

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثلجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DE SCIENCE
قسم علوم المادة

DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA MATIERE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique

Présenté par :

Mlle. RABHI Khaoula

THEME

Étude de l'activité antioxydante des extraits organiques et aqueux de trois plantes locales

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mme. HADBAOUI Zineb

M.C.B

Présidente

Mme. BOUZIANE Amel

M.C.B

Examinatrice

Mme. NOURDDINE Asmaa

M.C.B

Promotrice

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

*Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir
Donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a
Permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste
Travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Je remercie sincèrement ma Promotrice **Mme. NOURDDINE Asmaa**,
Qui a supervisé ce projet et veillé à ce qu'il soit
achevé. Je veux vraiment vous remercier pour votre conseil, qui m'a été
Très utile.*

*Grand et respectueux remerciement va au **Mme. Hadbaoui Zineb**
D'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire.
Je remercie **Mme. BOUZIANE Amel**, Pour avoir accepté d'examiner
Mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Je remercie aussi tous mes collègues de la promotion 2022/2023 et les
Étudiants de master et je leur souhaite beaucoup de réussite.
Finalement, je tiens à remercier toute personne ayant contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce travail. Un grand merci à tous*

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	II
Introduction générale.....	4
I. Matériel et Méthode	6
I.1. Matériel végétal	6
I.2. Produits utilisés	8
I.3.Méthodes	8
I.4. Extraction des composés phénoliques:	8
I.5.Analyses quantitatives	9
I.5.1.Dosage des polyphénols	9
I.5.1.1.Principe	9
I.5.1.2.Protocol	10
I.5.2.Dosage des flavonoïdes.....	10
I.5.2.1.Principe	10
I.5.2.2.Protocol	10
I.6. Étude de l'activité antioxydant	10
I.6.1.Test DPPH	10
I.6.1.1.Principe	10
I.6.1.2.Protocol expérimental.....	11
II.6.2.Test ABTS	12
II.6.2.1.Principe.....	12
I.6.2.2.Protocol expérimental.....	12
I.6.3.Test FRAP (Ferricreducing antioxydant power)	13
I.6.3.1.Principe	13
I.6.3.2. Protocol expérimental.....	13

II. Résultats et Discussion	15
II.1. Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.....	15
II.4. Activités antioxydantes	18
Conclusion générale	22
Références bibliographiques	24
Annexe	28
Résumé	33

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

ABS : Absorbance

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

AO : Antioxydante

C° : Degré Celsius.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

DPPH• : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

EAG :Équivalent en acide gallique.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

FRAP: Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique.

g : Gramme

h :Heure

I : Inhibition

IC50: Concentration Inhibitrice 50%.

mg : Milligramme

mg EAG/g : Milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait

mg /ml : Milligramme /Millilitre

ml : Millilitre

min : Minute

nm : Nanomètre

pH : potentiel hydrogène

Ph-Org : Phase organique

Ph-aq : Phase aqueuse

PPT : polyphénols totaux

µl :Micro litre

UV-Visible : Ultras violets-Visible

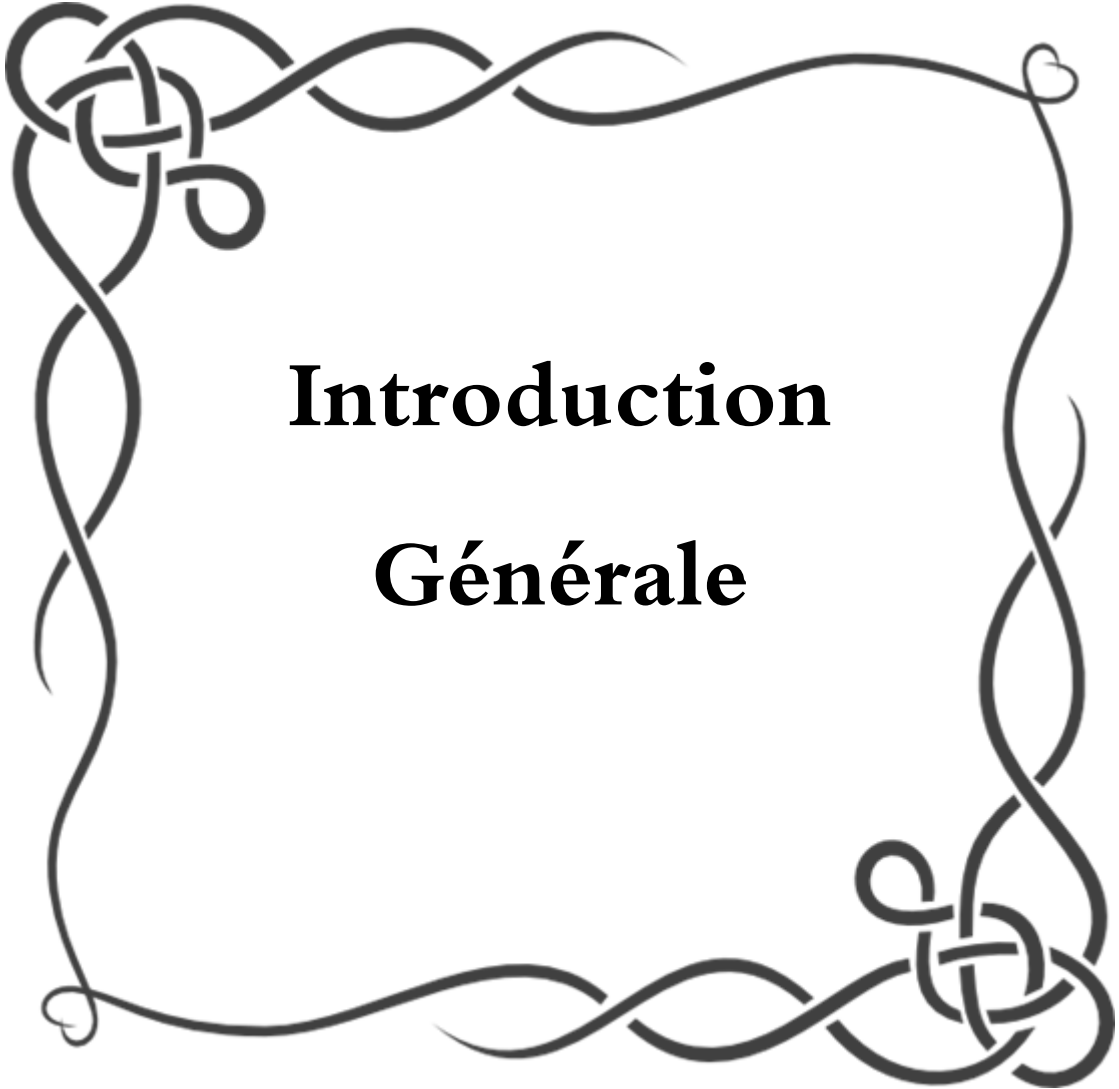
TCA : Acidetrichloroacétique

Liste des figures

Figure 1: Les fruits de jujubier	6
Figure 2: Les feuille de jujubier	6
Figure 3: Herber de jujubier	6
Figure 4: armoïse Blanche.....	7
Figure 5 : armoïse rouge.....	7
Figure 6: Organigramme expliquant le plant de travail.....	8
Figure 7: Protocole expérimentale d'extraction des deux fractions	9
Figure 8: Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH•	11
Figure 9: La réaction de test ABTS.....	12
Figure 10: La réaction de test FRAP	13
Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	15
Figure 12: Courbe d'étalonnage Quercitine pour le dosage des flavonoïdes.....	15
Figure 13: Teneur en phénols (mg EAG/g MS)	17
Figure 14: Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)	17
Figure 15: Les valeurs d'IC 50 des trois extraits du radical DPPH.....	19
Figure 16: Les valeurs d'IC 50 des trois extraits de test ABTS	20
Figure 17: Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.....	20

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractérisation des plantes étudiées.....	6
Tableau 2 : Teneurs en polyphénols totaux Teneurs en flavonoïdes des extraits organique et aqueuse des plantes étudiées	16
Tableau 3 : L'activité antioxydant des extraits organique et aqueuse des plantes étudiées ...	18



Introduction

Générale

Introduction générale

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 (**Eloff, 1998**).

Sur les 300 000 espèces végétales dénombrées sur la planète, plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des propriétés médicinales (**Millogo et al., 2005**). Aujourd'hui, les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**).

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans Les matières végétales, ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. (**Epifano et al, 2007**). Ils peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. (**Mahmoudi S, 2013**).

Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante in vitro induisent la mesure de l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Celles-ci ne seront pas abordées, ni celles mesurant le pouvoir antioxydant in vivo sur le modèle animal ou chez l'Homme. Cette étude se focalisera sur les méthodes témoignant de l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger des radicaux libres – par transfert d'électron et/ou de proton -issus de phénomènes d'oxydations (**Prior et al., 2005**).

Notre travail s'inscrit dans ce contexte général, et a pour objectif d'étudier les composés phénoliques des extraits organiques et aqueux des plantes de région de Tiaret qui sont :**les fruits de jujubier (Nerprun) , Armoise blanche et l'Armoise Rouge** le travail est vise à :

- ✓ La préparation des extraits
- ✓ Analyses quantitatives des extraits en polyphénols et en flavonoïdes.
- ✓ L'étude de l'activité antioxydante des extraits des plantes par le test de piégeage du radical DPPH, le test ABTS et le test de pouvoir réducteur du fer (FRAP).



Partie I

Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthode

I.1. Matériel végétal

Les fruits de jujubier ont été récoltés durant le mois de septembre 2022. l'armoise ont été récoltée durant le mois d'Avril 2022, La partie aérienne de cette plante est séchée à l'ombre dans un endroit sec, après le séchage, Les trois plantes sont broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin électrique puis stockées dans des sacs en papier jusqu'à leur utilisation.

Tableau 1 : Caractérisation des plantes étudiées.

Plante. I : Les fruits de jujubier sauvage النبق	
Description	Photos
<u>Noms scientifiques :</u> Rhamnus ou Nerprun. se trouvent dans les oasis du <u>Sahara</u>, en Tunisie, en Algérie, au <u>Niger</u>, en Afrique de l'Est, en <u>Iran</u>, dans le <u>Sinaï</u> et dans le nord de l'Inde. K. Hammer <u>Classification botanique :</u> Règne : Plantae. Classe : Equisetopsida. Ordre : Rosales. Famille : Rhamnaceae. Genre : Ziziphus <u>Propriétés thérapeutiques :</u> Il est utilisé pour : • Pour traiter l'asthme et la rhinite allergique. • Réduire les niveaux de cholestérol • Améliorer les fonctions cardiaques. • Réduire l'inflammation.	 Figure 1: Les fruits de jujubier  Figure 2: Les feuille de jujubier  Figure 3: Herber de jujubier

Plante. II : L'armoise Blanche الشيح

Noms scientifiques :

Artemisia

Classification botanique :

Règne : Plantae.

Classe : Magnoliopsida .

Ordre : Asterales.

Famille :Asteraceae .

Genre : Artemisia

Propriétés thérapeutiques :

Il est utilisé pour :

- manque d'appétit , constipation ou diarrhée.
- tension nerveuse, insomnie
- les rhumatismes ou la goutte.
- toux, rhume



Figure 4:armoise Blanche

Plante. III : l'Armoise rouge دققت

Noms scientifique :

Artemisia Campestris

Classification botanique :

Règne : Plantae.

Classe : Magnoliopsida .

Ordre : Asterales.

Famille :Asteraceae .

Genre : Artemisia

Propriétés thérapeutiques :

- Il aide à guérir les blessures et les brûlures
- Traite les maux de tête, les rhumatismes et un sédatif pour les troubles nerveux



Figure 5 : armoise rouge

I.2. Produits utilisés

Les réactifs et les produits chimiques utilisés dans ce travail sont présentés dans l'Annexe4

I.3. Plan de travail

L'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme le montre l'organigramme ci-après (**Figure 6**).

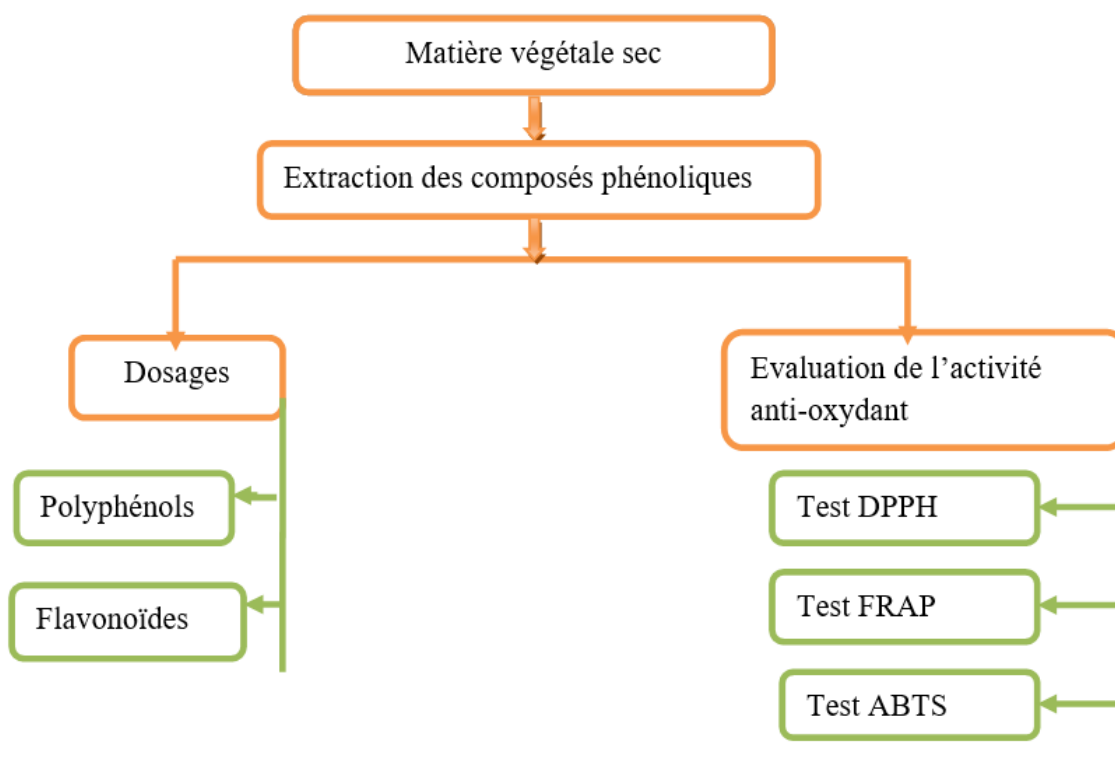


Figure 6: Organigramme expliquant le plan de travail

I.4. Extraction des composés phénolique :

Pour l'extraction de composés phénoliques, la méthode de macération par un mélange hydro-éthanolique est utilisée pour obtenir des extraits enrichis de molécules d'intérêt. L'extraction a été effectuée à la température ambiante par 5 g de poudre de plants et 100 ml du mélange (éthanol / eau) (80/20) sous agitation magnétique. Cette macération est effectuée pendant 48 heures (2 jours) avec filtration et renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les extraits filtrés sont regroupés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression

réduite à 40°C. Après évaporation complète du solvant, quatre extractions successives à l'hexane ont permis d'éliminer la majeure partie des lipides.

Les composés phénoliques présents dans la phase aqueuse ont été extraits avec de l'acétate d'éthyle, qui a ensuite été évaporé sous pression réduite à 40°C pour obtenir l'extrait sec qui a été repris dans 20 ml d'éthanol dans un flacon. La phase aqueuse obtenue lors de la dernière étape est également conservée pour analyse. (**Figure 7**).

L'organigramme suivant explique les différentes étapes d'extraction des composés

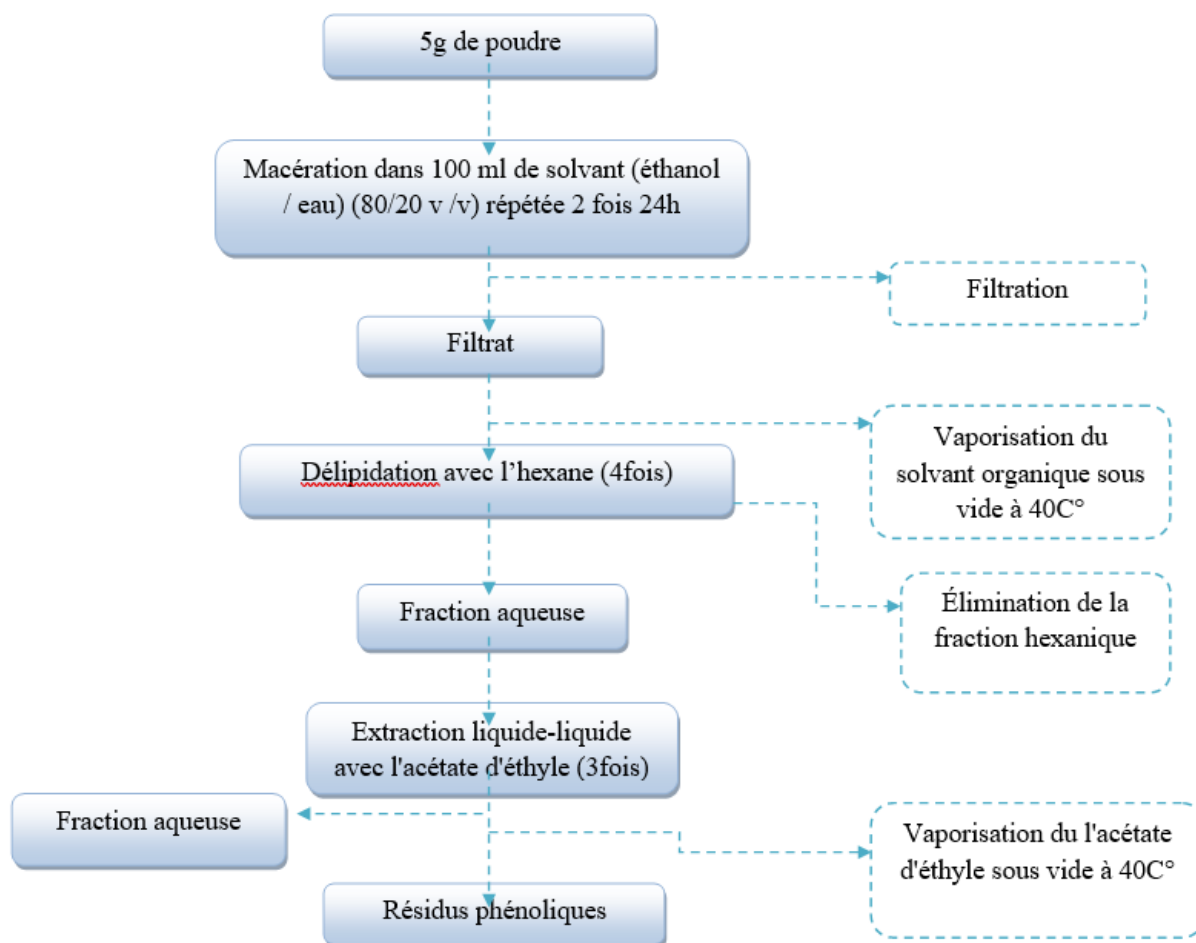


Figure 7: Protocole expérimentale d'extraction des deux fractions

I.5. Analyses quantitatives

I.5.1. Dosage des polyphénols

I.5.1.1. Principe

Les teneurs en polyphénols (PPT) ont été déterminées par spectrophotométrie utilisant la méthode folin-ciocalteu (**Singleton et al. 1999**). Le principe de cette méthode repose sur la réduction du réactif Folin par des composés phénoliques. Ce réactif est de couleur jaune et se

compose d'un mélange d'acide phosphonungstic ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique($H_3PMo_{12}O_{40}$). L'ajout de carbonate de sodium dans le mélange réduit le réactif en couleur bleu tungstène (W_8O_{23}) et bleu molybdène (Mo_8O_{23}), dont l'absorption maximale à 760 nm est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans l'extrait **(Enneb H. et al., 2015)**.

I.5.1.2.Protocol

Dans un tube à essai, on introduit un volume de 0.2 ml de chaque extrait dilué à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 0,8ml de solution de carbonate de sodium (7.5%). L'ensemble est incubé dans l'obscurité à une température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée contre un blanc à 760 nm. L'acide gallique a été utilisé comme standard dans les mêmes conditions de l'essai.

I.5.2.Dosage des flavonoïdes

I.5.2.1.Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode de trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$). Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes absorbés dans le visible. **(Ribéreau Gayon P., 1968)**.

I.5.2.2.Protocol

Dans un tube d'essai, 1 ml de l'extrait dilué et 1 ml d' $AlCl_3$ à 2%a été mélangé, et après 15 minutes d'incubation, l'absorption est lue à 430 nm contre un échantillon blanc composé de 1 ml de méthanol et 1 ml d' $AlCl_3$.

Le dosage exige également l'établissement d'une courbe d'étalonnage standard des flavonoïdes selon le même protocole. À partir d'une solution mère de quercétine, une série de solutions filles sont préparées à différentes concentrations, ce qui permettra de dessiner la courbe d'étalonnage.

I.6. Étude de l'activité antioxydant

Dans notre étude nous avons utilisé trois tests chimiques à savoir : le test DPPH et le test ABTS le test de FRAP pour mesurer l'activité antioxydante de nos extraits.

I.6.1.Test DPPH

I.6.1.1.Principe

Le diphenyle picryl-hydrazyle ($DPPH^\bullet$), est un radical libre instable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement

lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

La figure suivante résume le principe de la réaction, Ou (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picrylhydrazine (jaune).Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. (**Brand-Williams, 1995**). (**Figure 8**) (**Maataoui et al., 2006**).

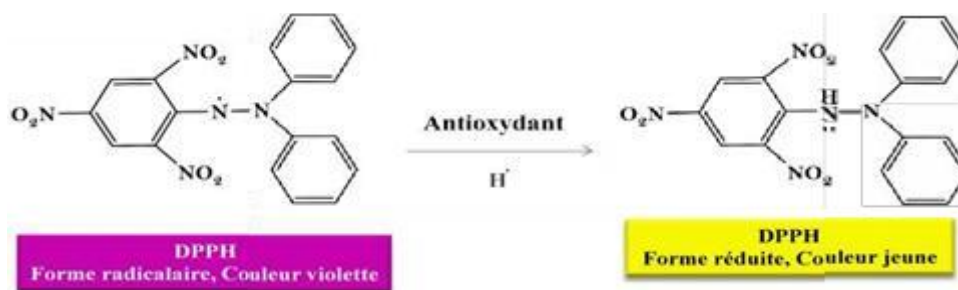


Figure 8: Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH•

I.6.1.2.Protocol expérimental

Selon le protocole décrit par (**Kim et al, 2003**),on introduit dans un tube à essai 50µl de différentes concentrations de chaque extrait préparé et 1950µl de la solution éthanolique de DPPH (70µM)Après incubation pendant 30 min l'absorbance est mesuré à 517 nm contre l'éthanol. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide gallique comme antioxydant standard.

Le pourcentage d'inhibition de DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\% I = ((A_0 - A_e) / A_0) \times 100$$

% I : pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydant

A₀: L'absorbance de la solution mère de DPPH sans antioxydants.

A_e: L'absorbance de l'extrait.

II.6.2. Teste ABTS

II.6.2.1.Principe

En réagissant avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique)) forme le radical $ABTS^{\bullet+}$, de couleur bleue à verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Figure 9**). www.researchgate.net

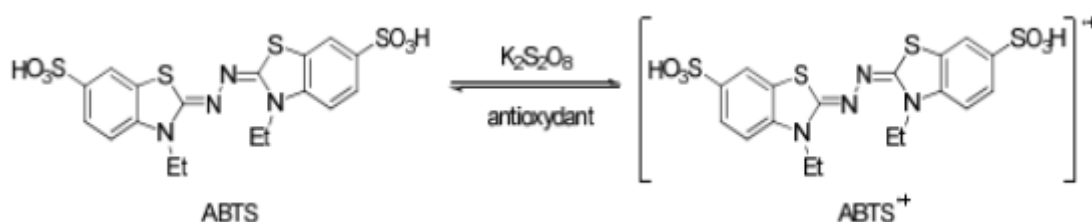


Figure 9: La réaction de test ABTS

I.6.2.2.Protocol expérimental

Dans un tube à essai, on introduit 20 μ l de différentes concentrations de chaque extrait préparé 1980 μ l de solution d' $ABTS^{\bullet+}$, l'absorbance est mesurée à 734 nm après avoir incubé la réaction à l'obscurité pendant 10 minutes. Le pourcentage de réduction du radical $ABTS^{\bullet+}$ est calculé selon la formule ci-dessous.

$$I (\%) = 100 \times (A_0 - A_1)/A_0.$$

Où

% I : pourcentage d'inhibition du radical ABTS par l'antioxydant

A0 : L'absorbance de la solution mère de ABTS sans antioxydants.

Ae: L'absorbance de l'extrait.

I.6.3. Teste FRAP (Ferricreducing antioxydant power)

I.6.3.1.Principe

Le pouvoir réducteur mesure la capacité des antioxydants à donner un électron pour réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) en présence d'agent chromogène, ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ et en milieu acidifié par l'acide trichloracétique la forme réduite donne une couleur verte qui Est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits phénoliques(Oyaizu, 1986).

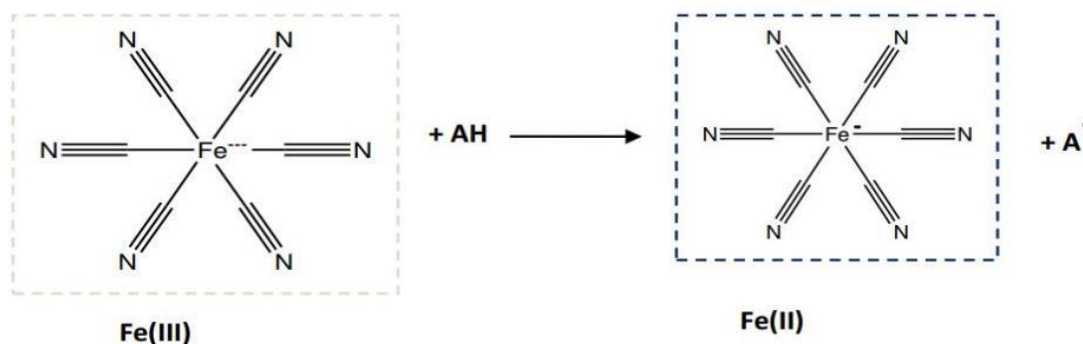


Figure 10: La réaction de test FRAP

I.6.3.2. Protocol expérimental

L'activité réductrice du fer de notre extrait est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), Dans un tube à essai, 25 μl de l'extrait de différentes concentrations est mélangé avec 0,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 0,5 ml d'une solution de ferricyanure de Potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite: un volume de 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) (10%) est ajouté au mélange avec 1,5 ml d'eau distillée (ED) et 0.5 ml de chlorure ferrique (FeCl_3) (0,1 %). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, un remplaçant l'extrait par l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé (Hubert, 2006).



Partie II

Résultats

Et

Discussion

II. Résultats et Discussion

II.1. Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

Les teneurs en phénols totaux des extraits organiques et aqueuses préparés des trois plantes sont déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu et sont rapportées en milligramme équivalent acide gallique par un gramme de la matière végétale (mg EAG/g) à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique qui est présenté dans **la figure 11** ci-dessous.

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium et sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine présenté dans **la figure 12** ci-dessous.

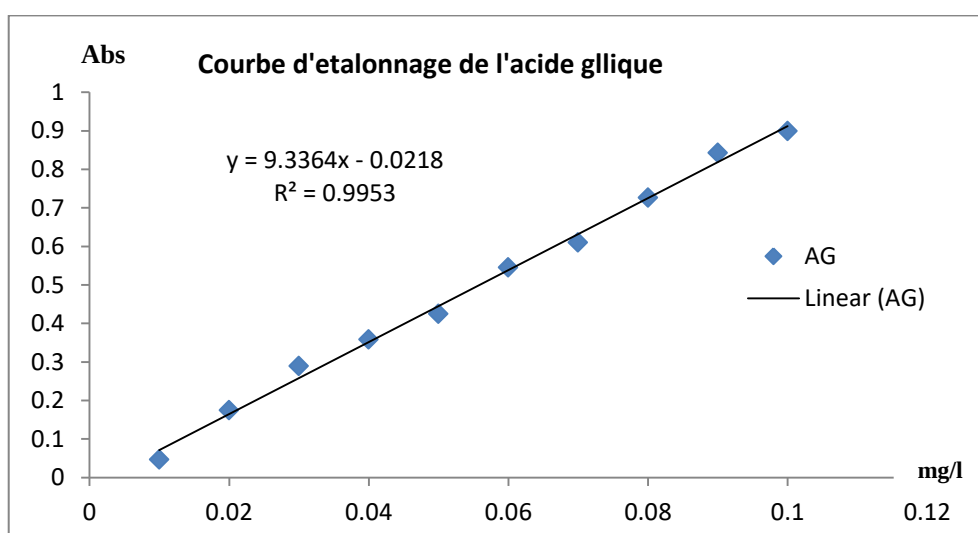


Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

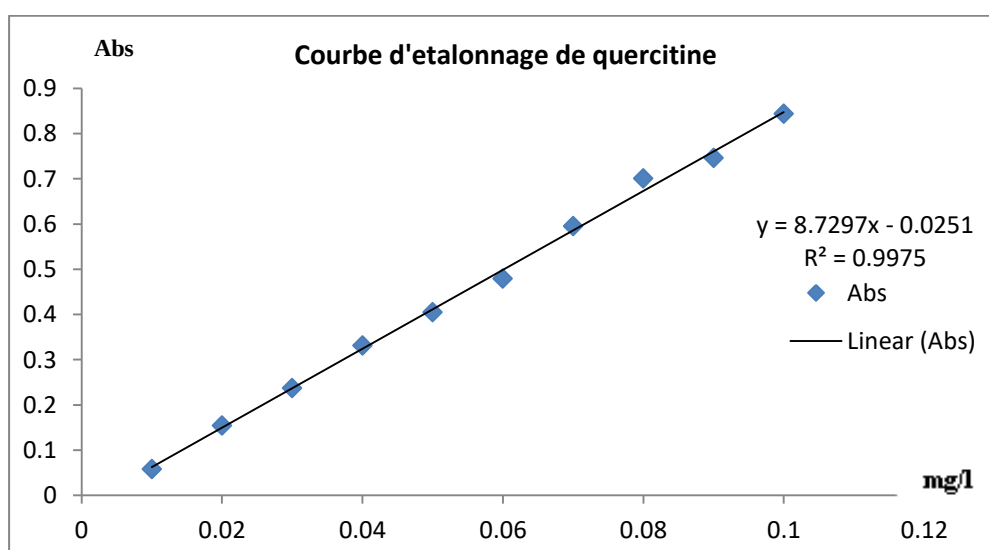


Figure 12: Courbe d'étalonnage Quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Le tableau 2 suivante présente les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits organique et aqueuse des plantes : *Les fruits de jujubier (Nerprun)* , *Armoise blanche* et *l'Armoise Rouge*

Tableau 2 : Teneurs en polyphénols totaux Teneurs en flavonoïdes des extraits organique et aqueuse des plantes étudiées

	Extrait de Plante-I Nerprun		Extrait de Plante-II l'armoise blanche		Extrait de Plante-III l'Armoise Rouge	
	Ph-Org	Ph-aq	Ph-Org	Ph-aq	Ph-Org	Ph-aq
Teneur en phénols (mg EAG/g MS)	3,410±0,219	9,896±1,304	32,428±1,423	71,380±1,014	60,370±1,396	64,368±0,631
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)	0,963±0,089	0,149 ±0,005	5,020±0,462	3,980 ±0,255	5,364 ±0,155	0,397 ±0,007

D'après les résultats obtenus, une variabilité des teneurs est constatée entre les concentrations en polyphénols et en flavonoïdes

Les résultats montrent que les concentrations dans les extraits de la phase aqueuse **Ph-aq** est plus élevée (**9,896 ±1,304**),(**71,380 ±1,014**), (**64,368±0,631**) par rapport aux extraits des phases éthanolique **Ph-Org** (**3,410±0,219**),(**32,428 ±1,423**),(**60,370 ±1,396**) pour les trois plantes

Par contre celle des flavonoides les concentrations est plus élevée pour les extraits de la phase éthanolique (**0,963 ±0,089**) , (**5,020±0,462**), (**5,364 ±0,155**) par rapport aux extraits des phase aqueuse (**0,149 ±0,005**), (**3,980 ±0,255**),(**0,397 ±0,007**).

Ces variations peuvent s'expliquer par le fait que la solubilité des composés phénoliques des plantes étudiée dépend essentiellement de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. (MAHMOUDI S.2013)

Un travail réalisé par (Lahmer. N , Messai. S & Djemai. Z , 2017) porte sur le dosage des composés phénoliques dans les écorces et des racines de *Zizyphus lotus*, et d'après ses résultats, une variabilité des teneurs sont trouvés :les polyphénols est plus élevée dans l'extrait

aqueux que pour l'extrait méthanolique, par contre celle des tanins condensés est plus élevée dans l'extrait méthanolique) mais les flavonoïdes ont montré des valeurs voisines entre l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique. Les histogrammes suivantes montrent les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits organique et aqueux de chaque plante étudiée.

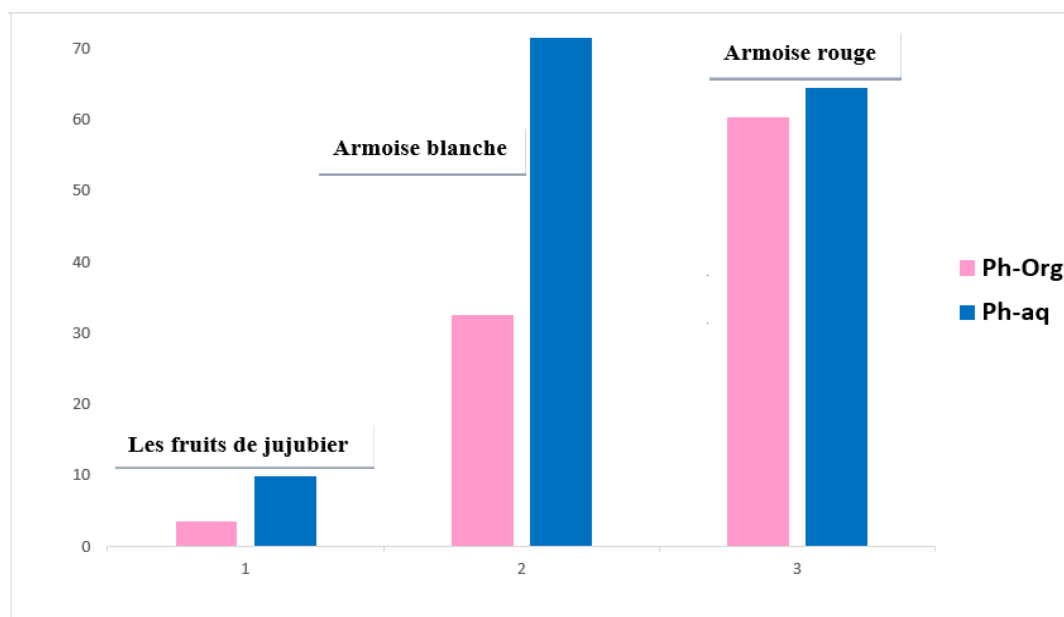


Figure 13: Teneur en phénols (mg EAG/g MS)

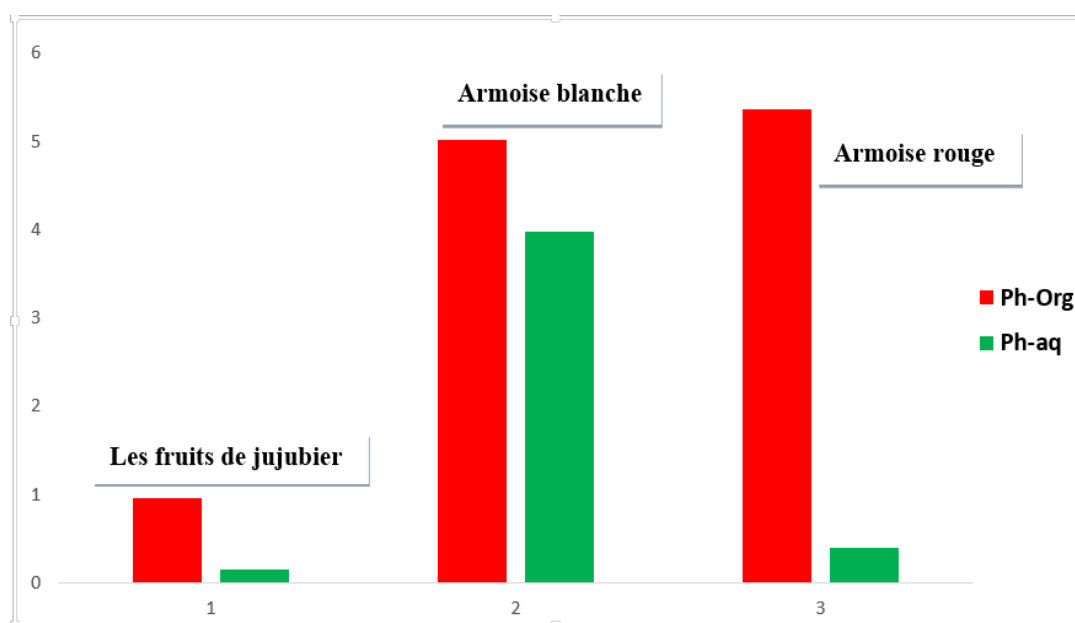


Figure 14: Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g)

II.4. Activités antioxydantes

La valeur de l'IC₅₀ est définie comme est la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% du réactif initial. (Sanchez-M , 1998)

Les résultats sont exprimés en IC₅₀, et calculés soit à partir des courbes du variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait soit par la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de chaque extrait. Rappelons que plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est importante

Les graphes obtenus par les trois tests sont présentés dans les Annexe 1,2,3

Les résultats de l'activité antioxydante calculés par les trois tests sont résumés dans Tableau 3

Tableau 3 : L'activité antioxydant des extraits organique et aqueuse des plantes étudiées

Test	Extrait de Plante-I Nerprun		Extrait de Plante-II l'armoise blanche		Extrait de Plante-III l'Armoise Rouge		Acide gallique
	Ph-Org	Ph-aq	Ph-Org	Ph-aq	Ph-Org	Ph-aq	
DPPH mg/ml	0,15± 0,007	0,038 ± 0,00083	0,018± 0,0004	0,021 ± 9,55 E-05	0,0197 ± 0,0026	0,0067 ± 0,00018	0,001 ± 4,4 E-05
ABTS mg/ml	0,0062 ± 0,0001	0,0054± 0,00064	0,0088 ± 0,0001	0,0046± 0,0002	0,0029 ± 0,0001	0,0072 ± 6.89 E-05	
FRAP mg/ml	0,0055± 3,216 E05	0,0047± 4,91 E05	0,0064 ± 8,803 E-06	0,0068 ± 0,0005	0,0014 ± 1,0879 E-05	0,0013 ± 9,894 E-06	0,0007 ± 0,0001

D'après les résultats des tests de DPPH et ABTS L'extrait organique se révèle moins actif que l'extrait aqueuse pour les deux plantes I et II de Nerprun et de l'armoise blanche, ces résultats peuvent être expliqués par la richesse de ce dernier en polyphénols ($9,896 \pm 1.304$) et (71.38 ± 01.01) comparé aux l'extraits organiques qui présente des teneurs en polyphénols varie entre (3.410 ± 0.219) et ($32,428 \pm 1,423$)

Les résultats obtenus par les extraits organique et aqueuse d'armoise rouge (plante III) montrent qu'il existe une grande variabilité entre les valeurs IC₅₀% obtenues par test de DPPH et le test d'ABTS

Par le test de DPPH, les valeurs de IC₅₀ varient entre ($0,0197 \pm 0,0026$) et ($0,0067 \pm 0,00018$) où l'extrait de la phase organique est plus actif que l'extrait de la phase aqueuse. Par contre le test d'ABTS montre que l'extrait de la phase aqueuse est l'extrait le plus actif, ces valeurs varient entre ($0,0029 \pm 0,0001$) et ($0,0072 \pm 6.89 \text{ E-}05$) mg/ml.

Cette variabilité est probablement due à la structure des composés phénoliques présents différemment dans les deux extraits organiques et aqueux et qui réagissent différemment avec le réactif DPPH et ABTS malgré les valeurs proches des concentrations des polyphénols qui sont ($60,370 \pm 1,396$) et ($64,368 \pm 0,631$) mgEAG/g.

Les activités antioxydantes des trois plantes sont également confirmées par le test de FRAP qui montre des valeurs très proches entre les phases organique et les phases aqueuses.

Le pouvoir réducteur des extraits est éventuellement dû à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007).

Si on compare notre résultat à celui de standard (acide gallique) on constate que les extraits de N'beg et de l'armoise blanche sont moins actifs que l'activité de l'acide gallique, alors que les extraits de l'armoise rouge montrent une activité considérable au l'acide gallique.

Les histogrammes suivants présentent les valeurs d'IC₅₀ des extraits organique et aqueux dans chaque plante étudiée.

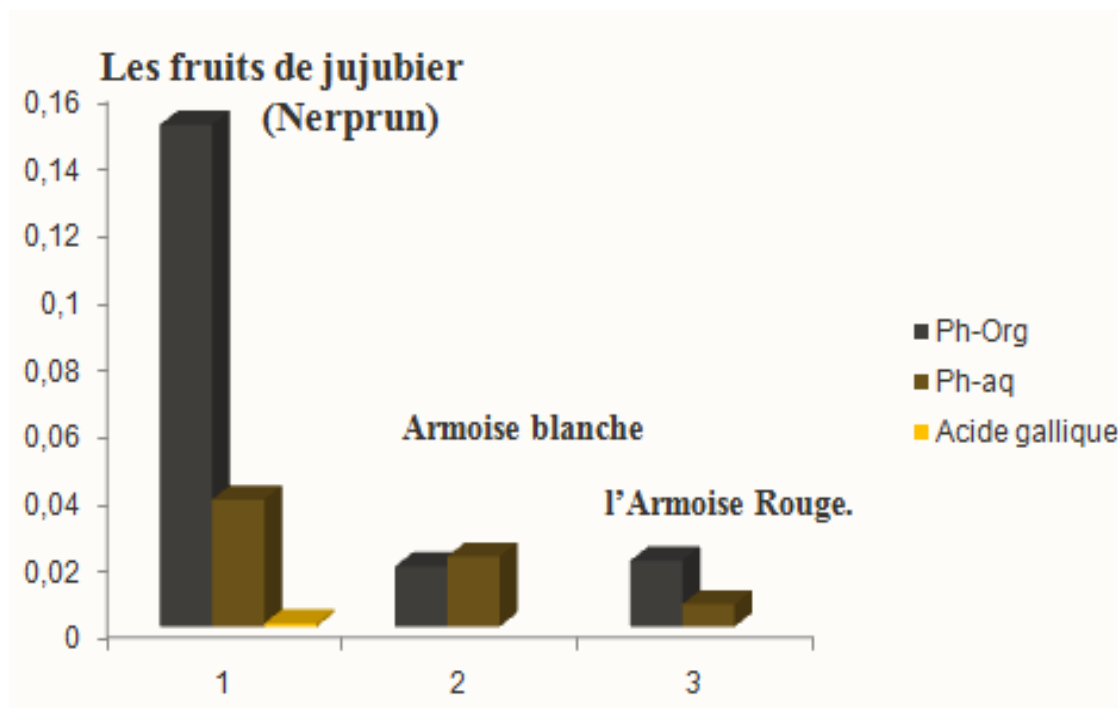


Figure 15: Les valeurs d'IC₅₀ des trois extraits du radical DPPH.

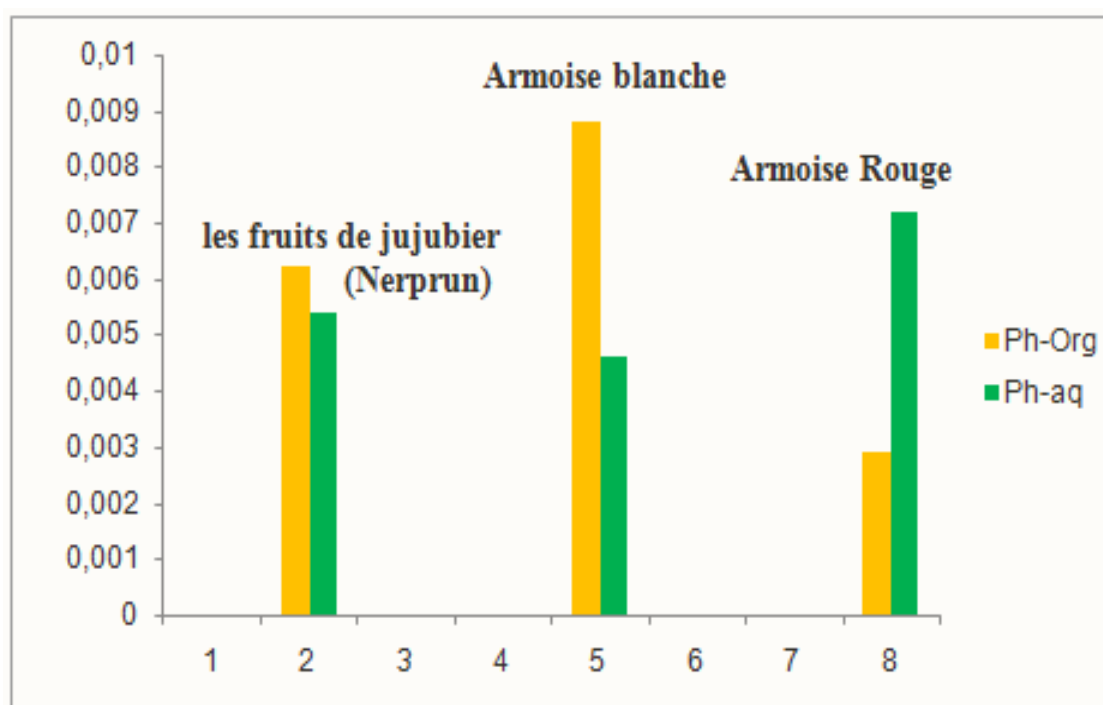


Figure 16: Les valeurs d'IC 50 des trois extraits de test ABTS

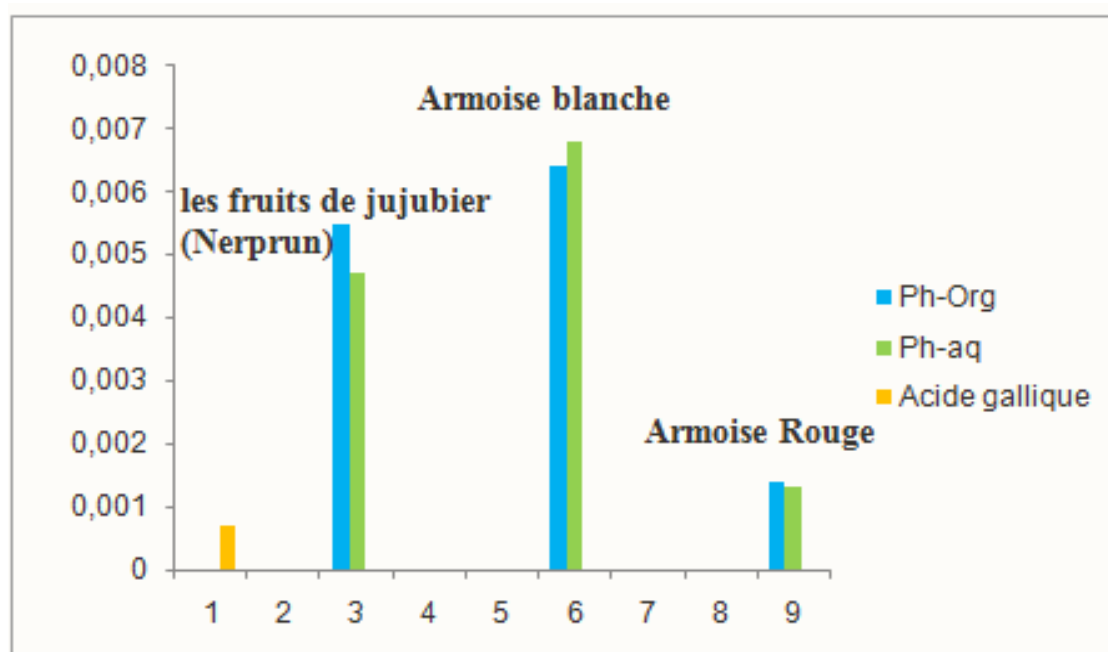
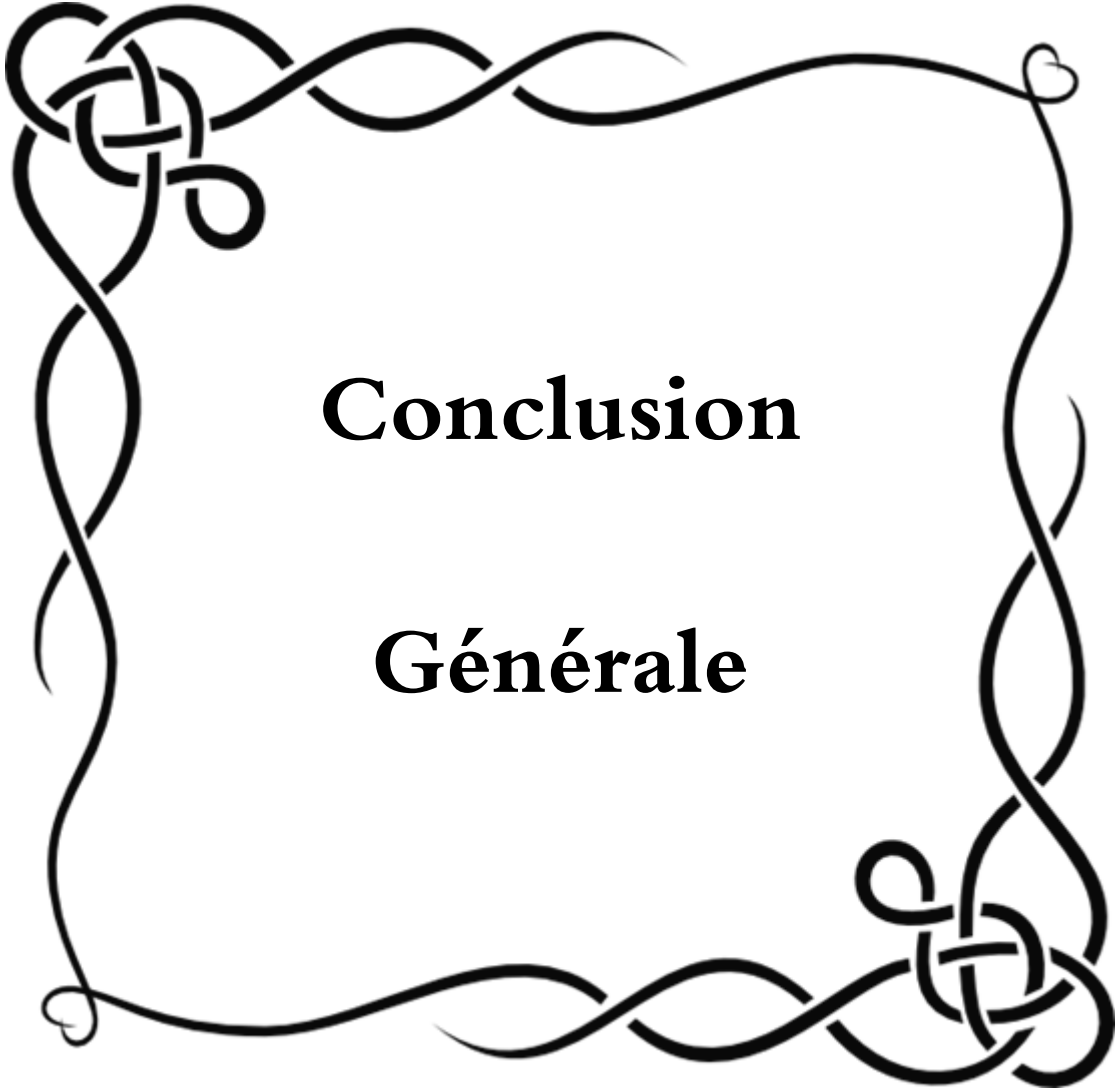


Figure 17: Les valeurs d'IC 50 des deux extraits de test FRAP.



Conclusion

Générale

Conclusion générale

Les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

L'étude de l'activité antioxydante in vitro des extraits ethanolique et aqueux nous a permis d'extraire les résultats suivants.

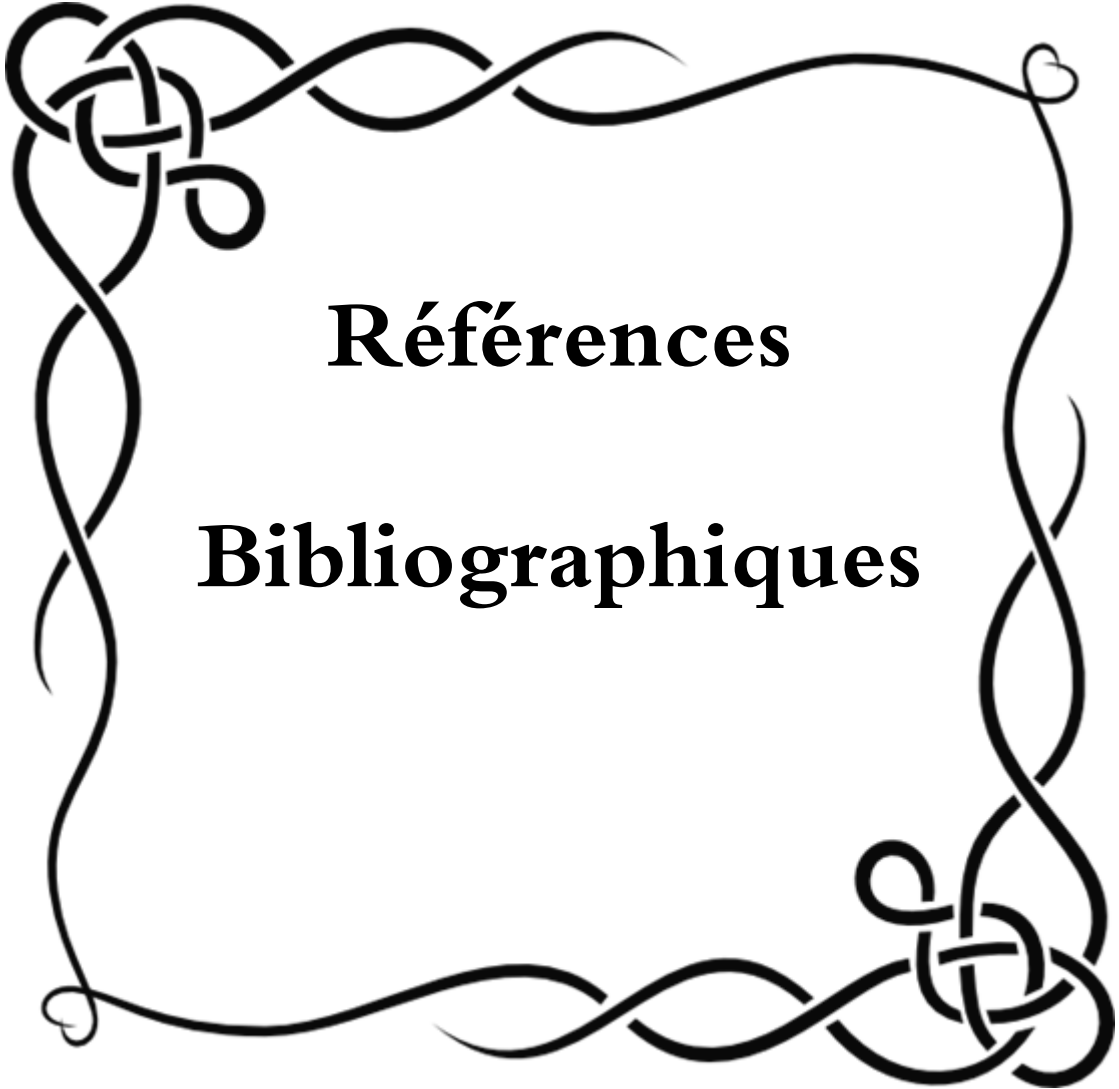
Dans la première partie de ce travail, nous avons procédé à l'extraction des molécules bioactives par macération en utilisant un mélange de solvant (Ethanol/eau), les résultats a montré la présence des polyphénols et des flavonoïdes dans tous les extraits éthanolique et aqueuse des trois plantes étudiées. il y avait aussi l'évaluation du contenu des polyphénol et des flavonoïdes, en adoptant la méthode de Folin ciocalteu et la méthode d'AlCl₃. Les résultats montrent que les concentrations des polyphéols dans les extraits des phases aqueuses sont plus élevées par rapport aux extraits des phases éthanolique pour les trois plantes. Par contre le taux des flavonoides est plus élevé pour les extraits de la phase éthanolique par rapport aux extraits des phases aqueuses.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons procédé les tests de DPPH, ABTS et FRAP pour étudier l'activité antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux

Les résultats a révélé que les deux extraits de Nerprun et de l'armoise blanche ont une activité antioxydante différentes, sachant que l'extrait aqueux est le plus actif.. Les résultats obtenus par les extraits organiques et aqueux de l'armoise rouge montrent qu'il existe une grande variabilité entre les valeurs IC50% obtenues par test de DPPH et le test d'ABTS

Les activités antioxydantes des trois plantes mesurées par le test de FRAP montrent des valeurs très proches entre les phases organiques et les phases aqueuses.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une petite partie de la recherche nous envisageons comme perspective d'étudier des composés phénolique présences et leur structures par des techniques précises comme la CPG-SM, la RMN et l'HPLC.



Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

B

- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. 30: 609-615.

E

- **Eloff J.N. (1998).** Which extractants should be used for the screening and isolation of Antimicrobial components from plants *Journal of Ethno-pharmacology*, 60 : 1-8
- **Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. & Ferchichi A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology* 20 (2), 788-793.
- **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., & Curini, M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68(7), 939-953.

H

- **Hans W. K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p 6-7.
- **Hubert, M.H. and Wijekoon, P. (2006)** Improvement of the Liu Estimator in Linear Regression Model. *Statistical Papers*, 47, 471-479.

K

- **K. Hammer**, « *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. , Sp. Pl., 1105. 1797 [[archive](#)] », *sur Mansfeld's World Database of Agriculture and Horticultural Crops*, 2001 (consulté le 30 mai 2021).
- **Kim et al., 2003.** *J. Anim. Sci. Technol.*, 45 (5): 759-766. Document reference. Kim, E. J. ; Ahn, B. K. ; Kang, C. W., 2003.

L

- **LAHMER Nadjat & MESSAI Soumia et DJEMAI ZOUGHLACHE Soumia,** Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines

du Zizyphus lotus (L) **2017**. Mémoire de Master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des Frères Mentouri Constantine .

M

- **Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S. (2006)**. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Libanaise Science Journal. 7(1), 3-8.
- **MAHMOUDI Souhilaa , KHALI Mustaphaa et MAHMOUDI Nacéra** .Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*) « Nature & Technologie ». **2013**. Pages 35 à 40.
- **Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005)**. Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.

O

- **Oyaizu M. (1986)**. **Studies** on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japan Journal of Nutrition. 44, 307-315.

P

- **Prior, R. L., X. Wu et K. Schaich (2005)**. "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements." Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(10): 4290-4302.

R

- **Ribereau-gayon J., Reynaud E. (1968)**. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Edition Dunod, Paris. France. P254.

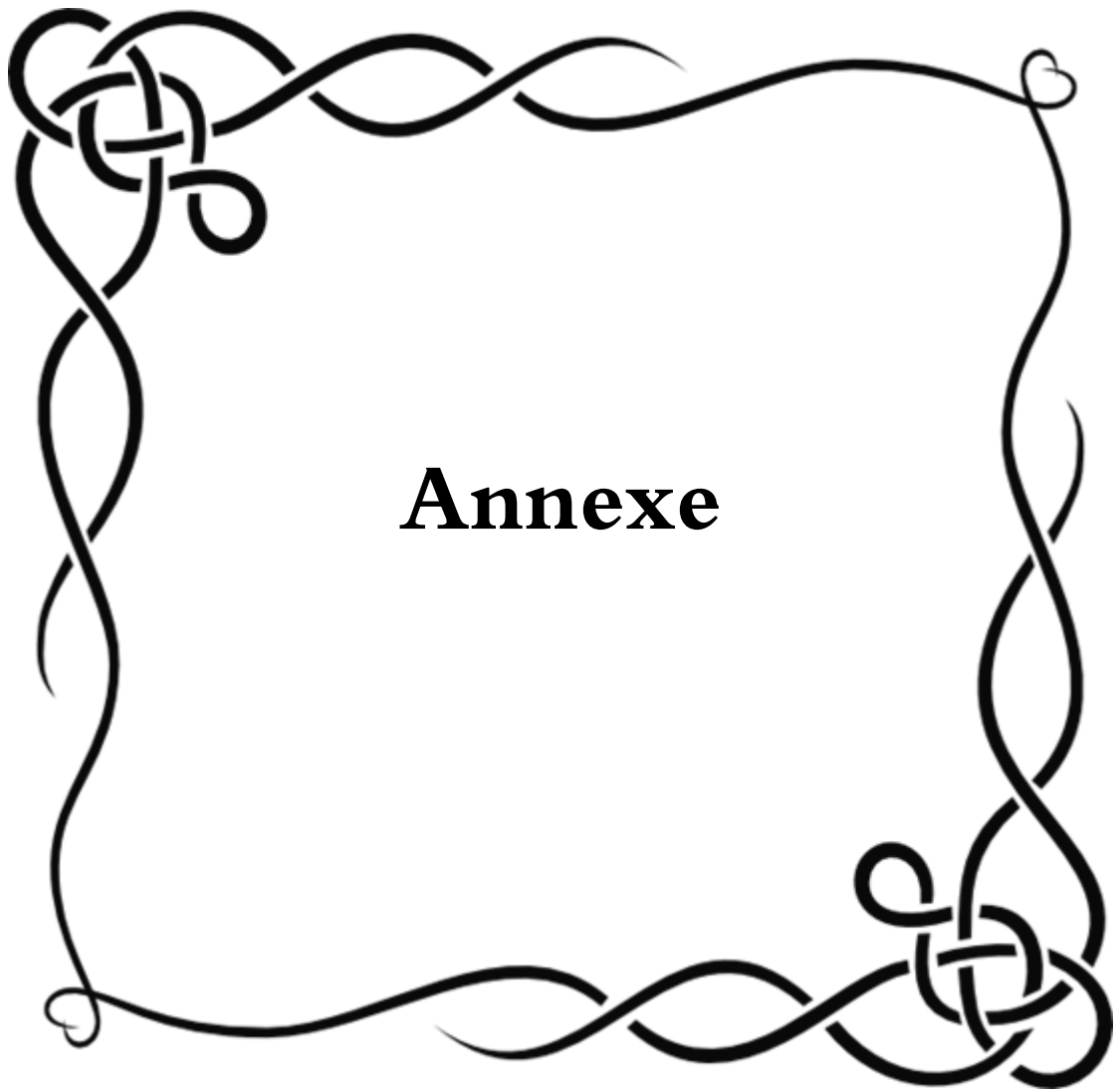
S

- **Sanchez-Moreno, C. (2002)** Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological Systems. International Journal Of Food Science and Technology, 3, 121-137.

- **Sanchez-Moreno et al. (1998).** Main methods used in lipid oxidation determination. Food science and technology international, 4, 391-399
- **Siddhuraju P., Becker K., (2007).** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. 101(1), 10- 19.
- **Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. (1999);** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology.299 : 152-178

W

- **www.researchgate.net/figure/Reaction-of-the-ABTS-radical-in-the-presence-of-the-antioxidant-compound-during-the-ABTS**



Annexe 1 : Les courbes de test DPPH pour les trois plantes

Plante-I

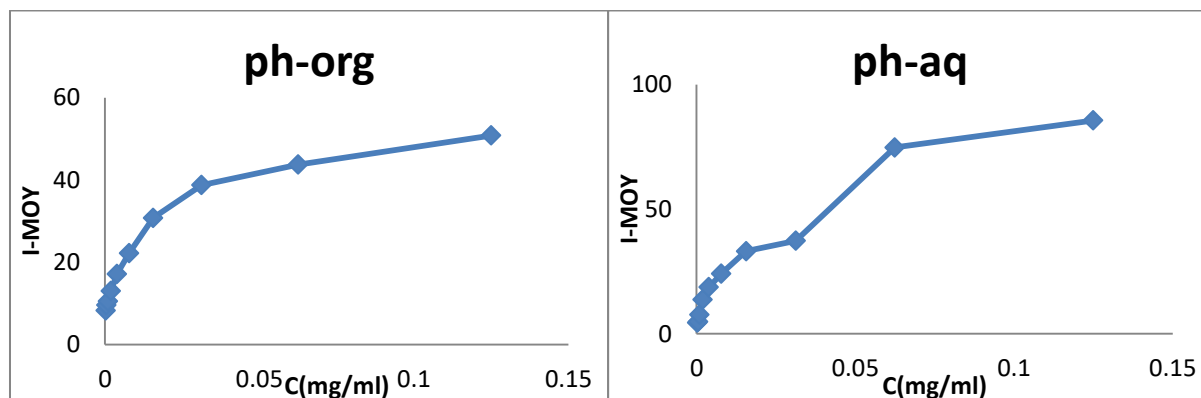


Figure 1 : Activité antioxydante DPPH des deux fractions plante-I

Plante-II

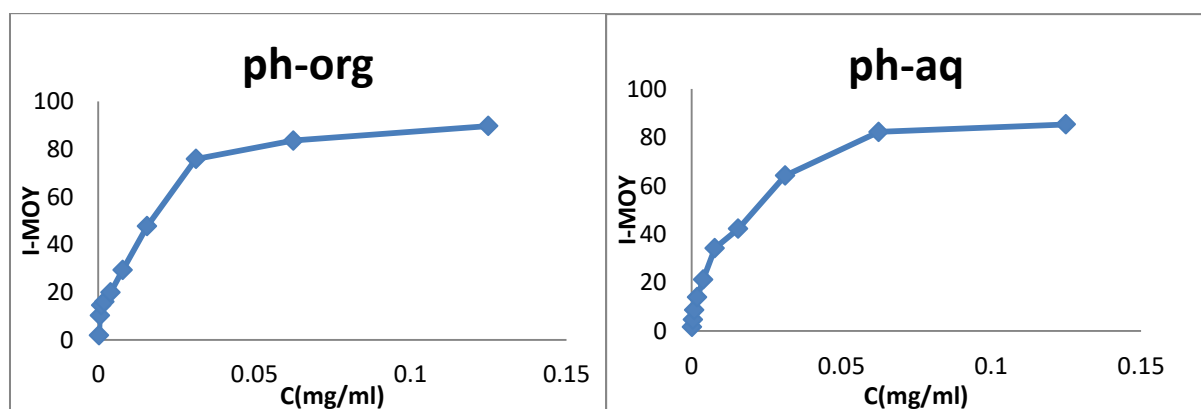


Figure 2 : Activité antioxydante DPPH des deux fractions Plante-II

Plante-III

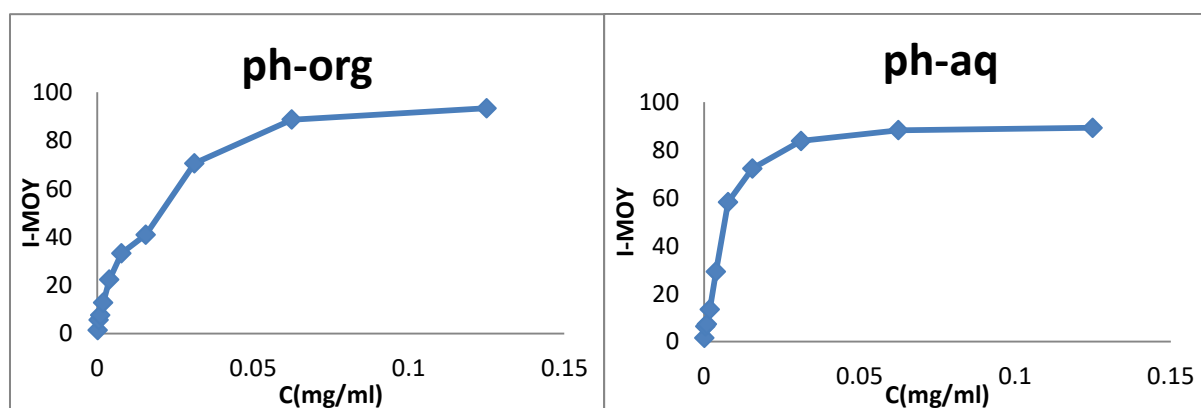


Figure 3 : Activité antioxydante DPPH des deux fractions Plante-III

Annexe 2 : Les courbes de test ABTS pour les trois plantes

Plante-I

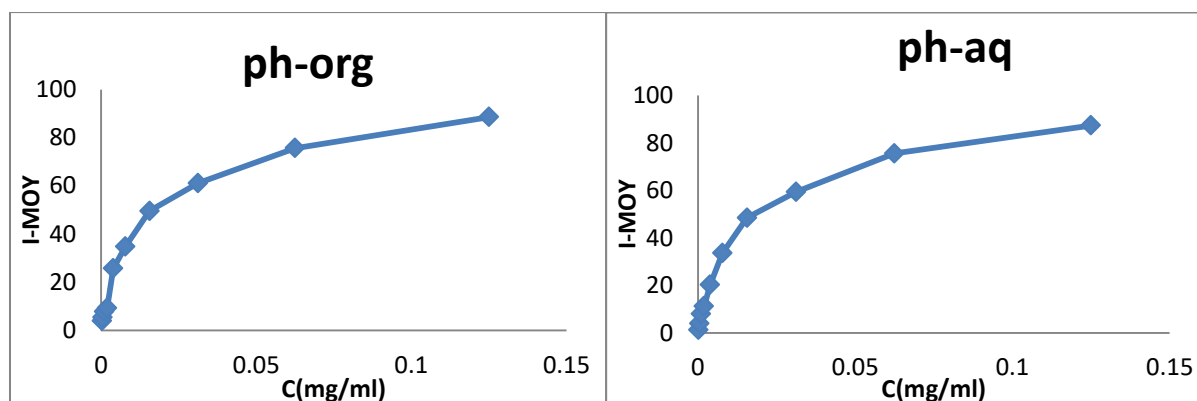


Figure 1 : Activité antioxydante ABTS des deux fractions Plante-I

Plante-II

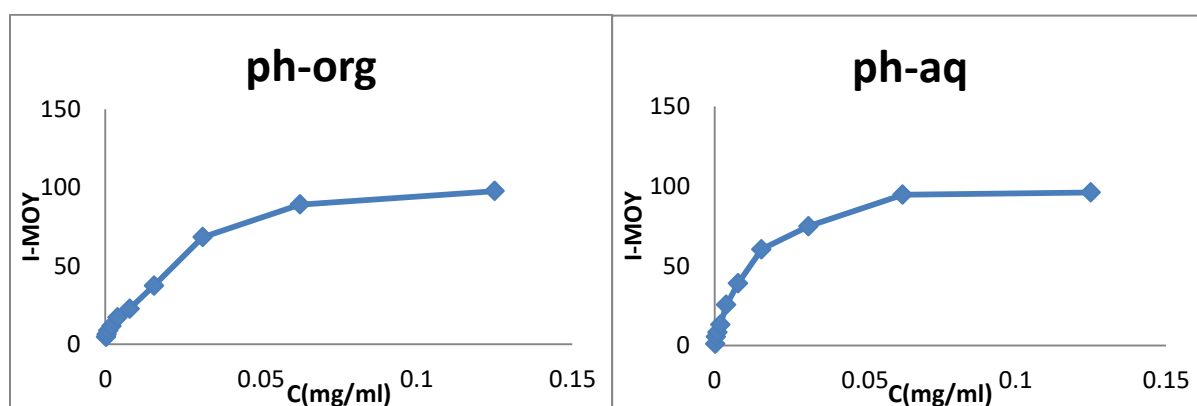


Figure 2 : Activité antioxydante ABTS des deux fractions Plante-II

Plante-III

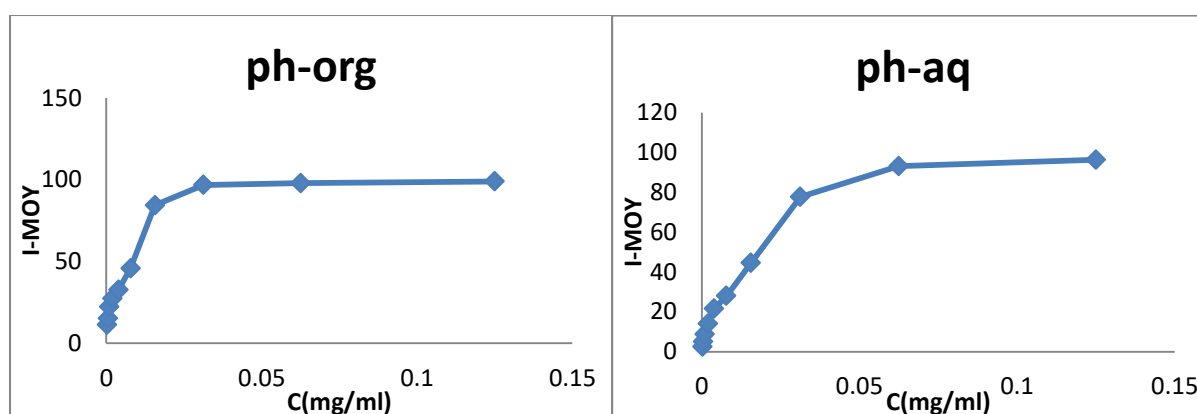


Figure 3 : Activité antioxydante ABTS des deux fractions Plante-III

Annexe 3 : Les courbe de test FRAP pour les trois plantes

Plante-I

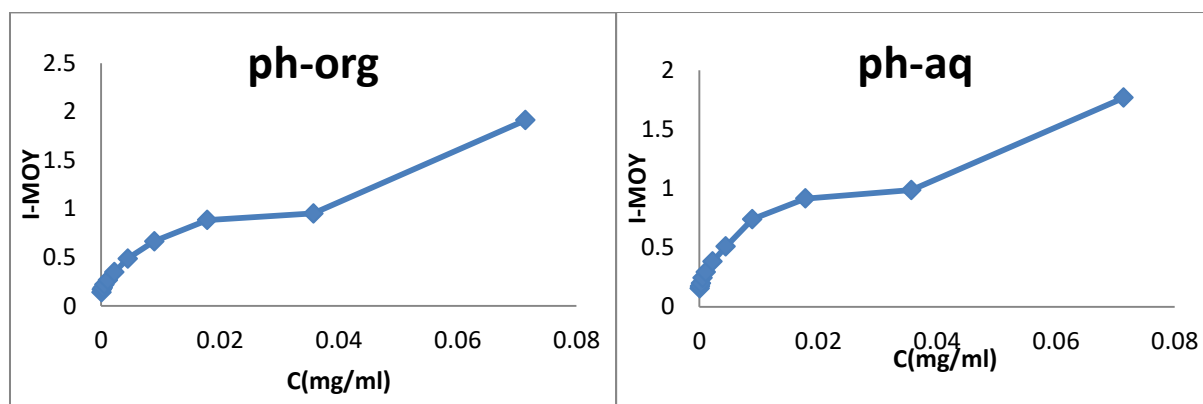


Figure 1 : Activité antioxydante FRAP des deux fractions Plante-I

Plante-II

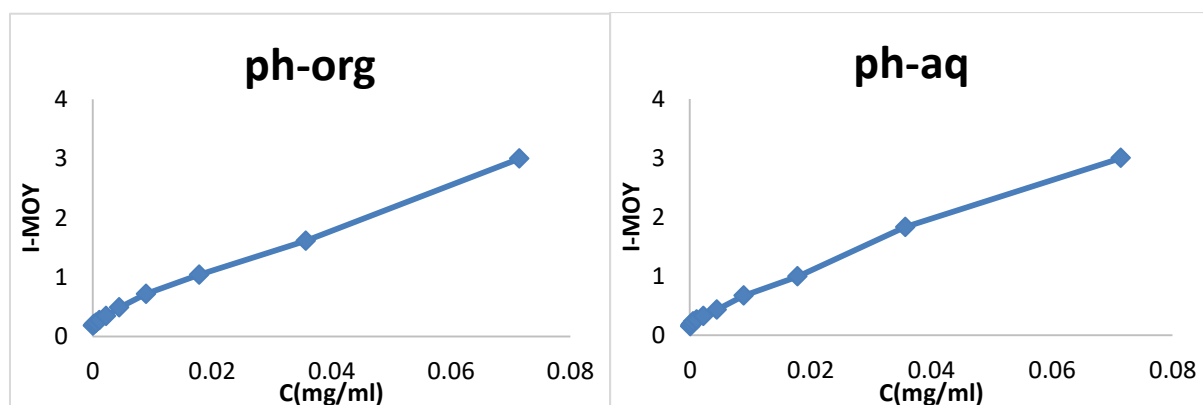


Figure 2 : Activité antioxydante FRAP des deux fractions Plante-II

Plante-III

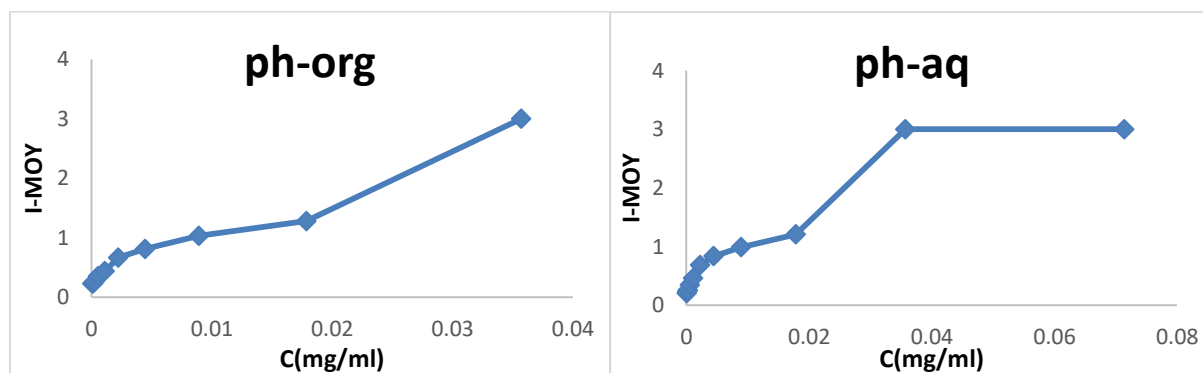


Figure 3 : Activité antioxydante FRAP des deux fractions Plante-III

Annexe 4 : Les réactifs et les produits chimiques

Produit	Structure	Marque
Ethanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	BIOCHEM Chemopharma
Eau distillé	H_2O distillé	
Hexane	C_6H_{14}	SupraSolv
Acétate d'éthyle	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	Sigma – Aldrich
Acide gallique	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	Sigma – Aldrich
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	Sigma – Aldrich
FolinCiocalteu		Sigma – Aldrich
Quercétine	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	Sigma – Aldrich
Chlorure d'aluminium	AlCl_3	VWR CHEMICALS
DPPH (2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl)	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$	Sigma – Aldrich
ABTS 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4$	
ferricyanure de potassium	$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	(BDH) laboratory reagents
Dihydrogénophosphate de potassium	KH_2PO_4	Fluka.chemika
Hydrogénophosphate de potassium	K_2HPO_4	ApplichemPanreac
Chlorure de fer(III)	FeCl_3	PROLABO
Acide trichloroacétique (TCA)	$\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$	AnalarNormapur
Acide ascorbique	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	Sigma - Aldrich



Résumé

Résumé

Résumé

Dans le cadre de notre travail, nous sommes intéressées à l'étude de l'activité antioxydante des extraits ethanoliques et aqueuses de trois plantes médicinales locales : fruits de jujubier (N'beg), Armoise blanche et l'Armoise Rouge. Les résultats montrent que les concentrations des polyphénols dans les extraits des phases aqueuses sont plus élevées par rapport aux extraits des phases éthanolique pour les trois plantes. Par contre le taux des flavonoides est plus élevé pour les extraits de la phase éthanolique par rapport aux extraits des phases aqueuses. Les résultats des tests DPPH, ABTS, FRAP démontrent la présence des principes actifs antioxydants dans les deux extraits organiques et aqueuse avec des proportions différentes. Les activités antioxydantes des trois plantes mesurées par le test de FRAP montrent des pouvoirs réducteurs très proches entre les phases organiques et les phases aqueuses.

Mots clés : polyphénols, phase éthanoliques , phase aqueux, fruits de jujubier (N'beg), Armoise blanche et l'Armoise Rouge , DPPH, ABTS, FRAP.

Abstract

In the context of our work, we are interested in studying the antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts from three local medicinal plants: sidr fruits (N'beg), White Mugwort, and Red Mugwort. The results show that the concentrations of polyphenols in the aqueous extracts are higher compared to the ethanolic extracts for all three plants. However, the levels of flavonoids are higher in the ethanolic extracts compared to the aqueous extracts. The results of the DPPH, ABTS, and FRAP tests demonstrate the presence of antioxidant active compounds in both organic and aqueous extracts, albeit in different proportions. The antioxidant activities of the three plants measured by the FRAP test show very similar reducing powers between the organic and aqueous phases.

Keywords: polyphenols, ethanolic phase, aqueous phase, DPPH, ABTS, FRAP.

ملخص:

في إطار عملنا، نحن مهتمون بدراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية والمائية من ثلاثة نباتات طبية محلية: ثمار السدر (نيج)، والشيح الأبيض، والشيح الأحمر. تظهر النتائج أن تراكيز البوليفينولات في المستخلصات المائية أعلى مقارنة بالمستخلصات الإيثانولية للنباتات الثلاثة. ومع ذلك، تكون مستويات الفلافونويد أعلى في المستخلصات الإيثانول مقارنة بالمستخلصات المائية. تظهر نتائج اختبارات DPPH، ABTS و FRAP وجود مركبات نشطة مضادة للأكسدة في المستخلصات العضوية والمائية على حد سواء، على الرغم من اختلاف النسب. تظهر أنشطة مضادة الأكسدة للنباتات الثلاثة التي تم قياسها باستخدام اختبار FRAP قوى تخفيضية متشابهة جدًا بين المستخلصات العضوية والمستخلصات المائية.

كلمات مفتاحية: بوليفينولات، مستخلصات إيثانولية ، مستخلصات مائية، النبق، الشيح، التقفت FRAP، ABTS، DPPH.