



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME :

**Etude de l'activité antioxydante des
composés phénoliques
Extraits à partir de la plante *Bubonium
Graveolens***

Présenté et soutenu par :

**SENOUCI Hanane
LAOUISSAT Ahlam**

Membre de jury :

Président : M GUENANE Hamid	(U.A.T-Laghouat)
Examination: M. BOUBRIMA Youcef	(U.A.T-Laghouat)
Promotrice : M ^{me} . BOUSSOUSSA Hadjer	(U.A.T-Laghouat)
Co-promotrice : M ^{me} . KHACHEBA Ihen	(U.A.T-Laghouat)

Année Universitaire : 2019/2020.



Remerciements

Ce travail de mémoire a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique du département de
Biologie de l'université Amar Telidji - Laghouat.

Nous tenons à remercier nos promotrices Mme. **Boussoussa Hadjer** et Mme **Khacheba Ihcen** pour leur aide durant toute la période du travail ; elles nous ont guidé dans la conduite de ce travail et nous ont aidé à trouver des solutions pour avancer. Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêts et nous guider à chaque étape de sa réalisation, nous avons eu le privilège de travailler avec vous et d'apprécier vos qualités et valeurs, votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Nous exprimons toute notre reconnaissance envers les membres du jury, qu'il nous soit ainsi permis de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail et d'avoir consacré une partie de votre temps précieux à l'examen de ce mémoire.

Nous remercions également tous, nos collègues les étudiants de Master promotion 2020.

À toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Enfin, on remercie toute l'équipe administrative et enseignante du département de biologie de l'université Amar Telidji.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance.

Je dédie ce mémoire :

En signe de respect, de reconnaissance et de gratitude, A dieu le tout puissant de m'avoir
donné le courage, la santé et le soutien durant les périodes les plus difficiles.

A mes très chers parents, ma mère et mon père que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours
Aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes
études, que dieu les gardent en bonne santé.

A mes chers frères : **ISSA, AMER et MOHEMMED** Pour leur soutien.

Toutes les familles : **SENOUCI et REZIGE**, petite et grands pour m'avoir encouragé et aider
beaucoup.

A mes ami (e)s qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé, et avec qui j'ai
Passé des années inoubliables.

Toutes la promotion **BIOCHIMIE** et **BIOLOGIE** Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux
de bonheur, santé et réussite.

SENOUCI HANANE



Dédicace

C'est avec l'aide et grâce d'**Allah** que J'ai achevé ce modeste travail que je dédie :

À ma très chère mère :

Elle représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. La prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tout le sacrifice que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A mon cher père :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit de les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon cher frère :

Abdelhake à qui je souhaite un avenir plein de réussite

A mes très chères sœurs :

Fatna, Nora et Fatiha pour leurs conseils et leurs encouragements.

A ma chère ami (e)s :

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

A tous les membres de ma famille **LAOUISSAT** et **BEN MAILOUDE**, petits et grands.

LAOUISSAT AHLAM



Résumé

Bubonium Graveolens est une plante médicinale de la famille des Astéracées, connue sous le Nom «Taffs » et est très répandue dans le sud Algérien. L'objectif de notre étude est L'extraction des composés phénoliques et l'évaluation de leur activité antioxydante. Les Teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. On a obtenu des valeurs plus élevées avec l'extrait MeOH (0,48 mg/g MS) et la quantité faible présente dans l'EA éthyle (0,039mg/g MS). Et celles des Flavonoïdes ont été évaluées en utilisant la méthode $AlCl_3$, leur teneur plus élevée présente dans l'extrait MeOH (0,928% m/m) mais la quantité la plus faible présente dans l'extrait EA éthyle (0,06 % m/m). Les résultats montrent des teneurs élevées en polyphénols. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH et méthode de pouvoir de réduction FRAP. Les résultats confirment que nos extraits possèdent des activités antioxydantes faibles.

Mots clés : Asteraceae, *Bubonium Graveolens*, DPPH, FRAP, polyphénols, flavonoïdes,

Abstract

Bubonium Graveolens is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family, this species Known as « Taffs » is very widespread in the south of Algeria. To the objectif of our work are the extraction of phenolic compound and the evaluation of antioxidant activity. Quantification of the total polyphenols was determined using Folin-Ciocalteu, gave higher values with the MeoH extract (3,533 mg/g MS) and the Low quantity present in ethyl acetate extract (0,289 mg/g MS). And those flavonoïd contents were determined using a method AlCl₃, gave higher values with the MeoH extract (0,928% m/m), but the smallest quantity present in the ethyl acetate extract (0, 06 mg/g MS). the results show high content of polyphenols. Antioxidant activity was evaluated using two different methods: Free radical scavenging Effects of the free radical DPPH method and power reduction method FRAP. The résultat confirme that our extracts have a low antioxidant activities.

Key words: Asteraceae, Bubonium Graveolens, DPPH, FRA, polyphénols, flavonoïdes,

ملخص

يعرف نبات *Bubonium Graveolens* بأنه نبتة طبية تنتمي الى عائلة *Asteraceae* , تنتشر هذه النبتة المعروفة باسم (الطفس) بصفة خاصة في منطقة الجنوب الجزائري. الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص المركبات الفينولية و تقييم نشاط مضادات الاكسدة. تم تحديد محتويات البوليفينول بواسطة كاشف Folin-Ciocalteu وأظهرت النتائج قيمة اكثر ارتفاع عند مستخلص ميثانول (3,533 mg/g) اما الكمية المنخفضة موجودة عند مستخلص اسيتات الايثيل (0,289mg/g) تم تقدير الفلافونويدات باستعمال طريقة $AlCl_3$, وقد كان اعلى تركيز موجود عند مستخلص ميثانول 0,928 mg/g لكن اضعف كمية موجودة عند مستخلص اسيتات الايثيل 0,06 mg/g تظهر النتائج نسبة عالية من مادة البوليفينول . نقدر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال طريقتين طريقة ارجاع الجذر DPPH و طريقة القدرة الارجاعية FRAP . تؤكد النتائج ان مستخلصاتنا لها أنشطة منخفضة في مضادات الاكسدة.

الكلمات المفتاحية : طريقة إرجاء الجذر، طريقة القدرة الارجاعية، بوليفينول ، فلافونويدات، *Bubonium* , *Asteraceae* , *Graveolens*,

LISTE d'ABREVIATIONS

Abs : absorbance

AC : acide

AGPI : acide gras poly insaturés

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DCM : dichlorométhane

A.D'ethyl : acétate d'éthyle

DPPH: 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50 %

ETOH : éthanol

FeCl₃ : Trichlorure de fer

FVT: Flavonoïdes totaux

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer

Fe³⁺ : Ion ferrique

Fe²⁺ : Ion ferreux

g: gramme

H₂O: l'eau distillée

HO• : Radical hydroxyle

Hcl : Acide chlorhydrique

Méch : Masse sèche de l'échantillon végétal en g

Mext : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

MEOH : méthanol

Mg EAG/ g E : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

Mg EQ/ g E : Milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait

M(g) : masse par gramme

mg/ml: milligramme/ millilitre

mm: millimètre

min : minute

Na₂CO₃ : Décarbonate de sodium

nm : nanomètre

O₂• : Radical superoxyde

OH*: Radical hydroxyle

PPT: Polyphénols totaux.

Ph : Potentiel hydrogène

ROS: Espèces réactives oxygénées

R% : rendement

T° : température

Quer : quercétine

Vit C : vitamine C

UV-visible: Ultraviolet visible

μl: microlitre

LISTE DES FIGURES

Figure1: la plante Bubonium Graveolens.....	- 9 -
Figure 2: la plante investiguée (Bubonium graveolens) dans cette étude	- 12
	-
Figure 3: Extraction par les solvants organiques de la partie aérienne d' Bubonium graveolens.....	- 14
	-
Figure 4: protocole de dosage des polyphénols totaux.....	17
Figure 5: Protocole de dosage des flavonoïdes totaux.....	19
Figure 6 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un antioxydan.....	20
Figure 7: protocole de teste de DPPH- 22 -	22
.....	
Figure 8: Réaction de la méthode FRAP.....	23
Figure 9: protocole de teste de FRAP- 24 -	24
.....	
Figure 10: Droite d'étalonnage des polyphénols totaux d'un Acide gallique.....	42
Figure 11 : Evaluation des polyphénols totaux des extraits.	42
Figure 12 : Droite d'étalonnage des flavonoïdes d'un Quercétine.	43
Figure 13: Evaluation des flavonoïdes des extraits.- 43 -	43
.....	
Figure 14: Activité antioxydante du standard quercétine.....	44
Figure 15: Activité antioxydante du standard AC Gallique.....	44
Figure 16 : Activité antioxydante du standard Vitamine C.....	45
Figure 17: Activité antioxydante du standard quercétine.	46
Figure 18: Activité antioxydante du standard AC Gallique.....	46
Figure 19 : Activité antioxydante du standard Vitamine C.....	47

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : principale classes des polyphénols	4
Tableau 2: Principaux radicaux libres et leur structure chimique.....	7
Tableau 3 : les antioxydants naturels de faible poids moléculaire	8
Tableau 4: le rendement des extraits bruts de la plante étudié <i>Bubonium graveolens</i>	14
Tableau 5: le rendement, couleur et aspect des extraits bruts de la plante étudié <i>Bubonium graveolens</i>	27
Tableau 6: Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits d'un <i>Bubonium</i> <i>graveolens</i>	28
Tableau 7 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en g /l)) des antioxydants de références et des extraits testés.	31
Tableau 8: <i>Activité antioxydante des différents extraits de la plante étudiée par test</i> <i>FRAPP</i>	33

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste de tableaux

SOMMAIRE

Introduction générale..... 1

Chapitre I : aperçu bibliographique

I.1 Les métabolites secondaires- 3 - 3
.....

I.1.1 Généralité..... 3

I.1.2 : Définition..... 3

I.1.2.1 Les polyphénols..... 3

I.3 Activités biologiques..... 4

I.3.1 Activité antioxydante..... 5

I.3.1.1 Radicaux libres et stress oxydatif..... 5

I.3.1.1.1 Stress oxydatif..... 5

I.3.1.2 Radicaux libre..... 6

I.3.2 Les antioxydants..... 7

chapitre II: partie expérimentale

II.1. Matériel végétale..... 9

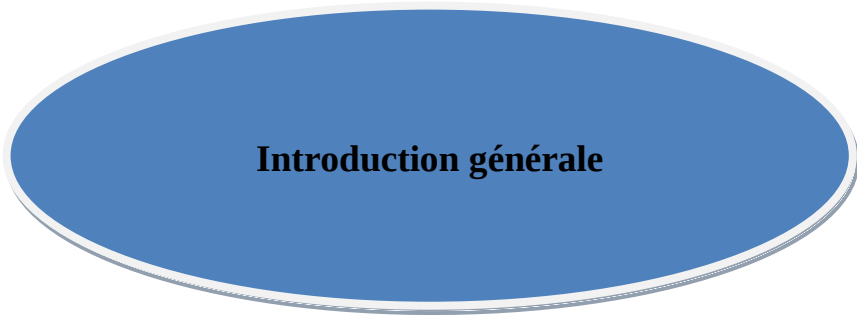
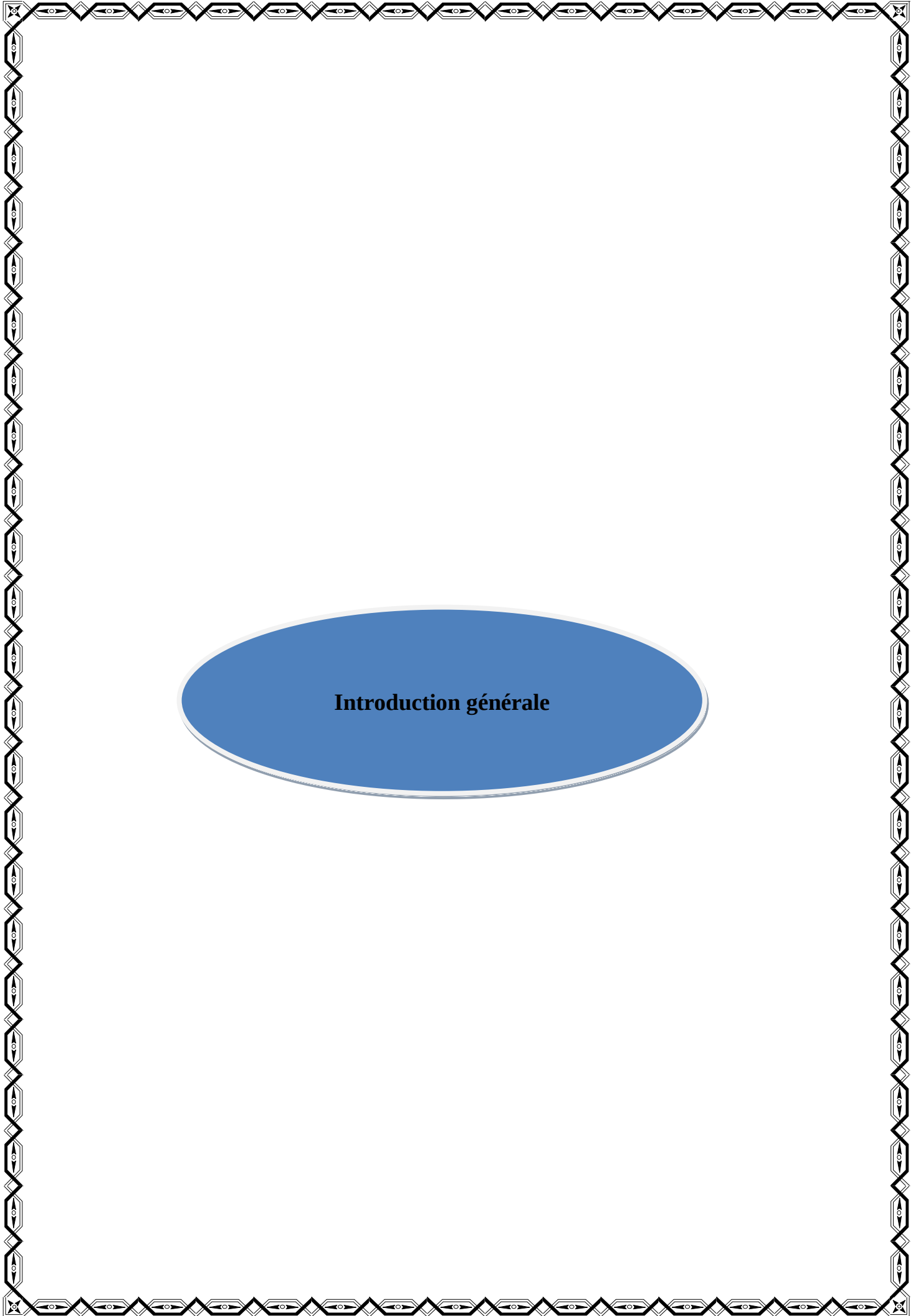
II.1. 1. Généralité sur la plante étudiée (Bubonium graveolens) 9

II .1.2 Définition..... 9

II .1.3 Description botanique..... 10

II .1.4 Systématique de la plante..... 10

II .1 .5 Usages en médecine traditionnelle.....	11
II .1.6 Principes actifs.....	11
II.2 Préparation des extraits	11
II .2.1 Matériel végétale.....	11
II.3 Dosage des composés phénoliques.....	15
II.3.1. Dosage des phénols totaux.....	15
II.3.2 Dosage des flavonoïdes.....	17
II.4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	19
II.4.1 Evaluation de l'activité antioxydant par radical DPPH°.....	20
II.4.2 Evaluation de l'activité antioxydant par FRAP (Ferric reducing- antioxidant power).....	23
Chapitre III :resultat et discussion	
III .1.1 Le rendement des extraits.....	26
III.2 Dosage des composés phénoliques.....	27
III .2.1 Teneurs en phénols totaux.....	27
III.2.2 Teneurs en flavonoïdes.....	28
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	30
III.3.1: Evaluation de l'activité antioxydant par radical DPPH°.....	30
III.3.2 : Evaluation de l'activité antioxydant par FRAP (Ferric reducing- Antioxydant power)	32
Conclusion et persepectiveErreur ! Signet non défini.....	35
Références et bibliographiques.....	37
Les annexes.....	42



Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. A l'origine, la nature constituée essentiellement d'êtres végétaux servait d'alimentation aux animaux et aux Hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'Homme découvre bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison. En effet cette faculté de guérison des plantes fut connue longtemps de nos ancêtres depuis, les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer. (Berube-Gagnon, 2006).

Actuellement, le développement de la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, flavonoides, alcaloïdes, terpènes ...etc. L'utilisation thérapeutique des plantes fait partie intégrante des traditions de toutes les cultures. (Hakim ALILOU et al, 2014).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, par exemple se trouve dans le genre *Bubonium*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. (De Pascual et al. 1984 ; Rauter et Al. 1989 ; Joao et al. 1998 ; Akrouit et al. 2001). La plante du *Bubonium graveolens* a été utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, les déséquilibres des tractus gastro-intestinaux, les douleurs céphaliques, la bronchite et comme anti-inflammatoire

Dans ce contexte, s'inscrit le présent travail de fin d'étude, dont le but principal est d'étudier les composés phénoliques et d'évaluer l'activité antioxydant des différents extraits de *Bubonium Graveolens*.

Notre travail sera présenté comme suit :

Dans la première partie ou première chapitre de ce mémoire, nous avons commencé par une étude bibliographique générale sur les composés phénoliques et quelques activités biologiques attribuées à différentes familles de ces composés.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons la description du protocole expérimentale qui comporte quatre parties ; l'un sur le matériel végétal avec le principe actif ; la deuxième partie regroupe l'ensemble des préparations des extraits avec la méthode d'extraction ; une troisième partie a été consacrée aux protocoles de dosage des composés phénoliques et à l'évaluation de l'activité antioxydante.

Le dernier chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivi d'une discussion générale des résultats obtenus.

En fin nous avons terminé notre travail par une conclusion qui est un ensemble de réflexions

Achève ce travail.

**Chapitre I : aperçu
Bibliographique**

I.1 Les métabolites secondaires

I.1.1 Généralité :

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaire » biosynthétisés à partir de métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces, ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (**Krief, 2003**). Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les Terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. (**Alilou, 2012**).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-Inflammatoires et anticancéreuses. (**Bouayed Debbagh, 2016**).

I.1.2 : Définition :

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

I.1.2.1 Les polyphénols :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un

Groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester,

Hétéroside...etc.

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide Caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent Plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999 ; Tapiero et al. 2002).

Tableau 1 : principale classes des polyphénols (Crozier et al. 2006).

Nombre de carbone	Squelette	Classe	Exemple
7	C ₆ -C ₁	Acide phénols	Acide gallique
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamique	Acide p-coumarique
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthines	mangiférine
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	resveratrol
15	C ₆ -C ₃ -C	Flavonoides : Flavonols Flavonons anthcyanes	Naringénine

I.3 Activités biologiques :

Les composés phénoliques constituent un groupe des substances très importantes qui Présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés antioxydant, Antibactérienne, antivirale, antiparasitaire et antifongique.les prédestinent à des

Utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques...etc. (Saffidine, 2015).

I.3.1 Activité antioxydante :

I.3.1.1 Radicaux libres et stress oxydatif

I.3.1.1.1 Stress oxydatif :

Est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. (Demmana et al, 2018) (Boyd et al. 2003).

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, Polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et Présentent trois phases principales (Huang et al. 2005).

A) Une phase d'initiation : qui peut être due à l'intervention d'un radical hydroxyle

HO *qui arrache un atome d'hydrogène en position



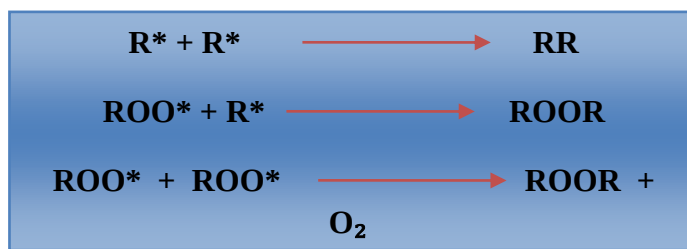
- L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que

Par les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

B) Une phase de propagation : en présence d'oxygène, il se forme un radical peroxyde (ROO*) qui déstabilise une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturés AGPI et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical, assurant ainsi la propagation du processus :



C) Une phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés pour aboutir à des composés stables :



I.3.1.2 Radicaux libre :

Par définition, un radical libre est un composé possédant un électron célibataire. Dans une molécule les doublets électroniques sont localisés dans des orbitales liantes, non liantes ou anti-liantes.

En biochimie le radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Benlmlih et Ganam, 2012).

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003)

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée), etc. (Tableau 1).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anticancéreux, de même qu'à l'origine du vieillissement. (Haton.,

2005).

Tableau 2: Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton., 2005).

Radicaux libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	OH*
Radical hydroperoxyde	HOO*
Radical peroxyde	ROO*
Radical alkoxyle	RO*
Peroxyde d'hydrogène*	H ₂ O ₂ *
Peroxynitrite	ONOO *
Anion superoxyde	O ₂ *-

I.3.2 Les antioxydants :

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la

Production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils

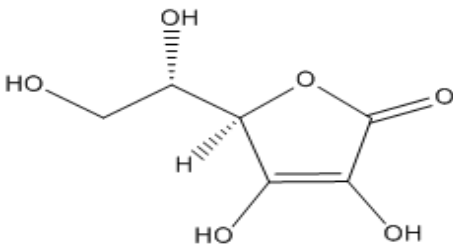
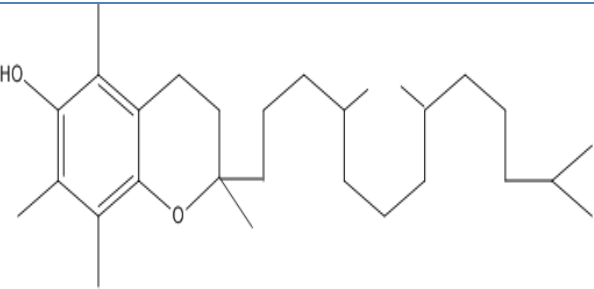
Peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un

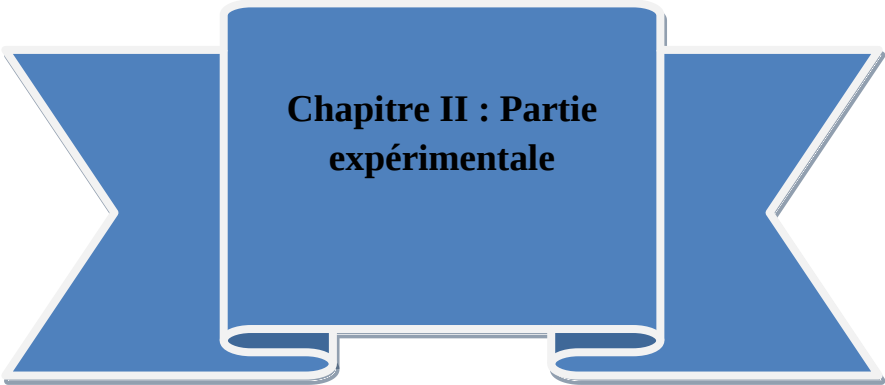
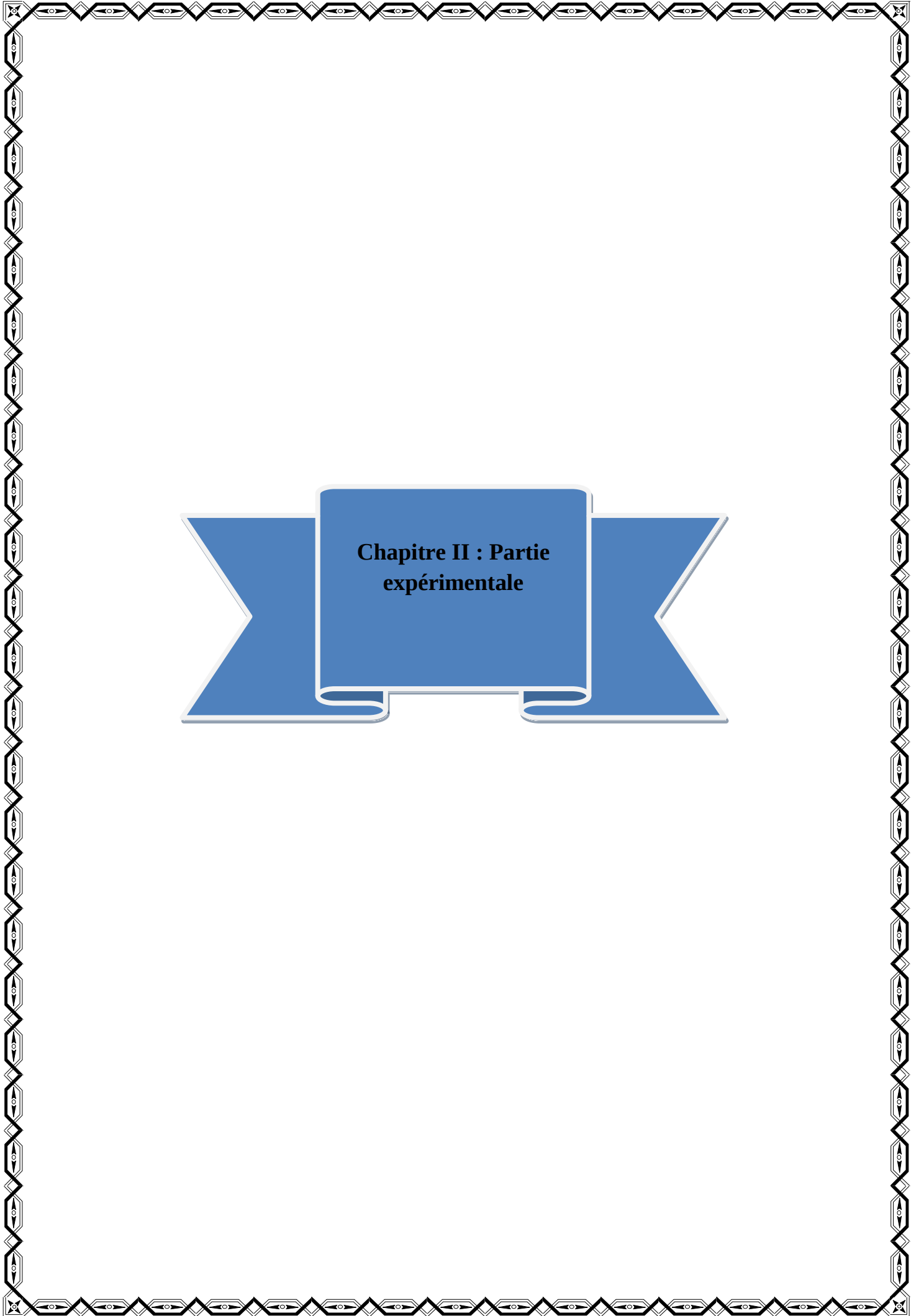
Composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).
(Boudjouref. M, 2011)

- a) **Antioxydant endogène (enzymatique) :** Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :
 - 1) A éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.
 - 2) A induire la synthèse des antioxydants.
 - 3) A augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.
- b) **Antioxydant exogène (non enzymatique) :** Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement.

Le taux de ce système de défense dans l'organisme est essentiellement assuré par un apport Alimentaire. Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

Tableau 3 : les antioxydants naturels de faible poids moléculaire et structure des vitamines C et E (**Chem Draw**) (BOUBEKRI, 2014).

Nom	Définition	Formule
Vitamine C Ou Acide ascorbique	-Est une vitamine Hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Capable de piéger / neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène	
Vitamine E Ou Tocophérol	-Sont des composés liposolubles, ils regroupent quatre substance dont l'alpha- tocophérol aussi appelé Vitamine E est l'antioxydant majeur	



Chapitre II : Partie expérimentale

II.1. Matériel végétale :

II.1. 1. Généralités sur la plante étudiée (*Bubonium graveolens*) :

Bubonium est un genre principalement macaronésien et nord-africain appartenant au Groupe *Inula* des *Asteraceae-Inuleae*. C'est un sous-arbrisseau vivace touffu à tiges dressées. Les rameaux sont étalés et se divisent en dessous des fleurs. De grands capitules sont des Couleurs jaune d'or entourés par les feuilles supérieures. Ce genre est très répandu dans le Sahara, en particulier, dans le Creus argileux et sablonneux.

En Algérie, ce genre comprend cinq espèces : *N.graveolens* (Forssk.), *N.aquaticus* Less, *N.maritimus* Less, *N. pygmaeus* Coss et Kral et *N. spinosus* G.G. Est une espèce endémique des régions du Sahara du nord d'Afrique (CHAIB. F, 2018).

II .1.2 Définition :

Bubonium graveolens est une plante saharienne-sindienne très commune dans le Sahara Algérien et le plus répandu et le plus étudié de famille *Asteraceae*. Il a été rapporté que le Genre *Bubonium* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, polyphénols, Les Alcaloïdes, les huiles essentielles ...etc. (Kundan et Anupam., 2010).



Figure 1: la plante *Bubonium Graveolens* (Siepmann.M ,2006)

II .1.3 Description botanique :

C'est une plante et médicinale vivace à odeur forte ; pouvant atteindre 60 cm et formant Des touffes bien étalées sur le sol ; Les feuilles florales sont plus larges que les caulinaires. Les inflorescences sont allongées plus au moins espacées à la base et les fleurs jaunâtres sont De petites tailles (HAKIM.A, 2012)

II .1.4 Systématique de la plante :**Bubonium graveolens**

Règne : Plantae

Embranchement : Tracheophyta,

Sous-embranchement : Euphyllophytina,

Classe : Magnoliopsida,

Sous-classe : Asteridae,

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae,

Genre : *Bubonium*

Espèce : *Bubonium graveolens*

Noms vernaculaires :

Arabe: Tafssa, robd (Benhouhou, 2005) Negued (Sahki, 2004)

Anglais : Fragrant oxeye

Français : Astérolide du désert

II .1 .5 Usages en médecine traditionnelle :

✓ A Tissint, l'infusion de la plante entière est utilisée, en gargarisme, pour calmer les Maux de dents et de gencives, dans le même but, on mastique des feuilles fraîches.

✓ La poudre de feuilles, prise par le nez, est indiquée contre les migraines.

✓ La décoction de la plante est employée par les femmes pour combattre la stérilité
(HAKIM.A, 2012)

II .1.6 Principes actifs :

Les plantes ont développé au cours de l'évolution des substances (qu'on nomme ici principes actifs) avec des fonctions différentes, cela peut être un moyen de défense contre des parasites ou autres agresseurs (micro-organismes), une technique pour empêcher la croissance d'autres plantes à proximité et donc lui assurer une bonne nutrition, comme moyen de croissance ou pour le renouvellement de l'espèce.

Dans ce cas le genre *Bubonium* est constituée de différentes composés phénoliques par exemple : les phénols totaux, les flavonoïdes, Les alcaloïdes, Les coumarines, Les saponosides, Les tanins, Les terpénoïdes, Les composés cyanogénétiques, Les quinones libres. (Hakim; A.2014) dont les principes actifs sont très variés contre de nombreuses maladies.

II.2 Préparation des extraits :

II .2.1 Matériel végétale : Notre étude, a été réalisée sur une plante spontanée du Sahara et

Sub Sahara : *Bubonium graveolens* (Figure 03). La plante a été récoltée de la wilaya de Laghouat. Cette plante est connue par Taffs



Figure 2: la plante investiguée (*Bubonium graveolens*) dans cette étude (Chehma A., 2006).

B) Extraction :

B) 1- Extraction par les solvants :

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération : est consisté à maintenir en Contact la drogue avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Dans le cas des tisanes le solvant est l'eau. Cette méthode permet une extraction Douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (Chabrier, 2010) et elle Convient à la plupart des racines, rhizomes et écorces (Lehmann, 2013). Cette technique est Surtout utilisée pour les plantes à gomme ou à mucilage, un macéré est ainsi obtenu (Perry, 2013). La préparation ne peut être stockée car elle risque de se fermenter (Chaboussou et Chabauty, 2013). (AZIRI.H et DJENAD.F, 2017)

Donc nous avons adopté la macération successive par cinq solvants organiques de polarité Croissante; il s'agit de l'hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, de l'éthanol et méthanol

➤ Prétraitement des échantillons :

La plante a été récoltée dans la commune d'Oued Morra de la wilaya de Laghouat dans le Sud d'Algérie. Après récupération, la partie aérienne de la plante a subi plusieurs étapes de

traitements (nettoyage, séchage et broyage puis tamisé à la même granulométrie). la poudre est conservé jusqu'à extraction.

➤ **Préparation des extraits :**

1 g de poudre précédemment obtenue a subit une extraction par fractionnement à température ambiante et à l'obscurité par une série de solvants a polarité croissante commençant par l'hexane jusqu'à épuisement total dans un but de dépigmentation et de délipidation. L'extrait on ensuite été filtré puis le résidu on été repris pour une série de macération dans : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle , l'éthanol et le méthanol successivement pendant 72 h pour obtenir quatre extraits organiques bruts pour chaque plante.(figure04).

L'extrait brus ai été évaporé sous pression réduite à 45°C et le résidu sec ont été repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction correctement purifiée et conservée à 4°C jusqu'a analysé.

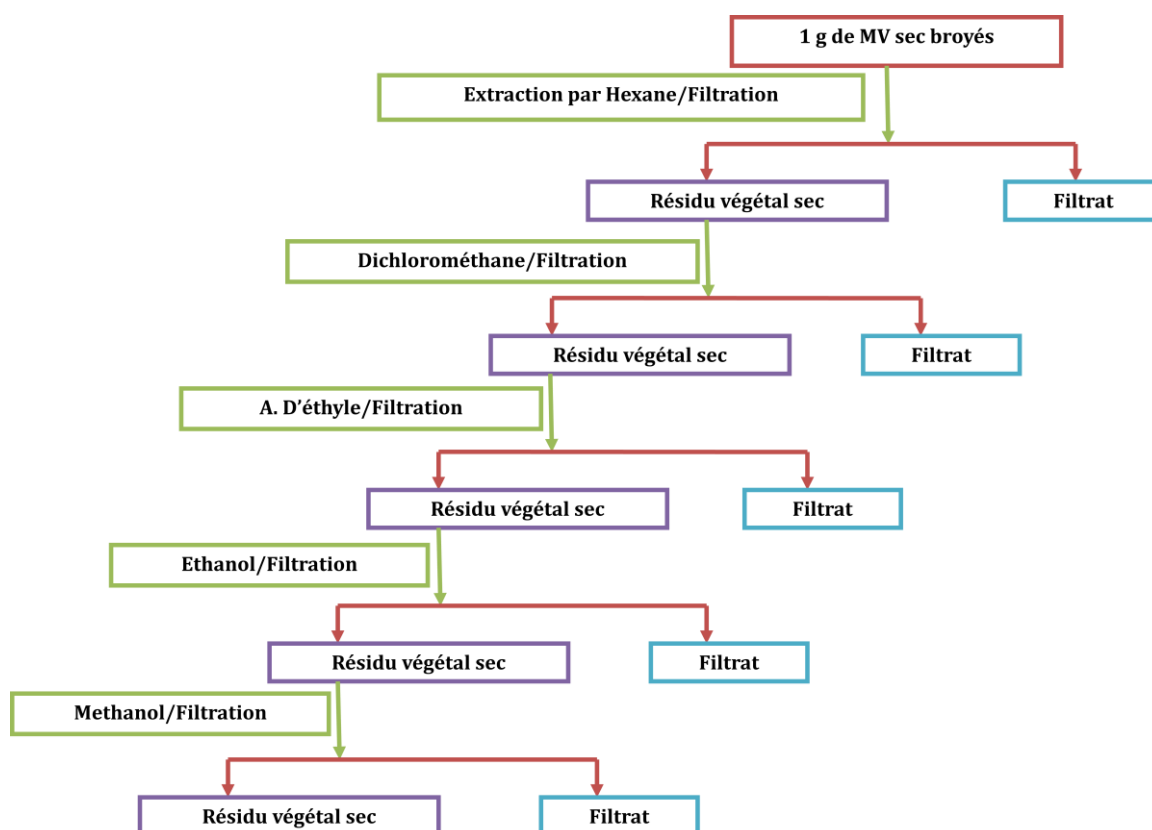


Figure 3:Extraction par les solvants organiques de la partie aérienne d' Bubonium graveolens

A) Détermination du rendement :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est Exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Tableau 4: le rendement des extraits bruts de la plante étudié Bubonium graveolens.

Solvants	La masse de flacon vide	La masse de flacon avec résidu	M (g)	Rendement %
DCM	106,9178	106,9469	0,0291	2,9%
A. D'éthyle	106,9111	106,9676	0,0565	5,65%
Ethanol	111,8789	111,9187	0,0389	3,89%
Méthanol	111,8941	111,9304	0,0363	3,63%

II.3 Dosage des composés phénoliques :

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits de *Bubonium graveolens*.

II.3.1. Dosage des phénols totaux :

A) Principe:

- Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode Colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [3]. Ce dosage est basé sur la Quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

- Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungestique et D'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de Molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques Oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

B) Mode opératoire:

Pour réaliser le dosage, **100 µl** de chaque extrait dilué par méthanol à différentes concentrations sont mélangés à **500 µl** du réactif de Folin-Ciocalteu et **2 ml** de carbonate de sodium Na_2CO_3 sont ajouté. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Lecture de l'absorbance à **760 nm**. (Figure 05).

Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits, une courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été réalisée et pour préparer ses solution on utiliser la loi de dilution : $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$

C) Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

L'acide gallique est établi comme contrôle positif. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été établie au préalable en préparant une gamme de solution d'acide gallique de concentration variant de **0,03/ 0,09/0,12/0,15/0,22/0,25 et 0,3 M**

Une courbe d'étalonnage d'un phénol standard : l'acide gallique a été établi en suivant le même protocole décrit précédemment.

A partir d'une solution étalon d'acide gallique, une gamme de solutions diluées ont été préparé.

A l'aide d'une micropipette, **100 µl** de chaque solution est introduite dans des tubes à essais, suivi de l'addition de **500 µl** du réactif de Folin-Denis, 2 ml de carbonate de sodium ont été ajoutés. Les tubes sont ensuite incubés pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type BIOCHROM LIBRA S6, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc.

Les valeurs de l'absorbance sont proportionnelles à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en **mg équivalent d'acide gallique/g** de matière sèche.

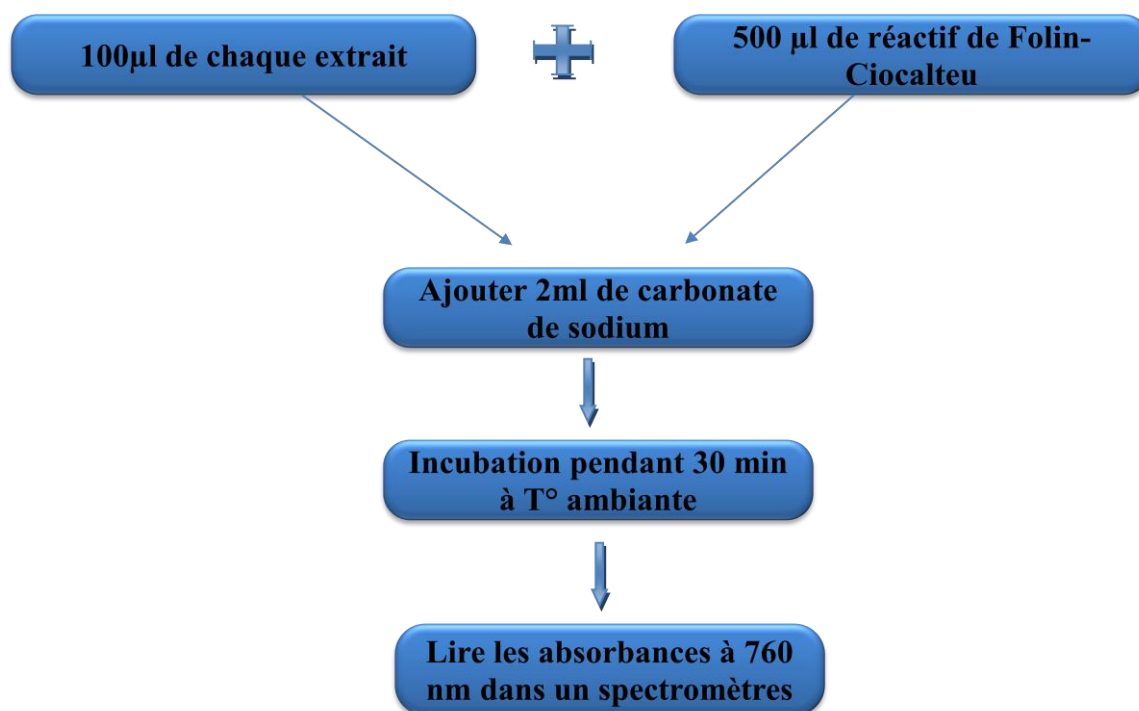


Figure 04 : protocole de dosage des polyphénols totaux

D) Mise en œuvre du dosage :

Pour la quantification de phénols totaux dans nos extraits, nous avons suivi la même procédure décrite précédemment, en effectuant des dilutions pour obtenir des absorbances comprise entre 0,5 et 1.

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

A) Principe:

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un Complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les Carbones 4 et 5 des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) comme réactif. (Bahorun, 1997)

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavones et flavonols, en plus il forme

Des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho du cycle **A** ou **B**

Des flavonoides (Bahorun., 1997), ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement

Une longueur d'onde de **430 nm**.

B) Mode opératoire:

Pour réaliser le dosage, **500 µl** de chaque solution diluée par méthanol ont été mélangée à **500 µl** d' AlCl_3 puis incubé à la température ambiante pendant 20 minutes. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de **430 nm** contre un blanc (figure 06). Pour préparer ses solutions utiliser la loi de dilution : $C_1.V_1 = C_2.V_2$

C) Courbe d'étalonnage de la quercétine :

Quercétine est établi comme contrôle positif. Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été établie au préalable en préparant une gamme de solution quercétine de concentration variant de **0,005/ 0,01/0,02/0,03/0,04/0,05 et 0,06 M**

Une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde standard : la quercétine a été établi en suivant le même protocole décrit précédemment.

1 ml du trichlorure d'aluminium à 2 % est additionner à 1 ml de chaque dilution. Les milieux réactionnels sont ensuite placés à incubé pendant 20 min dans l'obscurité et à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la quercétine

Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues sont proportionnelles à la quantité de flavonoïdes présente dans nos extraits.

Et les résultats sont présentés en **mg** équivalent **quercétine/g** de matière sèche.

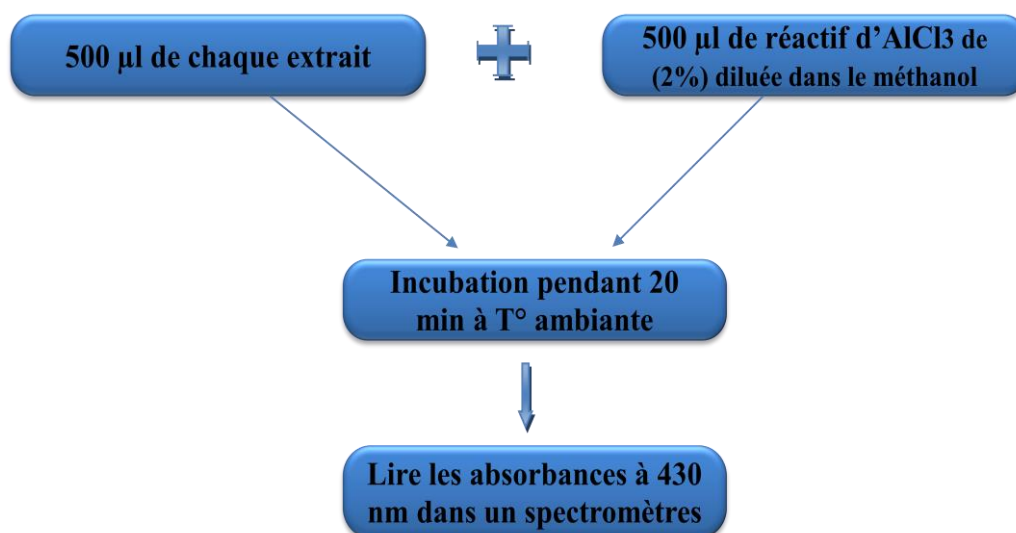


Figure 05 : Protocole de dosage des flavonoïdes

C) Mise en œuvre du dosage :

Pour la quantification des flavonoïdes dans nos extraits, nous avons suivi la même Procédure décrite précédemment, en effectuant des dilutions pour obtenir des absorbances comprises entre 0,5 et 1.

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par deux tests différents: FRAP et inhibition du radical DPPH°.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH° des extraits a été calculé en utilisant la formule

Suivante:

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH}^\circ = \frac{(A \text{ contrôle} - A \text{ extrait})}{A \text{ contrôle}} \times 100$$

A contrôle : absorbances du control;

A extrait : absorbances de l'extrait

II.4.1 Evaluation de l'activité antioxydant par radical DPPH° :

➤ Principe :

Dans cette analyse, le DPPH de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans des milieux organiques en surveillant la diminution de l'absorbance à 515-528 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante (Brand-Williams et al. 1995). Ce radical possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Popovici et al. 2009).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH^{•+} (violet) pour le transformer en diphényl picryl hydrazine (jaune) (Brand William et al. 1995) (figure 07).

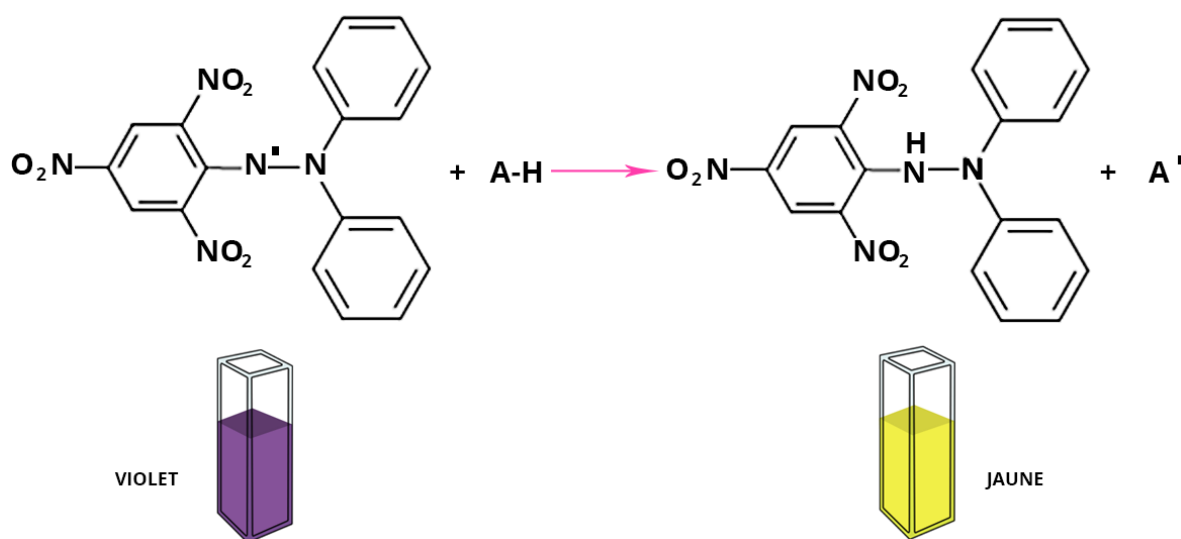


Figure 6 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec Un Antioxydant

➤ Calcul D'IC50 :

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire

Pour réduire 50% de radical DPPH•. Les valeurs d'IC50 sont calculées par la méthode de Régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)]. (Ouldyerou et al. 2018). La valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en µg/ml. Pour toute l'expérimentation, chaque test est Réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des deux ou trois essais. Répétitions pour chaque concentration). (SAHRAOUI et al.2018)

➤ **Préparation la solution DPPH :**

Une solution de DPPH méthanolique est préparée extemporanément à 0,00025 M. On pèse 0,009858 g de DPPH dans un bécher de 100 ml, mélanger avec 20 ml de méthanol, Couvert le bécher par papier d'aluminium et placer dans agitation à 40 min jusqu'à l'analyse. Poser la solution dans une fiole jaugée de 100 ml, compléter par méthanol jusqu'au trait de Jaugé.

➤ **Protocole de teste DPPH :**

L'activité antiradicalaire du DPPH est déterminée selon la méthode de **Blois (1958)**.

Pour réaliser cette teste, les trois extraits DCM, EtoH et MeoH a un même protocole sauf

L'extrait d'acétate d'éthyle est préparé par la solution mère que nous suivons comme suit :

500 µl d'extrait dilué par méthanol à différentes concentrations sont mélangés à 500µl de Solution DPPH méthanolique, les tubes sont ensuite placés à l'incubation pendant 30 min dans l'obscurité à Température ambiante. Lecture de l'absorbance à 517 nm. (Figure 07)

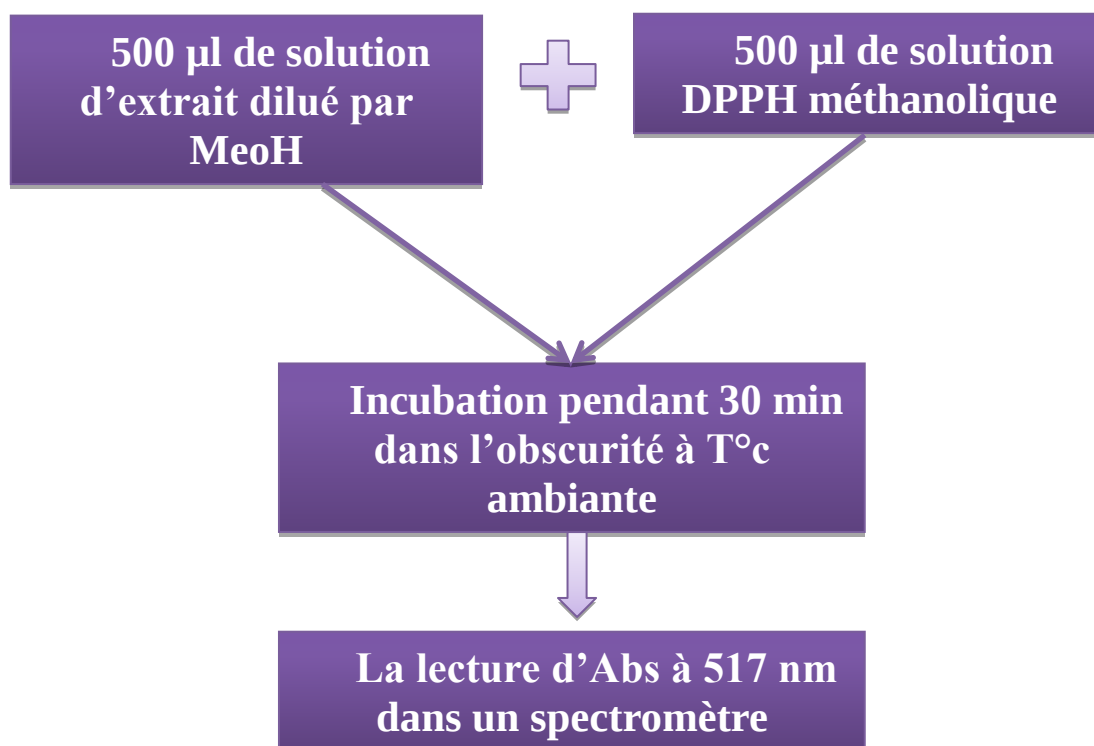


Figure 7: protocole de teste de DPPH

Le témoin ou A_0 dans chaque extrait est composé de 500µl de Solution DPPH méthanolique Et 500µl de MeoH. est préparé dans la même manière d'extrait.

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculé comme suit :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les standard DPPH :

L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique (vitamine C, acide gallique et Quercétine, ont été également analysée à la même concentration varient de : **0,001/0,002/0,003/0,005/0,01 g/l** pour faire la comparaison.

Le quercétine est préparée par MeoH mais AC gallique et Vitamine C sont préparées par L'eau Distillée (H_2O).

Une quantité de **0,01 g** de la Quercétine est dissous dans **100 ml** de méthanol pour obtenir la

Solution mère (1). Les dilutions sont préparées comme suit :

A l'aide d'une micropipette, **500µl** de chaque solution (Quer +MeoH), (Vit C +H₂O) et (AC gallique +H₂O) sont introduite dans des tubes à essais, suivi de l'addition de **500 µl** de Solution méthanolique DPPH les tubes sont ensuite placés à l'incubation pendant 30 min dans

L'obscurité à Température ambiante. Lecture de l'absorbance à **517 nm**.

II.4.2 Evaluation de l'activité antioxydant par FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) :

A. Principe :

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur La capacité des produits testés à réduire le fer (le passage de la forme ferrique à ferreux) (Pellegrini et al., 2003). Elle consiste à observer après quatre minutes le changement D'absorbance à 593 nm dû à la réduction du complexe Fe³⁺-TPTZ (fer 2, 4, 6-tripyridyls-Triazine) ET l'apparition d'une couleur bleue, à un pH de 3, 6 pour maintenir la solubilité du fer

(Benzie et Strain, 1996; Roginsky et Lissi, 2005) (Figure 09). (TOLBA, 2016)

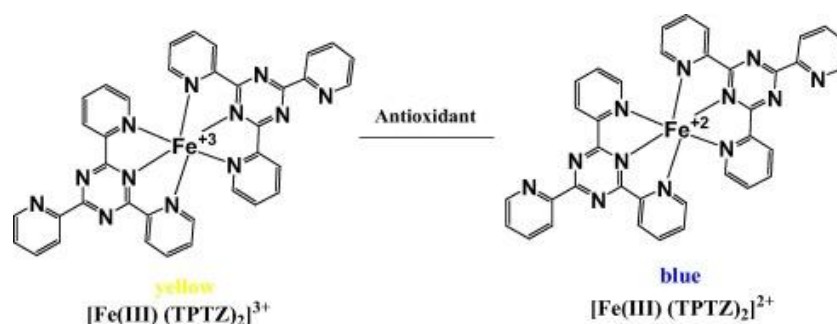


Figure 8: Réaction de la méthode FRAP (prior et al., 2005).

B. Préparation de la solution FRAP :

On préparer la solution (Hcl+Eau distillé) : dans une fiole de 250 ml un volume 825 µl de Hcl et complète par l'eau distillé jusqu'au trait de jaugee.

1^{ère} solution: est une solution tampon: on pèse 3,1g d'Acétate de sodium (pH 3, 6) est

Diluer la pousse avec de l'eau distillé dans un becher.

Dans une fiole de 1000ml: on peut un peu l'eau distillé avec le mélange de Acetate de sodium, compléter par l'eau jusqu'au trait de jauge.

2^{ème} solution: solution TPtz: on pose 0,0781g de TPtz, on met dans un becher + solution (Hcl +Eau); agiter pendant quelques minutes afin de la diluer, Mettre la solution (TPtz + Eau/Hcl) dans un fiole de 250ml, compléter jusqu'au trait de jauge par la solution de (Hcl/Eau).

3^{ème} solution: on pose 0,546g de FeCl_3 dans fiole de 100ml; compléter avec l'eau distillé.

C) Protocole de teste FRAP :

-Dans un tube on mélange **10 ml** Acetate de Na, **1 ml** TPtz et **1 ml** FeCl_3

-Pour réaliser cette teste, **100- μl** de chaque solution diluée par méthanol ont été mélangées à

1 ml de solution FRAP, Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant **5 minutes** à température ambiante. Lecture de l'absorbance à **593 nm**. (Figure 10)

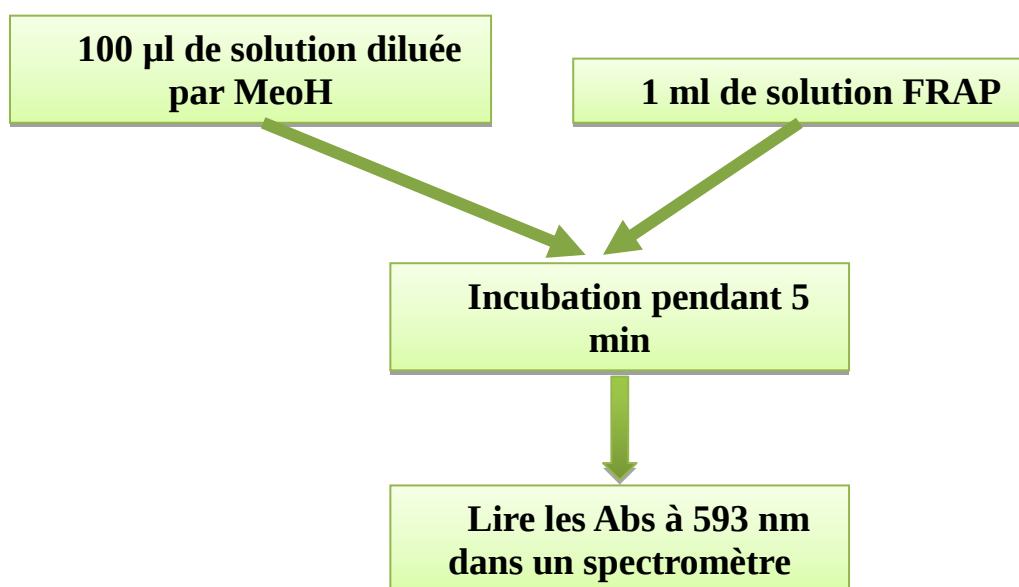


Figure 9: protocole de teste de FRAP

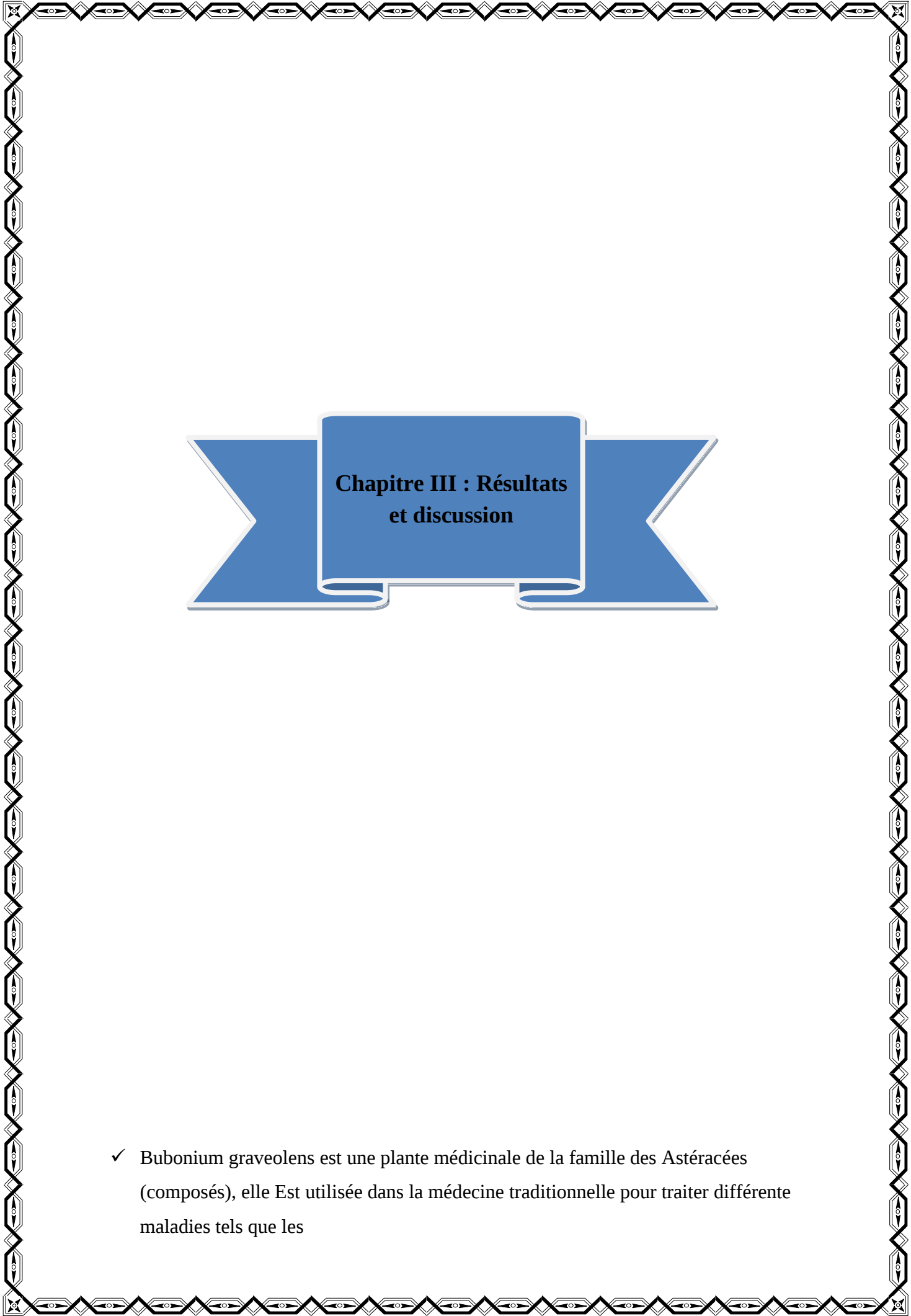
- Témoin ou A_0 dans chaque extrait est composé de **1 ml** de Solution FRAP et **100 μ l** de MeOH est préparé dans la même manière d'extrait.

Les standard FRAP :

Les standards des FRAP sont la même des DPPH l'acide ascorbique (vitamine C, acide Gallique et Quercétine, ont été également analysée à la même concentration varient de :

0,001/0,002/0,003/0,005/0,01 g/l pour faire la comparaison.

A l'aide d'une micropipette, **100 μ l** de chaque solution (Quer +MeOH), (Vit C +H₂O) et (AC gallique +H₂O) sont introduite dans des tubes à essais, suivi de l'addition de **1 ml** de Solution FRAP, les tubes sont ensuite placés à l'incubation pendant 5 min dans L'obscurité à Température ambiante. Lecture de l'absorbance à **593 nm**.



Chapitre III : Résultats et discussion

- ✓ Bubonium graveolens est une plante médicinale de la famille des Astéracées (composés), elle Est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter différente maladies tels que les

Troubles digestives, la diarrhée, le rhumatisme,...etc.

De nombreuses études phytochimique de cette espèce (De Pascual et *al.* 1984 ; Rauter et *al.* 1989 ; Joao et *al.* 1998 ; Akrouit et *al.* 2001), ont révélé la présence de polyphénols,

Flavonoïdes, tanins, les huiles essentielles; ce qui confère à cette plante de nombreuses

Propriétés biologiques (Akrouit et *al.* 2011). (Boudjouref Mourad, 2011)

III .1.1 Le rendement des extraits :

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne d'un *Bubonium graveolens* a été Effectuée par des solvants à polarité croissante il s'agit d'hexane, dichlorométhane, acétate D'éthyle, l'éthanol et méthanol.

Pour chaque échantillon, nous avons calculé le rendement de l'extraction, les résultats obtenus

Sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5: le rendement, couleur et aspect des extraits bruts de la plante étudié *Bubonium graveolens*.

Solvants	Rendement %	Couleur	Aspect
DCM	2,9%	Vert olive	Visqueux

A. D'éthyle	5,65%	Vert clair	Visqueux
Ethanol	3,89%	Jaune clair	Visqueux
Méthanol	3,63%	Jaune clair	Visqueux

Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante fraîche, Les Résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait brut le Rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait d'acétate d'éthyle (5,65% m/m) suivi par L'extrait EtOH (3,89% m/m), extrait MeOH (3,63% m/m) et enfin l'extrait DCM le plus faible Rendement avec (2,9% m/m). Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents (Tab 05)

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les Conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le Contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecte les activités biologiques Médées par ces métabolites (Lee et al. 2003).

III.2 Dosage des composés phénoliques

III .2.1 Teneurs en phénols totaux :

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage Linéaire ($y=ax$) réalisé par une solution étalon à différents concentration.

Le dosage des polyphénols totaux d'un *Bubonium graveolens* ont été déterminés par la Méthode De Folin-Ciocalteu. , qui est basée sur la réduction en milieu alcalin, conduisant à La Formation de produits de réduction de couleur bleue, Lorsque les polyphénols sont oxydés. L'acide gallique a été utilisé comme standard, l'absorbance a été mesurée dans une longueur D'onde de 765 nm.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage ayant l'équation : (figure 12)

La quantité des polyphénols a été rapportée en μg d'équivalent de l'acide gallique par Mg de poids sec de l'extrait (mg EAG/g MS).

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés à La (tableau 3).

III.2.2 Teneurs en flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 18,61 X \quad \text{avec} \quad R^2 = 0,994$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine Par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/g MS).

Tableau 6: Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits d'un Bubonium graveolens.

Extrait	Teneur en phénols totaux : mg EAG / g MS	Teneur en flavonoïdes mg EQ / g MS
Dichlorométhane	0,610 $\pm$ 0,037	0,294 $\pm$ 0,224
Acétate d'éthyle	0,289 $\pm$ 0,073	0,060 $\pm$ 0,006
Ethanol	1,19 $\pm$ 0,194	0,369 $\pm$ 0,032
Méthanol	3,533 $\pm$ 0,893	0,928 $\pm$ 0,048

Le tableau 6, résume les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes pour la méthode d'extraction à partir des chaque extrait d'un plante Bubonium graveolens.

D'après la synthèse des résultats obtenus pour la quantification des composés phénoliques, on constate que les teneurs en phénols totaux ont varié entre 0,289 et 3,533 mg/g MS et en flavonoïdes ont varié entre 0,060 et 0,928 mg/g MS.

On remarque que la teneur en phénol totaux des quatre extraits sont plus élevés par rapport la teneur en flavonoïde.

Les résultats révèlent que l'extrait méthanolique est le plus riches en composés phénoliques dont la meilleure valeur est enregistrée le teneur en phénols totaux dans : 3,533mg EAG/g MS. Et pour le dosage des flavonoïdes, le teneur en flavonoïdes dans : 0,928 mg EAG/g MS. Tandis que pour les extraits dichlorométhane et ethanol presque les mêmes, avec une teneur un peu plus élevé notée dans : 0,610 et 1,19 mg / g MS pour le dosage des phénols totaux, et pour le dosage flavonoïdes a enregistré 0,294 et 0,369 mg / g MS.

Nous avons constaté que l'extrait Acétate d'éthyle a enregistré le teneur la plus faible 0,289 mg / g MS pour dosage phénol totaux et 0,060 mg / g MS pour dosage flavonoïdes.

Si on compare les teneurs en flavonoïdes à celles des teneurs en composés phénoliques pour tous les extraits, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, silènes...). La plante *Bubonium graveolens* a montré sa richesse en flavonoïdes.

Toute fois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la littérature car l'utilisation de différents solvants et le type d'extraction « macération » réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Dans une autre étude, *Begouga et al* (2019) établi sur la même espèce ont montrée ou ont Déterminé une teneur en phénols totaux et en flavonoïdes dont la meilleure valeur est Enregistrée pour les extraits Acétate d'éthyle et éthanol des mêmes valeurs dans 3,2 mg / g MS (phénol totaux) et 0,2 mg/g MS (flavonoïdes) cette teneur est relativement élevée. Mais Enregistrée la Faible teneur des compose phénolique dans l'extrait méthanolique 0,5 mg / g MS pour dosage phénol totaux et 0,3 mg / g MS pour dosage flavonoïdes. Alors que la teneur En flavonoïdes de l'espèce étudiée semble légèrement supérieure à celles trouvées par D'autres auteurs pour la même espèce cette différence dans les teneurs peut être expliquée par Les conditions environnementales, Climatiques et période de collecte ainsi que par les Facteurs génétiques et les conditions expérimentales. (*Akrout et al.* 2011).

Dans autre travail, (*Ramdane. F*, 2018) le teneur le plus élevée en flavonoïdes et en phénol

Totaux dans l'extrait Acétate d'éthyle d'odore : $281,96 \pm 15$ et $287,22 \pm 1,94$ µg/mg

Respectivement.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

Les deux types de tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plante sont: le radical DPPH et le test FRAP.

III.3.1: Evaluation de l'activité antioxydant par radical DPPH° :

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée Sur le DPPH• (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, qui Possède une bande d'absorbance à 517 nm. Qui s'accompagne par son passage de la Couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H).

La capacité antioxydants de différents extraits de la plante étudiée a été déterminée et Comparées à partir de d'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du Radicale DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est Grande. (Hobi & Eddouks, 2016).

Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont Représentés dans la courbe D'étalonnage (figure), ayant l'équation: Les résultats obtenus Dans le (tableau 06), ayant des Équations :

$$\text{Acide gallique : } Y = 19310x \quad R^2 = 0,9964$$

$$\text{Quercétine : } Y = 8141,9x \quad R^2 = 0,9911$$

$$\text{Vitamine C : } Y = 3540,7x \quad R^2 = 0,9915$$

Nous avons déterminé pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH ou IC50. À partir des équations des régressions linéaires des Graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 7 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC₅₀ (en g /l)) des antioxydants de références et des extraits testés.

Extraits	IC ₅₀
DCM	3,28 ± 0,77
A .d'éthyle	6,83 ± 0,27
EtoH	0,66 ± 0,04
MeoH	1,01 ± 0,001
VitC	0,01 ± 0,004
Quercétine	0,006 ± 0,000
AC .gallique	0,003 ± 0,000

La concentration inhibitrice médiane est exprimé quantité d'extrait (g) par volume (l) de Solution.

D'après les résultats dans le tableau (07), l'IC₅₀ obtenus pour l'acide gallique (IC₅₀ : 0,003 ± 0,000), quercétine (IC₅₀ : 0,006 ± 0,000) et l'acide ascorbique (vitC) (IC₅₀ : 0,01 ± 0,004) utilisés comme des molécules de référence, est bien plus inférieur à ceux des extrait Et donc, une activité antioxydante très élevé.

Parmi les quatre extraits d'un *Bubonium graveolens*, l'extrait éthanolique représente L'extrait le plus actif avec une CI₅₀ de l'ordre de (0,66 ± 0,04 g/l), par contre la capacité antiradicalaire des autres extraits est plus faible (Tab. 04). C'est la valeur intermédiaire et la plus faible valeur trouvée dans l'extrait acétate d'éthyle (IC₅₀ : 6,83 ± 0,27 g/l).

Il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que l'acide ascorbique, flavonoïdes Et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**Bougandoura & Bendimerad, 2012**). Les polyphénols contenus dans nos extraits sont probablement Responsables de l'activité antioxydante.

Nos résultats a permis de déterminer la capacité de notre extrait à neutraliser le radical Stable DPPH présent dans le milieu réactionnel. La valeur d'IC₅₀ diminue avec L'augmentation Du contenu de polyphénols et de flavonoïdes, ce qui se traduit par des Activités antioxydantes Très élevées dans les extraits riches en polyphénols. Ces résultats

Corroborent les résultats déjà mentionnés auparavant dans la littérature (**Wong et al. 2006 ; Arab et al. 2014**).

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont Notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre Les IC50 et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, à l'opposé d'autre études n'ont pas Établie cette corrélation (**Athamena et al. 2010 ; Mariod et al. 2010**). Par ailleurs, il est bien Établi que l'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols.

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent L'activité antioxydante la plus élevée (**Heim et al. 2002**) due à leur pouvoir de donner plus D'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Torres de pinedo et al. 2007**), ce qui peut Expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et De la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, Glycosylés) et le degré de polymérisation (**Popovici et al. 2010**). Ainsi, l'effet antioxydant N'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (**Rodriguez-Bernaldo et al., 2010**).

III.3.2 : Evaluation de l'activité antioxydant par FRAP (Ferric reducing-Antioxydant power) :

L'analyse du pouvoir réducteur consiste en la mesure de l'augmentation de l'absorbance des Ions ferrique (Fe²⁺) formés.

L'activité antioxydante des extraits alcoolique (MeOH, EtOH, DCM et A d'éthyle) de la plante *Bubonium graveolens* a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un Essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les Plantes et dans les extraits alcoolique (Bougandoura & Bendimerad, 2012). Dans cette Méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols (Spécialement les flavonoïdes) à réduire le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺ (**Tahraoui . F, 2014**). Peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la Couleur bleu dans le milieu réactionnel à 593 nm (**Bougandoura & Bendimerad, 2012**).

Beaucoup de publications actuelles ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités Antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (**Bentabet et**

Al. 2014).

Dans ce test on utilise l'acide gallique, quercétine et vitamine C comme standard, les Résultats obtenus sont représentés dans la courbe d'étalonnage (figure), ayant l'équation:

$$\text{Acide gallique : } Y = 46,658x \quad R^2 = 0,9918$$

$$\text{Quercétine : } Y = 39,738x \quad R^2 = 0,9925$$

$$\text{Vitamine C : } Y = 8,2755x \quad R^2 = 0,9892$$

Le présent travail a opté pour tester les différents extraits de la plante étudiée. Les valeurs Obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait qui présentant la variation du Pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de diffères concentration.

Les résultats obtenus pour la méthode de FRAP sont exprimés en termes de l'activité Antioxydante de l'extrait en mg / équivalente la vitamine C sont présente dans le (tableau 07)

Tableau 8: Activité antioxydante des différents extraits de la plante étudiée par test FRAPP.

Extraits	Vit _C EAC
DCM	0,0275 ± 0,0009
Acétate d'éthyle	0,0089 ± 0,0017
EtoH	0,0307 ± 0,0140
MeoH	0,1222 ± 0,0224

Selon les résultats illustrés dans le tableau 08 :

L'activité antioxydante est exprimée en qualité d'extrait en mg par g de la matière sèche.

Ainsi, on observe que les valeurs les plus fortes de l'ordre $0,1222 \pm 0,0224$ mg/g Vi_CEAC et $0,0307 \pm 0,0140$ mg/g Vi_CEAC sont obtenus pour MeoH et EtoH, en comparant ces valeurs à celles obtenus avec le Standard (vit C).

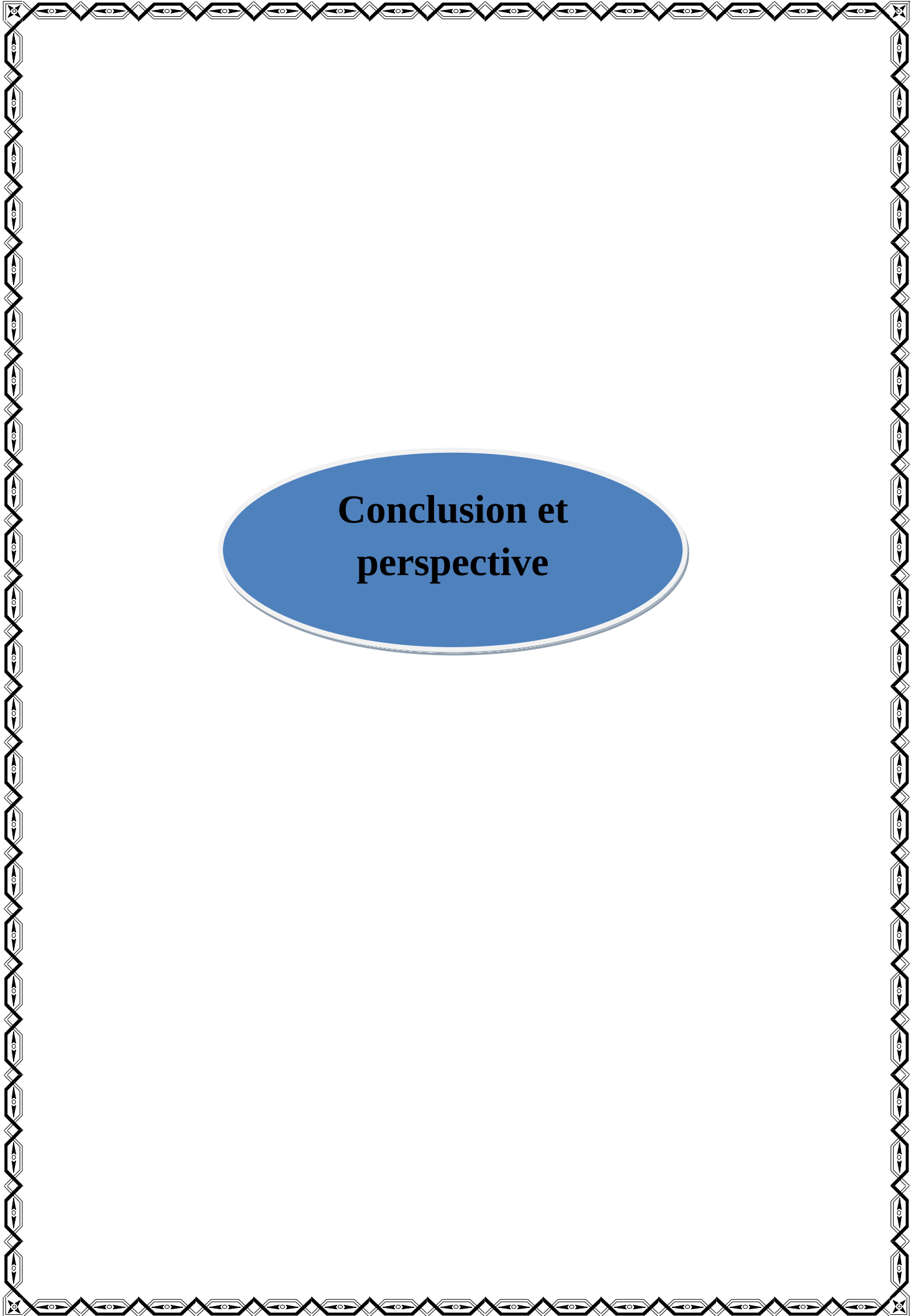
La fraction MeoH présente une forte activité antioxydante de $0,1222 \pm 0,0224$ mg/g Vi_C EAC. Largement supérieur à ceux de l'extrait éthanolique (EtoH) de valeur $0,0307 \pm 0,0140$ mg/g Vi_C EAC et DCM de l'ordre $0,0275 \pm 0,0009$ mg/g Vi_C EAC c'est valeur est intermédiaire le moins d'activité Antioxydante par rapport les autres extraits ; et la plus faible valeur trouvée dans l'extrait Acétate d'éthyle de l'ordre $0,0089 \pm 0,0017$ mg / g Vi_C EAC.

On constate que les extraits méthanolique et éthanolique sont le plus actif au test FRAP par rapport à l'extrait DCM et A. d'éthyle.

Donc que les extraits MeoH et EtoH ayant la plus forte capacité antioxydante sont également le plus riche en l'activité antioxydant de l'échantillon.

A partir des résultats obtenus (Tab 07) on remarque que le pouvoir réducteur des extraits. Equivalents les trois standards sont différents, les extraits équivalent l'acide ascorbique (vitC) est plus élevée, présente les valeurs fortes plus importante, les extraits équivalents le Quercitane sont relativement moins importante, par contre que la valeur les plus basses. Trouvée dans les extraits équivalents l'acide gallique.

Dans la littérature consultée, aucune étude sur l'activité antioxydante par la méthode de FRAP, sauf une seule étude a été menée sur l'extrait d'acétate d'éthyle par Ramdane.F(2018). Dans même plante est le plus puissant avec une valeur de $326,76 \pm 15,86$, c'est plus actif et possède la capacité forte par rapport notre extrait d'acétate d'éthyle.



Conclusion et perspective

Le présent travail a porté sur l'étude de l'activité biologique (antioxydante) des extraits bruts préparés à partir d'une espèce médicinales *Bubonium graveolens* collectée dans la région de Laghouat, et elle est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle, pour le traitement de plusieurs pathologies.

L'objectif primordial assigné par cette étude englobe le même contexte afin d'évaluer les propriétés antioxydantes de cette plante.

Dans un premier volet de ce travail, nous avons procédé à l'extraction organique par cinq Solvants à polarité croissante (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol et Méthanol). L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements Qui sont différentes en fonction de la nature des solvants utilisés (rendement la plus élevée Pour l'extrait d'acétate d'éthyle 5,65% m/m suivi par L'extrait EtoH 3,89% m/m, extrait MeoH (3,63% m/m) et enfin le rendement la plus faible pour l'extrait DCM 2,9% m/m), alors Que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes était conséquente.

La quantification par la méthode spectrophotométriques nous a permis de déterminer la Teneur en phénol totaux par le réactif Folin-Ciocalteu et en flavonoides par AlCl_3 .

Les résultats obtenus ont révélé quatre extraits de la plante dont le premier qui regroupe MeoH, EtoH, DCM et A. d'éthyle constitue une source prometteuse en Polyphenol varié entre 0,289 et 3,533 mg/g MS et en flavonoïdes ont varié entre 0,060 et 0,928 mg/g MS.

D'autre part, nous sommes intéressés par l'étude des propriétés antioxydant des extraits bruts De la *Bubonium graveolens* par deux méthodes : le piégeage de radical DPPH et pouvoir Réducteur du fer FRAP .pour le premier test, l'extrait EtoH à montrer l'activité la plus élevée Avec une IC_{50} de $0,66 \pm 0,04$ g/l, suivre des fractions MeoH, DCM et en fin la fraction D'acetate d'éthyle avec une IC_{50} $6,83 \pm 0,27$ g/l, Par rapport à l'acide ascorbique $0,01 \pm 0,004$ g/l. Pour le second test montre que l'extrait MeoH est le plus actif avec une Concentration de $0,122 \pm 0,022$ (mg/g Vi_{tC} EAC) équivalent d'acide ascorbique, suivre des fractions EtoH, DCM sont intermédiaire le moins d'activité antioxydante par rapport les autres Extraits et en fin la fraction d'acetate d'éthyle est la plus faible de $0,0089 \pm 0,0017$ (mg/g Vi_{tC} EAC)

Équivalent d'acide ascorbique. A partir de résultats, on peut conclure que l'étude de l'activité des extraits de *Bubonium Graveolens* que cette plante présente une source naturelle et prometteuse des molécules Chimiques qui possède des activités biologiques important, cette activité était différée que l'extrait à une autre selon la méthode d'extraction qui influencent sur la nature des composés présent dans les quatre extraits et leurs efficacités sur l'activité biologique.

Cette différenciation est tout dépend la méthode utilisée et même le radicale étudiée. Pour cela Le choix de la méthode par le DPPH pour évaluer l'activité antioxydante est le plus simple, le Plus rapide et le plus efficace à cause de la grande stabilité du radical.

A partir de ces résultats, il serait souhaitable de :

- ✓ Mesurer l'activité antioxydant en utilisant d'autre test.
- ✓ Evaluer les activités antioxydants des autres extraits par utiliser d'autres solvants organiques différents.
- ✓ Identifier et quantifier des composés phénoliques des extraits obtenus des techniques plus avancées ayant une meilleure activité antioxydants.
- ✓ Effectuer d'autre dosage comme le dosage des tanins.
- ✓ Réaliser une caractérisation par HPLC ou par GC-SM de notre extrait afin de déterminer le principe actif.
- ✓ La confirmation de la capacité antioxydants de *Bubonium graveolens* par des tests *in vivo*.



Références bibliographiques

A

- A., F. ((2003).). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. l'actualité chimique , Pp: 108-115.
- Arab, K. B. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). Journal of Fundamentals App.
- Ardestani, A. &. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. . Food Chem. 104: 21-29.
- Athamena, S. C.-L. (2010). activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait de *cuminum cyminum* L. lebanese science journal,, 11 (1) , 69-81.
- Akrouf A., C. R. ((2001)). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* . L. J. Flavour Fragr. , 16: 337–339.
- Alilou. ((2012).). . Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du.

B

- benguerba. (a. (2008)). étude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L.
- Bentabet, N. B.-O. ((2014).). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. . Phytothérapie, , 12, 364 – 371. .
- Benzie I.F.F., S. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" : The FRAP assay. . Analytical Biochemistry, , 239: 70-76.
- Bouayed Debbagh, L. ((2016).). Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* (l'Ortie).

- Bougandoura, N. &. ((2012).). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux méthanolique saturé de *Alamintha ssp, Nepeta (L)*. *briq. Nature & Technologie*, (9), 14-19.
- Boyd B., F. C. ((2003)). (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. . *Glycoscience & Nutrition*. , (p. 4 (6):7.). (cited in Mohammedi Z ,2005).
- Brand-Williams W., C. M. ((1995).). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. . *Lebensm. Wiss. Technol.* , 28: 25-30.

D

- De Pascual J.T., G. M. ((1984).). Phenolic derivatives from *Artemisia campestris* Subsp *Glutinosa*. . *Phytochemistry*. , 23 (8): 1819-1821.

H

- Heim, E. K. ((2002).). Flavonoïds antioxydants :chemistry ;metabolism and structure-activity relationships. *the journal of nutritional biochemistry*, 13,572-584.
- Huang D., O. a. ((2005).). The chemistry behind antioxidant capacity assays. . *J of Agr Food chem.*, 53:1841-1856.

J

- Jaumel.J. ((2015),). Caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique.

K

- King A., a. Y. ((1999).). characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Jof the American dietetic association*, (pp. 99:213-218.). (cited in Djemai Zoueglache S, 2008.

- Krief, S. ((2003)). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. P343.

L

- Lee K. W., K. Y. (2003).). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* , 51: 7292-7295.
- Lutge U., K. M. ((2002).). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. *Lavoisier* ., (p. 211p.). Paris. .

M

- Mariod, A. A. ((2010).). antioxydant activities of phenolic rich fraction (PRFs) obtained from black mahlab *monechma ciliatum* and white mahaleb seedcakes. *food chemistry*, 118,120-127.

P

- Popovici, C. S. ((2010).). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *revue de génie industriel*., (4),1-8.
- Prior R.L., W. X. ((2005).). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.*., 53: 4290-302.
- Pellegrini N., S. M. ((2003).). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays . *J .Nutr.* , 133: 2812-2819.
- Pellegrini N., S. M. (2003.). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. . *J .Nutr.* , 133: 2812-2819.

R

- R, A. (2007). La botanique de A à Z. Paris. 177p.: Ed. Dunod.
- Rodriguez-Bernaldo, A. Q. ((2010).). Antioxydant compound in edible brown seaweeds. European Food Research & technologie. 231(3),495-498.
- Roginsky V., L. E. (2005.). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. . Food Chem, , 92: 235-254.
- Rabhi.Bet Boughouerouat.A, —. (2017.,). Etude in vitro de l'activité inhibitrice sur l'alpha-amylase d'extrait de quelques plantes locales.

S

Saffidine, K. (2015). Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Extraits De *Carthamus Caeruleus L.* Et De *Plantago Major L.* Thèse De Doctorat, Université Ferhat Abbes, Sétif. 64p.

Siepmann, M. S. ((2006).). *Asteriscus graveolens*, N'auplus oxeye parfumé graveolens fuerteventura.

T

- Tahraoui. ((2014).). Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante *Pituranthos scoparius* (Guezzah) par la méthode de réduction du fer : FRAP. p39.
- Tapiero H., T. K. ((2002).). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? Biomed.pharmacother. ., (pp. 56: 200-207.). (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- Torres De Pinedo, A. P. ((2007).). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants ;structure -activity relationship. food chem, 103,55-61.

W

- Wong, C. L. ((2006).). A systematic survey of Antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing Antioxidant power assay. Food Chem. , 97: 705-711.

Annexes

Les annexe

Les standards des dosages

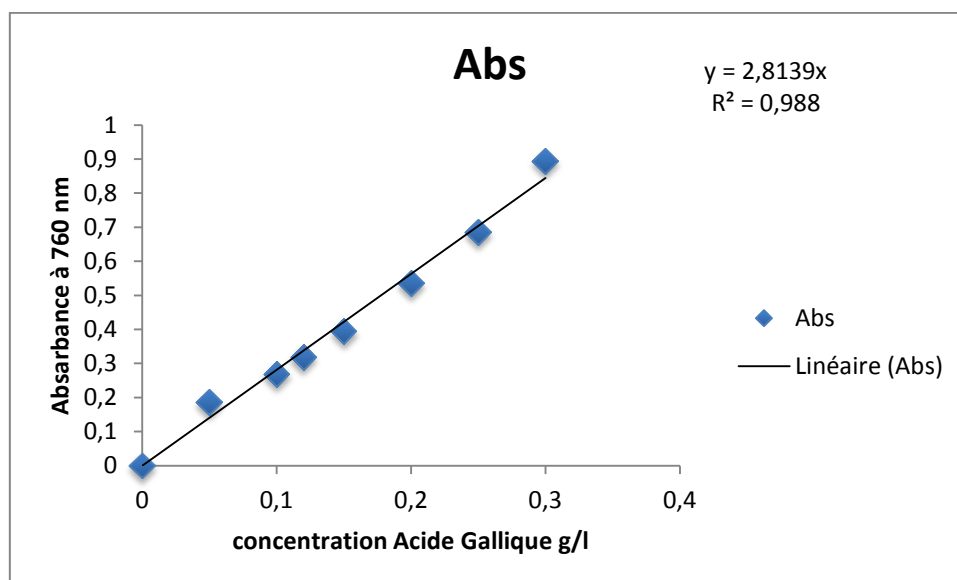


Figure 10: Droite d'étalonnage des polyphénols totaux d'un Acide gallique.

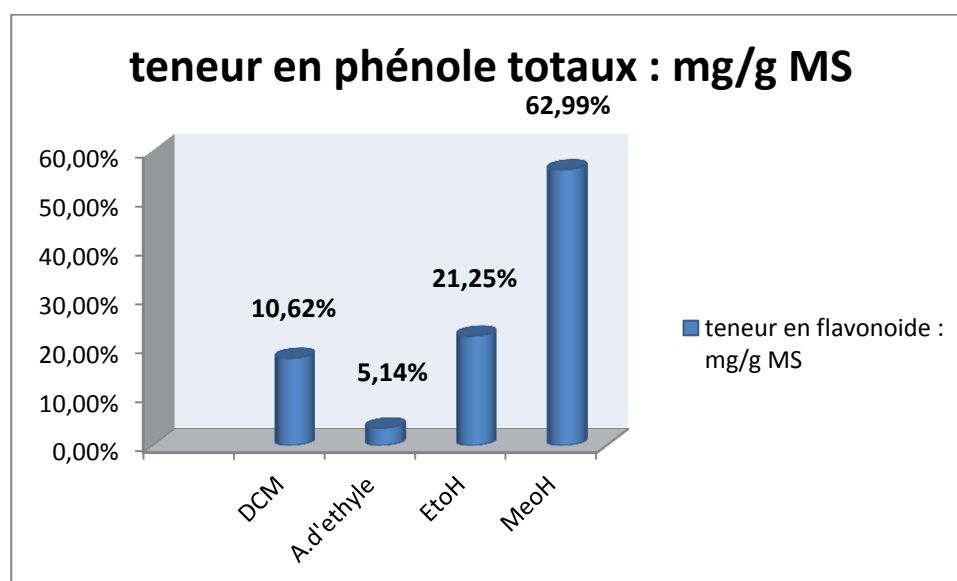


Figure 11 : Evaluation des polyphénols totaux des extraits.

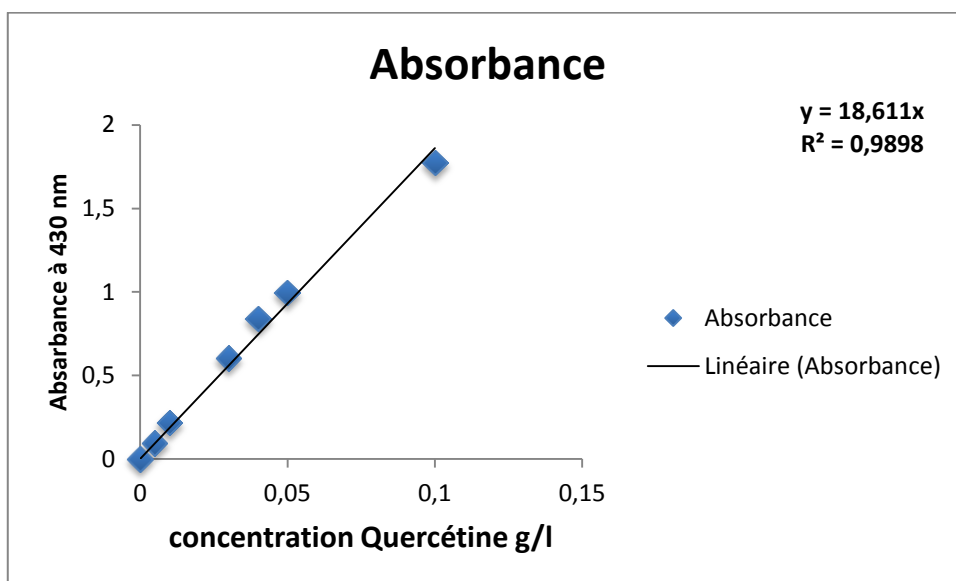


Figure 12 : Droite d'étalonnage des flavonoïdes d'un Quercétine.

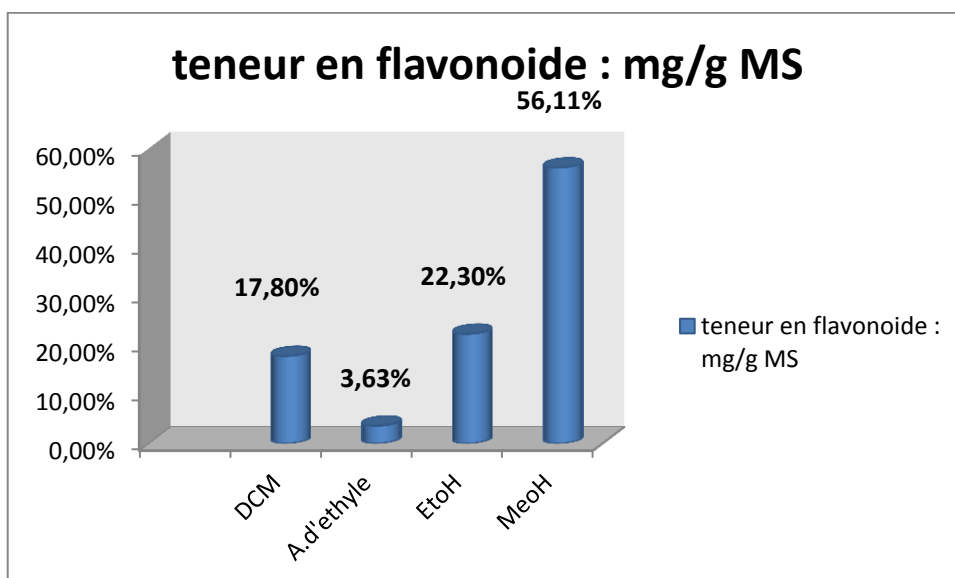


Figure 13: Evaluation des flavonoïdes des extraits.

Les standards de test FRAPP

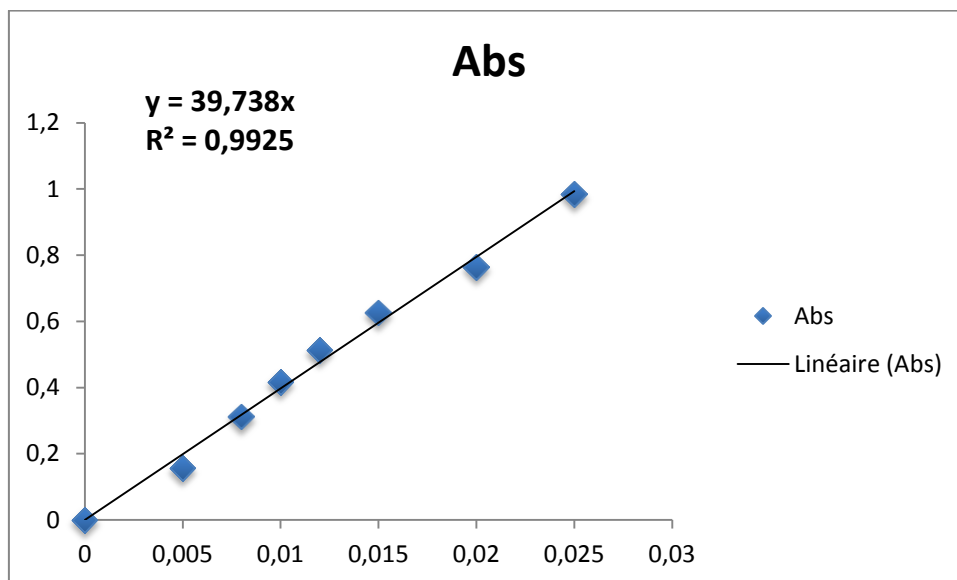


Figure 14:Activité antioxydante du standard quercétine.

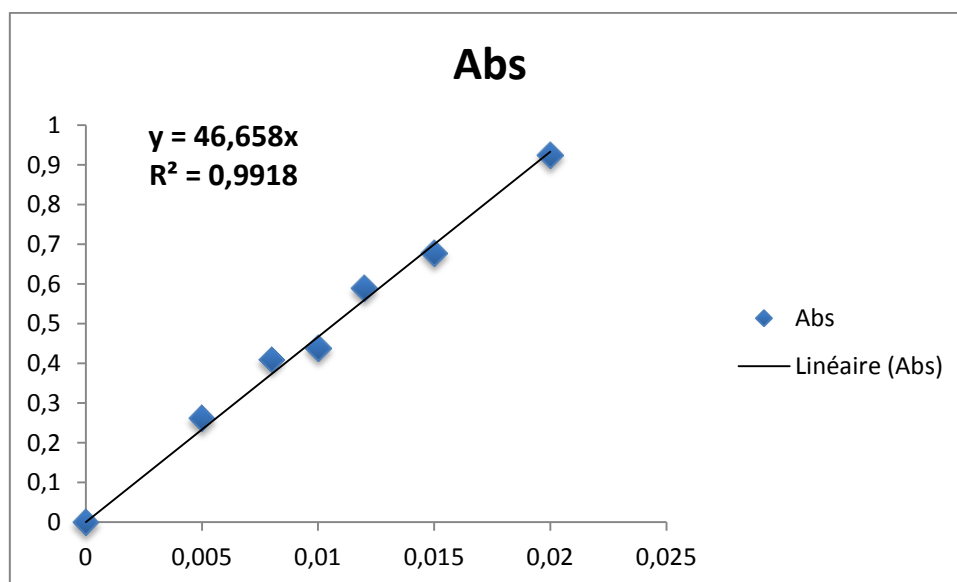


Figure 15: Activité antioxydante du standard AC Gallique.

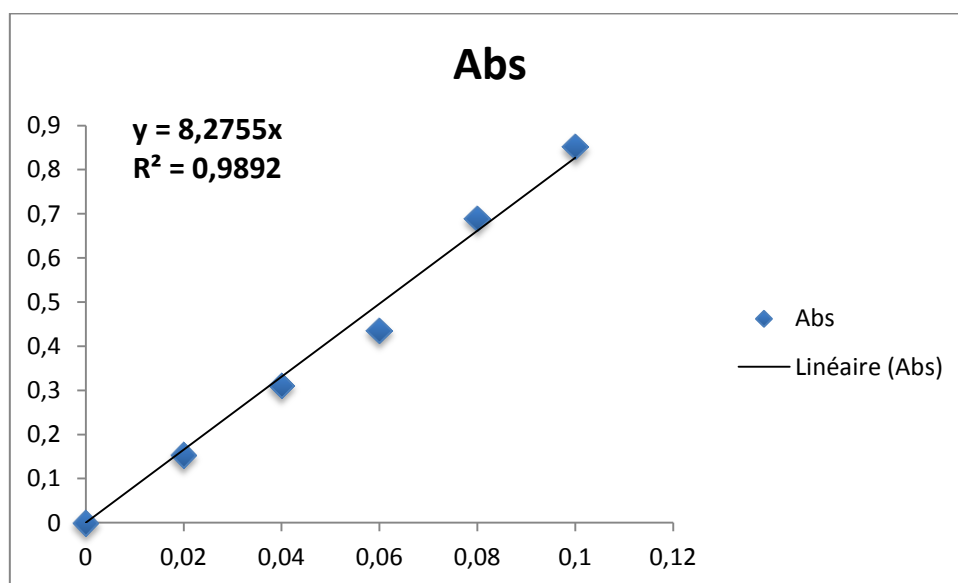


Figure 16 : Activité antioxydante du standard Vitamine C

Les standards de test DPPH

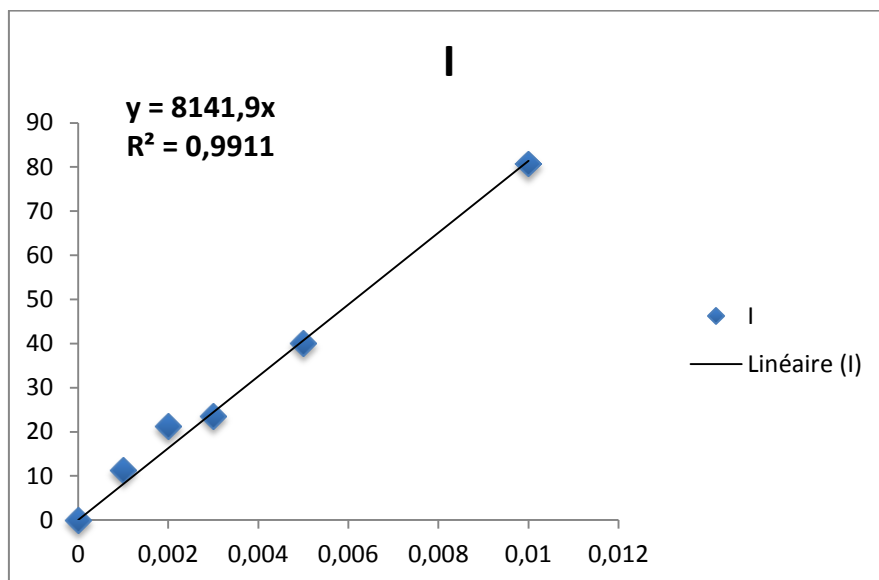


Figure 17: Activité antioxydante du standard quercétine.

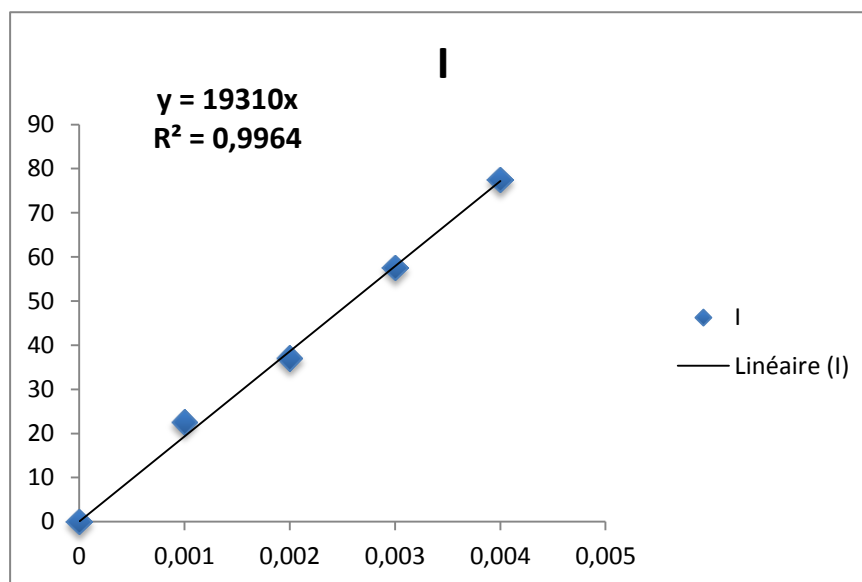


Figure 18: Activité antioxydante du standard AC Gallique

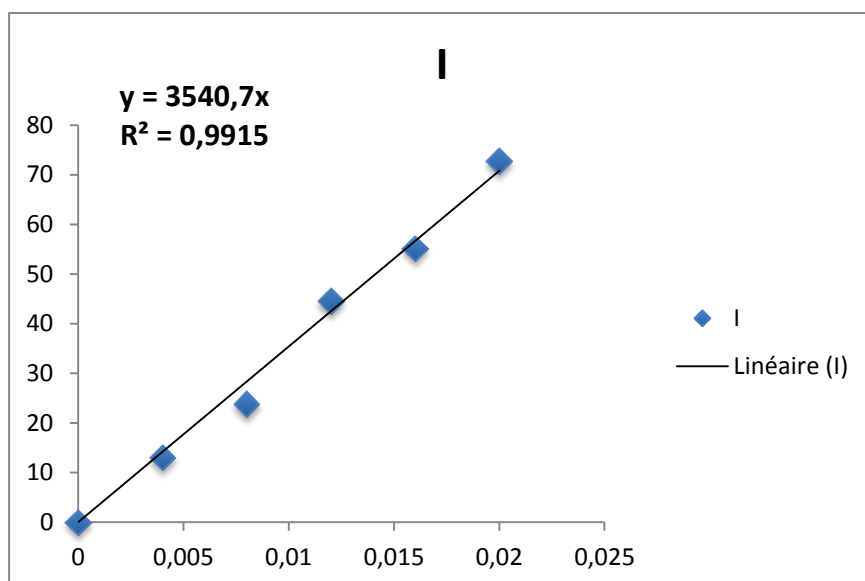


Figure 19 : Activité antioxydante du standard Vitamine C.