



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS - MOSTAGANEM

Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique
Département de Chimie
Filière : Chimie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master en Chimie
Option : **Chimie Appliquée**

THEME :

**Teneur en polyphénols, tannins et flavonoïdes et capacité
antioxydante d'extrait méthanolique d'une plante**

Etudiant(e) : **SAFER SOUMIA**

Encadrant(e) : **Dr. Mahmoud BELALIA**

Année Universitaire 2017-2018

Introduction

Ces dernières années, L'étude de la chimie des substances naturelles connaît un intérêt croissant dans de nombreux domaines. En effet, avec un public de plus en plus réticent à consommer des produits contenant des molécules issus de la synthèse chimique, un certain nombre de secteurs industriels (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire) se tournent vers l'incorporation de ces molécules d'origine naturelle, aux caractéristiques chimiques et biologiques originales, dans leurs formulations. (1)

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse étant actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels (c'est le cas du buthylhydroxyanisol BHA, du buthylhydroxytoluène BHT, du tertiobutylhydroquinone TBHQ...), de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées par les industriels. (2)

Cette étude s'intègre dans le contexte plus global de la mise en valeur de la biodiversité des plantes aromatiques algériennes pour leurs propriétés tant médicinales qu'alimentaires.

L'objectif de notre travail de mémoire de master est l'extraction de ces composés et l'estimation des teneurs en polyphénols, tannins et flavonoïdes. Nous avons également évalué la capacité antioxydante de notre extrait.

Référence : (1) : Thomas MICHEL, Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse, université d'Orléans, 2011.

(2) : Félicien Avlessi et al Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook. C. R. Chimie 7 (2004) 1057–1061

Référence :

(1) : Thomas MICHEL, Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse, université d'Orléans, 2011.

(2) : Félicien Avlessi et al Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook. C. R. Chimie 7 (2004) 1057–1061

Conclusions

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique d'une plante.

Le criblage (screening) phytochimique réalisé à l'aide de réactions de caractérisation révèle la richesse de notre plante en métabolites secondaires. Les tests ont montré que les flavonoïdes, les alcaloïdes, glycosides cardiaques et les tannins catéchiques sont présent en grande quantité. Les saponines se retrouvent sous forme de trace ; et les anthraquinones libres, les stéroïdes, les anthocyanes et les terpenoïdes sont absentes.

L'analyse quantitative réalisée par spectrophotométrie a révélé des teneurs appréciables en polyphénols (126.75 mg EG/g d'extrait), en flavonoïdes (84.744 mg E Q/g d'extrait) et en tannins (97.32609 mg E C/g d'extrait).

Le potentiel antioxydant de notre extrait a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que cet extrait possède une bonne capacité de piégeage du radical libre DPPH par rapport à la référence, acide ascorbique, qui a un bon pouvoir antioxydant. Cela est montré par l'IC50 de cet extrait qui est de 0.695757 mg/ml, par contre l'IC50 de l'acide ascorbique a été de l'ordre de 0.229375 mg/ml.

1 -Préparation de l'extrait brut :

La méthode d'extraction des principes actifs que nous avons adopté est l'extraction continue solide liquide à l'aide d'un extracteur Soxhlet (figure 12).

15 g du matériel végétal est mis dans le corps en verre de l'extracteur Soxhlet qui est placé sur un ballon de 500 ml remplis de 300 ml du solvant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide (matière végétale) dans le solvant (chauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au sommet du tube-siphon, ce qui provoque le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, et le solvant contenu dans le ballon, s'enrichit donc progressivement en composés solubles. Ce cycle peut être répété plusieurs fois (8 fois), selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant. (7)



Figure 12 : montage soxhlet

Extraction pendant 6h ou bien 6h30min.

Après on utilise le rota-vapeur pour éliminer totalement le solvant.

2-Screening phytochimique :

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence

des substances chimiques. Les groupes photochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, ...etc.

Le screening phytochimique a été réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques. (6)

- **Test des alcaloïdes :**

Deux tests sont possibles :

Test de Wagner :

On ajoute 2 ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium **KI** + 1,27g d'iode **I₂** + 100 ml d'eau distillée) à 2 ml de l'extrait. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes. (6)

Test de Mayer :

On ajoute 2ml de réactif de Mayer (5 g de **KI** et 1,358 g de chlorure de mercure **HgCl₂** +100 ml d'eau distillée) à 2 ml de l'extrait .L'apparition d'une précipité indique la présence des alcaloïdes. (8)

- **Test des Tanins :**

Dans un tube à essai, on ajoute 1ml d'extrait avec 2 ml **H₂O** et 1 ml d'une solution aqueuse de **FeCl₃** à 2%, la présence des tanins est indiqué par une coloration verdâtre (Tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (Tanins galliques). (9)

- **Test des flavonoïdes :**

1ml de l'extrait a été traité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré **HCl** et quelques tournures de magnésium, l'apparition d'une coloration rouge, orange ou jaune indique la présence des flavonoïdes. (8)

- **Test des Stéroïdes :**

On ajout à 5 ml de l'extrait, 5 ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulés 0,5 ml de **H₂SO₄** concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique la présence des stéroïdes. (6)

- **Test des terpénoïdes :**

On ajoute à 5 ml d'extrait, 5 ml d'anhydride d'acétate (Ac_2O), ensuite nous avons ajouté 1ml d' H_2SO_4 sans agitation. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des triterpènes. (6)

- **Test des glycosides cardiaques :**

2 ml de l'extrait a été dissous dans 2 ml de chloroforme puis de l'acide sulfurique concentré H_2SO_4 a été ajoutée avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée. L'apparition d'une coloration brune à l'interface de l'anneau indique la présence de glycoside cardiaque. (6)

- **Test des anthocynes :**

Les anthocynes sont révélés par l'ajout de 1 ml d'extrait et 3 ml de H_2SO_4 à 10 % et 1 ml de NH_4OH à 10 %, si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu en milieu basique, on peut conclure de la présence des anthocyanes. (6)

- **Test des saponosides :**

5ml de l'extrait ont été dilués avec 5ml d'eau distillée, ensuite bien agités. L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponosides. (8)

- **Test des composés réducteurs:**

On Ajoute 2 ml d' H_2O et 1 ml d'extrait puis 20 gouttes de liqueur de Fehling avec chauffage au bain marie l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs. (9)

- **Test des anthraquinones libres :**

On réalise une ébullition au bain marie de 1g de la poudre végétale avec 10ml de chloroforme chauffer au bain marie pendant 3min filtrer a chaud et compléter à 10 si nécessaire .1ml de filtrat et 2 ml de solution d'ammoniaque dilué .la coloration plus ou moins rouge indique la présence des anthraquinones libre.(10)

- **Test des phénols :**

Dans un tube à essai, on ajoute l'extrait avec et 2 ml d'une solution aqueuse de (FeCl_3) à 2% La présence des phénols indiqués par une coloration noire. (9)

3- Dosage des polyphénols :

3-1-Principe :

La quantification des polyphénols est réalisée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Cioclateu : ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Cioclateu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} . La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption aux environs de 765 nm dont l'intensité est proportionnelle aux taux des composés phénoliques présent dans l'échantillon. (2)

Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg E G / mg d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée d'acide gallique.

3-2- Mode opératoire :

Détermination de la teneur totale en composés phénoliques: Le total phénolique dans les feuilles, les fleurs et les tiges contenu des extraits méthanoliques a été déterminé par spectrométrie utilisant le réactif "Folin-Ciocalteu ". Un volume de 200 μ l de l'extrait méthanolique à ($c=1mg/ml$) a été mélangé avec 1 ml de FolinCiocalteu réactif à (10%) avec de l'eau et 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na_2CO_3) dans un tube à essai. Après agitation et 2 heures plus tard, l'absorbance a été mesurée à $\lambda=760$ nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. (11)

L'acide gallique a été utilisé comme standard pour courbe d'étalonnage. Le contenu phénolique total était exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec (mg GAE / g DW).

3-3-Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

On prépare la solution mère de l'acide gallique (2mg/ml), différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

Matériel et méthodes

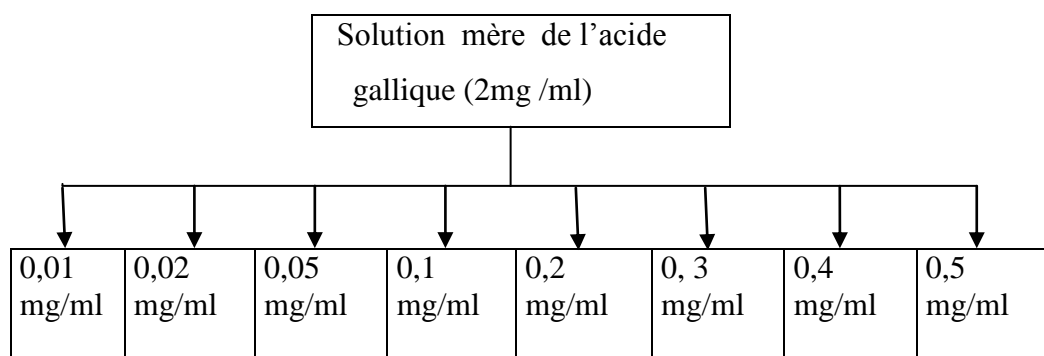


Figure 13 : dilution de la solution mère de l'acide gallique

Un volume de 200 μ l de La solution de l'acide gallique à (c=2mg/ml) a été mélangé avec 1 ml de FolinCiocalteu réactif à (10%) avec de l'eau et 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂CO₃) dans un tube à essai. Après agitation et 2 heures plus tard, l'absorbance a été mesurée à λ =760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. (11)

4- Dosage des flavonoïdes :

4-1-Principe :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par spectrométrie UV-Visible avec le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre qui présente un maximum d'absorption aux environ de 510 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en μ g équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercitrine. (12)

4-2- Mode opératoire :

Brièvement, on prend 250 μ l de l'extrait méthanolique (C=1mg/ml) a été mélangé avec 1250 μ l d'eau distillée dans un tube à essai, puis on ajoute 75 μ l d'une solution de nitrite de sodium NaNO₂ à 5% (p/v). Six minutes plus tard, 150 μ l une solution de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% (p / v) a été ajoutée et reposer pendant 5 minutes avant d'ajouter 500 μ l de solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 1M. Le mélange a été porté à 2,5 ml avec de l'eau distillée et bien mélangé (on a utilisé vortex). Le blanc même mélange sans l'extrait (on a remplacé par le méthanol).

L'absorbance a été mesurée immédiatement à λ =510 nm. (12)

Matériel et méthodes

Les résultats ont été calculés et exprimés en mg d'équivalents (+) – quercitine (CE) par gramme d'échantillon dégraissé. Les solutions méthanoliques de (+) – quercitine ont été utilisés pour l'étalonnage (10-1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$).

4-3 -Courbe d'étalonnage de la quercétine :

Mode opératoire :

On prépare la solution mère de la quercitine (1mg/ml), différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

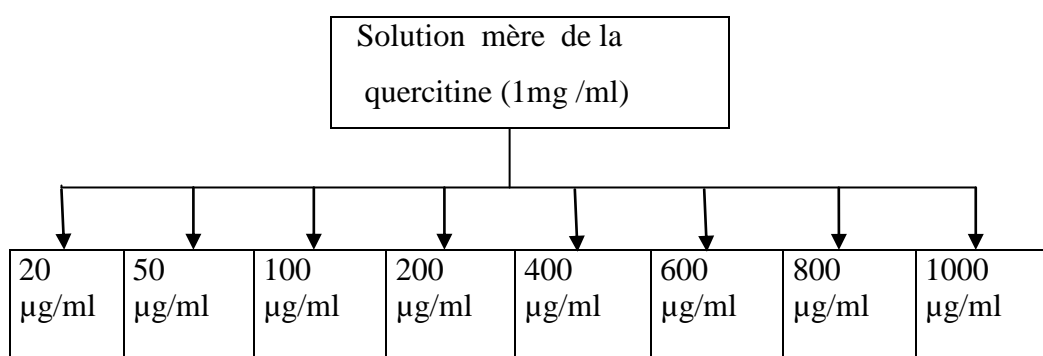


Figure 14 : dilution de la solution mère de la quercitine

On prend 250 μl de solution méthanolique de quercitine ($C=1\text{mg/ml}$) a été mélangé avec 1250 μl d'eau distillée dans un tube à essai, puis on ajoute 75 μl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 5% (p/v). Six minutes plus tard, 150 μl une solution de chlorure d'aluminium AlCl_3 à 10% (p/v) a été ajoutée et reposer pendant 5 minutes avant d'ajouter 500 μl de solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 1M.

Le mélange a été porté à 2,5 ml avec de l'eau distillée et bien mélangé (on a utilisé vortex).

Le blanc même mélange sans solution de quercitine (on a remplacé par le méthanol).

L'absorbance a été mesurée immédiatement à $\lambda=510 \text{ nm}$. (12)

5- Dosage des tannins :

5-1- Principe :

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide. Avec la vanilline chlorhydrique, les tanins condensés donnent une coloration rouge qui présente un maximum d'absorption aux environ de 500nm.

5-2- Mode opératoire :

On prend 50 μ l d'extrait méthanolique à (C=1mg/ml) dans un tube à essai ensuite, 3 ml d'une solution vanilline à 4% (dans le méthanol) et 1,5 ml de l'acide chlorhydrique concentré HCl ont été ajoutés à l'échantillon et pour le blanc 50 μ l d'extrait ,3 ml de méthanol pur et 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré HCl. Les mélanges ont été conservés pendant 15 min dans le sombre à la température ambiante, et les absorbances ont été mesurées à $\lambda=500$ nm.

L'étalonnage a été effectué, comme décrit précédemment, avec (+) - solutions mères de catéchine. Les résultats ont été calculés et exprimé en mg (+) - équivalents de catéchine (CE) par gramme d'extrait. (12)

5- 3- Courbe d'étalonnage de la catéchine :

- **Mode opératoire :**

On prépare la solution mère de catéchine (1mg/ml), différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

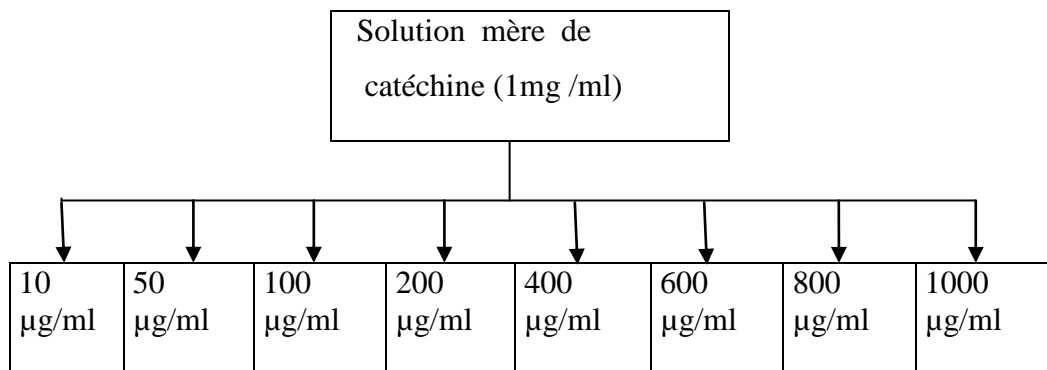


Figure 15 : dilution de la solution mère de la catéchine

On prend 50 μ l de la solution méthanolique de catéchine à C=1mg/ml .Ensuite, 3 ml d'une solution vanilline à 4% (dans le méthanol) et 1,5 ml de l'acide chlorhydrique concentré HCl ont été ajoutés à l'échantillon et pour le blanc 50 μ l de solution de catéchine, 3ml de méthanol pur et 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré HCl.

Les mélanges ont été conservés pendant 15 min dans le sombre à la température ambiante, et les absorbances ont été mesurées à $\lambda=500$ nm. (12)

6- Activité anti-oxydante (détermination du pouvoir antioxydant) :

6-1- Principe :

Le pouvoir anti-radicalaire ou l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl 1picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés phénoliques. (7)

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi l'apparition d'une coloration jaune pâle. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. (7)

AH représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune). (7)

La figure suivante montre le mécanisme de réduction du radical DPPH :

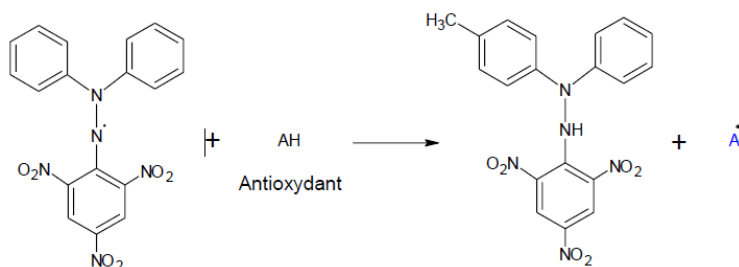


Figure16 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant AH. (7)

6-2-Mode opératoire :

On prépare la solution DPPH (C=0,025g /l) dans le méthanol (j'ai utilisé 5mg dans 200ml de méthanol). On prépare la solution mère de l'extrait, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

Matériel et méthodes

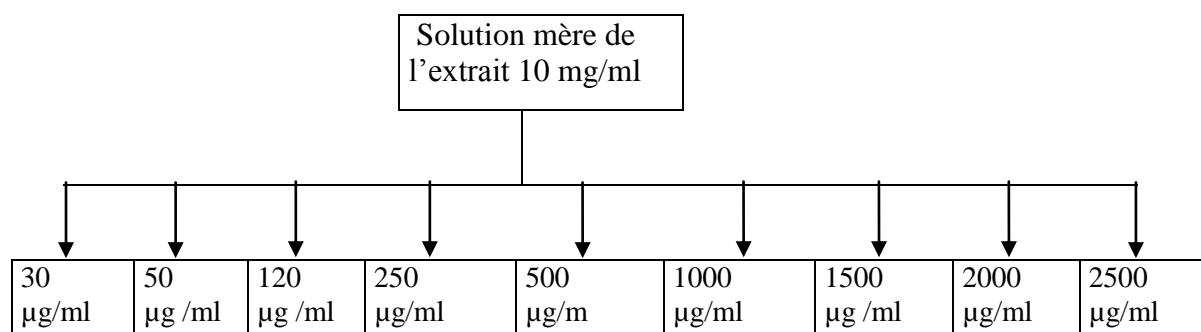


Figure 17 : dilution de la solution mère de l'extrait

On prend 50 µl de l'extrait de chaque concentration puis on ajoute 1950 µl de solution DPPH et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol. (11)

L'échantillon : 50µl de l'extrait +1950µl de DPPH

Le blanc : 50µl de l'extrait +1950µl de Méthanol

Contrôle : 50 µl de Méthanol +1950µl de DPPH

Les mélanges ont été conservés pendant 1heure dans le sombre à la température ambiante. L'absorbance des échantillons est mesurée à une longueur d'onde $\lambda=517$ nm avec un Spectrophotomètre.

L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$A. A. \% = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

A.A.% : l'Activité anti-radicalaire %

Abs (contrôle) : l'absorbance contrôle

Abs (échantillon) : l'absorbance de l'échantillon

6-3- Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique :

Mode opératoire :

On pèse 2mg de l'acide ascorbique qui sera diluée dans 1ml du méthanol (solution mère).

On prépare la solution mère de l'acide ascorbique, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le Méthanol comme le montre la figure suivante :

Matériel et méthodes

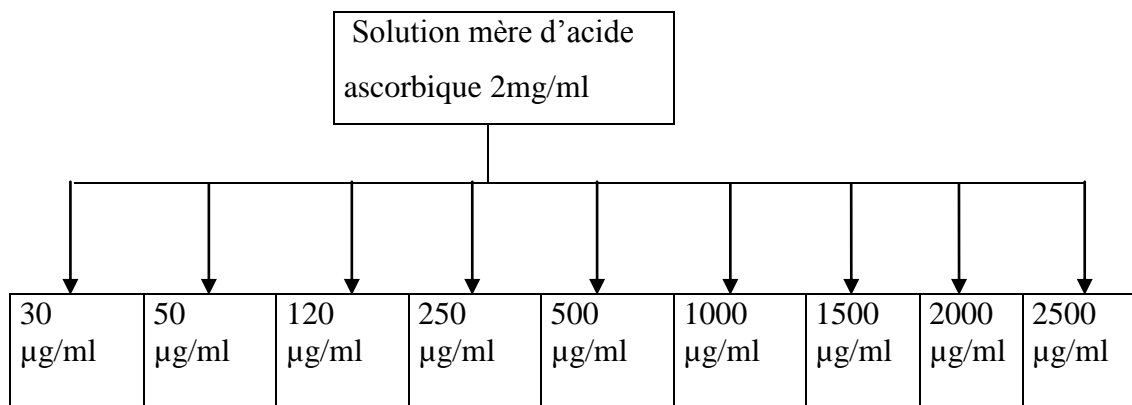


Figure 18 : dilution de la solution mère de l'acide ascorbique

On prend 50 µl de l'acide ascorbique de chaque concentration puis on ajoute 1950 µl de solution DPPH. Et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol. (11)

L'échantillon : 50µl de l'acide ascorbique +1950µl de DPPH

Le blanc : 50µl de l'acide ascorbique+1950µl de Méthanol

Les mélanges ont été conservés pendant 1heur dans le sombre à la température ambiante, et les absorbances ont été mesurées à $\lambda=517$ nm.

NB :

- ✓ Tous les échantillons ont été analysés en trois fois, dont chaque échantillon à son blanc spécifique.
- ✓ Toutes les opérations ont été effectuées dans l'obscurité ou faible lumière.
- ✓ On a utilisé le vortex pour l'agitation des échantillons.

Référence :

- (6) : Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout Présenté Par : BOUKRI Nour El Houda (08 /06/2014)
- (7) : phytochimique et évaluation de différentes activités des extraits de *Pimpinella anisum*. Présenté Par : LEMJALLAD Lamiaa(24 juin 2015)
- (8) : Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de hammada scoparia (Pomel), « Remth » Présenté Par : ZERRIOUH MERIEM (2014_2015)
- (9) : Etude phytochimique de deux plantes steppiques : *Punica Granatum.L* et *Ampélodesmos mauritanicus*. Présenté Par : Deramchi Sofiane (15 /12 /2015)
- 10 : Talbi mohammed, dosage des polyphénols de la plante d'Artemisia compestris .L par HPLC mise en évidence de l'activité biologique (28 /06/2015)
- (11) : Farah Haddouchi ...et al , Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *Saxatile* (20-06. -2014) Chinese Journal of Natural Medicines(science direct)
- (12) : Simona Belviso ...et al, Phenolic composition, antioxidant capacity and volatile compounds of licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) fruits as affected by the traditional roasting process, Food Research International 51 (2013) 39–45

Résultats et discussions

1- screening phytochimique :

Les résultats du screening phytochimique sont regroupés dans le tableau 1.

Le screening phytochimique de notre extrait a permis suivant les disponibilités des réactifs d'en chercher seulement 12 familles de composés chimiques. Ce qui n'exclut pas la présence d'autres substances.

Tableau 1. Le screening phytochimique de l'extrait méthanolique

Les tests		Très positive +++	Moyennement positive ++	trace ±	Négative -
Les résultats					
Les flavonoïdes			++		
Les alcaloïdes	Wagner		++		
	Mayer				-
Les anthraquinones libres					-
Les tanins	catéchique	+++			
	gallique				-
Les saponines				±	
Les stéroïdes					-
Les terpénoïdes					-
Les glycosides cardiaques		+++			
Les anthocyanes					-
Les composés réducteurs					-
Les phénols			++		
Les saponosids			++		

Les tests ont montré que les flavonoïdes, les alcaloïdes, glycosides cardiaques et les tannins catéchiques sont présent en grande quantité. Les saponines se retrouvent sous forme de trace ; et les anthraquinones libres, les stéroïdes, les anthocyanes et les terpenoïdes sont absentes.

2- Dosage des polyphénols :

Pour la détermination de la teneur totale des polyphénols de l'extrait méthanolique, on a utilisé le dosage spectrophotométrique via le test Folin C. une courbe d'étalonnage (figure 19) a été tracée pour cet objectif en utilisant comme standard l'acide gallique.

Des mesures de densité optique pour chaque concentration se sont réalisées à $\lambda = 765$ nm.

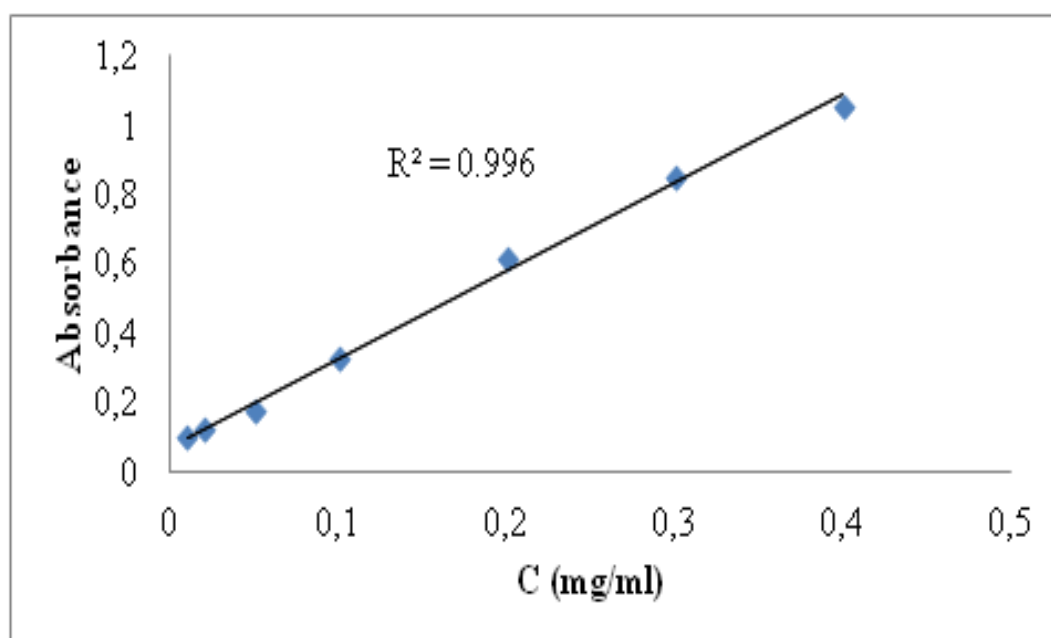


Figure 19 : courbe étalonnage d'acide gallique

Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en mg équivalent acide gallique par g d'extrait, sont déterminées par une équation de type : $y = a x + b$.

- Quantité de polyphénols = 126.75 mg EG/g d'extrait

3- Dosage des flavonoïdes :

La teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique a été déterminée par la méthode au chlorure d'aluminium basée sur la courbe standard de la quercitrine (figure 20).

Résultats et discussions

Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg équivalent quercitine par g d'extrait, sont déterminées par une équation de type : $y = a x + b$

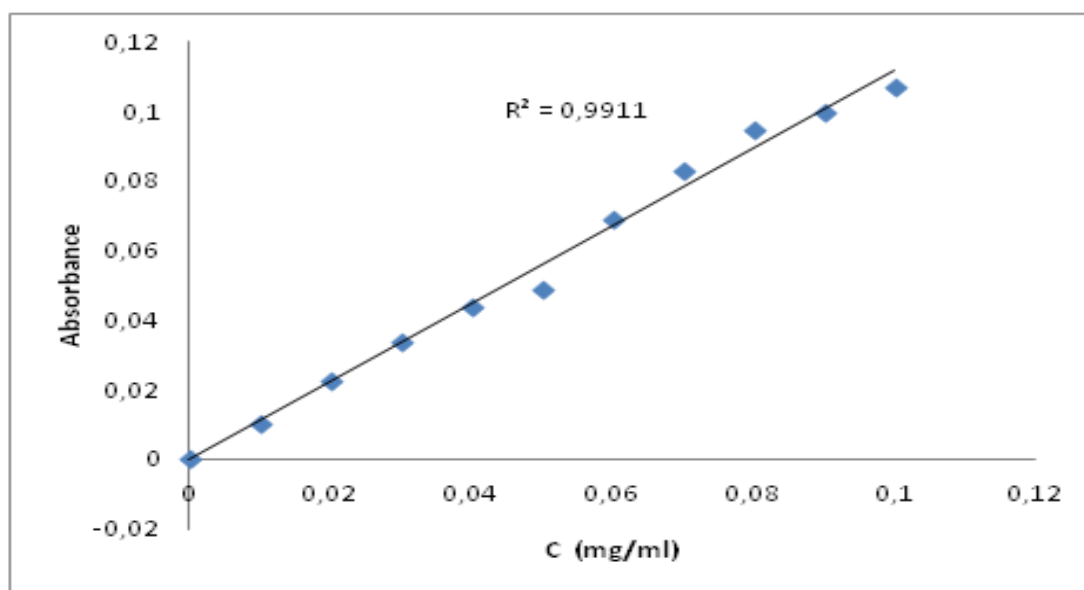


Figure 20: Courbe étalonnage quercitrines

- Quantité des flavonoïdes = 84.744 mg E Q/g d'extrait

4-Dosage des tannins :

La méthode pour déterminer la teneur en tannins condensés consiste à dépolymériser les tannins en milieu acide, et après réaction avec la vanilline, à les transformer en anthocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 500 nm.

Les résultats ont été exprimés en mg d'Equivalent de Catéchine/g d'extrait (mg EC/g), à partir des données d'absorbance et d'une droite d'étalonnage de catéchine réalisée entre 0.05 et 1000 $\mu\text{g/ml}$. Figure (21)

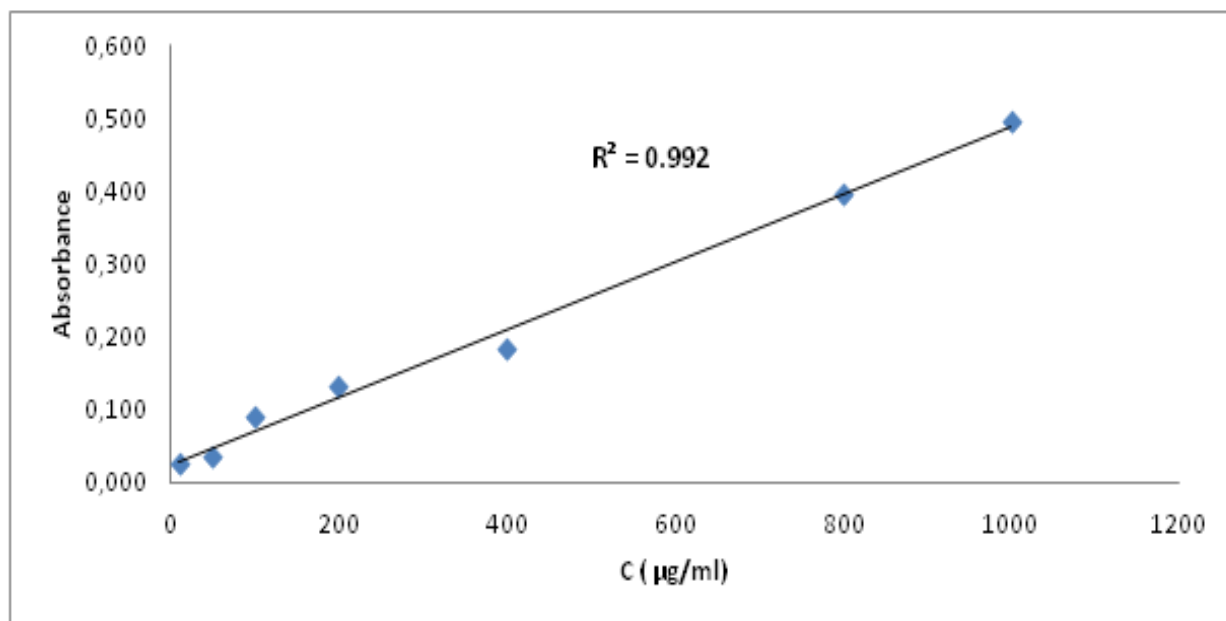


Figure 21 : courbe d'étalonnage de Catéchine

- Quantité des tannins = 97.32609 mg E C/g d'extrait

5- Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC50.

IC50 : il définit la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution.

Les valeurs d'IC50 de l'extrait (Figure22) et d'un témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (Figure 23), ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire : $y = ax + b$.

Résultats et discussions

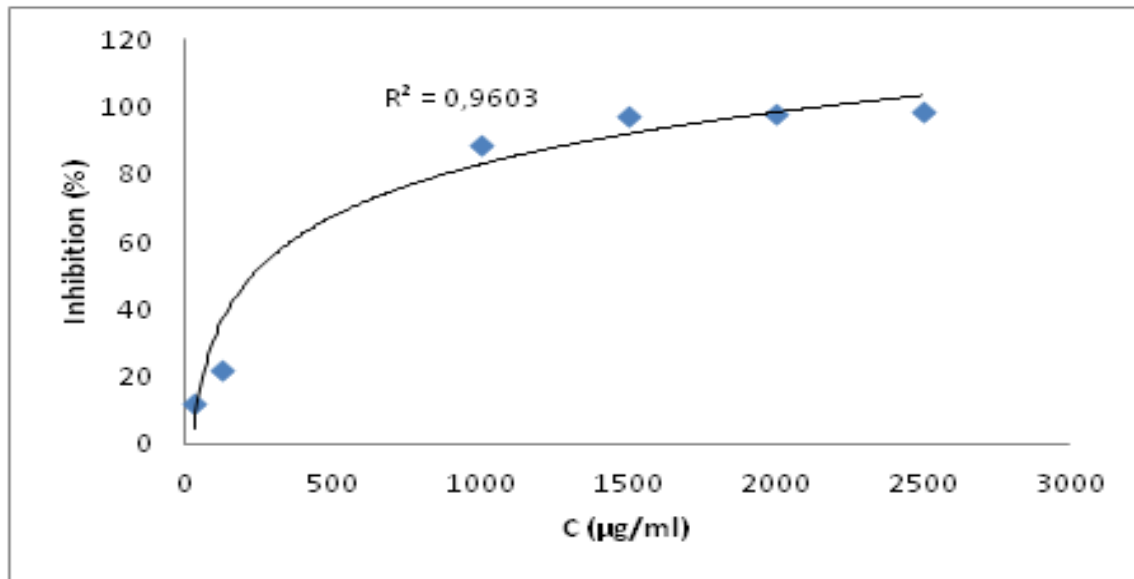


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

➤ IC50 (acide ascorbique) = 0.229375 mg/ml

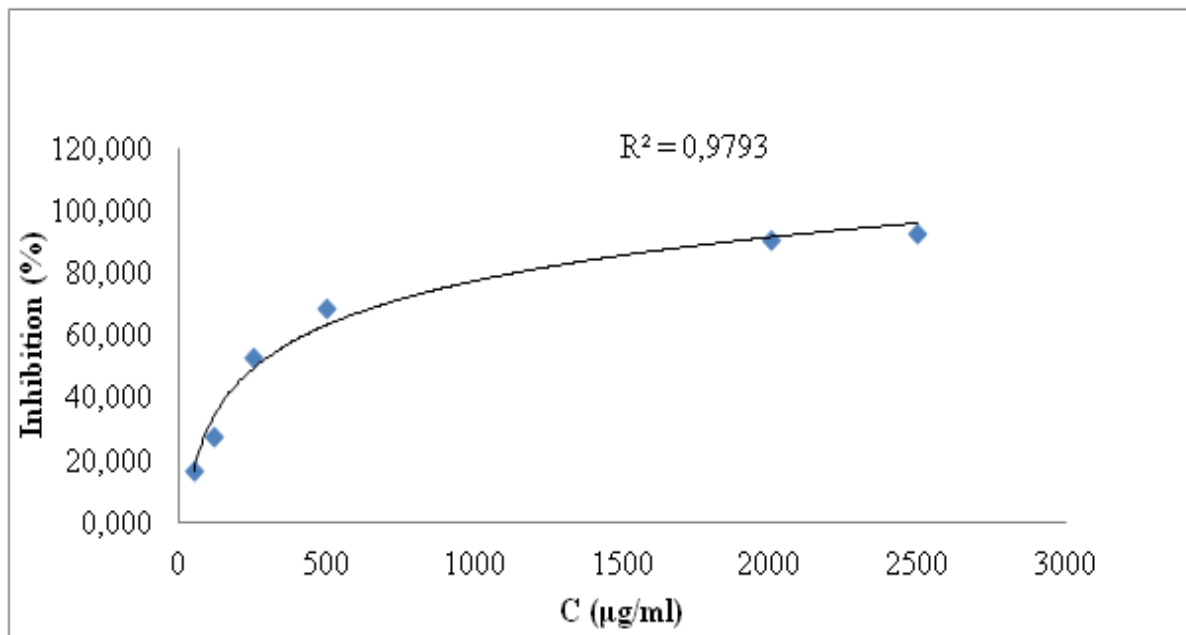


Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.

➤ IC50 (Extrait) = 0.695757 mg/ml

Résultats et discussions

La (figure 23) représente la capacité antioxydante, exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, de l'extrait méthanolique et de l'acide ascorbique.

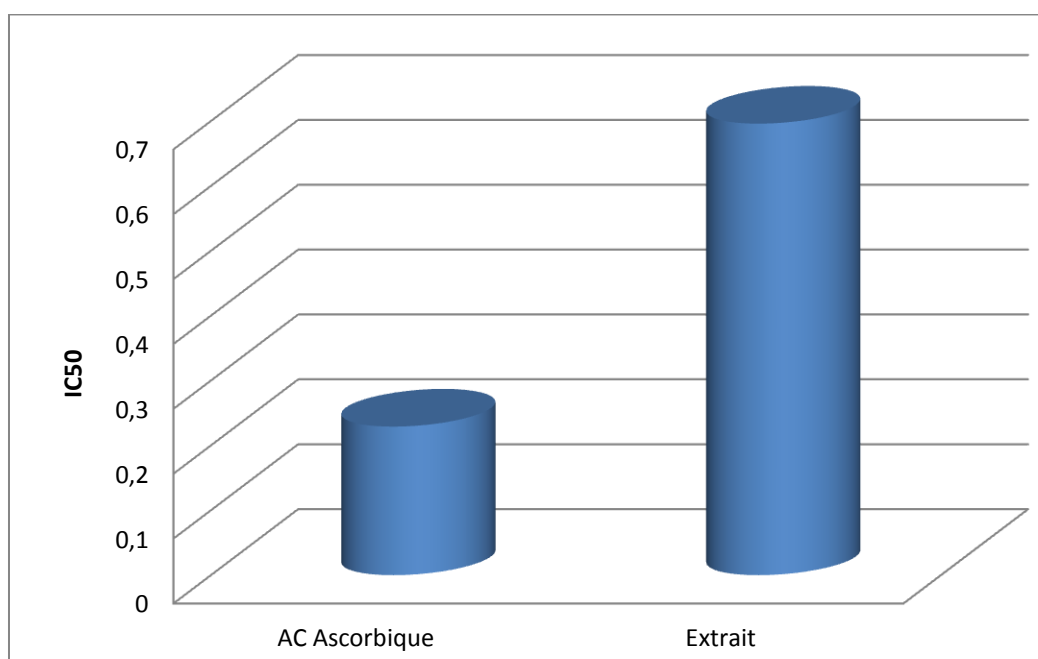


Figure 24 : Histogrammes, exprimés IC50, illustrant l'activité antioxydante de l'acide ascorbique de l'extrait méthanolique.

Ces résultats montrent que cet extrait possède une bonne capacité de piégeage du radical libre DPPH par rapport à la référence, acide ascorbique, qui a un bon pouvoir antioxydant.

1-Les polyphénols :

1-1-Généralité :

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement. A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones(C6), lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000. Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué.(1)

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste. Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours claires. Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose. Le phénomène d'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones proximales est également observé à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques et dans le cas de carence en certains éléments minéraux comme l'azote et le soufre.

Partie bibliographique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation.

Les polyphénols sont aussi connus pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et pour ces propriétés antifongique et antibactérienne. Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur, nous citons : les flavanones sont responsables de l'amertume des *Cistus* et peuvent donner naissance par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée, les anthocyanes, composés de couleur rouge à violet, participent à la coloration des fruits mûrs et les tannins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs. À partir des années quatre-vingt, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les processus pathologiques qui a relancé l'intérêt des polyphénols en particulier les flavonoïdes dont les propriétés anti-oxydantes sont très marquées. (1)

1-2- Les composés phénoliques :

1-2-1- Définition :

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas des fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction. Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière. Ils ont largement distribués et comportant au moins 9000 structures connues différentes. Ces corps jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants des qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. Une alimentation équilibrée fournit à l'Homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E. (2)

Partie bibliographique

1-2-2- Structure chimique :

Les polyphénols sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les poly-phénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. (2)


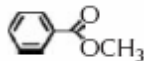
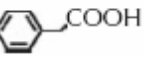
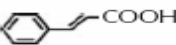
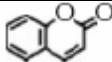

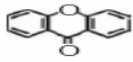
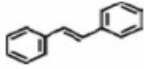
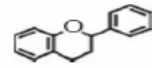
1-3-Classe des polyphénols :

Les polyphénols forment un très vaste ensemble des substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tableau1). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques. (1)

Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes :

Les non flavonoïdes dont les principaux composés sont : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines et les coumarines et les flavonoïdes, dont on caractérise principalement : les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols. (3)

Tableau 1 : Structures des squelettes des polyphénols . (1)

Nombre de Carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-Hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-Coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

1-4- Principales classes des composés phénoliques :

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes et les tannins...etc. (2)

1-4-1-Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques). (4)

Ces composés sont dérivés de deux sous groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxy benzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. (2)

Et présents chez toutes les céréales. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques. Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer oesophagien chez les rats. (2)

a-Acides hydroxycinnamiques C6-C3 :

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base C6-C3 dérive de celle de l'acide cinnamique. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (*cis* ou *Z* et *trans* ou *E*) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes. (3)

Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide caféique, l'acide férulique. (4)

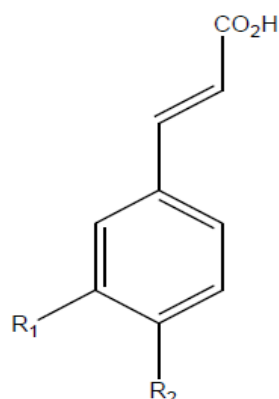


Figure 1: acide hydroxycinnamique. (3)

- **Acide férulique :**

L'acide férulique est identifié dans les grains d'orge, maïs, mils, avoine, seigle, blé, riz. Cet acide a comme principale propriété biologique, l'effet antioxydant. (2)

- **Acide caféique :**

L'acide caféique est abondant dans l'orge, maïs, mils, avoine, seigle, blé, riz et le sorgho. L'acide caféique est un composé naturellement présent dans toutes les plantes, intervenant dans la synthèse de la lignine (molécule formant les parois des cellules végétales). À des propriétés, anti-tumorales, antivirales, anti radicalaires et anti-inflammatoires, il a été employé comme antioxydant naturel pour inhiber l'oxydation des lipides de poisson dans les matrices alimentaires. (2)

b-Acides hydroxybenzoïques :

Sont des hydroxybenzoïques et ont une structure générale de base de type (C6-C1) (Figure 02), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique. (4)

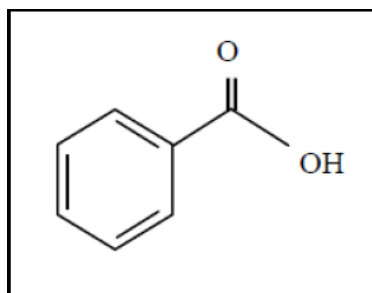


Figure 02: Acide benzoïque. (4)

Le plus important c'est l'acide gallique qui est abondant dans le mils, riz, sorgho. Cet acide présente une très grande activité antioxydant. (2)

Partie bibliographique

L'acide gallique a pour pouvoir *in vitro* de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer. Il peut aussi à une faible concentration, prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire. (2)

1-5- Rôle des composés phénoliques chez les plantes :

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape, fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne. (2)

1-6- Les effets biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques. Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, analgésiques, antithrombotiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses, anti-allergènes, vasodilatatrices et anti-oxydantes. (5)

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du rutinoside, le Daflont ou le diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des anti-agrégant plaquettaires, ou hypotenseurs sans résultats probants. (5)

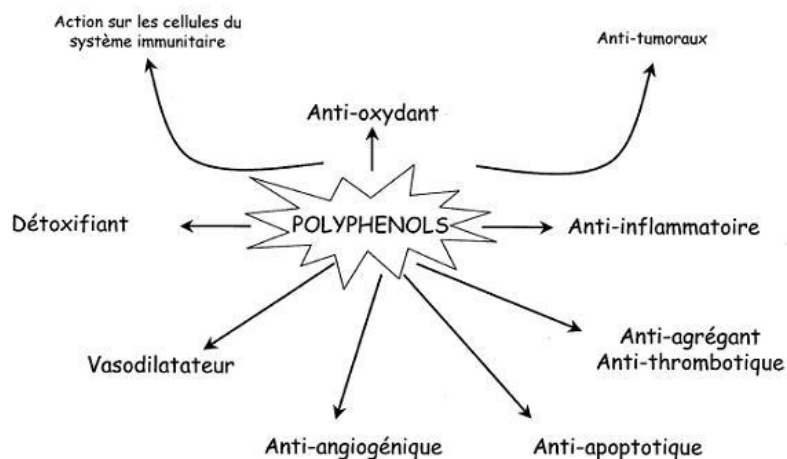


Figure 03 : Effets biologiques des poly phénols. (5)

1-7-Propriétés biologique des polyphénols :

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques. (1)

2-Les Flavonoïdes :

2-1- Introduction :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante. Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance. (1)

2-2- Définition :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides. Et du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées. (5)

Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényl chromane. (1)

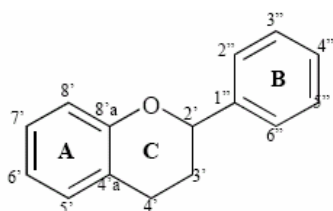


Figure 4: Structure générale des flavonoïdes. (5)

2-3-Structure des flavonoïdes :

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C6, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale).

Partie bibliographique

Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure 5). La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C). (6)

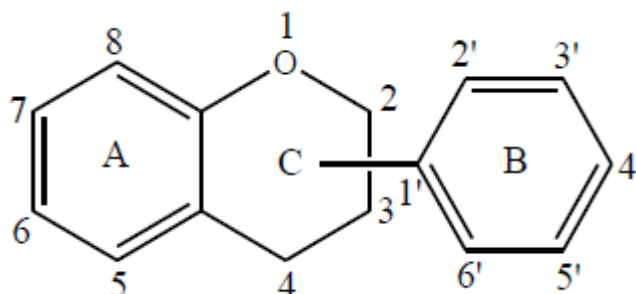


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes. (3)

2-4- Classification des flavonoïdes :

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes [92], ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle. (3)

2-4-1-Flavones et flavonols :

Les flavones et les flavonols sont les composés flavoniques les plus répandus; plus de 1100 génines de structure connue (530 flavones et 600 flavonols), et environ 1400 hétérosides de flavonols et 700 hétérosides de flavones. (5)

Les flavones (*flavus* = jaune), c'est une classe de flavonoïdes sur la base du squelette de 2-phényl chromène-4-one. Les flavones se trouvent principalement dans les céréales et les herbes. Les flavones sont des composés biologiquement actifs. Par conséquent certain nombre de méthodes de synthèse ont été développés. (5)

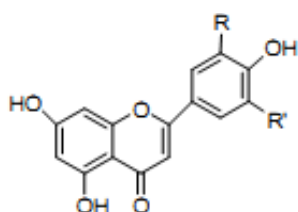


Figure 6 : Structure chimique des flavones. (5)

Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle(OH) en C3. Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours

Partie bibliographique

glycosylée, ainsi que fréquemment la position 7 du cycle A mais jamais la position 5. La teneur des flavonols est plus élevée dans la peau des fruits puisque la lumière en stimule la biosynthèse. (5)

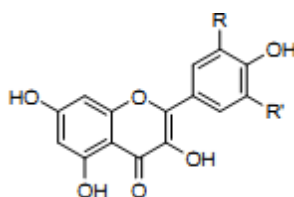


Figure 7: Structure chimique des flavonols. (5)

2-4-2-Flavanones :

La principale source des flavanones reste les agrumes qui sont caractérisés par l'accumulation des montants élevés en ces composés. Les agrumes incluent les oranges amères, les citrons, les pamplemousses, les mandarines, les clémentines et les oranges douces. Parmi les formes libres des flavanones, on cite la naringénine qui est retrouvée dans le pamplemousse et l'orange amère. Le plus souvent, les flavanones existent sous forme glycosylée en position 7, comme L'hésperidine, qui est retrouvée dans le citron, l'orange douce et la mandarine, et les néohesperidosides responsables du goût amer du pamplemousse et de l'orange. (3)

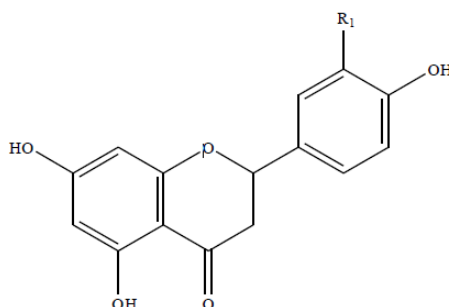


Figure 8 : structures chimiques des flavanones. (3)

2-5- Propriétés physiques et chimiques des flavonoïdes :

Permet les propriétés les plus connues sont :

Les différences structurales au sein d'une même famille sont tellement importantes qu'il est difficile d'estimer la solubilité d'un composé dans un solvant. (2)

2-6- Les propriétés biologiques des flavonoïdes :

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale. (5)

Quelques flavonoïdes montrent également une variété d'effets biologiques tels qu'anti-inflammatoire, antiallergique, ainsi que la capacité de stimuler le système immunitaire. Cependant, tous les flavonoïdes n'ont pas des activités nécessairement intéressantes. Quelques flavonoïdes ont des effets mutagènes et / ou prooxydant. (5)

Les flavonoïdes sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes, il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons), contre les parasites et les insectes. Leur capacité antioxydante peut aussi expliquer un certain nombre de propriétés thérapeutiques. Les isoflavonoïdes, en tant que phytoestrogènes, possèdent de nombreuses activités biologiques. Toutefois certaines considérations concernant le métabolisme et la biodisponibilité des flavonoïdes sont à prendre en compte. (2)

2-7-Rôles des flavonoïdes chez les plantes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Copigments. Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : La coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est -à-dire des métabolites que la plante synthétisent en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la

détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes. (5)

3- Les tannins :

3-1- Définition des tannins:

Le terme tannin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir. Les tannins sont des poly-phénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...), ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes, ils sont solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence. (6)

Les tannins se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité. (4)

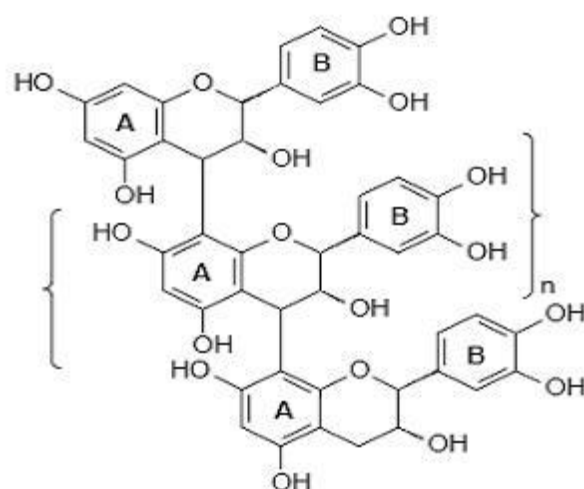


Figure 09 : Structure de base des tannins. (5)

3-2- Structure et classification des tannins:

La structure des tannins est complexe, formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation. On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins, basés sur des différences structurales: les tanins hydrolysables et les tannins non hydrolysables ou tannins condensés. (6)

3-2-1-Tannins hydrolysables :

Sont des hétéro polymères possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques.

Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tannins galliques (Gallo tannins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tannins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique. (4)

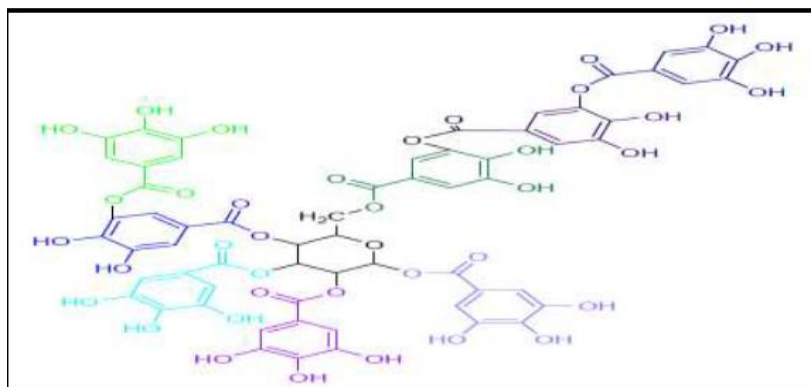


Figure 10 : Structure générale de tanins hydrolysable. (4)

3-2-2-Tannins condensés :

Ce sont des tannins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tannins galliques, ils possèdent une squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (ALILOU, 2012). Il est admis aujourd'hui que ces tannins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4-dioles), on peut les qualifier encore de tannins flavaniques . (4)

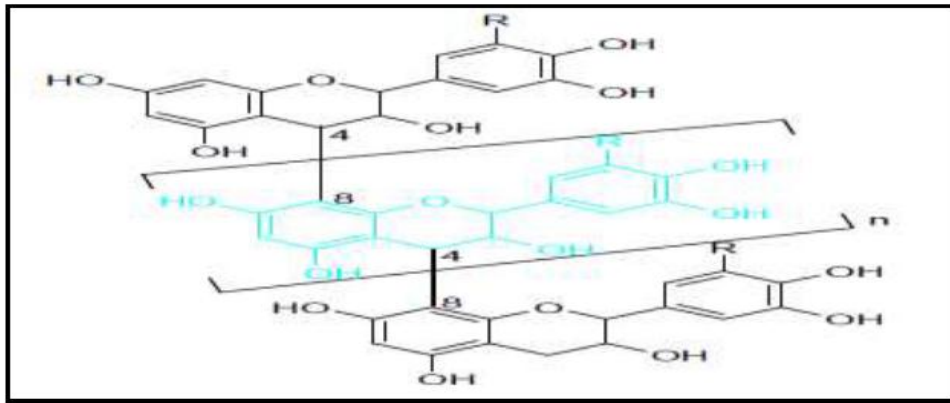


Figure 11: Structure générale de tannins condensés. (4)

3-3-les effets biologiques des tannins :

Les tannins ont un effet anti diarrhéique; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides, ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles, et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses. Certains sont aussi antioxydants, ils permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tannins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. (6)

Référence :

(1) : Activité anti-oxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien Par Mme BELYAGOUBI Née BENHAMMOU NABILA (2011-2012)

(5) : Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna*. Par Benhamama Loukmane Le : 24/06/2015

(6) : Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout Par BOUKRI Nour El Houda Le : 08 / 06 /2014

(2) : Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez l'espèce (*Melissa Officinalis* L.) et évaluation de leur pouvoir antibactérien Par YOULA AMIRA et LATROUS IMED EDDINE Le : 18/06/2017

(4) : Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). Par AREF Mahdia et HEDED Mounira (2014/2015)

(3): Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques (thèse de doctorat). Par Chérifa BOUBEKRI (20 Mai 2014)

Référence

(1): Mme BELYAGOUBI Née BENHAMMOU NABILA, Activité anti-oxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien (2011-2012).

(2): YOULA AMIRA et LATROUS IMED EDDINE, Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez l'espèce (*Melissa Officinalis* L.) et évaluation de leur pouvoir antibactérien, (2017).

(3) : BOUBEKRI Chérifa, Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques (thèse de doctorat) (2014).

(4): AREF Mahdia et HEDED Mounira , Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf) (2014/2015).

(5) : Benhamama Loukmane Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna* (2015).

(6) : BOUKRI Nour El Houda, Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout (2014).

(7) : LEMJALLAD Lamiaa Etude phytochimique et évaluation de différentes activités des extraits de *Pimpinella anisum*. (2015).

(8) : ZERRIOUH MERIEM, Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de hammadia scoparia (Pomel), « Remth » (2014_2015).

(9) : Deramchi Sofiane, Etude phytochimique de deux plantes steppiques : *Punica Granatum*.L et *Ampélodesmos mauritanicus* (2015).

Référence

(10) : Talbi mohammed, dosage des polyphénols de la plante d' *Artemisia compestris* .L par HPLC mise en évidence de l'activité biologique (2015).

(11) : Farah Haddouchi ...et al, Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *Saxatile* (2014) Chinese Journal of Natural Médecines (science direct).

(12) : Simona Belviso ...et al, Phenolic composition, antioxidant capacity and volatile compounds of licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari) fruits as affected by the traditional roasting process, Food Research International 51 (2013) 39–45).

.

Table des matières

Introduction	1
Partie bibliographique	
1-Les poly phénols	2
1-1-Généralité	2
1-2- Les composés phénoliques	3
1-2-1- Définition	3
1-2-2- Structure chimique	4
1-3-Classe des poly-phénols	4
1-4- Principales classes des composés phénoliques	5
1-4-1-Les acides phénoliques	5
a-Acides hydroxycinnamiques C6-C3	5
• Acide férulique	6
• Acide caféique.....	6
b-Acides hydroxybenzoïques	6
1-5- Rôle des composés phénoliques chez les plantes	7
1-6-Les Effets biologiques des polyphénols	7
1-7-Propriétés biologique des polyphénols	8
2-Les Flavonoïdes.....	9
2-1- Introduction	9
2-2- Définition	9
2-3- Structure des flavonoïdes	9
2-4- Classification des flavonoïdes	10

2-4-1-Flavones et flavonols	10
2-4-2-Flavonols	11
2-5- Propriétés physiques et chimiques des flavonoïdes	11
2-6- Les propriétés biologiques des flavonoïdes	11
2-7- Rôles des flavonoïdes chez les plantes	12
3- Les tannins	13
3-1- Définition des tannins	13
3-2- Structure et classification des tannins	13
3-2-1-Tannins hydrolysables	14
3-2-2-Tannins condensés	14
3-3-les effets biologiques des tannins	15
Matériels et Méthodes :	
1 -Préparation de l'extrait brut	16
2-Screening phytochimique	16
• Test des alcaloïdes	17
• Test des Tannins	17
• Test des flavonoïdes	17
• Test des Stéroïdes	17
• Test des terpénoïdes	18
• Test des glycosides cardiaques	18
• Test des anthocynes	18
• Test des saponosides	18
• Test des composés réducteurs.....	18
• Test des anthraquinones libre	18
• Test des phénols	18
3- Dosage des polyphénols	19
3-1- Principe	19

3-2- Mode opératoire	19
3-3-Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	19
4- Dosage des flavonoïdes	20
4-1-Principe	20
4-2- Mode opératoire	20
4-3-Courbe d'étalonnage de la quercétine	21
Mode opératoire	21
5- Dosage des tannins	21
5-1-Principe	21
5-2- Mode opératoire	22
5-3- Courbe d'étalonnage de la catéchine	22
Mode opératoire	22
6 -Activité antioxydante (détermination du pouvoir antioxydant)	23
6-1-Principe	23
6-2-Mode opératoire	23
6-3- Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	24
Mode opératoire	25

Résultats et discussion :

1-screening phytochimique	26
2-Dosage des polyphénols	27
3- Dosage des flavonoïdes	27
4-Dosage des tannins	28
5- Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH• (2,2-diphenyle-1-Picrylhydrazyle	29
Conclusion	32