydroxy-2-(E)-butenyl-4-diphosphate reductase).

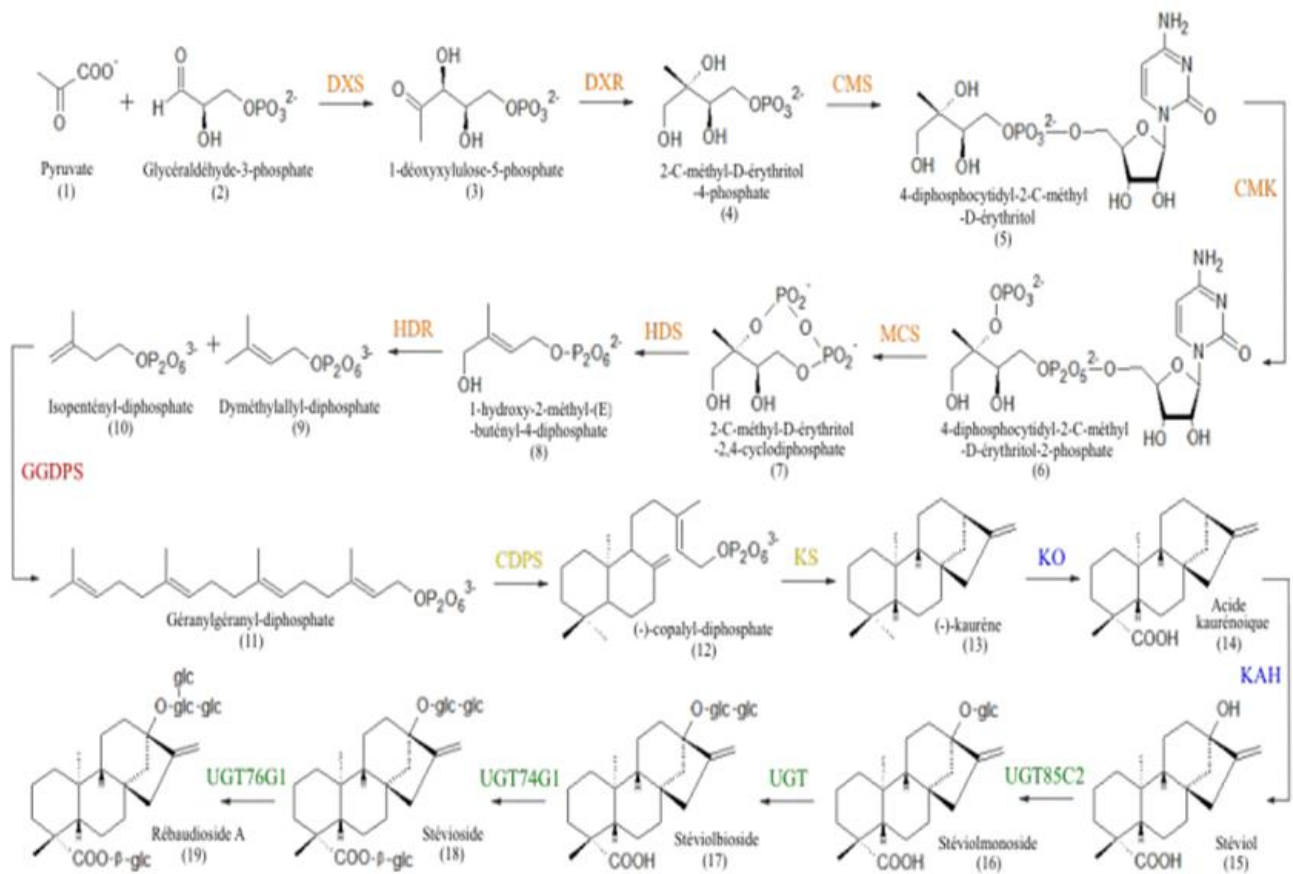
Ceci termine la voie du MEP (Brandle J&Telmer P.G, 2007)

Les étapes suivantes se déroulent toujours dans les chloroplastes. Afin d'obtenir le géranylgeranyldiphosphate (GGDP), il y a catalyse de l'IPP et du diméthylallyldiphosphate par la prényltransférase GGDP synthèse (GGDPS) (Brandle J&Telmer P.G,2007 ;Mc garvey D.J & CroteauR,1995).

Ensuite s'effectuent deux cyclisations, la première qui permet de cycliser le GGDP en entcopalylidiphosphate par action de la CDPS (copalylidiphosphatesynthase) et la seconde permet d'obtenir l'ent-kaurène par action de la kaurènesynthase (KS) (Brandle J &Telmer P.G, 2007).

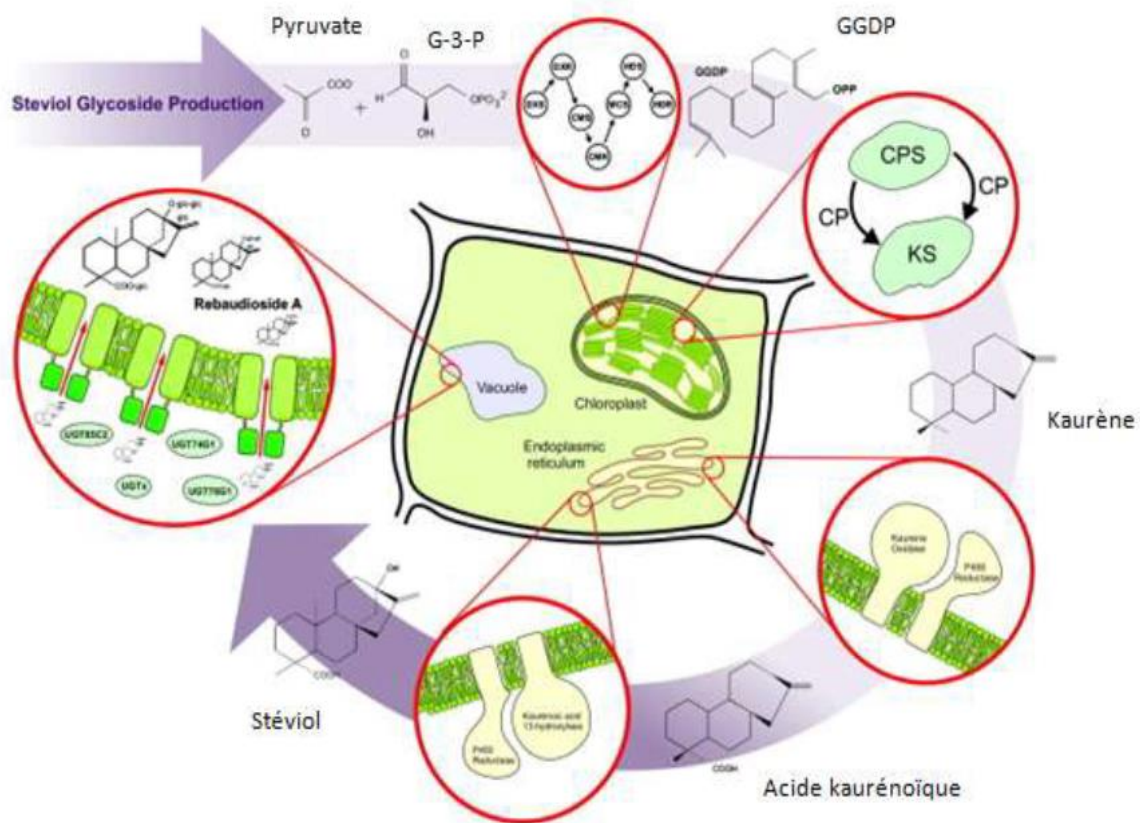
La suite de la synthèse se déroule dans le réticulum endoplasmique où l'ent-kaurène est oxydé en C19 par une enzyme du type cytochrome P450. Cette enzyme est la kaurène oxydase (KO) et elle permet d'obtenir l'acide ent-kaurénoïque (Helliwell C.A et al., 2001). S'ensuit une hydroxylation de cet acide au niveau du C13, ce qui permet la formation de la molécule de stéviol. L'enzyme qui catalyse l'hydroxylation est la KAH (acide ent-kaurénoïque-13hydroxylase) (BrahmachariG et al., 2011) et dans cette étape commence la synthèse des glycosides.





**Figure 2 :** Biosynthèse des glycosides de stéviol (Enzymes situées dans le chloroplaste : orange, rouge et jaune ; enzymes situées dans le réticulum endoplasmique : bleue ; enzymes situées dans le cytosol : verte) (Brandle JE & Telmer PG, 2007).

Les glycosides de stéviol ainsi formés vont migrer et s'accumuler dans les vacuoles des cellules. Cette migration est possible car les glycosides sont des molécules hydrophiles (Shibata H et al., 1991). C'est grâce aux glycosylations que le stéviol qui est une molécule hydrophobe devient hydrophile. Les glycosides ainsi formés se retrouvent concentrés dans la vacuole de la cellule, ce qui explique que les feuilles soient aussi riches en édulcorants (Benfares A, 2015).



**Figure 1 :** Localisation des étapes de la biosynthèse dans la plante.

*G-3-P = glycéraldéhyde-3-phosphate*

*GGDP = géranylgéranyldiphosphate*

## **Annexe 6: Les vertus thérapeutiques de *Stevia rebaudiana***

### **A. Stévia et diabète :**

L'augmentation de risque de développer le diabète de type 2 est fortement associée à la consommation des édulcorants artificielles c'est la raison pour laquelle l'usage des édulcorants naturels est dès lors devenue très populaire et ils ont été introduits largement dans notre alimentation plus précisément l'édulcorant naturel « stévia » qui ont un goût très sucré mais non calorifique (Kinghorn AD & Soejarto DD, 2002).

Selon l'étude de Jeppesen et al. (2003) menée sur des rats GK (une sous-souche Wistar non obèse qui développe un diabète sucré de type 2 tôt dans la vie) a montré qu'un apport de 0,025 g / kg de stéviol a un effet hypoglycémique. Cet effet est attribué à une sécrétion accrue d'insuline et à l'induction de gènes associés à la glycolyse. D'autre part Mohd-Radzman et al. (2013) ont observé que le stéviol a des effets directs sur la sensibilité à l'insuline 3T3-L1 via une augmentation de l'absorption du glucose et une expression accrue des protéines impliquées dans la voie de signalisation de l'insuline. L'augmentation de la sécrétion d'insuline est liée à la fermeture des canaux potassiques dépendants de l'ATP, ce qui entraîne la dépolarisation des cellules bêta pancréatiques et l'activation des canaux  $Ca^{2+}$ .

D'autre part, selon Toskulkao et al en (1995) et de Jeppesen et al en (2000) les données indiquent que les composants de la stévia pourraient agir directement sur le pancréas en stimulant la production d'insuline, mais aussi en diminuant l'absorption intestinale des sucres ou encore en augmentant la sensibilité à l'insuline et les fonctions métaboliques du foie et des muscles squelettiques.

A propos, des résultats montrent que le stéviol, n'a aucun effet inhibiteur sur l'absorption intestinal du glucose. Cependant, le stéviol (un métabolite de stéviol) inhibe l'absorption du glucose lorsqu'il est en contact direct avec l'intestin grêle du hamster in vitro. La réduction de la teneur en ATP muqueux et les altérations structurelles de l'absorption intestinale les cellules sont probablement responsables de l'inhibition. La réduction de la teneur en ATP intestinal peut-être dû à l'effet inhibiteur du stéviol sur les mitochondries intestinales, probablement au niveau de phosphorylation. Il a été mentionné par l'étude Yamada et al en (1985) que l'effet hypoglycémiant ne serait pas dû au stéviol mais au stéviol et à l'isostéviol et que ces dernières agiraient principalement au niveau des mitochondries du foie comme inhibiteurs de la phosphorylation oxydative se traduisant par une baisse de la synthèse d'ATP ce qui augmente la glycolyse et réduit

la néoglucogénèse ce phénomène augmenter la sensibilité à l'insuline en inhibant l'expression hépatique du phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) (enzyme pour la gluconéogénèse contrôlant la production de glucose hépatique) selon l'étude réalisée par Chen et al (Chen TH et al.,2005).

En tout, les feuilles de stévia ne contiennent pas seulement que le stéviol mais aussi d'autres édulcorants qui participent à l'homéostasie glycémique.

Concernant le rébaudioside A une étude par AbudulaR et al (2004) trouve que cette molécule pouvait stimuler la sécrétion d'insuline des cellules  $\beta$  par une inhibition des canaux ATPasiques potassiques permettant aux cellules  $\beta$  de se dépolariser et ainsi d'activer les canaux calciques.

Et par rapport à l'isostéviol qui améliore le profil lipidique et permet de réguler positivement l'expression des gènes clés des cellules  $\beta$ , incluant les facteurs de transcription régulant l'insuline. De plus, il peut améliorer la glycémie homéostatique, augmenter la sensibilité à l'insuline, baisser les triglycérides et le poids chez les souris diabétiques KKay (Nordentoft I et al., 2008).

### **B. Stévia et obésité :**

Dans le cadre d'une alimentation équilibrée, la Stevia pourrait être utilisée ponctuellement pour changer les gestes quotidiens de certaines personnes en surpoids. En effet, le remplacement du sucre (en dehors du sucre naturellement présent dans les aliments comme les fruits) pourrait faire perdre du poids aux individus obèses ou en surpoids. Ils pourraient ainsi continuer à se faire plaisir en consommant ce faux-sucre, et ne pas s'imposer de régime trop restrictif et gustativement désagréable. La Stévia pourrait représenter une arme importante dans l'observance d'un régime sur de longues durées (Wagner V, 2012).

### **C. Stévia et hypertension :**

Le stéviol est capable de causer une bradycardie (Apisariyakul A et al., 1991) et une hypotension. Une action hypotensive est observée chez des Hommes (Humboldt G & Boeck EM, 1977) ayant reçu tous les jours pendant 30 jours du thé à base de *S.rebaudiana* présenté sous forme d'extrait de Stévia. Cette étude montre également que l'extrait (Boeckh EMA & Humboldt G, 1981) aurait un effet inotrope négatif en baissant la durée de la systole. Cela réduirait le volume d'éjection systolique qui ensuite réduirait la pression artérielle moyenne.

Plusieurs études (Melis MS & Sainati AR, 1991 ; Melis MS A, 1996) montrent que le stéviol et les extraits de la Stévia baissent la pression artérielle moyenne en induisant une vasodilatation en provoquant une baisse des résistances périphériques. Cela conduit à une diminution de volume plasmatique.

#### **D. Stévia et cancer :**

« Des chercheurs de l'Institut du Cancer de Huntsman en Utah ont été parmi les premiers à découvrir que le sucre « nourrit » les tumeurs. Selon l'étude publiée dans la revue *Proceedings de la National Academy of Sciences* : « Il est connu depuis 1923 que les cellules tumorales utilisent beaucoup plus de glucose que les cellules normales ».

Ukiya M, Sawada S, et al en (2013) ont découvert que les dérivés du glycoside de stéviol avaient un impact toxique sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses. Ceux-ci comprenaient la leucémie, le cancer du sein, du poumon et de l'estomac. En effet, 36 dérivés, soit 2 à 37, ont été préparés à partir de stéviol, et leurs activités cytotoxiques ont été évaluées contre la leucémie (HL60), le poumon (A549), lignées de cellules cancéreuses de l'estomac (AZ521) et du sein (SK-BR-3). Tous ces composés actifs possèdent un groupe C (19) -O-acylé et parmi les dérivés, le Dérivé 19-O-acylé, en particulier ent-kaur-16-ène-13,19-diol 19-O-4', 4', 4'-trifluoro-crotonate (14), a montré une puissante cytotoxicité contre les lignées cellulaires cancéreuses utilisées. Ces résultats suggèrent que l'acylation du groupe 19-OH des diterpénoïdes de type kaurane et beyerane qui sont des dérivés de stéviol pourrait être utile pour améliorer leurs cytotoxicités avec une activité induisant l'apoptose.

D'autre part, une autre étude a montré que le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) induit des cancers cutanés de stade 2 chez les cellules de mammifères. Le stéviol est capable selon Nakamura Y et al (1995) d'avoir un effet antitumoral sur ces cellules. Il serait capable d'induire l'inhibition du TPA. Yasukawa K et al (2002) confirme ces résultats. En(2005), Mizushima et al, montrent que l'isostéviol inhibe les DNA polymérase et la DNA topoisomérase II qui sont des cibles thérapeutiques dans les cas de cancer comme dans les cas de maladies inflammatoires. L'isostéviol aurait aussi la capacité de retarder la croissance de plusieurs cancers apparaissant chez l'Homme (Chatsudthipong V, Muanprasat C, 2009).