



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de la valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia rebaudiana* cultivée en Algérie

Présenté par : BEROUAL Cheima

Le : 12/06/2024

BERIMA Sawab

Jury d'évaluation :

Présidente : AYECHÉ Amina (MA-B - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : MEKDADE Loubna (MR-B – Centre de Recherche en Biotechnologie).

Co- Encadrant : SAHRAOUI Houssem (MR-B – Centre de Recherche en Biotechnologie).

Examinatrice: AOUANE Asma (AR - Centre de Recherche en Biotechnologie).

Année universitaire

2023 - 2024

Dédicaces

À mon cher père, Sayeh, Ta sagesse, ton soutien illimité et ton amour inconditionnel ont été les piliers sur lesquels j'ai pu compter tout au long de ce parcours. Ton exemple de persévérance et de dévouement m'a toujours inspiré à donner le meilleur de moi-même. Ce travail est le fruit de ton encouragement constant et de ta foi en mes capacités.

À ma chère mère, Saliha, Pour ta patience infinie et ton soutien inconditionnel, sans lesquels ce mémoire n'aurait pas vu le jour. Ton amour et ta force m'ont inspiré à poursuivre cette quête de connaissance.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour .Puisse dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorder la santé .longue vie et bonheur.

À mes très chers frères : zaki, Rami et Mohamed et à mes très chères sœurs : Amina et Maroua, je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter et je vous dédie ce travail avec tous mes meilleurs vœux de bonheur, de santé et de réussite.

À ma meilleure amie Sara : Pour ton soutien constant, ta présence réconfortante et ton amitié sincère. Je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À ma meilleure binôme Sawab : Pour notre collaboration exceptionnelle et notre soutien mutuel tout au long de ce parcours. Ce mémoire est dédié à notre amitié et à notre réussite ensemble.

BEROUAL Cheïma

Dédicace

À mes plus grand soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance infinis.

À mes chers parents ; Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu, le très haut. Vous accordez santé, bonheur et longue vie.

À mon frère Souhaib ainsi qu'à mes cousine adorées Ihssene, Oumnia, Ahlem, et Doha sont aussi meilleures amies. Merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, et je suis fière de vous avoir dans ma vie.

À mes très chères amies Asma, Rania, Afnen qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionnel.

Enfin, à mon binôme Cheima qui est devenue une amie et une collaboratrice talentueuse, merci pour notre collaboration fructueuse et notre amitié. Tu as été une source d'inspiration et de motivation pour moi tout au long de ce parcours.

Au-delà des noms cités, il existe un cercle précieux de personnes qui ont joué un rôle significatif dans mon parcours. je vous exprime ma reconnaissance pour votre présence et votre soutien qui ont marqué positivement ma vie.

BERIMA SAWAB

Remerciements

Au nom d'Allah Clément et Miséricordieux et Louange à Allah, Seigneur des univers, que la prière et la paix soient sur notre prophète Mohammad.

En premier lieu, Nous tenons à remercier Allah de nous avoir donné le courage et la force pour accomplir ce travail et nous le prions toujours qu'il soit à nos côtés.

Nous tenons tout d'abord à remercier chaleureusement notre Encadrante Madame MEKDADE Loubna, Maître de Recherches classe B, au Centre de Recherches en Biotechnologie (C.R.Bt), pour les conseils qu'elle nous a prodigué, pour la confiance qu'elle nous a accordé, sa disponibilité et sa patience nous ont été un atout pour l'accomplissement de ce travail.

Nous voudrions également exprimer notre reconnaissance à Monsieur SAHRAOUI Houssem, Maître de Recherches classe B, au Centre de Recherches en Biotechnologie (C.R.Bt), qui nous a fait l'honneur d'être Co-encadrant. Son aide et son assistance ont été bénéfiques.

Nous tenons à remercier aussi la présidente et les membres de Jury qui ont bien voulu accepter de juger ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également à tout le personnel de C.R.Bt pour l'accueil qu'il nous a été octroyé durant la période du stage.

Enfin et surtout, nous tenons à remercier nos familles qui ont toujours été présentes et qui nous ont soutenues tout le long de notre travail.

Résumé

Stevia rebaudiana, communément appelée *stevia*, est une plante originaire d'Amérique du Sud, connue pour sa richesse en glycosides de stéviol intensément sucrés mais aussi en éléments nutritifs essentiels pour l'organisme. L'utilisation de la *stevia* comme substitut du sucre, offre une solution sucrante naturelle et sans calories qui permettrait de réduire les problèmes liés à la surconsommation de sucre. Pour ce faire, nous avons étudié la composition nutritionnelle et minérale des feuilles de *Stevia* cultivée en Algérie. Etant une plante très riche en sucre, nous avons réalisé une extraction des glycosides de stéviol par décoction, infusion, ultra-sons et micro-ondes. Nous avons par ailleurs réalisé un dosage des sucres totaux dans nos extraits par la méthode Dubois.

Nos résultats révèlent que la composition nutritionnelle des feuilles de *Stevia* était comme suit : lipides 3,228% \pm 0,0514, protéines 9,192% \pm 1,002, carbohydrates 56, 783% \pm 17,202, fibres 0,338% \pm 0,005, humidité 7,706% \pm 0,0378, cendres 22, 751% \pm 17,339, et valeur énergétique 252,165 kcal/g \pm 61,420. Le dosage des minéraux a révélé que la *Stevia* était riche en calcium (38.680%) et potassium (36.145%). Le dosage des sucres dans les quatre extraits a révélée qu'il n'y a pas de différence significative être les techniques utilisées pour l'extraction des glycosides ($P > 0.05$).

Les résultats de notre étude mettent en évidence la richesse de la *Stevia* en sucres et en éléments nutritifs et permettent d'envisager son introduction progressive dans l'alimentation du consommateur algérien.

Mots-Clés : *Stevia rebaudiana*, sucre hypocalorique, substituts de sucre.

Abstract

Stevia rebaudiana, commonly known as *stevia*, is a plant native to South America, known for its rich content of intensely sweet steviol glycosides and essential nutrients for the body. Using stevia as a sugar substitute offers a natural, calorie-free sweetening solution that could help reduce the problems associated with over-consumption of sugar. To this end, we studied the nutritional and mineral composition of *Stevia* leaves grown in Algeria. As this plant is very rich in sugar, we extracted the steviol glycosides by decoction, infusion, ultrasound and microwave. We also measured the total sugars in our extracts using the Dubois method.

Our results reveal that the nutritional composition of *Stevia* leaves was as follows: lipids 3.228% \pm 0.0514, proteins 9.192% \pm 1.002, carbohydrates 56, 783% \pm 17.202, fiber 0.338% \pm 0.005, moisture 7, 706% \pm 0.0378, ash 22, 751% \pm 17.339, and energy value 252.165 kcal/g \pm 61.420. Mineral analysis revealed that *stevia* was rich in calcium (38.680%) and potassium (36.145%). The determination of sugars in the four extracts revealed that there was no significant difference between the techniques used to extract the glycosides ($P > 0.05$).

The results of our study highlight the high sugar and nutrient content of *Stevia* and suggest that it could be gradually introduced into the diet of Algerian consumers.

Keywords: *Stevia rebaudiana*, low-calorie sugar, sugar substitutes.

ملخص

ستيفيا ريبوديانا، والمعروفة باسم ستيفيا، هي نبتة موطنها الأصلي أمريكا الجنوبية، وهي معروفة بمحتواها الغني من جليكوسيدات ستيفيول شديدة الحلاوة والمغذيات الأساسية للجسم. يوفر استخدام نبات ستيفيا كبديل للسكر حلاً طبيعياً خالياً من السعرات الحرارية للتخفيف من الحلاوة ويمكن أن يساعد في الحد من المشاكل المرتبطة بالإفراط في استهلاك السكر. ولهذا الغرض، قمنا بدراسة التركيب الغذائي والمعدني لأوراق ستيفيا المزروعة في الجزائر. وبما أن هذه النبتة غنية جداً بالسكر، فقد قمنا باستخلاص جليكوسيدات ستيفيول جليكوسيدات عن طريق الغليكوسيديز عن طريق المغلي، والنقع، والموجات فوق الصوتية، والموجات الدقيقة. كما قمنا بقياس السكريات الكلية في المستخلصات باستخدام طريقة دوبوا.

كشفت نتائجنا أن التركيب الغذائي لأوراق ستيفيا كان على النحو التالي: الدهون $3.228 \pm 0.0514\%$ ، البروتينات 9.192% ، الكربوهيدرات $1.002 \pm 0.0378\%$ ، الألياف $17.202 \pm 0.338\%$ ، الرطوبة $7 \pm 0.005\%$ ، الرماد $22 \pm 0.751\%$ ، وقيمة الطاقة 252.165 كيلو كالوري/غرام ± 61.420 . كشف التحليل المعدني أن الستيفيا كانت غنية بالكالسيوم (38.680%) والبوتاسيوم (36.145%). كشف تحديد السكريات في المستخلصات الأربعة عن عدم وجود فرق كبير بين التقنيات المستخدمة لاستخلاص الجليكوسيدات ($P > 0.05$).

تسلط نتائج دراستنا الضوء على المحتوى العالي من السكر والمغذيات في ستيفيا وتقتصر إمكانية إدخالها تدريجياً في النظام الغذائي للمستهلكين الجزائريين.

الكلمات المفتاحية: ستيفيا ريبوديانا، سكر منخفض السعرات الحرارية، بدائل السكر.

Sommaire

Sommaire	I
Liste des acronymes	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Introduction générale	1

Chapitre I : Etude Bibliographique

I.1. Introduction	3
I.2. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	3
I.2.1. Origine et histoire de <i>Stevia</i>	4
I.2.2. Classification de <i>Stevia</i>	5
I.2.3. Description botanique	7
I.2.4. Climat et culture	9
I.2.5. Utilisations dans le monde	9
I.2.5.1. Utilisation traditionnelle.....	9
I.2.5.2. Utilisation actuelle	9
I.3. Composition des feuilles de <i>stevia rebaudiana</i>	10
I.3.1. Composition proximale	10
I.3.2. Composition minérale	11
I.3.3. Composition phytochimique	11
I.3.4. Composition en huiles essentielles.....	12
I.3.5. Composition en acides gras et acides aminés.....	13
I.3.5.1. Les acides gras	13

I.3.5.2. Les acides aminés.....	13
I.3.6. Composition en vitamines.....	14
I.3.7. Composition en glycosides de stéviol.....	14
I.3.7.1. Biosynthèse des glycosides de stéviol.....	17
I.3.7.2. Le pouvoir sucrant.....	18
I.4. Effets pharmacologiques des glycosides de stéviol.....	19
I.4.1. Effet anti-obésité.....	19
I.4.2. Effet antihyperglycémique.....	20
I.4.3. Effet antioxydant.....	21
I.4.4. Effet anti-cariogène.....	21
I.4.5. Effet antihypertenseur.....	23
I.5. Conclusion.....	24

Chapitre II : Matériel & Méthodes

I.1. Introduction.....	25
II.2. Echantillonnage.....	25
II.3. Détermination de la valeur nutritionnelle des feuilles de <i>Stevia</i>	25
II.3.1. Taux d'humidité.....	25
II.3.2. Taux de cendres.....	26
II.3.3. Détermination de la Matière grasse.....	27
II.3.4. Détermination de la teneur en fibres brutes.....	28
II.3.5. Détermination de la teneur en protéines.....	30
II.3.6. Taux de carbohydrates.....	32

II.3.7. La valeur énergétique	32
II.4. Dosage des minéraux par XRF	32
II.5. Extraction des glycosides de stéviol	33
II.5.1. La décoction.....	33
II.5.2. L'infusion.....	33
II.5.3. Ultra-sons (la sonication).....	34
II.5.4. Micro-ondes	34
II.5.5. Dosage des glycosides de stéviol.....	35
II.5.5.1. Préparation de la gamme étalon de dosage des glucides totaux	35
II.5.5.2. Dosage des glucides totaux dans l'échantillon de <i>stevia</i>	35
II.6. Analyses statistiques	36
II.7. Conclusion.....	36

Chapitre III : Résultats & Discussion

III.1. Evaluation de la composition nutritionnelle des feuilles de <i>Stevia</i>	37
III.2. La composition minérale	39
III.3. Extraction et dosage des glycosides de stéviol	40
Conclusion générale.....	42
Références bibliographiques.....	44

APG : Angiosperm phylogeny group.	N : normalité.
Br : Brome.	Ni : Nickel natif
Ca : Calcium.	RHA : Rhamnose.
Cl : chlore.	RA : Rébaudioside A.
Cm : Centimètre.	RB : Rébaudioside B.
°C : Degré Celsius.	RC : Rébaudioside C.
CAZY : Carbohydrates active enzymes.	RD : Rébaudioside D.
DMAPP : dimethylallyl diphosphate.	RE : Rébaudioside E.
DA : dulcosides A.	RF : Rébaudioside F.
Fe : Fer.	RAA : Système-rénine –angiotensine –aldostérone.
Fru : Fructose.	S : second.
Glu : Glucose.	°S : degré de sud.
G : Gramme.	S.Glys : Glycosides de stéviol.
H : heure.	Sr : Strontium.
HTA : Hypertension artérielle.	ST : Stéviolside.
IPP : isopentenyl diphosphate.	SV : Stéviol.
K : Potassium.	T° : Température.
MEP : 2-Méthyl-érythritol-4-phosphate.	UDP : Uridine diphosphate.
Mg : milligramme.	UGTs : UDP-glycosyltransférases.
Mn : Manganèse.	Xyl : Xylose.
Mm : millimètre.	XRF : spectrométrie de fluorescence X.
MmHg : millimètres de mercure.	Zn : Zinc.
Min : minute.	Zr : Zirconium.
ml : millilitre.	

Liste des figures**Chapitre I : Etude bibliographique**

Figure I.1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	3
Figure I.2. Classification <i>Stevia rebaudiana</i> selon l'Angiosperm Phylogeny Group III.....	6
Figure I.3. Parcelle expérimentale de <i>Stevia</i> localisée à Blagon (France) en troisième année de production en août	7
Figure I.4. Feuilles et fleurs de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	8
Figure I.5. Fleurs de <i>Stevia rebaudiana</i>	8
Figure I.6. Graines de <i>Stevia rebaudiana</i> . A droite une graine de couleur claire qui est stérile et à gauche une graine de couleur foncée qui est fertile	9
Figure I.7. Structure de steviol.....	15
Figure I.8. (A) Noyau de steviol et (B) Structure commune aux glycosides de steviol.....	15
Figure I.9. Localisation de la biosynthèse des S.Glys.....	17

Chapitre II : Matériel & Méthodes

Figure II.1. Four à moufles Themo scientific	26
Figure II.2. Appareil de soxhlet FOSS.....	27
Figure II.3. Fibretec VELP SCIENTIFICA	28
Figure II.4. Appareil de kjeldahl (A : dispositif minéralisateur, B : dispositif distillateur).....	30
Figure II.5. Début de la titration	31
Figure II.6. Fin de la titration.....	31
Figure II.7. Extraction par infusion sur plaques chauffantes (VELP SCIENTIFICA).....	33
Figure II.8. Sonicateur VIBRA CELL 75186.....	34
Figure II.9. Tubes contenant les complexes colorés résultants de la condensation des dérivées fulfuriques avec le phénol	36
Figure II.10. Spectromètre UV de type HELIOS ZETA UV-VIS.....	36

Chapitre III : Résultats & Discussion

Figure III.1. Courbe étalon du dosage des sucres totaux par la méthode Dubois 1956	40
-------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Liste des tableaux**Chapitre I : Etude bibliographique**

Tableau I.1. Composition proximale des feuilles de <i>Stevia</i>	10
Tableau I.2. Composition minérale des feuilles de <i>stevia rebaudiana</i>	11
Tableau I.3. Composition phytochimique des feuilles de <i>Stevia</i>	12
Tableau I.4. Les Composition en acides gras de l'huile de <i>Stevia</i>	13
Tableau I.5. Les compositions des acides aminés de <i>Stevia</i>	13
Tableau I.6. Teneur en vitamines par mg pour 100 g des feuilles séchées de <i>Stevia</i>	14
Tableau I.7. S.Glys présents chez <i>S.rebaudiana</i>	16
Tableau I.8. Pouvoir sucrant des glycosides de steviol	19

Chapitre II : Matériel & Méthodes

Tableau II.1. Gamme étalon de dosage des glucides totaux.....	35
----------------------------------------------------------------------	----

Chapitre III : Résultats & Discussion

Tableau III.1. Valeur nutritionnelle des feuilles de <i>Stevia</i> cultivée en Algérie.....	37
Tableau III.2. Valeur nutritionnelle des feuilles de <i>Stevia</i> cultivée en Inde, en Egypte et en Chine	38
Tableau III.3. Résultats d'analyse des minéraux par XRF (La spectrométrie de fluorescence de rayons X)	39
Tableau III.4. Comparaison des quatre méthodes d'extraction	40

Introduction Générale

Introduction générale

La surconsommation de sucre est devenue un grave problème de santé publique, associée à un risque accru de maladies chroniques telles que l'obésité, le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et certains types de cancer. Cette surconsommation conduit non seulement à une prise de poids en raison de la teneur élevée en calories du sucre, mais aussi à des déséquilibres dans l'appétit et la satiété, favorisant une alimentation excessive et non équilibrée (Jenzter, 2015).

Au cours des 20 dernières années, afin de surmonter ces problèmes sans supprimer le goût des aliments, l'industrie alimentaire s'est efforcée à développer des produits allégés en sucre. Ce dernier a été remplacé par des édulcorants acaloriques, des particules au goût sucré qui ne sont pas métabolisées par le corps humain. Ces édulcorants sont souvent obtenus par des procédés chimiques comme l'aspartame, l'acésulfam K ou le sucralose. Bien que leur utilisation pour la fabrication de produits alimentaires soit autorisée, la toxicité de ces édulcorants et leur impact sur la santé humaine alimentent les discussions au sein de la communauté scientifique (Jenzter, 2015). Ces préoccupations justifient le recours des consommateurs et industriels aux édulcorants naturels.

Stevia rebaudiana Bertoni, plus communément appelée *stevia* est une plante de la famille des *Asteraceae* originaire d'Amérique du sud. Elle possède la spécificité d'avoir un goût sucré très intense et un indice glycémique égale à zéro. Cette particularité est due à la présence de glycosides diterpénoïdes tétracycliques appelés « glycosides de stéviol » (Sangha, 2014).

La *Stevia* est principalement connue pour la teneur élevée en glycosides de stéviol dans ses feuilles qui, sont utilisées dans une large gamme de produits alimentaires comme édulcorant sans calories. En plus des glycosides, les feuilles de *stevia* contiennent des composants phytochimiques importants tels que, les protéines, les lipides, les acides aminés et gras, les huiles essentielles, les vitamines et les minéraux (Sangha, 2014).

Notre étude se fixe comme objet de déterminer la valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia* cultivée en Algérie afin d'envisager son introduction progressive dans l'alimentation du consommateur algérien. Eu égard à la richesse des feuilles de *Stevia* en glycosides hypocaloriques et en éléments nutritifs essentiels pour l'organisme (vitamines, minéraux et huiles essentiels), l'utilisation de cette plante peut s'avérer intéressante pour promouvoir la sécurité nutritionnelle et la santé du citoyen.

Notre mémoire est organisé en trois chapitres suivis d'une conclusion générale, à savoir :

- Dans le premier chapitre, nous étudions en détaille la plante de *Stevia rebaudiana*, comprenant son origine, sa classification, sa description botanique, son utilisation mondiale, et aussi sa compositions, toute en mettant en évidence les glycosides de stéviol et leurs effets pharmacologiques.
- Dans le deuxième chapitre nous présentons les différentes techniques et les démarches à suivre pour déterminer la valeur nutritionnelle et minérale des feuilles de *Stevia* cultivée en Algérie et l'extraction des glycosides de stéviol.
- Le troisième chapitre est dédié à la partie de discussion des résultats que nous avons obtenus durant notre travail.
- Enfin, nous terminons par une conclusion générale et des perspectives ultérieures à cette étude.

Chapitre I

Etude bibliographique

I.1. Introduction

Pour parler sur la demande croissante d'édulcorants naturels qui motivée par les inquiétudes concernant les édulcorants synthétiques cancérigènes. Des recherches ont identifié plusieurs substances végétales naturelles au goût sucré intense, notamment les glycosides de stéviol extraits de *Stevia rebaudiana*, utilisés comme alternatives hypocaloriques.

Dans ce chapitre, nous présentons une étude détaillée sur la plante de *Stevia rebaudiana*, comprenant son origine, sa classification, sa description botanique, son utilisation mondiale, et aussi ses diverses compositions, toute en mettant en évidence les glycosides de stéviol et leurs effets pharmacologiques.

I.2. *Stevia rebaudiana* Bertoni

Stevia rebaudiana Bertoni, communément appelée *Stevia* (Figure I.1), est un arbuste vivace appartenant à la famille des Astéracées ; de la région d'Amambay, au nord-est du Paraguay ; bien qu'il ait été aussi liée à des régions du Brésil et de l'Argentine.



Figure I.1. *Stevia rebaudiana* Bertoni

Stevia rebaudiana Bertoni appartient à la famille des *Asteraceae*. Elle fut découverte par le Dr. Moisés Santiago Bertoni en 1887, cependant la plante été utilisée par les Indiens Guarani depuis des centaines d'années. La *Stevia* a une longue histoire d'usage médicinal au Paraguay et au Brésil et ses nombreuses applications thérapeutiques sont transmises de génération en génération depuis plusieurs d'années.

Il existe aujourd'hui (150- 200) espèces de *Stevia* (Wagner, 2012 ; Escutia *et al.*2019), mais *Stevia rebaudiana* Bertoni est la seule espèce avec des propriétés édulcorantes importantes. *Stevia* est connue principalement pour la teneur élevée en glycosides de stéviol dans ses feuilles qui sont utilisés dans une large gamme de produits alimentaires comme un édulcorant sans saccharose et sans calories.

En plus des glycosides, les feuilles de *Stevia* contiennent d'importants constituants phytochimiques tels que flavonoïdes, alcaloïdes, chlorophylles et xanthophylles hydrosolubles, acides hydroxy cinnamiques (acide caféique, acide chlorogénique...etc.), oligosaccharides hydrosolubles, sucres libres, acides aminés, lipides, huiles essentielles, protéines et oligo-éléments (Escutia *et al.*2019).

I.2.1. Origine et histoire de *Stevia*

L'histoire de la culture du *Stevia* commence au Paraguay et au Brésil. Les indiens Guarani connaissent cette plante au goût sucré depuis des siècles sous le nom de « caâ-êhê », signifiant « herbe sucrée ». Parmi les nombreuses utilisations, ils se servent des feuilles pour édulcorer des tisanes comme le *maté*. C'est ainsi que la *Stevia* a obtenu le nom d'« herbe sucrée du Paraguay » (Handro et Ferreira, 1989).

Le genre *Stevia* doit son nom au Dr. Peter James Esteve, botaniste espagnol du XVI^e siècle (H. Everett, 1980). En 1887, le botaniste suisse Moises Santiago Bertoni fut le premier à découvrir l'espèce *rebaudiana*, grâce aux indiens paraguayens et aux Mestizos. En 1899, il la nomma *Eupatorium rebaudianum* Bertoni, en hommage au chimiste Ovidio Rebaudi, qui fut le premier à isoler son principe actif. En 1904, après observation d'un échantillon frais de la plante, il a décidé de la classer sous le nom de *Stevia rebaudiana Bertoni*.

Le premier pays à utiliser la *Stevia* en dehors de l'Amérique du Sud fut le Japon, et ce dès le début des années soixante-dix, suite à aux restrictions d'utilisation des édulcorants artificiels. Dès lors, l'investissement dans la recherche et la commercialisation de la *Stevia* paraissait intéressante. C'est ainsi que l'utilisation de la *Stevia*, en tant qu'agent sucrant usuel, s'est développée [1].

La production commerciale de *Stevia*, en tant que plante et édulcorant, se fait essentiellement en Amérique latine (Brésil, Paraguay, Uruguay), aux Etats-Unis, en Thaïlande et en Chine. On l'incorpore couramment dans de nombreux produits tels que limonades et boissons non-alcoolisées, pâtisseries, sucreries, confitures, sorbets, chewing-gums, cornichons et produits du tabac [1].

I.2.2. Classification de *Stevia*

Stevia rebaudiana Bertoni, aussi appelé «chanvre d'eau», est une plante de la famille des *Asteraceae*. Cette famille contient essentiellement des plantes herbacées mais aussi des arbres, des arbustes ou même des lianes. Le genre *Stevia* comprend (150-200) espèces (Wagner, 2012 ; Escutia *et al.*2019).

Stevia rebaudiana est répertoriée dans la dernière classification botanique des angiospermes établie par l'Angiosperm Phylogeny Group (APG) (Figure I.2). A ce jour, il s'agit de la classification botanique la plus importante. La classification APG III en est la troisième version et date de 2009 (Wagner, 2012).

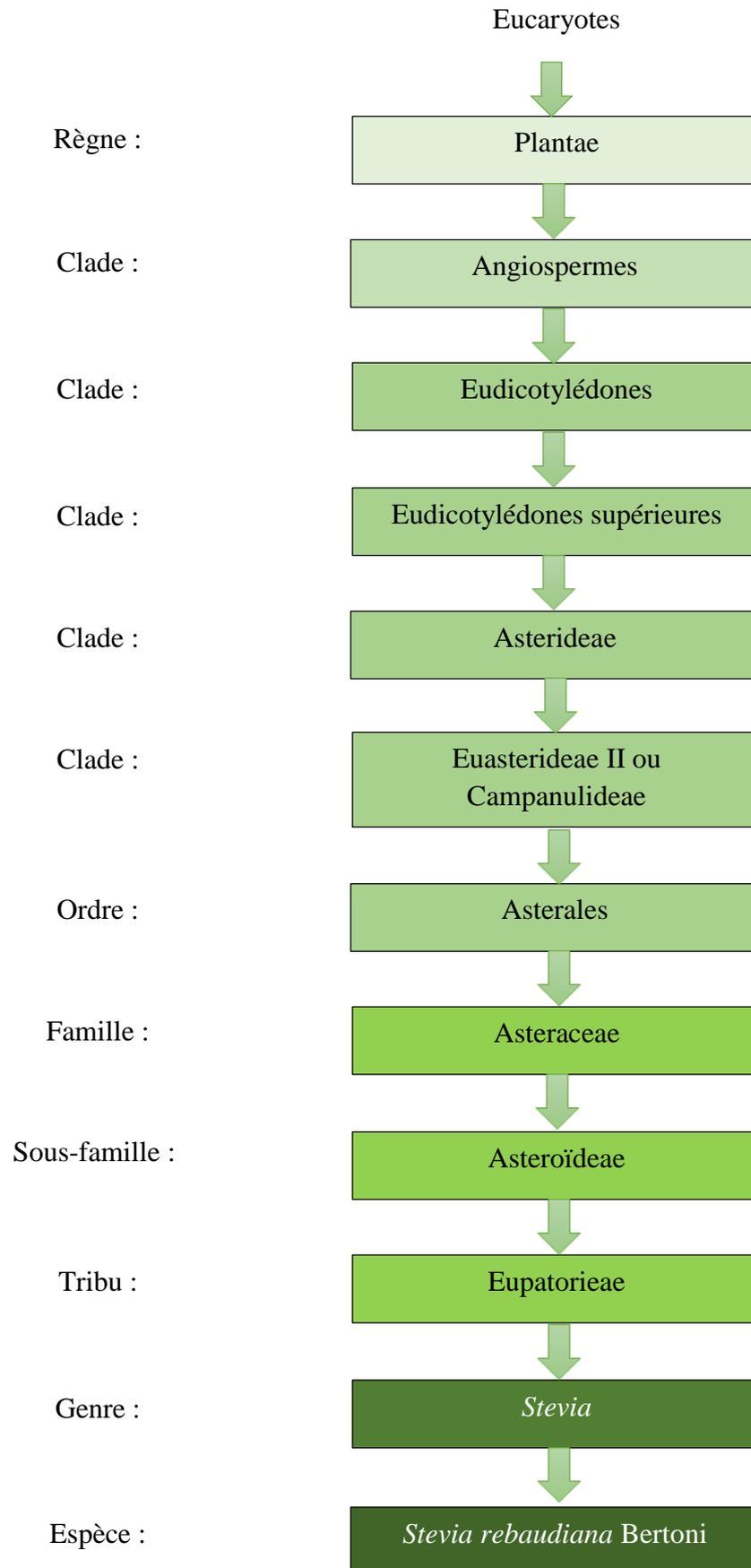


Figure I.2. Classification *Stevia rebaudiana* selon l'Angiosperm Phylogeny Group III (Wagner, 2012)

I.2.3. Description botanique

Stevia rebaudiana est une plante herbacée pérenne mesurant 30 à 50 cm de hauteur à l'état sauvage. En culture elle peut atteindre une taille moyenne de 70 à 80 cm et jusqu'à plus de 140 cm en conditions optimales (Voir la figure I.3 ci-dessous).



Figure I.3. Parcelle expérimentale de *Stevia* localisée à Blagon (France) en troisième année de production en août (crédit photo : Zoé Le Bihan)

Elle possède des racines filiformes, une tige mince et dressée, et produit facilement des ramifications secondaires depuis sa base qui sont renouvelées annuellement (Jentzer, 2015).

Ses feuilles ayant des formes et des tailles très variées allant de l'ovale à une forme oblongue. Larges d'environ 1 à 2 cm et longues de 3 à 5 cm et présentant un bord dentelé (Figure I.4) (Barbet, 2015 ; Angelini *et al.*, 2018). Les feuilles les plus larges et longues sont les plus anciennes (Rodríguez *et al.*, 2019). Les feuilles et tiges de *Stevia* présentent à leur surface des trichomes, qui sont de fines excroissances pouvant prendre plusieurs formes : allongées, coniques, glandulaires ou encore doublées.



Figure I.4. Feuilles et fleurs de *Stevia rebaudiana* Bertonni (Muanda ,2010)

Les fleurs de *Stevia rebaudiana* sont pentamères, petites, habituellement blanches, et groupées en capitules. Elles peuvent aussi être mauves et avoir une coloration différente entre le haut et le bas (Voir la Figure I.5 ci-dessous).



Figure I.5. Fleurs de *Stevia rebaudiana*

Les graines sont composées d'un petit endosperme et de poils fins disposés en corolle qui composent le Pappus et facilitent la dispersion aérienne (Ramesh *et al.* 2006). Lorsqu'elles sont vides et ne contiennent pas d'embryon leur couleur est pâle, en revanche les graines issues d'une vraie fécondation ont une couleur plus sombre (Voir la figure I.6) (Yadav *et al.*, 2011 ; Raina *et al.*, 2013).

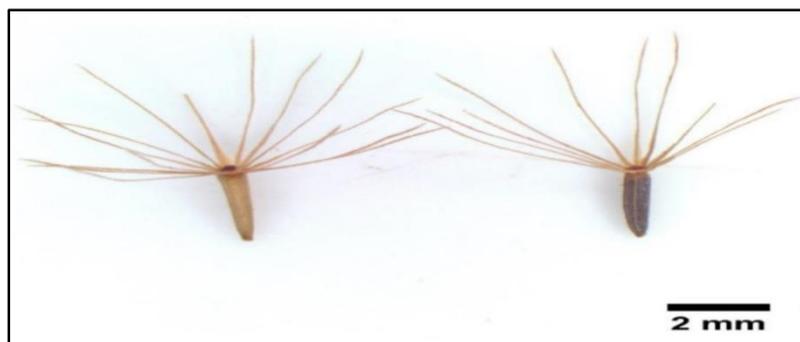


Figure I.6. Graines de *Stevia rebaudiana*. A droite une graine de couleur claire qui est stérile et à gauche une graine de couleur foncée qui est fertile (crédit photo : zoé le Bihan)

I.2.4. Climat et culture

Dans son habitat naturel, on retrouve *S. rebaudiana* sur les bords de marais ou dans des communautés de prairies, dans des sols aux nappes phréatiques peu profondes, continuellement humides mais n'étant pas sujet à une inondation prolongée. Il s'agit en général de sols peu fertiles - tourbes ou sables - et acides ($\text{pH} \pm 4,5$). Le climat est subtropical, avec des températures allant de -6°C à $+43^{\circ}\text{C}$, pour une valeur moyenne annuelle de $+23^{\circ}\text{C}$, et avec des précipitations moyennes annuelles de 1400 mm. A cette latitude ($21-22^{\circ}\text{S}$), la photopériode n'excède pas 14 h et est inférieure à 13 h de mars à octobre. Les plantes fleurissent à partir de janvier-mars, ce qui équivaut à juillet septembre dans l'hémisphère nord (Shock, 1982).

I.2.5. Utilisations dans le monde

I.2.5.1. Utilisation traditionnelle

En Amérique du Sud, la *Stevia* est employée dans la médecine traditionnelle. Elle est considérée par certaines tribus comme ayant des propriétés contraceptives, antidiabétiques et anti hypertensives (Soejarto, 2002). Elle est aussi utilisée pour améliorer la digestion et l'hygiène buccodentaire (prévention des caries, élimination de la plaque dentaire) et dans certains traitements de la peau (anti seborrhéique).

I.2.5.2. Utilisation actuelle

La *Stevia* peut être utilisée avec ou sans transformation, soit sous forme de poudre de feuilles séchées, soit sous forme d'extraits standardisés, en générale les feuilles fraîches sont

utilisées dans la préparation de sauces et surtout de tisanes. Les feuilles, fraîches ou séchées sont utilisables en cuisines (Midmore et Rank, 2002).

La stevia commence à intéresser certaines agricultures algériennes qui ont lancé sa culture dans différentes régions de pays .par ailleurs, les glucosides de stéviol ne sont pas encore produits en Algérie ces derniers sont importés sous forme de poudre blanche et distribué en pharmacie ou en grandes surfaces.

Seules les feuilles de *Stevia* possèdent des composés fortement sucrés donnant à la plante ses vertus édulcorants, les autres organes de la plante (tiges, fleurs, graines) sont traités et permettent de produire de la nourriture pour les animaux et des engrais (Penner *et al.*, 2012).

Actuellement le Marché le plus important pour la *Stevia* est celui de l'industrie alimentaire et des boissons. Par ailleurs, la *Stevia* est connaît une large application dans le domaine pharmacologique et cosmétologique pour la production de dentifrices, gommages, masque, pures ou mélangées avec de l'aloë vera, de l'argile ou des huiles essentielles agissant comme agent purifiant et cicatrisant (Rank, 2015).

I.3. Composition des feuilles de *stevia rebaudiana*

Avant de débiter cette partie, il est nécessaire de préciser 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 culture (composition du sol, ensoleillement, irrigation, récolte...), entraînent une variation sur la teneur en molécules d'intérêt, cependant la composition chimique demeure constante (Lesniarek, 2015).

I.3.1. Composition proximale

Le *Stevia* contient beaucoup de glucides, de protéines et peu de matières grasses. Les teneurs de ses différents composants dans les feuilles de *Stevia* sont données dans le tableau I.1 ci-après.

Tableau I.1. Composition proximale des feuilles de *Stevia* (mg /100g)

La composition	Mishra et al. (2010)	Tadhani et subhash (2006 a)	Serio (2010)
Protéines	10	20.4	11.2
Glucides	52	35.2	53
Matière grasse	3	4.34	5.6

I.3.2. Composition minérale

Les minéraux sont des substances inorganiques naturelles qui ont une composition chimique spécifique et une structure cristalline régulière. Ils se forment généralement par des processus géologiques dans des conditions particulières de température, de pression et de présence de certains éléments chimiques [2].

Les feuilles de *Stevia* contiennent une gamme de minéraux essentiels (Tableau I.2), notamment de potassium, calcium, magnésium, phosphore, sodium, zinc et du fer. Des traces d'autres éléments, tels que le cuivre et le manganèse ont également été détectées dans la plante. Ces minéraux jouent un rôle crucial dans divers processus biologiques et sont essentiel pour maintenir la santé humaine (Jentzer, 2015).

Tableau I.2. Composition minérale des feuilles de *stevia rebaudiana* (résultats exprimés en mg /100g de masse sèche)

Minéraux	Références			
	Goyal et al (2010)	Savita et al (2004)	Serio (2010)	Tadhani et al (2006)
Calcium	544	464	600	1550
Magnésium	349	349	500	N.D
Potassium	1780	1800	1800	2510
Phosphore	318	11	318	350
Sodium	89	190	N.D	160
Fer	4	55	4	36

(N.D : non déterminé)

La composition minérale de *S.rebaudiana* varie en fonction de plusieurs facteurs environnementaux tels que le sol, le climat et les conditions de croissances (Jentzer, 2015).

I.3.3. Composition phytochimique

La composition phytochimique des feuilles de *stevia* est présentée dans le tableau I.3 ci-dessous.

Parmi les dérivés steroïques, on peut citer le stigmasterol, le β -sitostérol et le campesterol.

Tableau I.3. Composition phytochimique des feuilles de *Stevia* (Rengassamy, 2015)

Constituants	Concentration
Tanins	Très forte
Alcaloïdes	Elevée
Glycosides	Moyenne
Saponines	Moyenne
Stérol et Triterpène	Moyenne
Anthraquinones	Faible

I.3.4. Composition en huiles essentielles

Selon la norme AFNOR (1986), les huiles essentielles sont des produits obtenus, soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques, et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Elles sont obtenues par distillation à la vapeur ou par pression à froid. Les huiles essentielles sont composées de divers composés chimiques volatils qui leur confèrent des arômes distinctifs et des propriétés thérapeutiques potentielles.

La composition en huiles essentielles des feuilles de *stevia* a été étudiée pour comprendre sa diversité chimique. Les recherches ont révélé la présence de différents composés volatils dans ces feuilles, bien que leur concentration soit généralement faible.

Huit huiles essentielles sont retrouvées dans les feuilles de *Stevia* (Rengassamy, 2015) :

- β -caryophyllène
- trans β -tarnesène
- α -humulène
- caryophyllèneoxyde
- terpinène-4-ol
- nérélidol
- α -terpinèol
- linalol

I.3.5. Composition en acides gras et acides aminés

I.3.5.1. Les acides gras

Les acides gras sont le constituant principal des lipides, ils sont composés d'une chaîne d'atomes de carbone liés entre eux par des liaisons simples (s'il est saturé) ou doubles (s'il est insaturé) et provenant de la dégradation des sucres ou des graisses alimentaires.

Les feuilles de *Stevia* contiennent des quantités plus ou moins faibles en acides gras (Voir le tableau I.4) par rapport à d'autres composants comme les glycosides de stéviol, qui sont responsables de leur saveur sucrée.

Tableau I.4. Les Composition en acides gras de l'huile de *Stevia* (Jentezer, 2015)

	Acide gras	Teneur (g/100g)
Saturé	Acide palmitique (C16)	27.5
	Acide stéarique (C18)	1.2
Insaturé	Acide oléique (C18-1)	4,4
	Acide linoléique (C18-2)	12,4
	Acide linoléique (C18-3)	21.6

I.3.5.2. Les acides aminés

Les acides aminés sont les éléments constitutifs fondamentaux des protéines. Ce sont des composés organiques contenant un groupe amine (-NH₂) et un groupe carboxyle (-COOH), ainsi qu'un radical spécifique appelé groupe R. Il existe 20 acides aminés standards qui sont utilisés pour construire les protéines dans les cellules vivantes.

Les feuilles de *Stevia* renferment une variété d'acides aminés essentiels et non essentiels illustrés dans le tableau I.5 ci-après (Mondaca, 2012).

Tableau I.5. Les compositions des acides aminés de *Stevia* (Mondaca, 2012)

Acides aminés essentiels	Teneur (g/100g)	Acides aminé non essentiels	Teneur (g/100g)
Lysine	0.70	Asprtate	0.37
Histidine	1.13	Serine	0.46
Leucine	0.98	Proline	0.17
Méthionine	1.45	Glysine	0.25
Valine	0.64	Alanine	0.56
Isoleucine	0.42	Tyrosine	1.08

1.3.6. Composition en vitamines

Les vitamines sont des substances organiques présentes dans les aliments à doses infimes et nécessaires au métabolisme (Latham, 2002).

La *Stevia* est une source des vitamines B (Voir le tableau I.6) notamment la vitamine B9 (acide folique) qui est présente en concentration importante dans les feuilles de *Stevia* (52.18 mg/100g), ainsi que la vitamine C (14.98 mg/100g) (Kim *et al.*, 2011).

Tableau I.6. Teneur en vitamines par mg pour 100 g des feuilles séchées de *Stevia*

Vitamines	Teneur (mg par 100g)
Vitamine B1	0.00 ± 0.00
Vitamine B2	0.43 ± 0.02
Vitamine B3	0.00 ± 0.00
Vitamine B6	0.00 ± 0.00
Vitamine B9	52.18 ± 0.21
Vitamine C	14.98 ± 0.07

1.3.7. Composition en glycosides de stéviol

Les glycosides de stéviol (S.Glys) sont des composés chimiques naturels présents dans les feuilles de la *Stevia*. Ces hétérosides sont formés par l'attachement de molécules de glucose à un squelette de base qui est le stéviol.

Le stéviol (SV), ou l'acide ent-kaurénoïque hydroxylé (Figure I.7), est un diterpène, précurseur d'hétérosides principalement présents dans les feuilles de *Stevia*. Il y en a aussi dans les tiges et les fleurs, mais en moindre quantité. Ces hétérosides ne sont pas présents dans les racines de la plante.

Les S.Glys sont des glycosides diterpènes ent-kaurène tétracycliques organisés autour d'un noyau de stéviol (SV) (Figure I.8 (B)). Ils diffèrent les uns des autres essentiellement par le nombre d'unités de sucre liées au SV, allant généralement de un jusqu'à sept. Les unités de sucre sont essentiellement du β -glucose (Glc) et, dans une moindre mesure, du α -rhamnose (Rha), du β -xylose (Xyl) et du β -fructose (Fru).

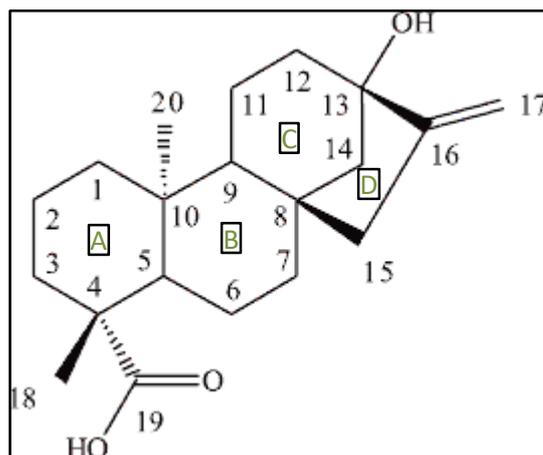


Figure I.7. Structure de stéviol

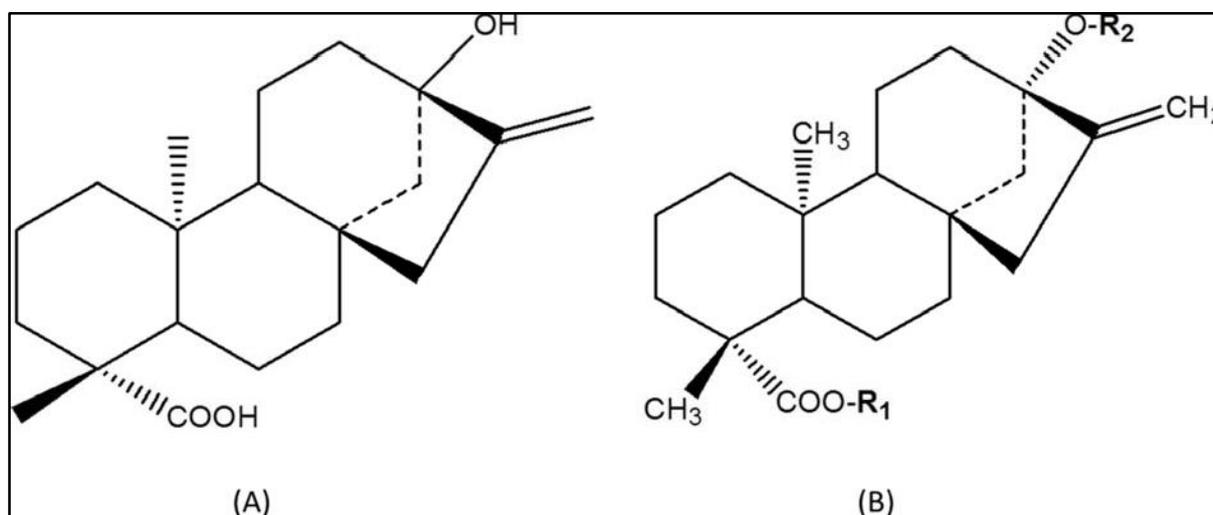


Figure I.8. (A) Noyau de stéviol et (B) Structure commune aux glycosides de stéviol.

Les radicaux R1 et R2 de chacun des S.Glys les plus présents dans la *Stevia* sont décrits dans le Tableau 07

Jusqu'au début des années 2000, neuf S.Glys avaient été identifiés chez *S. rebaudiana* : Le stéviolside (ST) (Bridel et Lavieille, 1931), le rébaudioside A (RA) et B (RB) (Kohda et al. 1976), C (RC) (Sakamoto et al. 1977a), D (RD) et E (RE) (Sakamoto et al. 1977b), F (RF) (Starratt et al. 2002), le dulcoside A (DA) (Kobayashi et al. 1977) et le stéviolbioside (Kohda et al. 1976) (Voir le tableau I.7). La composition en S.Glys dans les feuilles de *S. rebaudiana* varie selon le génotype.

La composition la plus communément retrouvée, dans les populations sauvages, est la suivante (en pourcentage de masse sèche des feuilles) : 5-10% ST, 2-5% RA, 1% RC, 0,5% DA, 0,2% rébaudiosides D, E et F, et 0,1% stéviolbioside (Ceunen et Geuns, 2013).

Ces dernières années, de nombreux S.Glys ont été détectées en petite quantité dans les feuilles de *S. rebaudiana*, sur des cultivars d'origine différentes. (Ceunen et Geuns, 2013a).

Tableau I.7. S.Glys présents chez *S.rebaudiana* (Ceunen et Geuns, 2013)

Nom	R1	R2	Formule	Références
Steviol	H	H	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	Minne et al. (2004)
Stéviolbioside	H	β-Glc-β-Glc (2→1)	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	Kohda et al. (1976)
Stévioside	β-Glc	β-Glc-β-Glc (2→1)	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	Bridel et lavieille. (1931)
Rébaudioside A	β-Glc	β-Glc-β-Glc (2→1) β-Glc (3→1)	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	Kohda et al. (1976)
Rébaudioside B	H	β-Glc-β-Glc (2→1) β-Glc (3→1)	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	Kohda et al. (1976)
Rébaudioside C	β-Glc	β-Glc-α-Rha (2→1) β-Glc (3→1)	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	Sakamoto et al. (1977a)
Rébaudioside D	β-Glc-β-Glc (2→1)	β-Glc-β-Glc (2→1) β-Glc (3→1)	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	Sakamoto et al. (1977b)
Rébaudioside E	β-Glc-β-Glc (2→1)	β-Glc-β-Glc (2→1)	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	Sakamoto et al. (1977b)
Rébaudioside F	β-Glc	β-Glc-β-Xyl (2→1) β-Glc (3→1)	C ₄₃ H ₆₈ O ₂₂	Starratt et al. (2002)
Dulcoside A	β-Glc	β-Glc-α-Rha (2→1)	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	Kobayashi et al. (1977)

I.3.7.1. Biosynthèse des glycosides de stéviol

Les glycosides de stéviol sont synthétisés dans les chloroplastes des feuilles, ensuite ils sont transportés par le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi et s'accumulent dans les vacuoles (Figure I.9). Ils peuvent représenter jusqu'à 10 à 20% du poids sec de la feuille (Morine, 2015).

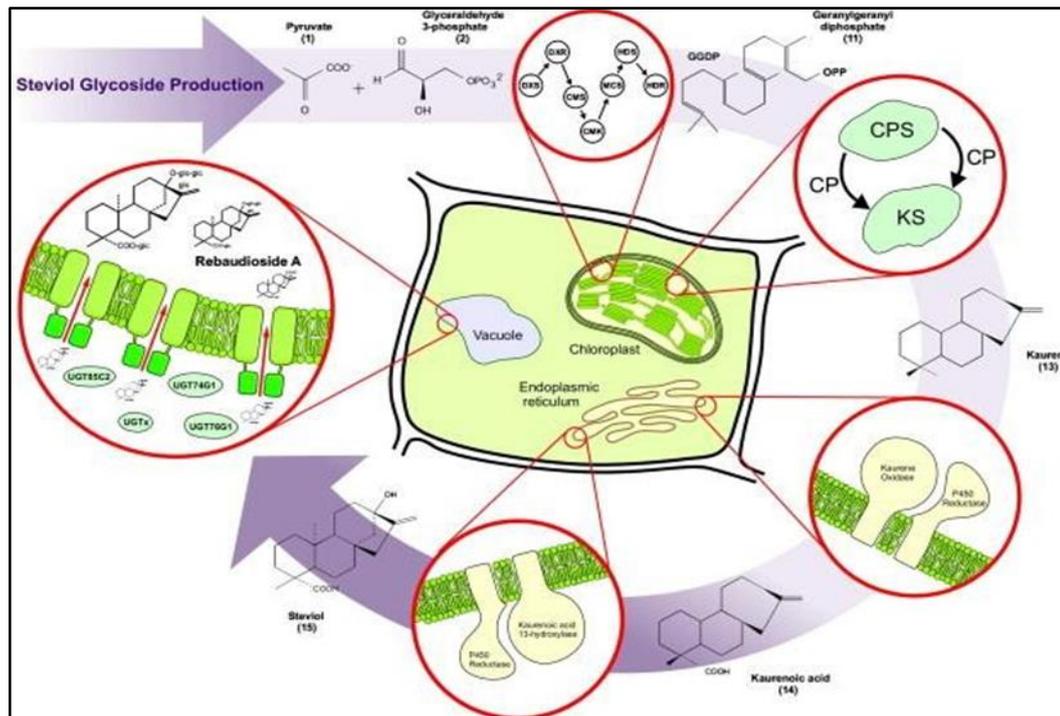


Figure I.9. Localisation de la biosynthèse des S.Glys

Comme tous les terpénoïdes synthétisés dans les chloroplastes des végétaux, la biosynthèse du stéviol suit la voie de 2-C-Méthyl-D-érythritol-4-Phosphate (MEP). C'est la même voie de synthèse qu'empruntent les gibbérellines, phytohormones de croissance.

La biosynthèse du stéviol et de ces glycosides débute dans les chloroplastes à partir du pyruvate et du glyceraldéhyde-3-phosphate jusqu'à la formation de l'isopentényl diphosphate (IPP) et du diméthylallyl diphosphate (DMAPP) qui termine la voie du MEP. A partir de là, vont se succéder trois réactions de condensation et deux réactions de cyclisation permettant l'obtention du kaurène. Celui-ci est envoyé vers le réticulum endoplasmique où il va être oxydé puis hydroxylé pour engendrer une molécule de stéviol.

C'est ensuite dans le cytosol que le stéviol va être glycosylé. Les réactions de glycosylations ont lieu par l'intermédiaire de glycosyltransférases en présence d'UDP-glycoside (uridine diphosphate). Les UDP-glycosyltransférases (UGTs) vont permettre l'ajout de molécules

de glucose, rhamnose ou xylulose au stéviol. Douze UGTs ont été identifiés comme permettant la synthèse des glycosides de stéviol dont trois principales, l'UGT 85C2, l'UGT 74G1 et l'UGT 76G1. Elles appartiennent toutes à la famille GT1 du groupe des glycosyltransférases selon la classification CAZY (Carbohydrate Active enzymes) qui ne dénombre pas moins de 95 familles.

A force d'ajout de résidus sucrés, les glycosides de stéviol deviennent de plus en plus hydrophiles et migrent vers la vacuole où ils vont s'accumuler. Les glycosides de stéviol sont présents dans toutes les parties de la plante à savoir dans les feuilles, mais également dans les tiges et les fleurs, en moindre quantité. Ils sont absents des racines de la plante.

Il a été démontré que la plante produit plus de glycosides de stéviol dans des conditions de jour court (12 heures (h) de lumière et 12 h d'obscurité) que de jour long (16 h de lumière et 8h d'obscurité). Dans les mêmes conditions, les feuilles supérieures produisent plus de glycosides de stéviol que les feuilles inférieures.

De plus, la quantité de rébaudioside A produite est quasiment égale à la quantité de stévioside produite dans des conditions de jour court au niveau des feuilles supérieures (Rengassamy, 2015).

I.3.7.2. Le pouvoir sucrant

Le pouvoir sucrant définit le goût sucré d'un produit, c'est le rapport entre la masse d'édulcorant employée et le goût sucré. Le sucre de référence utilisé pour évaluer le pouvoir sucrant est une solution de saccharose, dont le pouvoir sucrant est égal à 1. La mesure est relativement subjective puisque le goût n'est pas quantifiable.

Les glycosides de stéviol possèdent un fort pouvoir sucrant, de 30 jusqu'à 300 fois plus sucrant que le saccharose (Tableau I.8). Le rébaudioside A présente le pouvoir sucrant le plus élevé (200-300).

Suite aux études des structures chimiques et aux études organoleptiques, trois relations structure-activités découlent :

- Le pouvoir sucrant n'est pas lié au nombre d'oses présents sur la molécule, par exemple, le stévioside qui comporte 3 oses a un pouvoir sucrant plus élevé que le rébaudioside E qui possède 4 oses et un pouvoir sucrant moins élevé que le rébaudioside M qui détient 6 oses.

- Le remplacement d'une unité glucose par un rhamnose diminue le pouvoir sucrant ainsi, le stéviolside est plus sucrant que le dulcoside A.
- Le remplacement d'une unité glucose par une unité de xylose ne modifie pas le pouvoir sucrant ; par exemple, le rébaudioside A possède le même pouvoir sucrant que le rébaudioside F (Lesniarek, 2015).

Tableau I.8. Pouvoir sucrant des glycosides de stéviol
(Ceunen et Geuns, 2013)

Glycosides de stéviol	Pouvoir sucrant *
Stéviolside	150 - 250
Rébaudioside A	200 - 300
Rébaudioside B	150
Rébaudioside C	30
Rébaudioside D	221
Rébaudioside E	174
Rébaudioside F	200
Dulcoside A	30
Stéviolbioside	90

*Le pouvoir sucrant de référence est le saccharose avec un pouvoir de 1

I.4. Effets pharmacologiques des glycosides de stéviol (S.Glys)

Depuis des millénaires, les plantes ont été une source inépuisable de composés aux propriétés thérapeutiques variées. Parmi celles-ci, *Stevia rebaudiana* est distinguée par la présence de glycosides de stéviol, des molécules au pouvoir sucrant exceptionnel, mais dont les applications pharmacologiques vont bien au-delà de leur simple utilisation comme édulcorants.

Leur composition chimique unique confère à ces composés une gamme d'activités biologiques qui vont de l'effet édulcorant à des propriétés anti hypertensives, antidiabétique, anti oxydantes...etc.

I.4.1. Effet anti-obésité

L'obésité est une condition médicale caractérisée par un excès anormal de tissu adipeux dans le corps, entraînant une augmentation significative du poids corporel et de l'indice de masse corporelle (IMC). Elle résulte généralement d'un déséquilibre entre l'apport calorique et la dépense énergétique, souvent influencé par des facteurs génétiques, environnementaux, et comportementaux. L'obésité est associée à un risque accru de développer plusieurs maladies

chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2, certains cancers, et les troubles métaboliques, ce qui en fait un problème de santé publique majeur à l'échelle mondiale [3].

Outre l'utilisation des S.Glys comme édulcorants sans calories, des études récentes ont exploré leurs effets potentiels pour lutter contre l'obésité en réduisant l'apport calorique et en agissant sur la composition corporelle [3].

Réduction de l'apport calorique :

Comme les S.Glys sont des édulcorants sans calories, ils peuvent être utilisés pour substituer le sucre dans l'alimentation, ce qui peut aider à réduire l'apport calorique total et favoriser la perte de poids ou la prévention de la prise de poids excessive (Pan *et al.*, 2011).

Effets indirects sur la composition corporelle :

Bien que les S.Glys ne jouent pas un rôle direct dans la combustion des graisses, leur utilisation dans le cadre d'une alimentation équilibrée et d'un mode de vie sain peut contribuer à la gestion du poids en réduisant la consommation de calories provenant du sucre (Jeppesen *et al.*, 2003).

Cependant, les S.Glys ne sont pas une solution miracle pour traiter l'obésité et doivent être utilisés dans le cadre d'une approche globale de gestion du poids, comprenant une alimentation équilibrée et une activité physique régulière.

I.4.2. Effet antihyperglycémique

De nombreuses recherches suggèrent des effets positifs de l'utilisation des glycosides de stéviol sur la glycémie. En 2011, Mishra et son équipe ont remplacé le saccharose consommé dans le café, le thé ou le lait avec un extrait de *stevia* à 16 personnes diagnostiquées diabétiques. Après 15 jours, une diminution de la glycémie postprandiale a été observée. Les S. Glys ont un impact minimal sur la glycémie, ce qui signifie qu'ils n'entraînent pas de pic de glycémique après leur consommation. Cela peut être bénéfique pour les personnes atteintes de diabète ou prédiabétiques, ainsi que pour la gestion du poids (Anton *et al.*, 2010).

Selon des études cliniques, l'utilisation traditionnelle de l'extrait de *stevia* augmente la sensibilité à l'insuline et aussi sa sécrétion. Cette augmentation est influencée par les

composantes de la feuille de *stevia* et pourraient être liées à gluconéogenèse avec la stimulation de synthèse du glycogène hépatique.

Chez la souris, il a été démontré que les cellules ont montré une augmentation de production d'insuline par l'action du rebaudioside A. Il est également connu que le stéviol favorise la sécrétion d'insuline activée par le glucose (Gregersen S, 2004). En 2000, Jeppesen et ses collègues ont publié une étude déclarant que la consommation de *stevia* a provoqué une légère suppression du glucose plasmatique. Il a par ailleurs été démontré que les glycosides de stéviol pouvaient avoir un effet protecteur sur les cellules bêta, ce qui pourrait aider à prévenir leur dysfonctionnement et leur destruction (Anton *et al.*, 2010).

I.4.3. Effet antioxydant

Les antioxydants sont des composés qui ont gagné en importance ces dernières années en raison de leur capacité à neutraliser les radicaux libres. La présence excessive de radicaux libres engendre un stress oxydatif entraînant des effets néfastes sur l'organisme (Devasagayam *et al.*, 2004).

Les études ont révélé que les extraits aqueux et éthanoliques de *Stevia rebaudiana* présentent un potentiel notable en tant qu'antioxydants naturels (Hajihashemi et Geuns 2013). Ces extraits ont démontré une capacité inhibitrice envers les radicaux hydroxyles, l'oxyde nitrique et les anions superoxydes. Des évaluations de la capacité antioxydante des extraits aqueux de feuilles de *Stevia* ont mis en évidence leur efficacité, cet effet est attribué aux composés phénoliques et aux flavonoïdes contenus dans les feuilles (Tadhani *et al.*, 2006).

Par ailleurs, des recherches antérieures ont souligné le rôle bénéfique des extraits aqueux de *Stevia* dans l'atténuation du stress oxydatif cellulaire (Ferrazzano *et al.*, 2015).

Ces découvertes offrent des perspectives prometteuses quant à l'utilisation potentielle des extraits de *Stevia* en tant qu'agents antioxydants naturels, ouvrant ainsi la voie à de futures recherches sur leur utilisation dans la prévention des dommages oxydatifs et des pathologies associées.

I.4.4. Effet anti-cariogène

La carie dentaire est une maladie chronique qui peut se développer pendant toute la vie. C'est une maladie infectieuse causée par des micro-organismes oraux qui fabriquent des métabolites acides issus de glucides présents dans l'alimentation (principalement saccharose et

glucose et fructose). Ces métabolites provoquent la déminéralisation de l'émail dentaire ce qui conduit progressivement vers une destruction de la structure de la dent. *Streptococcus mutans* est la principale bactérie responsable des caries, suivie de *Lactobacillus casei* et de *Streptococcus sanguis*.

Les S.Glys ont été étudiés en raison de leurs propriétés anti-cariogènes, c'est-à-dire leur capacité à prévenir la formation de caries dentaires. Cet effet se traduit par les mécanismes suivants :

Absence de fermentation par les bactéries buccales

Contrairement aux glucides simples tels que le saccharose, les glycosides de stéviol ne sont pas fermentés par les bactéries présentes dans la bouche. Les bactéries buccales utilisent les glucides fermentescibles pour produire des acides qui attaquent l'émail des dents, favorisant ainsi la formation de caries. Étant donné que les glycosides de stéviol ne sont pas fermentés, ils ne contribuent pas à l'acidification de la bouche, ce qui peut aider à prévenir la formation de caries dentaires (Ramarao *et al.*, 2017).

Propriétés antibactériennes

Des études ont montré que certains composés présents dans les glycosides de stéviol ont des propriétés antibactériennes contre les bactéries buccales responsables de la formation de plaque dentaire et de caries, telles que *Streptococcus mutans*. En inhibant la croissance de ces bactéries, les glycosides de stéviol peuvent contribuer à maintenir une bonne santé bucco-dentaire et à prévenir la formation de caries (Ramarao *et al.*, 2017).

Stimulation de la salivation

La consommation de glycosides de stéviol peut également stimuler la production de salive, ce qui est bénéfique pour la santé bucco-dentaire. La salive joue un rôle important dans la protection des dents en éliminant les débris alimentaires, en neutralisant les acides et en fournissant des minéraux essentiels tels que le calcium et le phosphate pour reminéraliser l'émail dentaire.

En raison de ces mécanismes, les glycosides de stéviol peuvent potentiellement contribuer à réduire le risque de caries dentaires lorsqu'ils sont utilisés comme édulcorants dans les aliments et les boissons. Cependant, il est important de noter que d'autres facteurs tels que l'hygiène bucco-dentaire globale jouent également un rôle crucial dans la prévention des caries dentaires (Ferrazzano *et al.*, 2015).

I.4.5. Effet antihypertenseur

L'hypertension artérielle (HTA) est une condition médicale caractérisée par une pression sanguine anormalement élevée dans les artères. Elle est définie lorsque la pression artérielle systolique est égale ou supérieure à 130 mmHg et/ou la pression diastolique est égale ou supérieure à 80 mmHg, sur une base régulière et sur plusieurs mesures. L'HTA est un facteur de risque majeur pour de nombreuses maladies graves, notamment les maladies cardiovasculaires, les accidents vasculaires cérébraux et les maladies rénales. Bien qu'elle puisse être asymptomatique pendant de nombreuses années, elle peut endommager progressivement les organes internes si elle n'est pas traitée [4].

Des études scientifiques ont en effet mis en évidence l'effet hypotenseur des glycosides de stéviol, suggérant qu'ils pourraient jouer un rôle dans la régulation de la pression artérielle. Cette propriété est particulièrement intéressante dans le contexte de la prévention et du traitement de l'HTA et se traduit par :

L'inhibition de l'absorption de sodium :

Certains S.Glys ont démontré une capacité à inhiber l'absorption de sodium dans les tubules rénaux. En réduisant la réabsorption de sodium qui peut favoriser l'excrétion d'eau et de sodium par les reins, ce qui peut entraîner une réduction de la pression artérielle (Chan *et al.*, 2000).

Effet vasodilatateur :

Des études précliniques suggèrent que les S.Glys pourraient agir comme des vasodilatateurs, c'est-à-dire qu'ils favorisent la relaxation des vaisseaux sanguins. En élargissant les vaisseaux, ces composés permettent à la circulation sanguine de s'écouler plus facilement, ce qui peut contribuer à abaisser la pression artérielle (Hajihashemi et Geuns, 2013).

Effet sur le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAA) :

Certains S.Glys pourraient influencer le système rénine-angiotensine-aldostérone, un système hormonal impliqué dans la régulation de la pression artérielle. En modulant ce système, les glycosides de stéviol pourraient contribuer à maintenir une pression artérielle normale (Thines, 2001).

Les S.Glys représentent un domaine de recherche en évolution dans le secteur pharmacologique et alimentaire, offrant des perspectives prometteuses pour le développement de

produits alimentaires et pharmacologiques plus sûre et plus efficace pour la gestion du poids et la prévention des maladies chroniques.

Des études ont montré que des doses très élevées de *stevia* peuvent provoquer des effets indésirables. De plus, la *stevia* peut interagir avec certains médicaments (Lesniarek ,2015). Pour réduire ces risques, il est recommandé d'utiliser la *stevia* avec modération. L'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) établie une dose quotidienne autorisée de 4 mg par kilogramme de poids corporel et par jour. En suivant ces recommandations, il est possible d'obtenir les bienfaits de *stevia* tout en réduisant les risques potentiels liés à une consommation excessive (Lesniarek ,2015).

I.5. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons exposé un rappel sur la *Stevia*, les compositions diverses de ses feuilles ainsi que les glycosides de stéviol et leurs effets pharmacologiques.

Dans le prochain chapitre, nous présentons les techniques que nous avons employées pour l'évaluation de la valeur nutritionnelle de la *Stevia* et les méthodes d'extraction de ses glycosides.

Chapitre II

Matériel & Méthodes

II.1. Introduction

L'intérêt croissant pour la *stevia* en tant qu'alternative saine au sucre raffiné a mis en évidence la nécessité d'analyser sa composition nutritionnelle et l'extraction de ses glycosides de stéviol pour une compréhension approfondie de ses avantages et de son potentiel.

Ce chapitre aborde diverses techniques utilisées pour évaluer la valeur nutritionnelle et minérale de la *stevia*, ainsi que les méthodes d'extraction des glycosides de stéviol.

II.2. Echantillonnage

Les feuilles de *stevia* ont été cultivées sous serres . Après récolte, les feuilles de *Stevia* sont séchées au laboratoire à température ambiante, pendant 15 à 20 jours puis finement broyées et conservées à 4°C.

II.3. Détermination de la valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia*

La qualité nutritionnelle des feuilles de *stevia* est évaluée par la détermination du taux d'humidité, cendres, fibres, protéines, matière grasse, carbohydrates et valeur énergétique.

II.3.1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité représente la teneur en eau contenue dans une biomasse solide stockée à l'abri de la lumière (Reynes *et al.* 1994).

- **Protocole :**

Le taux d'humidité est déterminé selon (Reynes *et al.*, 1994) en utilisant 1 g de *Stevia* déposé dans un creuset, et placé à l'étuve à 105°C. Après 24h de déshydratation, les creusets sont placés dans un dessiccateur puis pesés, et le taux d'humidité est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Humidité} = [(P_1 - P_2) / P_1] \times 100$$

Avec :

- P₁ : Poids de *stevia*.
- P₂ : Poids du creuset après 24h – la masse initiale du creuset vide.

II.3.2. Taux de cendres

La détermination du taux de cendres renseigne sur le pourcentage de matière organique dans la plante par rapport à la substance séchée. Nous l'avons déterminé selon la norme AOAC N940.26 (1995) citée par Al Farsi (2005).

- **Protocole :**

Le dosage des cendres est réalisé en utilisant de la masse de *Stevia* récupérée à partir du dosage de l'humidité. Ainsi, après 24h à 105°C, les creusets sont placés dans le four à moufles à 540°C pendant 10h jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres (Voir la figure II.1). Le taux de cendres est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\% \text{ Cendres} = (P_1/P_2) \times 100$$

Avec :

- P1 : poids de cendres (poids du creuset après 24h – poids initial du creuset vide).
- P2 : poids de *Stevia*.



Figure II.1. Four à moufles Thermo scientific

II.3.3. Détermination de la Matière grasse

La matière grasse contenue dans les feuilles de *Stevia* est extraite selon la méthode soxtec FOSS TM 2043. A cet effet, nous avons utilisé l'appareil de Soxhlet (Figure II.2), qui permet d'effectuer automatiquement plusieurs cycles d'extraction avec un seul échantillon. Le solvant est évaporé, condensé et recueilli dans la chambre en verre. Un fois que le niveau de solvant atteint la ligne de la cellule photoélectrique le solvant retombe automatique dans le bécher et s'évapore de nouveau.



Figure II.2. Appareil de soxhlet FOSS

- **Protocole :**

On met 1 g de *Stevia* dans 25 ml d'éther de pétrole, puis on le met dans l'appareil de soxhlet à 90°C pendant 24 h. On détermine le pourcentage de matière grasse selon la formule suivante :

$$\% \text{ MG} = [(P_{c2} - P_{c1}) / P_2] \times 100$$

Avec :

- P_{c1} : Poids du creuset vide.
- P_{c2} : Poids du creuset après 24h (creuset contenant la matière grasse).
- P_2 : Poids de *Stevia*.

II.3.4. Détermination de la teneur en fibres brutes

La teneur en fibres brutes est déterminée selon la méthode AACC 32-10-01 en utilisant un Fibertec VELP SCIENTIFICA (Figure II.3). Le principe de cette méthode repose sur la digestion de composés non cellulosiques à l'aide d'acide sulfurique H_2SO_4 et d'hydroxyde de sodium NaOH. La quantité de cellulose brute est déterminée par la différence entre le poids des résidus séchés restant après la digestion de l'échantillon et le poids des résidus incinérés.



Figure II.3. Fibertec VELP SCIENTIFICA

- **Protocole :**

- Peser précisément dans les creusets 1g d'échantillon et 1g de cérite.
- Après avoir placé les creusets dans le fibertec, ajouter 150 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 à 0,46% (2.31ml d' H_2SO_4 dans 500 ml d'eau distillée).
- Ajouter 3 à 5 gouttes d'anti-mousse N-octanol et porter à ébullition pendant 30 min.
- Après évacuation de l'acide sulfurique, réaliser trois lavages avec 30 ml d'eau bouillante.
- Rajouter 150 ml d'hydroxyde de sodium NaOH à 1.87% (9.375g d'NaOH dans un 500 ml d'eau distillée) et 3 à 5 gouttes d'anti-mousse, et porter à ébullition 30 min.
- Réaliser deux lavages avec 30 ml d'eau bouillante et un lavage avec de l'eau à température ambiante afin de refroidir les creusets. Un dernier lavage est réalisé avec 250 ml d'acétone.
- Retirer les creusets et déterminer le poids sec après un séchage à l'étuve à 105°C pendant 24h.

Placer les creusets dans un four à moufles à 525°C pendant 8h, après refroidissement dans un dessiccateur, peser le poids des creusets et calculer le taux de fibres selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Fibres brutes} = [(M_1 - M_2) / P] \times 100$$

Avec :

- M_1 : poids de matière sèche de 24 h.
- M_2 : poids de cendres de 48 h.
- P : poids total (poids du creuset + poids d'échantillon + poids de cérite).

II.3.5. Détermination de la teneur en protéines

La détermination du taux de protéines dans les feuilles de *Stevia* a été réalisée par la détermination du taux d'azote selon la méthode de référence de Kjeldahl (AOAC, 978,04), cette dernière se répartie en trois étapes principales :

- **La première étape : La minéralisation**, consiste à transformer l'azote organique présent dans l'échantillon en un azote minéral en présence d'un acide concentré.
- **La deuxième étape : La distillation**, en présence de la soude, l'azote minéral est entraîné par la vapeur, puis recueilli quantitativement dans une solution de réception standard.
- **La troisième étape : La titration**, est l'étape où l'ammoniaque, fixé sous forme de borate d'ammonium est titré avec une solution d'une normalité connue.

- **Protocole :**

La minéralisation : On introduit dans un matras :

- 200 mg d'échantillon.
- 200 mg de sulfate de cuivre CuSO_4 (catalyseur).
- 10 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 .

Les matras sont placés dans le minéralisateur pendant 4 heures (la minéralisation se fait sous une hotte chimique) (Voir la figure II.4. A).

La distillation : On laisse refroidir les matras et on introduit avec précaution 25 ml d'eau distillée. On place le matras dans le distillateur (Figure II.4. B) ainsi qu'un erlenmeyer contenant 25ml d'acide borique H_3BO_3 à 4% qui contient trois à quatre gouttes d'indicateur de Tashiro. L'ammoniac NH_3 sera capté dans l' H_3BO_3 .



Figure II.4. Appareil de kjeldahl (A : dispositif minéralisateur, B : dispositif distillateur.)

La titration :

L'ammoniac est dosé par une solution de titration d'acide sulfurique H_2SO_4 (Figure II.5). La titration est stoppée dès virage de la couleur au rose (Figure II.6).



Figure II.5. Début de la titration

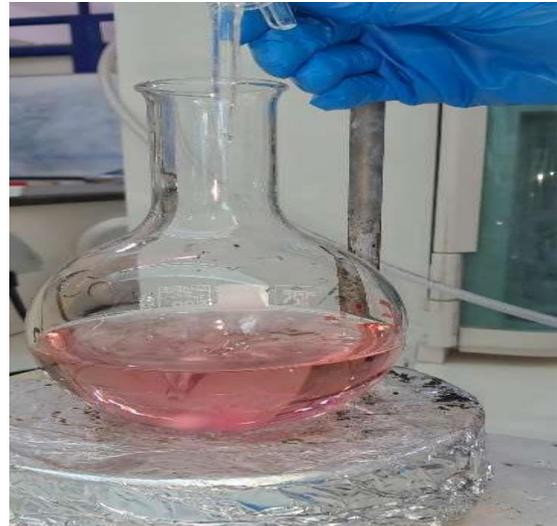


Figure II.6. Fin de la titration

La teneur en azote totale est exprimée selon l'équation suivante :

$$NT \% = [(T-B) \times 14,007 \times 100 \times N] / p$$

Avec :

- **T** : Volume d'acide sulfurique H_2SO_4 lu après titrage de l'échantillon (ml).
- **B** : Volume d'acide sulfurique H_2SO_4 utilisé pour le titrage blanc (ml).
- **N** : Normalité de l'acide sulfurique 0.05 N.
- **P** : Poids d'échantillon (mg).

La teneur en protéines totales est calculée en multipliant la teneur en azote obtenue par le coefficient 6.25 selon cette équation :

$$\text{Taux protéines \%} = NT (\%) \times 6.25$$

Avec :

6.25 : facteur protéique (facteur de conversion).

II.3.6. Taux de carbohydrates

Le principe des glucides est une notion fondamentale en nutrition qui concerne les effets des glucides sur l'organisme. Les glucides sont l'un des trois principaux macronutriments, avec les protéines et les lipides, et ils fournissent une source d'énergie importante pour le corps humain [5].

Le taux de carbohydrates est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ carbohydrates} = 100 - (\% \text{ humidité} + \% \text{ cendres} + \% \text{ lipides} + \% \text{ protéines} + \% \text{ fibres})$$

II.3.7. La valeur énergétique

La valeur énergétique d'un aliment représente la quantité d'énergie qu'il fournit à l'organisme lorsqu'il est métabolisé. Elle est généralement exprimée en calories ou en joules.

La valeur énergétique est déterminée par la teneur en macronutriments de l'aliment, notamment les glucides, les lipides et les protéines, qui sont les principaux fournisseurs d'énergie dans l'alimentation humaine [6].

La valeur énergétique est calculée à partir de l'équation suivante :

$$V.E \text{ (Kcal/g)} = 2.44 \times (\% \text{ protéines}) + 8.37 \times (\% \text{ lipides}) + 3.57 \times (\% \text{ carbohydrates})$$

II.4. Dosage des minéraux par XRF

Le dosage des minéraux est réalisé à partir des cendres de feuilles de *stevia* en utilisant la fluorescence des rayons X (*X-ray fluorescence*).

Lorsque les rayons X frappent l'échantillon, ils interagissent avec les atomes dans l'échantillon et émettent des rayons X caractéristiques qui sont uniques à chaque élément. L'instrument contient un détecteur qui peut identifier et mesurer l'énergie des rayons X caractéristiques émis par l'échantillon. L'analyse du spectre de ces rayons X émis par l'échantillon permet d'en déduire sa composition.

II.5. Extraction des glycosides de stéviol

L'extraction des glycosides de stéviol a été réalisée avec quatre techniques à savoir : la décoction, l'infusion, les ultra-sons, et les micro-ondes.

II.5.1. La décoction

La décoction est une méthode d'extraction qui consiste à extraire par ébullition les substances chimiques et principe actifs contenus dans les herbes et autres végétaux [7].

- **Protocole :** L'extraction par décoction est réalisée avec 2g d'échantillon et 40 ml d'eau distillée. Le tout est porté à ébullition pendant 30min. Après filtration l'échantillon est conservé à 4°C.

II.5.2. L'infusion

L'infusion est une méthode d'extraction qui consiste à verser de l'eau chaude généralement bouillante sur les plantes à infuser, le temps d'infusion peut varier en fonction des plantes et des molécules à extraire [8].

- **Protocole :** L'extraction par infusion est réalisée avec 2g d'échantillon et 40 ml d'eau distillée chaude (80°C). L'échantillon est mis sur une plaque chauffante à 80°C pour maintenir la température stable pendant 30min (Voir la figure II.7). Après filtration l'échantillon est conservé à 4°C.



Figure II.7. Extraction par infusion sur plaques chauffantes (VELP SCIENTIFICA)

II.5.3. Ultra-sons (la sonication)

La sonication utilise des ondes ultrasonores pour créer des bulles de cavitation dans un liquide. Ces bulles imposent et génèrent de la chaleur et des ondes de choc localisées, ce qui permet de décomposer les cellules végétales et de libérer les composés actifs [9].

- **Protocole** : Dans un bécher on met 2g d'échantillon, puis on rajoute 40 ml d'eau distillée, ensuite on place le bécher dans le sonicateur sur une plaque chauffante réglée à 80°C (Figure II.8). Les paramètres de l'appareil sont fixés comme suit :
 - Temps : 30min.
 - Amplitude : 60%.
 - Pulsation ON: 10s/OFF: 5s.
 - T°:80°C.

Une fois l'extraction terminée, le mélange est filtré, puis est conservé à 4°C.



Figure II.8. Sonicateur VIBRA CELL 75186

II.5.4. Micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est réalisée avec 2g de *stevia* et 40 ml d'eau distillée.

L'échantillon est mis dans un four à micro-ondes réglé à 300 W pendant 2 min, puis l'échantillon est filtré et conservé à 4°C.

II.5.5. Dosage des glycosides de stéviol

Les glycosides de stéviol extraits par les quatre méthodes suscitées ont été soumis à un dosage des sucres totaux par la méthode de Dubois *et al.* (1956). Cette méthode permet de déterminer la teneur en sucres totaux en présence d'un acide sulfurique H₂SO₄ concentré. Les oses sont déshydratés en composés de la famille des dérivées fulfuriques (C₅H₆O₂). Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés jaunes-orangés (Figure II.9).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II.5.5.1. Préparation de la gamme étalon de dosage des glucides totaux

1. Préparer une solution de glucose à 2mg/ml.
2. Préparer une gamme étalon avec un intervalle de 0-2mg/ml selon le tableau II.1 suivant :

Tableau II.1. Gamme étalon de dosage des glucides totaux

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
Solution de glucose (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
H₂O	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Solution Phénol (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Solution H₂SO₄ (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Concentration glucose mg/ml	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2

II.5.5.2. Dosage des glucides totaux dans l'échantillon de *stevia*

On prépare un mélange réactionnel constitué de 1 ml d'extrait de *stevia* dilué 40 fois dans l'eau distillée, 1ml de solution de phénol à 5% et 5ml d'acide sulfurique H₂SO₄ concentré (98%). Après homogénéisation douce du mélange on met le tube dans un bain marie réglé à 30°C pendant 30 min (voir la Figure II.9), puis l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectromètre UV de type HELIOS ZETAUV-VIS (Figure II.10).



Figure II.9. Tubes contenant les complexes colorés résultants de la condensation des dérivées fulfuriques avec le phénol



Figure II.10. Spectromètre UV de type HELIOS ZETA UV-VIS

II.6. Analyses statistiques

Chaque analyse a été répétée 3 fois. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. La comparaison des différentes techniques d'extraction de glycosides a été faite par le test ANOVA à un seul facteur. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 ($P < 0,05$). L'analyse statistique est réalisée en utilisant le logiciel XLSTAT.

II.7. Conclusion

Ce chapitre expose une étude expérimentale menée en laboratoire visant à évaluer la composition nutritionnelle et minérale de la *stevia*, ainsi qu'à étudier les méthodes d'extraction des glycosides de stéviol.

Tous les résultats de notre étude expérimentale, ainsi que nos discussions, seront exposés dans le prochain chapitre.

Chapitre III

Résultats & Discussion

Notre travail a débuté par l'élaboration des fondements théoriques sur *Stevia rebaudiana*, appuyés par une démarche expérimentale. Ce chapitre présente les résultats que nous avons obtenus qui seront ensuite discutés.

III.1. Evaluation de la composition nutritionnelle des feuilles de *Stevia*

Les résultats obtenus de la détermination de la valeur nutritionnelle des feuilles de *stevia* sont présentés dans le tableau III.1 ci-dessous :

Tableau III.1. Valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia* cultivée en Algérie

La composition	Résultats
Humidité (%)	7,706 ± 0,0378
Matière grasse (%)	3,228 ± 0,0514
Cendres (%)	22,751 ± 17,339
Protéines (%)	9,192 ± 1,002
Fibres brutes (%)	0,338 ± 0,005
Carbohydate(%)	56,783 ± 17,202
Valeur énergétique (K cal/g)	252,165± 61,420

Les feuilles de *Stevia* que nous avons étudiées, présentent les valeurs suivantes (Tableau III.1) : protéines (9,192 % ± 1,002), glucides, (56,783 % ± 17,202), matière grasse, (3,228 % ± 0,0514), humidité, (7,706% ± 0,0378), cendres, (22,751% ± 17,339), fibres brutes (0,338% ± 0,005) et valeur énergétique (252,165K cal/g ± 61,420).

Nous avons comparé notre étude à celle de Savita et al. (2004) menée sur des feuilles de *stevia* cultivée en Inde. Mais aussi à l'étude réalisée par Abo-Arab et al. (2010) sur des feuilles de *stevia* en Egypte et à une autre étude menée par Gasmalla et al. (2014) sur des feuilles de *stevia* cultivée en Chine. Les résultats de ces études sont illustrés dans le tableau III.2 :

Tableau III.2. Valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia* cultivée en Inde, en Egypte et en Chine

Composition	<i>Stevia</i> cultivée en Inde (Savita <i>et al.</i>, 2004)	<i>Stevia</i> cultivée en Egypte (Abo-Arab <i>et al.</i>, 2010)	<i>Stevia</i> cultivée en Chine (Gasmalla <i>et al.</i>, 2014)
Humidité (%)	7%	5.37%	10.73%
Matière grasse (%)	2.5%	3.73%	6.13%
Cendres (%)	10.5%	7.41	12.06%
Protéines (%)	9.8%	11.41%	13.68%
Fibres brutes (%)	18.5%	15.25%	5.03%
Carbohydate(%)	52%	61.93%	63.10%
Valeur énergétique (K cal/g)	270%	ND	ND

ND : Non déterminé

A partir de ces résultats, il apparaît que la *stevia* peut être une source appréciable de protéines, de cendres et des éléments indispensables pour promouvoir la santé du consommateur.

Il apparaît que nos feuilles de *stevia* sont plus riches en cendres et en eau et que les feuilles de *stevia* cultivée en Egypte. Par contre elles sont pauvres en fibre et en matière grasse par rapport à la *stevia* cultivée en Inde et en Chine

Ces changements quantitatifs dans la composition des feuilles de *stevia* peuvent être dus aux conditions agro-climatiques (site de culture, saison de récolte...) ou à des différences variétales qui se traduisent par une variation de la valeur nutritionnelle de *stevia*.

III.2. La composition minérale

L'analyse des minéraux par XRF (spectrométrie de fluorescence de rayons X), a révélé les résultats présentés dans le tableau III.3 :

Tableau III.3. Résultats d'analyse des minéraux par XRF (spectrométrie de fluorescence de rayons X)

Elément	Concentration %
Calcium (Ca)	38.680
Potassium(K)	36.145
Chlore (Cl)	22.210
Fer (Fe)	1.824
Manganèse (Mn)	0.566
Strontium (Sr)	0.195
Nickel natif (Ni)	0.174
Zinc (Zn)	0.102
Brome (Br)	0.094
Zirconium (Zr)	0.007

Les résultats d'analyse des minéraux dans les feuilles de *stevia* par XRF présentés dans le tableau III.3 indiquent que notre échantillon présente une teneur élevée en calcium (38.680%) suivi par le potassium (36.145%) et le chlore (22.210%). En revanche, le niveau le plus bas de minéraux (Zirconium) a été détecté à une concentration de (0.007%).

Les feuilles contenait une faible quantité de Fe, Mn, Sr, Ni, Zn et Br. de l'ordre de 1,824 ; 0,566% ; 0,195% ; 0,174% ; 0.102% et 0.094% respectivement.

L'étude menée par Abou-Arab et al. (2010) a révélé que les feuilles de *stevia* analysées été riches en K (21.15%), Ca (17.70%), Na (14.93 %) et Zn (5.89 %) et pauvre en Mg (3.26%) ; Mn (2.89%) ; Zn (1.26%) et Cu (0.73%).

Cette différence dans les résultats peut être due à la différence de la composition de sol utilisé pour la culture de la *stevia*.

Il apparait que la *stevia* contient des quantités substantielles de nutriments importants. Le potassium, le calcium, et le chlore, qui sont importants sur le plan nutritionnel, ont été trouvés en quantité raisonnable dans les feuilles de *Stevia*. La présence de ces minéraux constitue un avantage (Choudhary et Bandyopadhyay, 1999). Cela permet de considérer la *Stevia* comme un ingrédient

riche en minéraux nécessaires pour l'organisme afin de réguler et maintenir ses divers processus métaboliques.

III.3. Extraction et dosage des glycosides de stéviol

Chaque extrait obtenu par décoction ; infusion ; ultra-son et micro-onde a fait l'objet d'un dosage des sucres totaux par la méthode (Dubois, 1956). La teneur en sucre de ces extraits a été calculée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe étalon (Figure III.1). Les résultats sont présentés dans le tableau III.4 :

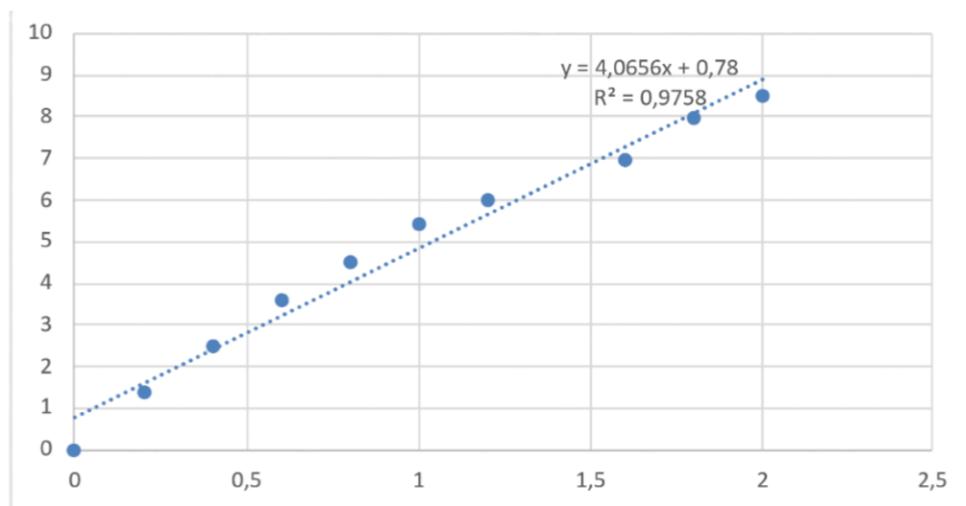


Figure III.1. Courbe étalon du dosage des sucres totaux par la méthode Dubois 1956 (en mg/ml)

Tableaux III.4. Comparaison des quatre méthodes d'extraction

Extraits	Rendement de l'extraction (%)	Concentration de l'extrait (mg/ml)	Concentration en sucres totaux (mg/ml)
Décoction	28,24 ± 8,82	42,49 ± 15,65	0,40 ± 0,14
infusion	22,91 ± 8,28	39,35 ± 8,22	0,46 ± 0,01
Micro-ondes	31,46 ± 4,94	39,84 ± 1,87	0,25 ± 0,01
Ultra-sons	37,35 ± 0,71	30,75 ± 1,36	0,29 ± 0,02

Afin de comparer les méthodes d'extraction, une analyse statistique (ANOVA) a été réalisée, cependant, cette dernière n'a révélé aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les quatre techniques que ça soit pour le rendement d'extraction ou pour la concentration en sucres totaux. À partir de ces résultats on peut conclure que la méthode d'extraction n'a pas d'effet sur le rendement ou sur la concentration en sucre obtenues.

Une étude réalisée par Jaitak *et al.* (2009) sur l'extraction des glycosides de stéviol par micro-ondes et l'ultra-sons a révélé que l'extraction par ultra-sons présente le meilleur rendement (8.64%).

Les conclusions de cette recherche pourraient être appliquées dans le développement de procédés d'extraction plus efficaces et respectueux de l'environnement pour la production industrielle de glycosides de stéviol. L'optimisation de ces techniques d'extraction permettrait d'améliorer le rendement en termes de qualité et de quantité. De plus, cela pourrait contribuer à une meilleure compréhension de l'impact des différentes méthodes d'extraction sur les propriétés fonctionnelles des extraits de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Conclusion Générale

Conclusion générale

L'utilisation de la *Stevia* comme substitut au sucre offre une solution prometteuse à la surconsommation de sucre et à ses effets néfastes sur la santé. La *Stevia* possède un fort pouvoir sucrant sans les calories du sucre traditionnel. En remplaçant le sucre par la *Stevia* dans les aliments et les boissons, il est possible de réduire l'apport calorique global tout en conservant le goût sucré, ce qui favorise la gestion du poids et la prévention de maladies comme l'obésité et les maladies y liées. De plus, étant naturelle, la *Stevia* est une alternative plus saine que les édulcorants artificiels souvent utilisés. Son intégration dans l'alimentation peut ainsi encourager des choix alimentaires plus sains tout en répondant aux besoins de ceux qui cherchent à limiter leur consommation de sucre.

Lors de la réalisation de notre étude, nous avons pu évaluer la valeur nutritionnelle des feuilles de *stevia* par la détermination du taux de protéines, matière grasse, fibres brutes, valeur énergétique, glucides, humidité, cendres et minéraux. Ces résultats nous ont permis de conclure que la *stevia* peut être considérée comme un aliment riche en nutriments essentiels au bon fonctionnement de l'organisme.

Etant une plante très riche en sucre, nous nous sommes intéressés à l'extraction des glycosides de stéviol par quatre techniques différentes et au dosage du taux de sucres dans ces extraits. Le résultat du dosage nous a révélé que les quatre techniques d'extraction présentent un taux de sucre considérable.

Les résultats de notre étude mettent en évidence la richesse de la *stevia* en sucres et en éléments nutritifs. Afin de compléter notre étude nous proposons comme perspectives de ce travail ce qui suit :

- Optimisation du protocole d'extraction des glycosides de stéviol.
- Caractérisation des extraits de *stevia* par HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance).
- Culture de la *Stevia* à grande échelle en Algérie.
- Formulation de produits alimentaires ou de médicaments à base d'extraits de *stevia*.

Le stage que nous avons effectué au sein de Centre de Recherche en Biotechnologie « CRBt », a été très bénéfique sur l'aspect technique où nous avons pu communiquer avec des chercheurs et ingénieurs experts dans leurs domaines et de bénéficier de leurs précieux conseils ce qui nous a permis d'enrichir nos connaissances pratiques.

Une vraie satisfaction a été ressentie lors de la réalisation de notre mémoire de fin d'études, du fait de l'effet positif sur nos connaissances théoriques et pratiques.

Références

Bibliographiques

- AACC International & Method 32-10.01. (2008). Crude Fiber in Flours, Feeds, and Feedstuffs. Approved Methods of Analysis.
- Abou-Arab, A. E., Abou-Arab, A. A. & Abu-Salem, M. F. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. *African Journal of Food Science*, 4(5), 269-281.
- AFNOR. (1986). Huiles essentielles : recueil de normes françaises (Recueil de normes françaises No. 474).
- Aguirre, J. (2023). Important Topics Related to the Kjeldahl Method. In *The Kjeldahl Method: 140 Years* (pp. 123-145). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Angelini, L. G., Martini, A., Passera, B. & Tavarini, S. (2018). Cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni and associated challenges. *Sweeteners*, 35-85.
- Barbet Massin, C., Giuliano, S., Alletto, L., Daydé, J. & Berger, M. (2015). Nitrogen limitation alters biomass production but enhances steviol glycoside concentration in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PLOS one*, 10(7), e0133067.
- Bridel, M. & Lavieille, R. (1931). Le principe à saveur sucrée du Kaà-hê-é (*Stevia rebaudiana*) Bertoni. *Bulletin de la Société Chimique et Biologique*, 13, 636-655.
- Ceunen, S. & Geuns, J. M. (2013). Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. *Journal of Natural Products*, 76, 1201-1228.
- Chan, P., Tomlinson, B., Chen, Y-J., Liu, J-C., Hsieh, M-H. & Cheng, J-T. (2000). A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50, 215-220.
- Choudhary, A. K. & Bandyopadhyay, S. K. (1999). *Stevia rebaudiana*--a potential source of natural high-intensity sweetener. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 22(9), 976-977.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: status and future prospects. *Japi*, 52(794804), 4.
- Escutia-López, K., Sánchez-Pardo, M. & Mora-Escobedo, R. A. (2019). A comprehensive review on the nutritional and therapeutical aspects of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *J Appl Biotechnol Bioeng*.
- Everett, T. H. (1980). *The New York botanical garden illustrated encyclopedia of horticulture* (Vol. 10). Taylor & Francis.
- Ferrazzano, G. F., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Zarrelli, A. & Pollio, A. (2015). Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a non-cariogenic sweetener? A review. *Molecules*, 21(1), 38.
- Feldsine, P., Abeyta, C. & Andrews, W. H. (2002). AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *Journal of AOAC international*, 85(5), 1187-1200.

- Gasmalla, M. A. A., Yang, R., Musa, A., Hua, X. & Zhang, W. (2014). Physico-chemical assessment and rebaudioside A productivity of natural sweeteners (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(5), 209-214.
- Goyal, S. K., Samsher and Goyal, R. K. 2010. *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 61 (1) : 1–10.
- Gregersen, S., Jeppesen, P. B., Holst, J. J. & al. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*, 53(1), 73–76. (2004).
- Hajihashemi, S. & Geuns, J. M. (2013). Free radical scavenging activity of steviol glycosides, steviol glucuronide, hydroxytyrosol, metformin, aspirin and leaf extract of *Stevia rebaudiana*. *Free Radicals and Antioxidants*, 3, S34-S41.
- Handro, W. & Ferreira, C.M. (1989). *Stevia rebaudiana*: Production of Natural Sweeteners. *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Medical and Aromatic Plants II*, 7, 468-487.
- Jaitak, V., Bandna, B. S. & Kaul, Y. V. (2009). An efficient microwave-assisted extraction process of stevioside and rebaudioside-A from *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Phytochemical Analysis*, 20(3), 240-245.
- Jentzer, J. B. (2015). Etude d'un procédé d'extraction en continu des glycosides de stéviol à partir des feuilles de *Stévia (Stevia rebaudiana* Bertoni) (Doctoral dissertation).
- Jeppesen, P. B., Gregersen, S., Poulsen, C. R. & Hermansen, K. (1999). Stevioside and steviol reduces the absorption of sodium-dependent glucose transporter 1 (SGLT1) substrates in everted small intestinal rings of rats. *Metabolism*, 48(2), 194-199.
- Jeppesen, P., Gregersen, S., Rolfsen, S., Jepson, M., Colombo, M., Agger, A., Xiao, J., Kruhoffer, M., Orntoft, T., & Hermansen, K. (2003). Antihyperglycemic & blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism*, 52(3), 372-378.
- Kim, 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(5), 1328-1332.
- Kobayashi, M., Horikawa, S., Dergandi, U. J. & Mitsuhashi, H. (1977). Dulcoside A and B, New diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, 16, 1405-1408.
- Kohda, H., Kasai, R., Yamasaki, K., Murakami, K. & Tanaka, O. (1976). New sweet diterpene glucosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, 15, 981-983.

- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L. & 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(3), 1121-1132.
- Lesniarek, J. (2015). *Stevia rebaudiana B.: réels enjeux de santé publique ou campagne marketing* (Doctoral dissertation, PhD thesis, Grenoble Alpes).
- Midmore, D. J. & Rank, A. H. (2002). A new rural industry-Stevia-to replace imported chemical sweeteners (pp. 1-23). Wagga Wagga, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation.
- Morin, C. (2015). Le point sur les édulcorants à base de Stevia
- Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Université Paul Verlaine-Metz*, 238.
- Penner, R., Shanks, T., Timecke, K., Krigbaum, J. & Uno, J. (2012). Stevia from Paraguay document (pp. 1-2).
- Raina, R., Bhandari, S. K., Chand, R. & Sharma, Y. (2013). Strategies to improve poor seed germination in Stevia rebaudiana, a low calorie sweetener. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(24), 1793-1799.
- Ramesh, K., Singh, V. & Megeji, N. W. (2006). Cultivation of stevia [Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni]: A comprehensive review. *Advances in agronomy*, 89, 137-177.
- RENGASSAMY C.2015. La stevia (Stevia rebaudiana), sa place au sein des édulcorants et son avenir thérapeutique.
- Reynes, M., Bouabidi, H., Piombo, G. & Risterucci, A. M. (1994). Caractérisation des principales variétés de dattes cultivées dans la région du Djérid en Tunisie. *Fruits*, 49(4), 289-298.
- Rodríguez-Craverro, J. F., Gutiérrez, D. G., Katinas, L., Grossi, M. A., Bonifacino, J. M. & Marchesi, E. (2019). A revision and morphological analysis of the Uruguayan species of Stevia (Compositae, Eupatorieae). *Rodriguésia*, 70, e01532018.
- Sangha, G. S. (2014). *Studies on extraction of stevioside from stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) leaves* (Doctoral dissertation, Punjab Agricultural University, Ludhiana).
- Savita, S. M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. G. & Kamakrishna, P. 2004. Stevia rebaudiana – A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology* 15 (4): 261–264.
- Sakamoto, I., Yamasaki, K. & Tanaka, O. (1977). Application of ¹³C NMR Spectroscopy to Chemistry of Plant Glycosides: Rebaudiosides-D and-E, New Sweet Diterpene-Glucosides of Stevia rebaudiana BERTONI. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 25, 3437-3439.

- Serio, L. 2010. La *Stevia rebaudiana*, une alternative au sucre. *Phytothérapie* 8 (1): 26–32.
- Shock, C. C. (1982). Experimental cultivation of Rebaudi's stevia in California. *Agronomy progress report*, 122.
- Soejarto, D. D. (2002). Ethnobotany of Stevia and Stevia rebaudiana. In A. D. Kinghorn (Ed.), *Stevia rebaudiana, une alternative au sucre* (pp. 26-32). *Phytothérapie*. Springer-Verlag France.
- Starratt, A.N., Kirby, C.W., Pocs, R. & Brandle, J.E. (2002). Rebaudioside F, a diterpene glycoside from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, 59, 367-370.
- Tadhani, M. B. & Subhash, R. (2006). In Vitro, Antimicrobial Activity of Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves. *Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 557-560.
- Usha, C., Ramarao, S., John, B. M. & Babu, M. E. (2017). Anticariogenicity of Stevia rebaudiana extract when used as a mouthwash in high caries risk patients: Randomized controlled clinical trial. *World*, 8(5), 364-369.
- Wagner, V. (2012). *De Stevia rebaudiana à la Stévia: Parcours chaotique de l'«herbe sucrée» parmi les édulcorants* (Doctoral dissertation, Tesis de Doctorado en Farmacia, Université de Lorraine, Francia).
- Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D. & Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. *Canadian journal of plant science*, 91(1), 1-27.

Webographie :

- [1] : Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT). (s.d.). Consulté le 20/04/2024. Stevia : une plante édulcorante [PDF]. Récupéré sur https://www.doc_developpement_durable.org/file/Culture/culture-plantes-edulcorantes/stevia/stevia_08.pdf.
- [2] : Minéral. (2024, mars 17). *Wikipédia, l'encyclopédie libre*. Page consultée le 27/04/2024 à partir de <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Min%C3%A9ral&oldid=213423828>.
- [3] : Organisation mondiale de la Santé. (S. d.). Obésité et surpoids. Consulté le 02/05/2024 Récupéré sur : <https://www.who.int/fr>.
- [4] : Wikipédia. Hypertension artérielle. (S. d.) Consulté le 22/04/2024 https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Hypertension_art%C3%A9rielle&oldid=21342621
- [5] : MSD Manuals. (s.d.). Glucides, protéines et lipides. Dans *Troubles de la nutrition*. Consulté le 28/04/2024 Repéré à <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/troubles-de-la-nutrition/pr%C3%A9sentation-de-la-nutrition/glucides,-prot%C3%A9ines-et-lipides>.
- [6] : Alloprof. (s.d.). Les besoins énergétiques et nutritionnels. Dans *Sciences*. Consulté le 28/04/2024. Repéré à <https://www.alloprof.qc.ca/fr/eleves/bv/sciences/les-besoins-energetiques-et-nutritionnels-s1263>
- [7] : Arcadie. (s. d.). Cook. Consulté le 03/04/2024 Récupéré sur <https://www.arcadie.fr/boutique/brand/1-cook>.

[8]: Père Blaize. (s. d.). Tout savoir sur l'infusion. Consulté le 03/04/2024 Récupéré sur <https://www.pereblaize.fr/project/tout-savoir-sur-l'infusion/#:~:text=L'infusion%20consiste%20%C3%A0%20verser,Les%20fleurs.>

[9]: Sono-Liquid. (s. d.). How Does Probe Sonication Work? Consulté le 04/03/2024 Récupéré sur <https://fr.sono-liquid.com/news/how-does-probe-sonication-work-72130277.html>.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : BEROUAL Cheima
BERIMA Sawab

Evaluation de la valeur nutritionnelle des feuilles de *Stevia rebaudiana* cultivée en Algérie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Stevia rebaudiana, communément appelée *stevia*, est une plante originaire d'Amérique du Sud, connue pour sa richesse en glycosides de stéviol intensément sucrés mais aussi en éléments nutritifs essentiels pour l'organisme. L'utilisation de la *stevia* comme substitut du sucre, offre une solution sucrante naturelle et sans calories qui permettrait de réduire les problèmes liés à la surconsommation de sucre. Pour ce faire, nous avons étudié la composition nutritionnelle et minérale des feuilles de *Stevia* cultivée en Algérie. Etant une plante très riche en sucre, nous avons réalisé une extraction des glycosides de stéviol par décoction, infusion, ultra-sons et micro-ondes. Nous avons par ailleurs réalisé un dosage des sucres totaux dans nos extraits par la méthode Dubois.

Nos résultats révèlent que la composition nutritionnelle des feuilles de *Stevia* était comme suit : lipides $3,228 \pm 0,0514$ %, protéines $9,192 \pm 1,002$ %, carbohydrates $56,783 \pm 17,202$ %, fibres $0,338 \pm 0,005$ %, humidité $7,706 \pm 0,0378$ %, cendres $22,751 \pm 17,339$ %, et valeur énergétique $252,165 \pm 61,420$ kcal/g. Le dosage des minéraux a révélé que la *Stevia* était riche en calcium (38.680%) et potassium (36.145%). Le dosage des sucres dans les quatre extraits a révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre les techniques utilisées pour l'extraction des glycosides ($P > 0.05$).

Les résultats de notre étude mettent en évidence la richesse de la *Stevia* en sucres et en éléments nutritifs et permettent d'envisager son introduction progressive dans l'alimentation du consommateur algérien.

Mots-clefs : *Stevia rebaudiana*, sucre hypocalorique, substituts de sucre.

Laboratoires de recherche : Centre de Recherches en Biotechnologie.

Présidente du jury : Dr AYECHÉ Amina (MA(B) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr MEKDADE Loubna (MRB - Centre de Recherche en Biotechnologie).

Co-Encadrant : Dr SAHRAOUI Hossem (MRB - Centre de Recherche en Biotechnologie).

Examinatrice : Mme AOUANE Asma (AR- Centre de Recherche en Biotechnologie).