

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES Sciences Alimentaires

Laboratoire de bioéconomie, sécurité alimentaire et santé

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences alimentaires

Spécialité : Nutrition et Pathologie.

Thème

**Etude du contenu phénolique et de l'activité antioxydante  
du *Citrus limon*, *Citrus clementina*, *Mentha spicata* et  
*Aloysia citrodora*.**

Présenté par

TOUIL Amel

BOUCEDRA Halima

Devant le jury composé de :

Encadreur :	MOKHTAR Meriem	Professeur	Univ. Mostaganem
Président :	KEDDARI Soumia	Professeur	Univ. Mostaganem
Examineur :	DERAMCHIA Nawel	MCA	Univ. Mostaganem

Année Universitaire : 2021/2022

# Table des matières

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	01
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
I. Les polyphénols.....	03
I. 1. Définition.....	03
I.2. Classification .....	03
I.2.1 Les acides phénoliques .....	04
I.2.2. Les flavonoïdes .....	05
I.2.3. Les stilbènes .....	06
I.2.4. Les lignanes .....	06
I.3. Propriétés physico-chimiques des polyphénols .....	07
I.4. Répartition des polyphénols dans la plante.....	07
I.5. Facteurs qui affectent le contenu et la composition phénolique.....	08
I.6. Intérêts santé des polyphénols .....	08
I.6.1. Propriétés antioxydantes .....	08
I.6.2. Propriétés antimicrobiennes .....	10
I.6.3. Polyphénols et maladies cardiovasculaires.....	11
I.6.4. Polyphénols et cancer.....	11
<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>	
II.1. Plantes étudiées.....	13
II.2. Extraction des polyphénols.....	13

<b>II.3. Détermination de rendement d'extraction .....</b>	<b>13</b>
<b>II.4. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>14</b>
<b>II.4.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....</b>	<b>14</b>
<b>II.4.2. Calcul des polyphénols totaux .....</b>	<b>14</b>
<b>II.5. Détermination des flavonoïdes totaux .....</b>	<b>14</b>
<b>II.5.1. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....</b>	<b>14</b>
<b>II.5.2. Calcul des flavonoïde des totaux .....</b>	<b>15</b>
<b>II.6. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>15</b>
<b>II.7. Traitement statistique des résultats.....</b>	<b>15</b>

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

<b>III.1. Calcul du rendement de l'extraction.....</b>	<b>16</b>
<b>III.2. Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>17</b>
<b>III.2.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....</b>	<b>17</b>
<b>III.2.2. quantification des polyphénols totaux.....</b>	<b>17</b>
<b>III.3. Dosage des flavonoïdes totaux.....</b>	<b>18</b>
<b>III.3.1. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....</b>	<b>19</b>
<b>III.3.2. Quantification des flavonoïdes totaux.....</b>	<b>19</b>
<b>III.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>20</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>24</b>
<b>Référence bibliographique.....</b>	<b>25</b>

## *Dédicaces*

*A nos chers parents, que Dieu prolonge leur vie*

*A nos frères, que Dieu les bénisse*

*Et à tous ceux avec qui nous entretenons une relation de parenté et d'amitié*

*Nous leur présentons cette modeste étude en remerciement pour leur beauté*

*Halima*

## ***Dédicaces***

*Je édie ce travaille à l'esprit pur de mon très cher père «**Habib** » qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi et je demande à dieu de bénir son âme et de faire ce travail dans la balance de ses bonnes œuvres.*

*A ma très chère mère «**Mokhtaria** » que je ne remercierai jamais assez, pour son soutien moral et matériel, sa compréhension, amour, tendresse, et ses sacrifices. A mes chers frères «**Djilali** », «**Bilal** » et a ma très chères sœurs «**Marwa** », «**Kahela** ».*

*A mes chères amies et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, et ceux qui ont veillé de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.*

***Amel***

# Remerciements

*Nous remercions tout d'abord mon Dieu tout puissant qui nous a donné la force et le courage pour terminer ce travail ;*

*Au terme de ce travail, il m'est à la fois un plaisir et un devoir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail*

*En premier lieu, nous voudrions remercier chaleureusement **Pr. Mokhtar Meriem** professeur à l'Université de Mostaganem, pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail et de bien vouloir accepter de le diriger avec beaucoup de compréhension. Nous leur en sommes infiniment reconnaissante.*

*Nous remercions également **Pr. Keddari Soumia**, Professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem qui a accepté de présider notre jury de soutenance.*

*Nous remercions également **Dr Dermachia Nawel**, maître conférence de classe A à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercierons également tous nos enseignants, nos collègues et les personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie*

## Résumé

Le but de ce travail est le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits phénoliques issus de quatre plantes : citron, orange, verveine, et la menthe, et l'évaluation de leur activité antioxydante. Le contenu en polyphénols et des flavonoïdes totaux a été dosé par des méthodes colorimétriques. Les résultats obtenus ont montré que les écorces de la clémentine renferment une bonne teneur en polyphénols totaux, suivi des feuilles de la menthe, des écorces de citron, et en dernier les feuilles de la verveine avec des valeurs respectifs de  $3,38 \pm 0,07$  mg EAG/g MF,  $2,22 \pm 0,08$  mg EAG/g MF,  $2,13 \pm 0,01$  mg EAG/g MF, et  $0,43 \pm 0,03$  mg EAG/g MF. En ce qui concerne les flavonoïdes totaux, les écorces de la clémentine ont donné une bonne valeur suivie par les écorces de citron, les feuilles de la menthe, et les feuilles de la verveine avec des teneurs de l'ordre de  $1,89 \pm 0,03$  mg EQ/g MF,  $1,1 \pm 0,09$  mg EQ/g MF,  $0,91 \pm 0,06$  mg EQ/g MF et  $0,30 \pm 0,011$  mg EQ/g MF, respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée par le test de DPPH, selon les résultats, les polyphénols des écorces de la clémentine présentent un bon effet antioxydant avec des valeurs d'IC50 de 0,125mg/mL suivi de l'extrait phénolique de la menthe (0,399 mg/mL), les écorces de citron (2,943 mg/mL), et finalement les feuilles de la verveine (5.835 mg/mL).

**Mots clefs :** Citron, orange, menthe, verveine, polyphénols, activité antioxydante.

## Abstract

The aim of this work was to determine the total polyphenols and flavonoids of four plants: lemon, orange, verbena, and mint, and to evaluate their antioxidant activity. The content of polyphenols and total flavonoids was determined by colorimetric methods. The obtained results showed that clementine peels contain a good content of total polyphenols, followed by mint leaves, lemon peels, and lastly verbena leaves with respective values of  $3.38 \pm 0.07$  mg GAE/g FM,  $2.22 \pm 0.08$  mg GAE/g FM,  $2.13 \pm 0.01$  mg GAE/g FM, and  $0.43 \pm 0.03$  mg GAE/g FM. For total flavonoids, clementine peels gave a good value followed by lemon peels, mint leaves, and verbena leaves with contents in the range of  $1.89 \pm 0.03$  mg QE/g FM,  $1.1 \pm 0.09$  mg QE/g FM,  $0.91 \pm 0.06$  mg QE/g FM and  $0.30 \pm 0.011$  mg QE/g FM, respectively. The antioxidant activity was evaluated by DPPH test, according to the results, clementine peel polyphenols show a good antioxidant effect with IC<sub>50</sub> values of 0.125 mg/mL followed by mint phenolic extract (0.399 mg/mL), lemon peel (2.943 mg/mL), and finally verbena leaves (5.835 mg/mL).

**Keywords:** Lemon, orange, mint, verbena, polyphenols, antioxidant activity.



## الملخص

الهدف من هذا العمل هو تحديد مجموع البوليفينول والفلافونويد من المستخلصات الفينولية من أربع نباتات: الليمون والبرتقال ورعي الحمام والنعناع وتقييم نشاطهم المضاد للأكسدة. تم تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد الكلي بواسطة طرق القياس اللوني. اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان قشور الكليمنتين تحتوي على محتوى جيد من البوليفينول الكلي تليها أوراق النعناع وقشور الليمون وأخيرا أوراق رعي الحمام بقيم :

$3,38 \pm 0,07$  mg EAG/g MF,  $2,22 \pm 0,08$  mg EAG/g MF,  $2,13 \pm 0,01$  mg EAG/g MF,  $0,43 \pm 0,03$  mg EAG/g MF

فيما يتعلق بمجموع الفلافونويد أعطى قشور الكليمنتين قيمة جيدة يليه قشور الليمون وأوراق النعناع وأوراق رعي الحمام بمستويات على الترتيب :

$1,89 \pm 0,03$  mg EQ/g MF ,  $1,1 \pm 0,09$  mg EQ/g MF,  $0,91 \pm 0,06$  mg EQ/g MF,  $0,03 \pm 0,011$  mg EQ/g MF

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار DPPH , وفقا للنتائج اظهر البوليفينول في قشور الكليمنتين تأثيرا جيدا مضادا للأكسدة بقيم  $IC_{50}$  البالغة ( 0.125 ملغ /مل ) متبوعا بالمستخلص الفينولي للنعناع (0.399 ملغ /مل ) وقشر الليمون (2.943 ملغ /مل ) وأخيرا أوراق رعي الحمام (5.835 ملغ /مل) .

الكلمات المفتاحية : ليمون , برتقال , نعناع , رعي الحمام , بوليفينول , نشاط مضاد للأكسدة

## *Liste des tableaux*

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>Tableau n° 1</b> : Rendement de l'extraction des polyphénols .....	16
<b>Tableau n° 2</b> : Polyphénols et flavonoïdes totaux du citron, clémentine, menthe et verveine ..	18
<b>Tableau n° 3</b> : Les résultats des IC50 pour le test DPPH .....	22

## *Liste des figures*

### **Chapitre I : synthèse bibliographique**

**Figure 01** : Classification et structure chimique des principales classes de polyphénols.....04

**Figure 02**: Polyphénols à effets santé. Quercétine : anti-inflammatoire ; procyanidine : vasculo-protectrice ; hespérétine : neuroprotectrice et vasculo-protectrice ; entérolactone : vasculo-protecteur et protecteur osseux ; resvératrol : anticancéreux ; génistéine : antibouffées de chaleur et protectrice osseuse ; curcumine : anticancéreuse .....09

**Figure 03** : Polyphénols à effet antimicrobien .....10

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

**Figure 04** : courbe d'étalonnage de l'acide gallique. ....17

**Figure 05** : Courbe d'étalonnage de la quercétine .....19

**Figure 06** : Evaluation du pouvoir réducteur du DPPH en fonction des différentes concentrations des polyphénols de (A) : Citron, (B) : Clémentine, (C) : Verveine, (D) : Menthe .....21

## Liste des abréviations

**%** : Pourcent

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AG** : acide gallique

**ARN** : acide ribonucléique

**C°** : degré Celsius

**C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>NaO<sub>2</sub>** : acetate de sodiume

**C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O** : éthanol

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

**E** : Extrait

**EAG** : Equivalent Acide Gallic

**EQ** : Equivalent Quercétine

**G** : gramme

**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : l'acide phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : l'acide phosphotungstique

**IC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice 50

**L** : litre

**MF** : matière fraiche

**Mg** : milligramme

**Min** : minute

**mL**: Millilitre

**mM**: milli mol

**Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : molybdène

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

**nm**: Nanomètre

**O<sub>2</sub>** : oxygène

**OH** : hydroxyle

**Q** : quercétine

**R** : rendement

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

**UV**: Ultra violet

**V/V** : Volume à Volume

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : bleu d'oxyde de tungstène

# **Introduction**

## Introduction

Au cours des dernières années, beaucoup de recherches ont été menées sur les substances naturelles vu leurs propriétés importantes qui peuvent être exploitées dans différents domaines. En effet, plusieurs secteurs industriels (pharmaceutique, agroalimentaire et même cosmétique) se sont trouvés obligés à incorporer des substances d'origines naturelles ayant des propriétés intéressantes dans leur produits afin d'attirer le consommateur qui évite tout ce qui est de synthèse chimique.

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base des plantes connaît un succès croissant. Ainsi, d'après les estimations actuelles, 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle, où les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (**Ghnimi, 2015**).

Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif.

Les plantes sont connues pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont la structure ne fut que récemment déterminée ; et ceci malgré leur exploitation et leur utilisation ancestrale, comme médicaments ou aliments (**Garcia-Pérez, 2008**). Parmi ces molécules on a les polyphénols, qui sont un groupe de composés phytochimiques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits naturels (**Vauzour, 2014**).

Les agrumes sont les fruits dont la production est la deuxième plus importante au monde avec plus de 115 millions de tonnes par an, dont 517 milles tonnes ont été produits en Algérie qui occupe la 18ème place mondiale (**FAO, 2013**). L'extraction des composés phénoliques à partir des écorces d'agrumes a considérablement attiré l'intérêt scientifique

pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Ramphul et al., 2010**).

Les effets bénéfiques de la menthe verte sont très nombreux ; elle agit comme stomachique, tonique, stimulant digestif, analgésique, diurétique, carminative, antispasmodique ... Les feuilles fraîches s'utilisent en cuisine, sauce, salades, thé, infusion. L'huile essentielle est utilisée à grande échelle dans l'industrie alimentaire pour la préparation de sucreries, boissons, sirops. Elle sert également pour parfumer les produits d'hygiène buccale, les dentifrices (**Anton, 2005**).

Les tisanes représentent une source majeure de composés phénoliques dans notre alimentation. Parmi les tisanes les plus consommées, l'infusé de la verveine odorante (*Aloysia citriodora*) est connu pour ses propriétés aromatiques, digestives et antispasmodiques (**Lenoir, 2011**).

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire s'inscrit visant à étudier le contenu en polyphénols ainsi que l'activité antioxydante de la menthe, de la verveine et de deux types d'agrumes, la clémentine et le citron.



# **Chapitre I :**

## **Synthèse bibliographique**

## **I. LES POLYPHENOLS**

### **I.1. Définition**

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués, possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 9000 structures connues différentes allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (**Akowauh et al., 2004**).

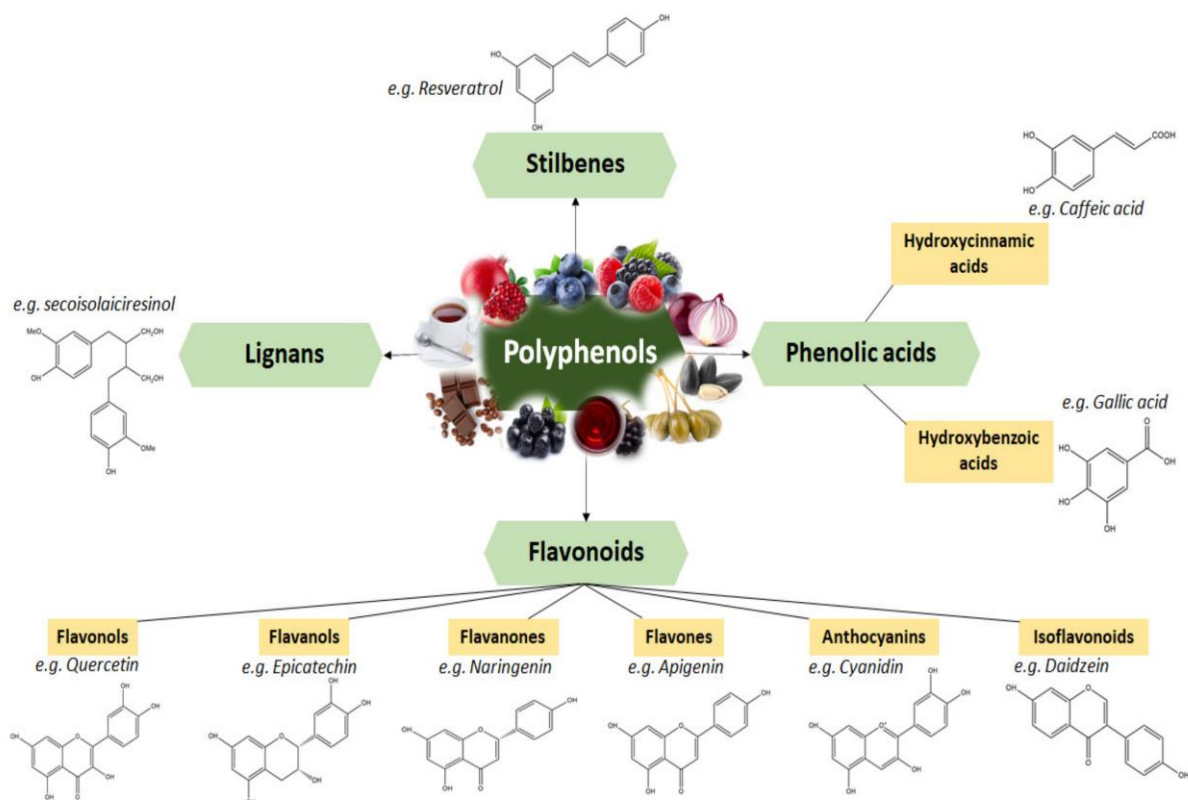
Les polyphénols sont retrouvés dans les différentes parties des plantes y compris les feuilles, les fleurs, les fruits, les tiges et les écorces. Ces molécules sont impliquées dans le système de défense des plantes contre les rayons ultraviolets et les agressions pathogènes mais également dans le développement et la croissance de la plante (**Del Valle et al., 2020**).

Ils font partie importante de l'alimentation humaine et animale et jouent un rôle fondamental dans les aliments (légumes, fruits, céréales, fruits secs, café, cacao ou le thé) grâce à leurs qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles (**Scalbert et al., 2005**).

### **I.2. Classification**

Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de molécules chimiques. Actuellement, près de 8000 polyphénols ont été identifiés dans le règne végétal. Ces molécules ont été classés selon la structure de leur squelette carboné : (i) les acides phénoliques comprenant les acides hydroxybenzoïques (dérivés de l'acide benzoïque) et hydroxycinnamiques (dérivés de l'acide cinnamique) ; (ii) les flavonoïdes regroupant les flavones, les isoflavones, les flavonols, les flavanones, les flavanols, les chalcones/dihydrochalcones, les anthocyanes, et les pro-anthocyanidines ; (iii) les stilbènes, et (iv) les lignanes (**Pop et al., 2021**).

La figure 01 représente les différentes classes et sous-classes de polyphénols et leur structure chimique correspondante.



**Figure 01** : Classification et structure chimique des principales classes de polyphénols (Pop et al., 2021).

### I.2.1 les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont la classe la plus dominante de composés bioactifs présents dans diverses sources naturelles, notamment les fruits, les légumes, les épices, les céréales et les boissons (Karasawa et Mohan, 2018 ; Stuper-Szablewska et Perkowski, 2019). Les acides phénoliques ont attiré l'attention en raison de leurs multiples bienfaits pour la santé, notamment leur activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-microbienne, anti-allergique, immuno-régulatrice et anticancéreuse (Anantharaju et al., 2016 ; Kumar et Goel, 2019). Ils sont généralement présents sous forme liée, généralement avec des amides, des esters ou des glycosides, et sont rarement présents sous forme libre (Pereira et al., 2009).

Les acides phénoliques sont principalement divisés en deux sous classes : les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques (**Pop et al., 2021**). Ces derniers sont dérivés de l'acide cinnamique ayant une structure en C6-C3 et sont souvent présents dans les aliments sous forme d'esters simples avec l'acide quinique ou le glucose. Les acides hydroxycinnamiques sont plus répandus dans la nature que les acides hydroxybenzoïques et se présentent généralement sous des formes conjuguées. Les acides hydroxycinnamiques les plus courants provenant de sources alimentaires sont les acides férulique, caféique, p-coumarique et sinapique. L'acide caféique et l'acide quinique forment ensemble l'acide chlorogénique, que l'on trouve dans de nombreux fruits et certains légumes (**Rashmi et Negi, 2020**).

Les acides hydroxybenzoïques possèdent une structure de C6-C1. Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et se trouvent sous forme soluble (conjuguée avec des sucres ou des acides organiques) et liés aux fractions de la paroi cellulaire (**Pop et al., 2021**). L'acide gallique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide salicylique, l'acide ellagique, l'acide protocatéchuique, l'acide syringique et l'acide vanillique sont les principaux acides hydroxybenzoïques. Les sources alimentaires ont généralement de faibles taux d'acides hydroxybenzoïques, sauf les fruits rouges, les oignons et les radis noirs, qui contiennent jusqu'à 270 mg/kg de poids frais (**D'Archivio et al., 2021**).

### **I.2.2. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent l'une des principales classes de polyphénols, ayant une structure commune constituée de deux cycles aromatiques, liés entre eux par trois atomes de carbone qui forment une structure hétérocyclique oxygénée (C6-C3-C6) (**Spencer et al., 2008 ; Dias et al., 2021**).

Selon la structure chimique, le degré d'oxydation et l'insaturation de la chaîne de liaison, les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous-classes, dont les flavanols, les flavanones, les flavones, les anthocyanidines, les flavanonols et les iso-flavonoïdes (**Spencer et al., 2008 ; Pop et al., 2021**).

Les flavonoïdes sont présents dans les plantes sous forme d'aglycones libres ou liés à des glycosides (**Nabavi et al., 2021**). Habituellement, à l'exception des flavanols, les flavonoïdes sont conjugués à divers monomères ou dimères de sucres, notamment le glucose, le galactose, le xylose, l'arabinose ou le rhamnose (**Vukics et Guttman, 2010**).

Récemment, l'intérêt pour les flavonoïdes a augmenté en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé. Ces effets bénéfiques pour la santé ont été associés à leurs propriétés antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoires et antitumorale. En outre, les flavonoïdes agissent autant que des molécules de signalisation modulant la croissance cellulaire, induisant l'apoptose, réduisant la production de ROS et présentant des alternatives potentielles pour la prévention du cancer. La consommation moyenne des flavonoïdes varie d'un pays à l'autre et se situe entre 50 et 400 mg/jour (**Ahn-Jarvis et al., 2019 ; Pop et al., 2021 ; Nabavi et al., 2021**).

### **I.2.3. Les stilbènes**

Les stilbènes sont des composés phénoliques reconnus comme des phytoalexines et sont associés aux mécanismes de défense des plantes, car ils sont produits suite à des infections par des pathogènes ou une exposition aux rayons UV (**Valletta et al., 2021**). La structure du stilbène est basée sur le squelette C6-C2-C6 défini par deux cycles aromatiques reliés par un pont éthylène (**Pop et al., 2021**). Le stilbène le plus est le resvératrol, qui a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses activités biologiques, notamment la suppression de l'inflammation et la modulation de la prolifération cellulaire. Les raisins sont la source naturelle contenant la plus grande quantité de stilbènes (**Vang et al., 2019 ; Pop et al., 2021 ; Gomes et al., 2021**).

### **I.2.3. Les lignanes**

Les lignanes sont des composés phénoliques avec une structure 2,3-dibenzyl butane formée par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique. En tant que sources alimentaires, les lignanes se trouvent dans la plupart des plantes riches en fibres, comme les graines de citrouille, les graines de sésame et les céréales, y compris l'avoine, le blé et l'orge ; les légumineuses, comme les haricots et le soja ; les légumes, y compris l'ail, le

brocoli et les carottes (Soleymani et al., 2020). La teneur en lignanes des aliments est généralement faible et ne dépasse pas 2 mg/100 g (Imran et al., 2015 ; Pop et al., 2021).

### **I.3. Propriétés physico-chimiques des polyphénols**

Etant donné des dérivés hydroxylés, les phénols sont des molécules associées par des liaisons hydrogène, par conséquent sont peu volatiles (Petigny et al., 2014 ; Mamari, 2021). Les groupements OH en position para et ortho des noyaux phénoliques de polyphénols présentent un caractère acide. Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques (Mamari, 2021).

La solubilité des flavonoïdes dans l'eau et dans des solvants très apolaires est faible et dépendante du pH. Les acides phénoliques sont généralement caractérisés par des maximums d'absorption entre 254-320 nm (Harborne et Williams, 2000 ; Bertelli et al., 2021). La lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ion métallique et d'oxydant ont été décrits comme des paramètres influençant la stabilité des polyphénols (Anthoni, 2007).

### **I.4. Répartition des polyphénols dans la plante**

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués avec des sucres ou des acides organiques ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule (Bénard, 2009).

Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (Bénard, 2009). Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol (Macheix et al., 2005).

Au niveau tissulaire la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristiques. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (Tomas-Barberan et Espin, 2001 ; Sarni-Marchado 2006).

## **I.5. Facteurs qui affectent le contenu et la composition phénoliques**

De nombreux facteurs ont une influence évidente sur la quantité et la composition des composés phénoliques présents dans les plantes. Parmi eux, il y a des facteurs intrinsèques à la plante elle-même (origine génétique) qui conduisent à des différences inter-espèces, et à plusieurs variétés (**Eseberri et al., 2022**).

Il existe également des facteurs extrinsèques à la plante, liés aux conditions de culture (facteurs agro-environnementaux) et aux conditions de stockage post-récolte. En ce qui concerne les conditions de croissance, la présence ou l'absence de certains nutriments dans le sol peut affecter la composition phytochimique des fruits et légumes, tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Par exemple, il est connu que la teneur en calcium dans le sol induit le métabolisme phénolique et l'accumulation d'anthocyanes dans les raisins (**Yokotsuka et al., 1999 ; Eseberri et al., 2022**).

Le climat est un autre aspect clé, et par conséquent, les fruits d'une même variété cultivée dans des régions différentes présentent des teneurs différentes en composés phénoliques. Si nous prenons l'exemple du raisin, il a été démontré que des températures élevées pendant les phases de croissance peuvent diminuer la synthèse des anthocyanes. Inversement, l'état hydrique au stade de la floraison du cycle du raisin a un effet sur la synthèse des polyphénols ; la synthèse des anthocyanes et des composés phénoliques augmente avec les déficits hydriques pendant les stades de maturité (**Balda et al., 2015 ; Eseberri et al., 2022**).

## **I.6. Intérêts santé des polyphénols**

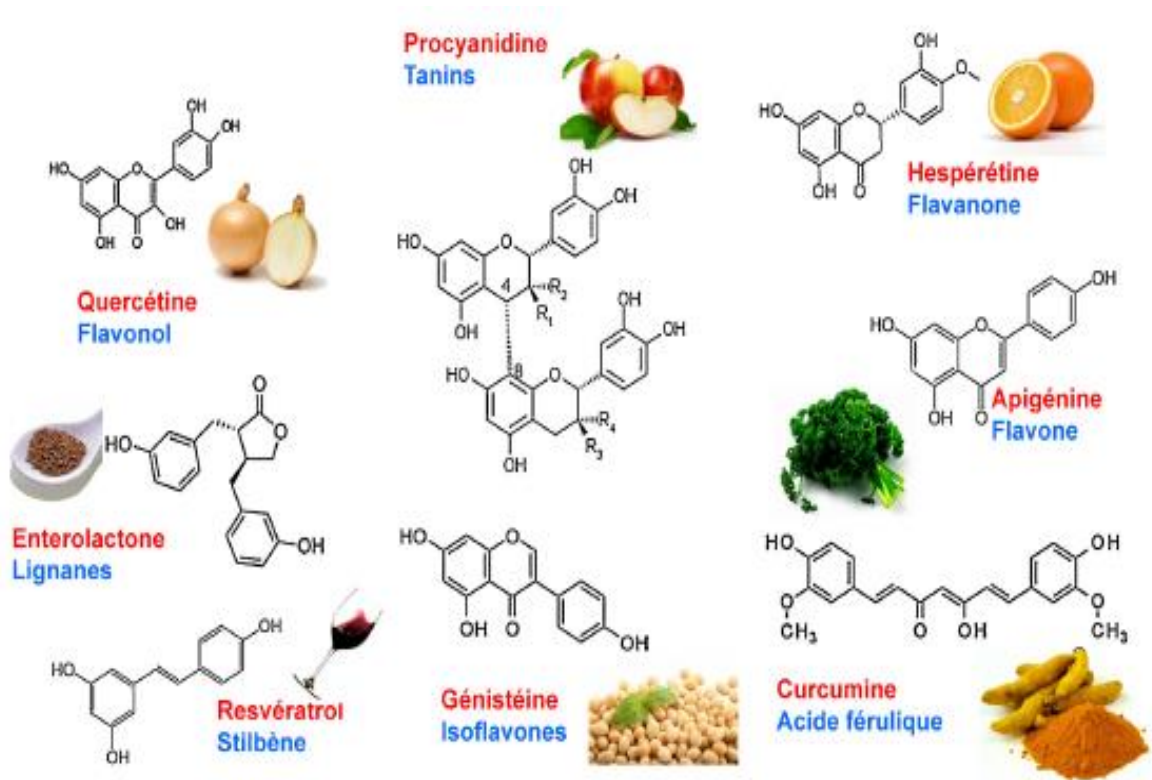
Les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines thérapeutiques et pharmaceutiques (figure 02).

### **I.6.1. Propriétés antioxydantes**

Historiquement, les actions biologiques des polyphénols ont été attribuées à leurs propriétés antioxydantes, que ce soit par leur capacité réductrice intrinsèque ou par leur influence sur le statut redox intracellulaire (**Halliwell, 2006**). Les flavonoïdes sont

d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ( $O_2^*$ ,  $HO^*$ ,  $NO^*$ ,  $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $RO^*$  et  $ROO^*$ ) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN).

Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (Quideau *et al.*, 2011).

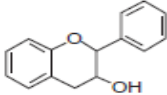
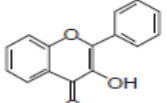
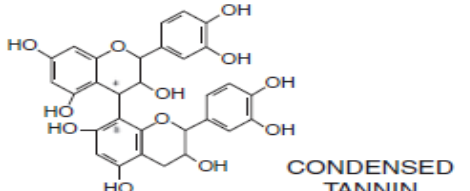
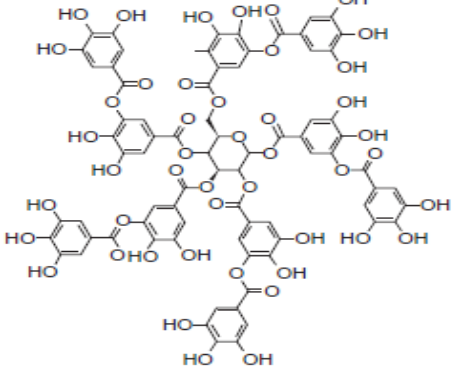
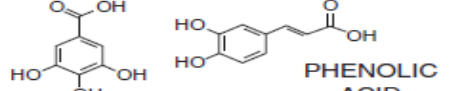
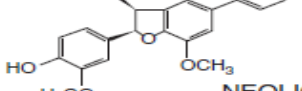


**Figure 02:** Polyphénols à effets santé. **Quercétine** : anti-inflammatoire ; **procyanidine** : vasculo-protectrice ; **hespérétine** : neuroprotectrice et vasculo-protectrice ; **entérolactone** : vasculo-protecteur et protecteur osseux ; **resvératrol** : anticancéreux ; **génistéine** : anti-bouffées de chaleur et protectrice osseuse ; **curcumine** : anticancéreuse (Bennetau-Pelissero, 2014).



## I.6.2. Propriétés antimicrobiennes

La figure 03 représente les différentes classes des polyphénols à activité antimicrobienne. Les propriétés antimicrobiennes de certaines classes de polyphénols ont été proposées soit pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires naturels (**Rodriguez Vaquero et al., 2010**), soit pour la mise au point de thérapies innovantes en matière de traitement de diverses infections microbiennes (**Daglia, 2012**).

 <p>FLAVAN-3-OL</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p>	<p><i>V.cholerae - S.mutans - C.jejuni</i>  <i>C.perfringes - E.coli - B.Cereus</i>  <i>H.pylori - S.aureus - L.acidophilus</i>  <i>A.naelsundii - P.oralis - P.gingivalis</i>  <i>P.melaninogenica - F.nucleatum - C.pneumonia</i></p> <p>Adenovirus– Enterovirus –Flu virus</p>
 <p>FLAVONOL</p>	<p>ANTIFUNGAL</p>	<p><i>Candida albicans</i>  <i>Microsporium gypseum</i>  <i>Trichophyton mentagrophytes</i>  <i>Trichophyton rubrum</i></p>
 <p>CONDENSED TANNIN</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p>	<p><i>S.mutans</i>  <i>E.coli</i>  <i>S.aureus</i></p> <p>influenza A virus  type -1 herpes simplex virus (HSV)</p>
 <p>HYDROLYSABLE TANNIS</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p> <p>ANTIFUNGAL</p>	<p>Different strains of :  <i>Salmonella - Staphylococcus</i>  <i>Helicobacter - E.coli - Bacillus</i>  <i>Clostridium - Campylobacter</i>  <i>Lysteria</i></p> <p>Epstein-Barr virus  Herpes virus  HSV -1 and HSV -2,</p> <p><i>Candida parapsilosis</i></p>
 <p>PHENOLIC ACID</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p>	<p><i>S.aureus - L.monocytogenes</i>  <i>E.coli - Paeruginosa</i></p>
 <p>NEOLIGNAN</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p>	<p>Different strains of :  <i>Mycobacterium tuberculosis</i></p>

**Figure 03 : Polyphénols à effet antimicrobien (Daglia, 2012).**

### **I.6.3. Polyphénols et maladies cardiovasculaires**

De nombreuses études épidémiologiques ont montré qu'il existait une association inverse entre la morbi-mortalité cardiovasculaire et la consommation de produits riches en polyphénols tels que les fruits, les légumes, le vin rouge, le cacao et le thé (**Auger et Schini-Kerth, 2014**).

L'effet bénéfique des polyphénols sur la santé cardiovasculaire a été attribué en partie à leur effet direct sur les vaisseaux sanguins et plus particulièrement sur l'endothélium. En effet, des études expérimentales et cliniques ont révélé que les polyphénols sont capables d'augmenter la formation endothéliale de facteurs vasoprotecteurs comme le monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur et un inhibiteur de réponses pro-inflammatoires et pro-thrombotiques, et d'améliorer la dysfonction endothéliale et le stress oxydant vasculaire qui contribuent au développement des pathologies cardiovasculaires majeures comme l'hypertension artérielle (**Auger et Schini-Kerth, 2014 ; Alotaibi et al., 2021**).

### **I.6.4. Polyphénols et cancer**

La prolifération cellulaire est un processus biologique dans lequel le nombre de cellules augmente au fil du temps par la division cellulaire. Plusieurs études menées *in vitro* sur des lignées de cellules cancéreuses ou *in vivo* ont montré que les composés phénoliques ont des effets antiprolifératifs sur les cellules tumorales (**Rugina et al., 2017 ; Diaconeasa et al., 2017 ; Bano et al., 2020**).

Une étude utilisant 13 composés polyphénoliques a été réalisée afin d'évaluer leur effet antiprolifératif durant 72 heures sur la lignée cellulaire de mélanome. Les résultats ont montré que le plus grand effet sur la croissance cellulaire était attribué aux flavonols myricétine et acide gallique, et aux flavones tangeretin et baicalein, de manière dose-dépendante (**Yáñez et al., 2004 ; Pop et al., 2021**).

Le curcuma, utilisé depuis des siècles dans la médecine indigène, contient un composé polyphénolique appelé curcumine qui a été signalé comme ayant des actions anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses. En outre, une étude a été réalisée afin d'examiner l'effet potentiel antiprolifératif de la curcumine sur la lignée cellulaire du

mélanome B16-F10. Les résultats suggèrent que la curcumine inhibe de manière significative la prolifération des cellules B16-F10 et induit une diminution des cellules en phase G1 (**Aggarwal et al., 2003 ; Abusnina et al., 2011 ; Bano et al., 2020**).

Comme la prolifération cellulaire est un point critique dans le développement des cellules tumorales, il est important d'inhiber ce processus avec des agents qui possèdent un effet antiprolifératif. Les polyphénols, comme plusieurs études l'ont démontré, possèdent cette capacité d'inhiber la prolifération, qui représente un processus biologique important dans le développement des tumeurs (**Pop et al., 2021**)

# **Chapitre II :**

## **Matériels et méthodes**

## II.1. Plantes étudiées

Les plantes utilisées dans cette étude sont : la menthe verte (*Mentha spicata* L.), verveine odorante (*Aloysia citrodora* L.), le citron (*Citrus limon* L.) et la clémentine (*Citrus clementina* L.) ont été obtenue du marché local de Mostaganem broyées et conservées au congélateur jusqu'à leur utilisation.

## II. 2. Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols à partir des différentes plantes a été effectuée selon la méthode de **Mokhtar *et al.* (2014)**. Des échantillons de 100 g du zeste des citron ou des clémentines, des feuilles fraîches broyées de la menthe ou bien de la verveine ont été mélangés avec 200 mL de 0.05% (v/v) HCl/éthanol (10:90) dans un sonicateur pendant 30 min. Les extraits ont été par la suite filtrés avec un papier Whatman, évaporés avec un rotavapor à une température de 40°C, ensuite les extraits ont été lyophilisés.

## II. 3. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de des extractions des polyphénols à partir de la menthe, la verveine, le citron et la clémentine a été exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R = (M_1 / M_0) \times 100$$

**R** : rendement de l'extraction en %

**M<sub>1</sub>** : masse en gramme de l'extrait final.

**M<sub>0</sub>** : masse en gramme de la matière végétale initiale.

## **II. 4. Dosage des polyphénols totaux**

### **II. 4. 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été effectuée en lisant l'absorbance des différentes concentrations (15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL) de l'acide gallique à une longueur d'onde de 725 nm.

### **II. 4. 2. Calcul des polyphénols totaux**

Le contenu en polyphénols totaux des extraits de la menthe verte (*Mentha spicata* L.), verveine odorante (*Aloysia citrodora* L.), le citron (*Citrus limon* L.) et la clémentine (*Citrus clementina* L.) a été déterminé selon la méthode colorimétrique de **Gutfinger (1981)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, les polyphénols réduisent l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) de ce réactif en un mélange bleu d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ).

Un volume de 100 µL de chaque extrait est mélangé avec 4,9 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, 1 mL de solution de carbonate de sodium (35% p/v) est additionnée et le mélange a été complété par de l'eau distillé pour avoir un volume final de 10 mL. Après 30 min d'incubation en obscurité, l'absorbance a été mesurée à 725 nm. La teneur en phénols totaux de l'extrait est déterminée graphiquement et exprimée en termes d'équivalent d'acide gallique (mg /g d'extrait).

## **II. 5. Détermination des flavonoïdes totaux**

### **II. 5. 1. Courbe d'étalonnage de la quercétine**

La courbe d'étalonnage de la quercétine a été effectuée en lisant l'absorbance des différentes concentrations de quercétine (15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL) à une longueur d'onde de 415 nm.

### **II. 5. 2. Calcul des flavonoïdes totaux**

Le taux des flavonoïdes totaux a été estimé selon la méthode de **Dowd** adaptée par **Arvouet-Grand et al., (1994)**. Elle se base sur les propriétés chélatrices de l'ion aluminium. 500 µL de chaque extrait ont été mélangés avec le même volume du chlorure d'aluminium (2%). Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 415 nm contre un blanc qui contient l'échantillon sans le chlorure d'aluminium. Le taux des flavonoïdes a été exprimé par mg d'équivalent de quercétine / g d'extrait.

## **II. 6. Evaluation de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des différents extraits phénoliques de la menthe verte, la verveine, le citron et la clémentine a été évaluée par le test de DPPH. La capacité à piéger le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) des polyphénols a été évaluée selon le protocole décrit dans la littérature par **Siracusa et al. (2011)**. Un volume de 37.5 µL d'extrait a été ajouté à 1.5 mL de solution de DPPH (0.1 mM). Après 20 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Les résultats sont exprimés en mMol Trolox équivalent par gramme d'extrait.

## **II.7. Traitement statistique des résultats**

Chaque expérience a été indépendamment réalisée en 3 exemplaire et répétée trois fois dans un dispositif en randomisation totale et les résultats obtenus ont été soumis à l'analyse de variance (ANNOVA) en utilisant le logiciel Stat box version 6.4 (1999).

La comparaison de moyennes a été réalisée par le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5% pour comparaison multiple. A  $P < 0.05$ , la différence est considérée significative.

# **Chapitre III :**

## **Résultats et discussions**



## RESULTATS ET DISCUSSION

Les plantes médicinales sont une source importante en composés bioactifs dont les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanines...) qui peuvent être le majeur contributeur à l'activité antioxydante.

Les plantes sont connues pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont la structure ne fut que récemment déterminée ; et ceci malgré leur exploitation et leur utilisation ancestrale, comme médicaments ou aliments (**Garcia-Pérez, 2008**). Parmi ces molécules on a les polyphénols, qui sont un groupe de composés phytochimiques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits naturels (**Vauzour, 2014**).

### III.1. Calcul du rendement de l'extraction

Le calcul de la teneur du rendement de l'extraction repose sur plusieurs facteurs à savoir la température d'extraction, la nature du solvant, de la matière végétale initiale, ainsi que l'humidité. Les résultats des rendements de l'extraction des polyphénols à partir de différentes sources (citron, clémentine, menthe, verveine) sont présentés dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** : Rendement de l'extraction des polyphénols

Echantillon	Citron	Clémentine	Menthe	Verveine
R (%)	4.16	7.36	1.48	1.54

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : la méthode d'extraction, la granulométrie des particules, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé.

La méthode d'extraction par macération en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction des quatre échantillons (écorce de citron, écorce d'orange, feuilles de la verveine, et de la menthe) a permis d'obtenir respectivement des taux d'extraction de

l'ordre de 7.36 %, 4.16%, 1.54%, et 1.48%. Cette variabilité du rendement des extraits peut être due à la différence de la granulométrie des particules et le type de matériel végétal utilisé d'autre part, indépendamment du solvant utilisé.

## III.2. Dosage des polyphénols totaux

### III.2. 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été effectuée en lisant l'absorbance des différentes concentrations de ce standard à une longueur d'onde de 725 nm ; le coefficient de corrélation obtenu était :  $R^2 = 0.998$  ; et l'équation est égale à  $Y = 0.705 X + 0.015$  (figure 4).

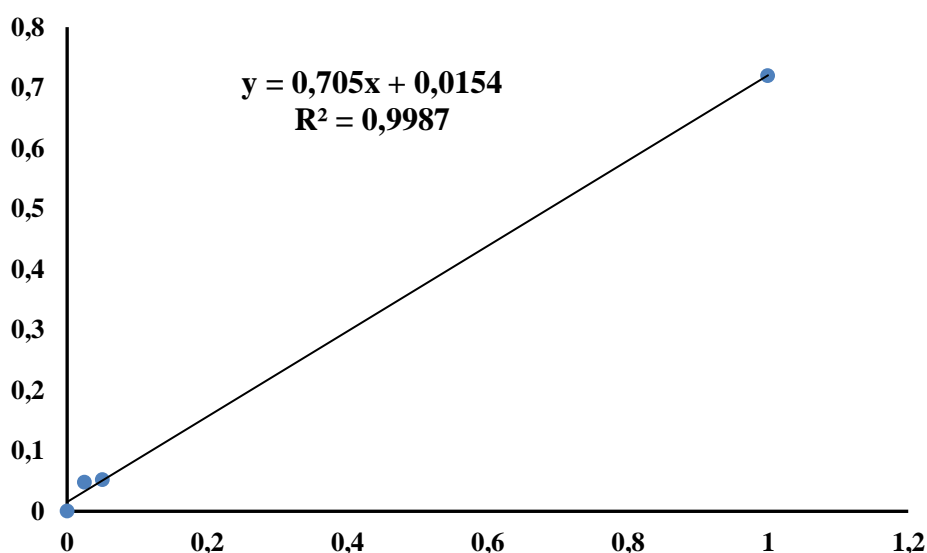


Figure 4 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### III.2.2. Quantification des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux des différents extraits a été réalisée en utilisant le réactif de Foiln-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg Equivalent d'acide gallique d'acide par gramme de matière ( $\mu\text{g EAG/g}$ ), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

Selon les résultats, les écorces des clémentines renfermaient le taux le plus important en polyphénols totaux (3.38 µg EAG/g), suivie des feuilles de la menthe avec un contenu de l'ordre de 2.22 µg EAG/g, ensuite des écorces de citron (2,13 µg EAG/g), et en dernier les feuilles de la verveine (0,43 µg EAG/g) (**tableau 2**).

**Tableau 2 :** Polyphénols et flavonoïdes totaux du citron, clémentine, menthe, et verveine.

	<b>Polyphénols totaux (mg EAG/g MF)</b>	<b>Flavonoïdes totaux (mg EQ/g MF)</b>
<b>Menthe</b>	2.22± 0.08	0.91 ± 0.06
<b>Verveine</b>	0.43± 0.03	0.30 ± 0.011
<b>Clémentine</b>	3.38± 0.07	1.89± 0.03
<b>Citron</b>	2.13± 0.01	1.1± 0.09

Dans une étude menée par **XI et al. (2017)**, le contenu en polyphénols totaux de plusieurs variétés de citron a été évalué dans les écorces, la pulpe, et le jus. Selon leurs résultats, le contenu en polyphénols variait entre 3.17 à 4.63 µg EAG/g. En ce qui concerne la clémentine, **Costanzo et al. (2020)** a reporté des valeurs de polyphénols totaux de l'ordre de 0.24 ± 0.011 mg GAE g<sup>-1</sup> F.

Dans une autre recherche menée par **Karray-Bouraoui et al. (2010)**, les composés phénoliques contenus dans la menthe étaient équivalentes à des valeurs de 20.1 à 56.6 mg EAG/g d'extrait. **Hajlaoui et al. (2015)** ont aussi indiqué des quantités de composés phénoliques totaux équivalentes à 37.4 mg EAG/g et 62.06 mg EAG/g d'extrait, respectivement. **Zhang Et Wang (2001)** ont reporté que la verveine contenait 1.55 mg GAE/ g de polyphénols totaux.

### **III.3. Dosage des flavonoïdes totaux**

### III.3. 1. Courbe d'étalonnage de la quercétine

La courbe d'étalonnage de la quercétine a été effectuée en lisant l'absorbance des différentes concentrations de quercétine à une longueur d'onde de 415 nm. Le coefficient de corrélation  $R^2$  était 0.998 et l'équation  $Y = 4,407+0,0003$  (figure 5).

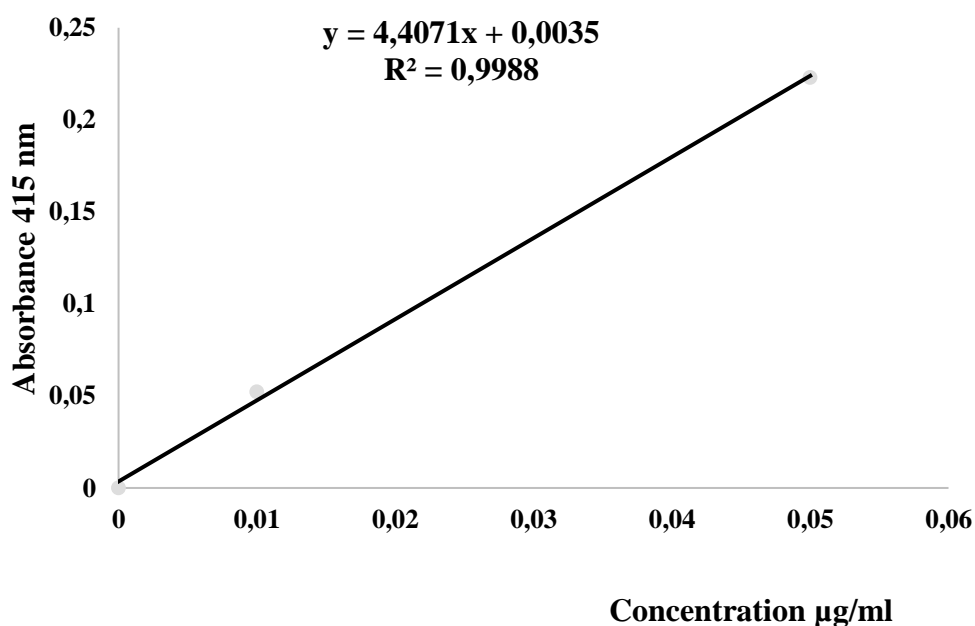


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

### III. 3. 2. Quantification des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des polyphénols, avec plus de 5000 composés déjà décrits et connus pour leur diverses effets biologiques (**Gomez-Caravaca et al., 2006**). Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Le taux des flavonoïdes totaux a été estimé selon la méthode de **Dowd** adaptée par (**Arvouet-Grand et al., 1994**).

D'après les résultats présentés dans le (**tableau 2**), l'extrait de la clémentine renferme le plus de flavonoïdes totaux avec des valeurs de l'ordre de 1.89 mg EQ/g MF, suivi de l'extrait de citron (1.1 mg EQ/g MF), de la menthe (0.91 mg EQ/g MF), et enfin de la verveine (0.30 mg EQ/g MF).

En ce qui concerne la clémentine, les valeurs trouvées sont supérieures à celles rapportées par **Omoba et al. (2015)** qui correspondaient à 0,008mg EQ/g, par contre inférieures à celles trouvées par **Salmi et al. (2017)** estimées à  $87.48 \pm 1.59$  mg EQ/g. Pour l'écorce du citron, ont rapporté une valeur de l'ordre de  $8.88 \pm 0.62$  mg EQ/g d'extrait.

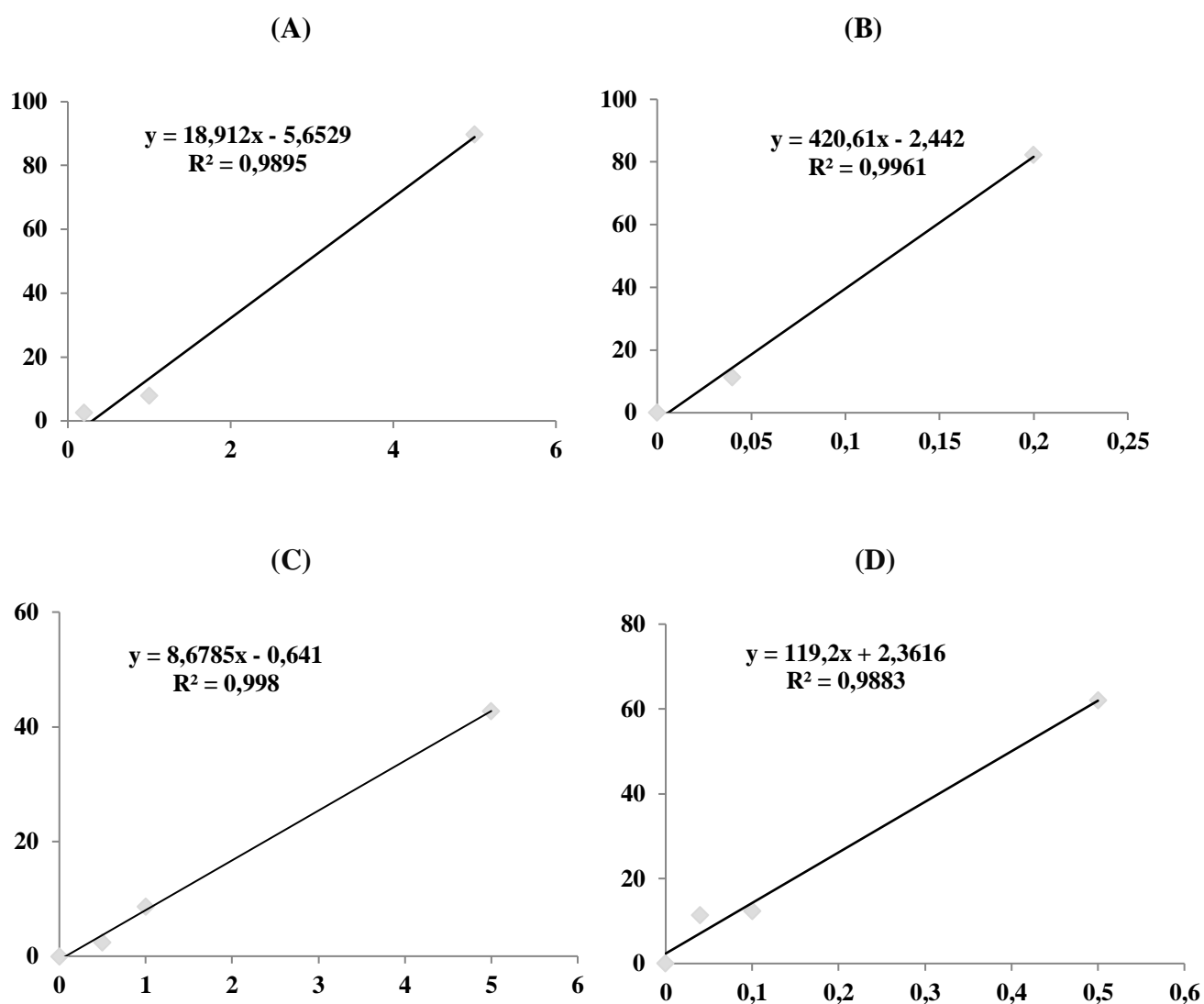
Dans une étude menée par **Ke et al. (2009)**, la menthe verte contenait une bonne valeur de flavonoïdes totaux 95.1 mg/g, mais cette valeur est exprimée par rapport à la matière sèche et non fraîche.

#### **III. 4. Evaluation de l'activité antioxydante**

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Popovici et al., 2009 ; Mokhtar et al., 2015**).

La méthode utilisée pour la mesure de l'activité anti-radicalaire des extraits des plantes sélectionnées est la méthode de DPPH. Le radical DPPH est l'un des rares radicaux organiques azotés de couleur pourpre foncé (**Prior et al., 2005**).

Les courbes de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits utilisés sont tracées afin d'obtenir IC<sub>50</sub> (**figure 6**). Ce paramètre est défini comme étant la concentration en composés phénoliques requise pour inhiber 50% de l'activité de DPPH initiale (**Merouane et al., 2014**).



**Figure 6 :** Evaluation du pouvoir réducteur du DPPH en fonction des différentes concentrations des polyphénols de (A) : Citron, (B) : Clémentine, (C) : Verveine, (D) : Menthe.

La **figure 6** montre les résultats de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des composés testés. Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration testée avec tous les extraits phénoliques testés (citron, clémentine, menthe, et la verveine).

On observe que le pourcentage d'inhibition des polyphénols de la clémentine est supérieur à celui des autres extraits, suivi de celui de la menthe, du citron et en dernier la verveine.

L'IC50 est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Les concentrations des extraits phénoliques des différents échantillons testés nécessaires pour réduire 50% du radical DPPH sont reportées dans le **tableau 3**. L'extrait éthanolique de l'écorce de la clémentine rend le radical libre stable (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de seulement 0.125 mg/mL montrant une activité très importante, suivi de l'extrait phénolique de menthe avec une valeur de IC50 de 0.399 mg/mL.

**Tableau 3 :** les résultats des IC50 pour le test DPPH

<b>Echantillons</b>	<b>IC50 (mg/mL)</b>
<b>Verveine</b>	5.835
<b>Citron</b>	2.943
<b>Menthe</b>	0.399
<b>Orange</b>	0.125

En ce qui concerne l'extrait phénolique des écorces de citron, la concentration requise pour assurer l'inhibition de 50% du radical libre est à 2.943 mg/mL. L'activité anti-radicalaire de l'extrait de la verveine était le moins important par rapport aux autres extraits avec la plus grande concentration IC50 de l'ordre de 5.835 mg/mL.

Historiquement, les actions biologiques des polyphénols ont été attribuées à leurs propriétés antioxydantes, que ce soit par leur capacité réductrice intrinsèque ou par leur influence sur le statut redox intracellulaire (**Halliwell, 2006**). Les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes sont d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ( $O_2^{\cdot}$ ,  $HO^{\cdot}$ ,  $NO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $RO^{\cdot}$  et  $ROO^{\cdot}$ ) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN).

Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (**Quideau et al., 2011**).



# Conclusion

## Conclusion

Etant donné la toxicité et/ou les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse ainsi que la résistance de certains germes microbiens face aux médicaments existants, l'utilisation des plantes qui contiennent des composés bioactifs est en progression constante.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches. Nous avons choisi de travailler que quatre plantes largement utilisées : la clémentine, le citron, la menthe, et la verveine.

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée à partir des écorces de la clémentine et du citron, ainsi que les feuilles de la menthe et la verveine en utilisant un solvant peu toxique, l'éthanol. L'extrait phénolique à partir des écorces de la clémentine a donné le rendement le plus élevé, suivi des écorces de citron, ensuite les feuilles de la verveine, et de la menthe.

Les résultats obtenus indiquent que la teneur en polyphénols totaux est significativement supérieure dans les extraits de clémentine que dans ceux de citron, verveine, et la menthe. Les mêmes remarques ont été observées avec les flavonoïdes totaux.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, une évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits analysés a été réalisée par la détermination de leur pouvoir de piégeage des radicaux du DPPH en déterminant la dose IC<sub>50</sub>. L'extrait éthanolique de l'écorce de la clémentine avait le pouvoir antioxydant le plus important avec un IC<sub>50</sub> de seulement 0.125 mg/mL, suivi de l'extrait phénolique de la menthe avec une valeur de IC<sub>50</sub> de 0.399 mg/mL, ensuite l'extrait des écorces de citron avec une IC<sub>50</sub> de 2.943 mg/mL. L'activité anti-radicalaire de l'extrait de la verveine était le moins important par rapport aux autres extraits avec la plus grande concentration IC<sub>50</sub> de l'ordre de 5.835 mg/mL.

# **Références bibliographiques**

## References bibliographiques

-A-

1. **Abusnina, A.; Keravis, T.; Yougbaré, I.; Bronner, C.; Lugnier, C.** Anti-Proliferative Effect of Curcumin on Melanoma Cells Is Mediated by PDE1A Inhibition That Regulates the Epigenetic Integrator UHRF1. *Mol. Nutr. Food Res.* 2011, 55, 1677–1689.
2. **Aggarwal, B.; Kumar, A.; Bharti, A.** Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer. Res.* 2003, 23, 363–398.
3. **Ahn-Jarvis, J.H.; Parihar, A.; Doseff, A.I.** Dietary Flavonoids for Immuno regulation and Cancer: Food Design for Targeting Disease. *Antioxidants* 2019, 8, 202.
4. **Alotaibi BS, Ijaz M, Buabeid M, Kharaba ZJ, Yaseen HS, Murtaza G.** Therapeutic Effects and Safe Uses of Plant-Derived Polyphenolic Compounds in Cardiovascular Diseases: A Review. *Drug Des Devel Ther.* 2021 Nov 20;15:4713-4732. doi: 10.2147/DDDT.S327238. PMID: 34848944; PMCID: PMC8619826.
5. **Anantharaju, P.G.; Gowda, P.C.; Vimalambike, M.G.; Madhunapantula, S.V.** An Overview on the Role of Dietary Phenolics for the Treatment of Cancers. *Nutr. J.* 2016, 15, 1–16.
6. **Anthoni, J. (2007).** Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes. Thèse à l'Institut National Polytechnique de Lorraine.
7. **Anton R et Annelise L (2005).** plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, lavoisier, édition Tec & Doc.
8. **Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A., Legret, P. (1994).** Standardization d'un extrait de propolis et identification des principaux constituents, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, p. 462-468.
9. **Auger, C., et Schini-Kerth, V.B. (2014).** Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cah Nutri Diet*, 49(4) : 160–172.
10. **Balda, P.; Martínez de Toda, F.** Quantifying the effect of temperature on decoupling anthocyanins and sugars of the grape (*Vitis vinifera* L. 'Maturana Tinta de Navarrete'). *Vitis* 2015, 54, 117–120.

-B-

11. **Bano, S.; Ahmed, F.; Khan, F.; Chaudhary, S.C.; Samim, M.** Enhancement of the Cancer Inhibitory Effect of the Bioactive Food Component Resveratrol by Nanoparticle Based Delivery. *Food Funct.* 2020, 11, 3213–3226.

- 12. Benard C, Gautier H, Bourgaud F, Grasselly D, Navez B, Caris-Veyrat C, Weiss M, Genard M, (2009).** "Effects of Low Nitrogen Supply on Tomato (*Solanum lycopersicum*) Fruit Yield and Quality with Special Emphasis on Sugars, Acids, Ascorbate, Carotenoids, and Phenolic Compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(10): 4112-4123.
- 13. Bennetau-Pelissero,C. (2014).** Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *CahNutr Diet*, 49 : 151-159.
- 14. Bertelli, A.;Biagi, M.; Corsini, M.; Bains, G.; Cappellucci, G.; Miraldi, E.** Polyphenols: From Theory to Practice. *Foods* 2021, 10, 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>

-C-

- 15. Costanzo G, Iesce MR, Naviglio D, Ciaravolo M, Vitale E, Arena C.** Comparative Studies on Different Citrus Cultivars: A Revaluation of Waste Mandarin Components. *Antioxidants (Basel)*. 2020 12;9(6):517. doi: 10.3390/antiox9060517.

-D-

- 16. D'Archivio, M.;Filesi, C.; Di Benedetto, R.; Gargiulo, R.; Giovannini, C.; Masella, R.** Polyphenols, Dietary Sources and Bioavailability. *Ann. Ist. Super. Sanita* 2007, 43, 348.
- 17. Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Chem. Biol*, 23:174–181.
- 18. Del Valle JC, Buide ML, Whittall JB, Valladares F, Narbona E.** UV radiation increases phenolic compound protection but decreases reproduction in *Silene littorea*. *PLoS One*. 2020 Jun 18;15(6).
- 19. Diaconeasa, Z.; Ayvaz, H.; Rugina, D.; Leopold, L.; Stanila, A.; Socaciu, C.; Tabaran, F.; Luput, L.; Mada, D.C.; Pintea, A.** Melanoma Inhibition by Anthocyanins Is Associated with the Reduction of Oxidative Stress Biomarkers and Changes in Mitochondrial Membrane Potential. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2017, 72, 404–410.
- 20. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS.** Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*. 2021 Sep 4;26(17):5377.

-E-

21. Eseberri, I., Trepiana, J., Léniz, A., Gómez-García, I., Carr-Ugarte, H., González, M., & Portillo, M. P. (2022). Variability in the Beneficial Effects of Phenolic Compounds: A Review. *Nutrients*, 14(9), 1925.

-F-

22. FAO. (2013). Organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO).

-G-

23. Garcia-Perez, M.E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. Université Laval.
24. Ghnimi W. 2015. Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase: Université de Lorraine.
25. Gomes, M.J.C.; Kolba, N.; Agarwal, N.; Kim, D.; Eshel, A.; Koren, O.; Tako, E. Modifications in the Intestinal Functionality, Morphology and Microbiome Following Intra- Amniotic Administration (Gallus gallus) of Grape (Vitis vinifera) Stilbenes (Resveratrol and Pterostilbene). *Nutrients* 2021, 13, 3247.

-H-

26. Halliwell, B. (2006). Polyphenols: antioxidant treats for healthy living or covert toxins. *J. Food Agric*, 86: 1992-1995.
27. Harborne, J.B.; Williams, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 2000, 55, 481–504.

-I-

28. Imran, M.; Ahmad, N.; Anjum, F.M.; Khan, M.K.; Mushtaq, Z.; Nadeem, M.; Hussain, S. Potential Protective Properties of Flax Lignan Secoisolariciresinol Diglucoside. *Nutr. J.* 2015, 14, 1–7.

-K-

29. Karasawa, M.M.G.; Mohan, C. Fruits as Prospective Reserves of Bioactive Compounds: A Review. *Nat. Prod. Bioprospect.* 2018, 8, 335–346.
30. Ke, S. Y., Liu, D. L., Ma, Z. D., & Liu, Y. J. (2009). Zhong yao cai = Zhongyaocai = Journal of Chinese medicinal materials, 32(8), 1288–1290.

**31. Kumar, N.; Goel, N.** Phenolic Acids: Natural Versatile Molecules with Promising Therapeutic Applications. *Biotechnol. Rep.* 2019,24, e00370.

**-L-**

**32. Lenoir, L. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Université d'Auvergne.

**-M-**

**33. Macheix J J, Fleuriot A, Jay-Allemand C, (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Presses Polytechniques et Unuversitaires Rom Tomas-Barberan F A, Espin J C, (2001). "Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables." *Journal of the Science of Food and agriculture* 81: 853-876. *andes.* 192.

**34. Mamari, H. H. A. (2021).** Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. In (Ed.), *Phenolic Compounds - Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications.* IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98958>.

**35. Merouane, A. ; Noura, A. ; Zoubir, M. K., 2014.** In vitro estimate of the energy value of argan from Algeria. *Livest. Res. Rural Dev.*, 26 (5): 92.

**36. Mokhtar M. (2015).** Identification et propriétés biologiques des principes actifs du piment (*Capsicum annum* L.). Thèse de L'Université de Mostaganem.

**-N-**

**37. Nabavi, S.M.;Šamec, D.; Tomczyk, M.; Milella, L.; Russo, D.; Habtemariam, S.; Suntar, I.; Rastrelli, L.; Daglia, M.; Xiao, J.** Flavonoid Biosynthetic Pathways in Plants: Versatile Targets for Metabolic Engineering. *Biotechnol. Adv.* 2020, 38, 107316.

**-P-**

**38. Pereira, D.M.;Valentão, P.; Pereira, J.A.; Andrade, P.B.** Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules* 2009, 14, 2202–2211.

**39. Petigny, L., Périno, S., Minuti, M., Visinoni, F., Wajsman, J., Chemat, F. (2014).** Simultaneous Microwave Extraction and Separation of Volatile and Non-Volatile Organic Compounds of Boldo Leaves. From Lab to Industrial Scale. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 7183-7198.

**40. Pop TD, Diaconeasa Z.** Recent Advances in Phenolic Metabolites and Skin Cancer. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 8;22(18):9707.

**41. Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Rev. génie ind.*, 4 : 25-39.

**42. Prior et al, 2005 R.L. Prior, Wu X., K. Schaich** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005), pp. 4290-4302.

-Q-

**43. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységou, L. (2011).** Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 50: 586–621.

-R-

**44. Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O.I. (2010).** Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, **278**: 75-87.

**45. Rashmi, H.B.;Negi, P.S.** Phenolic Acids from Vegetables: A Review on Processing Stability and Health Benefits. *Food Res. Int.*2020, 136, 109298.

**46. Rodriguez-Amaya, D.B., Benjamin, C. (2003).** CAROTENOIDS: Occurrence, Properties, and Determination. Chapitre du livre : *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, pages 927-936. Academic Press, Oxford.

**47. Rugina, D.;Hanganu, D.; Diaconeasa, Z.; Tabaran, F.; Coman, C.; Leopold, L.; Bunea, A.; Pinte, A.** Ant proliferative and Apoptotic Potential of Cyanidin-Based Anthocyanins on Melanoma Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 949.

-S-

**48. Salmi, E.F., Nazem, M. & Karakus, M. 2017.** The effect of rock mass gradual deterioration on the mechanism of post-mining subsidence over shallow abandoned coal mines. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences*, 91, 59-71.

**49. Sanchez-Moreno, C. (2002).** Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food. Sci. Tech. Int.*, 8 (3): 121-137.

**50. Soleymani, S.; Habtemariam, S.; Rahimi, R.; Nabavi, S.M.** The What and Who of Dietary Lignans in Human Health: Special Focus on Prooxidant and Antioxidant Effects. *Trends Food Sci. Technol.* 2020, 382–390.

**51. Spencer, J.P.E.;Abd El Mohsen, M.M.; Minihane, A.M.; Mathers, J.C.** Biomarkers of the Intake of Dietary Polyphenols: Strengths, Limitations and Application in Nutrition Research. *Br. J. Nutr.* 2008, 99, 12–22.



- 52. Stuper-Szablewska, K.; Perkowski, J.** Phenolic Acids in Cereal Grain: Occurrence, Biosynthesis, Metabolism and Role in Living Organisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019, 59, 664–675.

-V-

- 53. Valletta, A.; Iozia, L.M.; Leonelli, F.** Impact of Environmental Factors on Stilbene Biosynthesis. *Plants* 2021, 10, 90.
- 54. Vang, O.; Ahmad, N.; Baile, C.A.; Baur, J.A.; Brown, K.; Csiszar, A.; Das, D.K.; Delmas, D.; Gottfried, C.; Lin, H.Y.** What Is New for an Old Molecule? Systematic Review and Recommendations on the Use of Resveratrol. *PLoS ONE* 2011, 6, e19881.
- 55. Vauzour, D. (2014).** Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance: relevance and potential implications for Alzheimer's disease path physiology. *J Sci Food Agric*, 94(6), 1042-56.
- 56. Vukics, V.; Guttman, A.** Structural Characterization of Flavonoid Glycosides by Multi-Stage Mass Spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 2010, 29, 1–16.

-X-

- 57. Xi W, Lu J, Qun J, Jiao B.** Characterization of phenolic profile and antioxidant capacity of different fruit part from lemon (*Citrus limon* Burm.) cultivars. *J Food Sci Technol.* 2017 Apr;54(5):1108-1118. doi: 10.1007/s13197-017-2544-5. Epub 2017 Feb 25. PMID: 28416860; PMCID: PMC5380627.

-Y-

- 58. Yáñez, J.; Vicente, V.; Alcaraz, M.; Castillo, J.; Benavente-García, O.; Canteras, M.; Lozano Teruel, J.A.** Cytotoxicity and Anti proliferative Activities of Several Phenolic Compounds against Three Melanocytes Cell Lines: Relationship between Structure and Activity. *Nutr. Cancer* 2004, 49, 191–199.
- 59. Yokotsuka, K.; Nagao, A.; Nakazawa, K.; Sato, M.** Changes in Anthocyanins in Berry Skins of Merlot and Cabernet Sauvignon Grapes Grown in Two Soils Modified with Limestone or Oyster Shell Versus a Native Soil Over Two Years. *Am. J. Enol Vitic.* 1999, 50, 1–12.

-Z-

- 60. Zhang W. and Wang S.Y. 2001.** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49:5165-5170.