

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 تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique Appliquée

Présentée par

M^{lle}. BADERANI Messoouda

THEME

Contenu en composé phénoliques et évaluation du pouvoir anti radicalaire de deux variétés de colza cultivées en Algérie

Soutenu publiquement le 25/06/2023 devant le jury composé de :

Mme. BOUZIANE AMAL	MCB	Présidente
Mme. AMI YASMINE	MAA	Examinatrice
Mme. NOUREDDINE ASMAA	MCB	Examinatrice
Mr. YOUSFI MAHAMED	Professeur	Invité d'honneur
Mme. BENGUECHOUA Madjda	MCA	Promotrice

Année Universitaire 2022/2023

Dédicaces

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes très chers frères Boualam et Mohamed et mes belles sœurs Soumia, Houda et Mouna.

Tout ma famille : Bedrani

Mes amies : Cherif Khaled, Ben Yagoub Meriem

A mon défunt frère El Hadj

Remerciements

*À l'issue du cycle de notre formation nous tenons à remercier dieu le tous
puissant.*

*Mes remerciements les plus sincères vont à ma promotrice Mme Benguechoua
Madja pour leurs conseils précieux et leurs suivis qu'il ma prodigué durant
tout notre travail.*

*Mes remerciement aussi Pr Yousfi Mohamed et tous les chercheurs de
laboratoire des sciences fondamentales pour leurs assistances très bénéfique*

*Mes vifs remerciements vont aux membres de jury, la présidente Mme.
Bouziane Amel et les deux examinatrices Mme. Ami Yasmina et Mme
Noureddine Asmaa. pour avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également aux responsables de laboratoire des
sciences de la matière*

*En fin toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement
de ce mémoire soit sincèrement remerciée et les enseignants qui ont participé à
nos formation soient sincèrement remerciés.*

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

DPPH : Diphényle-2,2 Picryl- 1 hydrazine

EAG : Equivalent acide gallique

EC : Equivalent catéchine

EQ : Equivalent quercétine

ERO : Les espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Ferric Reducing antioxidant power

HCl : Acide chlorhydrique

g : Gramme

m : La masse

MeoH : Méthanol

Mg : Milligramme

MS : Matière sèche

Mt : Millions de tonnes

PAR : Pouvoir anti radicalaire

R % : Rendement

UE : Union Européen

UV : Ultra violet

VCEAC : Vitamine C équivalent antioxydant capacity

Liste des figures

Figure 01 : La composition de graine de colza	03
Figure 02 : Le producteur du colza en 2018	03
Figure 3 : Localisation géographique de la wilaya Bordj Bou Arreridj	09
Figure 4 : les étapes d'extraction des composés phénoliques	11
Figure 5 : structure de base des flavonoïdes	13
Figure 6 : Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant.....	14
Figure 7 : Réaction de la méthode FRAP.....	15
Figure 8 : Histogramme des Rendements d'extraction des composés phénoliques dans les différents extraits	18
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	18
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	19
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	22
Figure 12 : Histogramme des teneurs en phénol totaux et en flavonoïdes en tanins de colza origine	23
Figure 13 : Histogramme des teneurs en phénols totaux et en Flavonoïdes et en tanins de Colza hybridé	26
Figure 14 : Variation de la concentration en phénols totaux en fonction du rendement d'extraction des différents extraits du colza	27
Figure 15 : Variation de la concentration en phénols totaux en fonction de la teneur en flavonoïdes des différents extraits du colza	28
Figure 16 : La courbe d'étalonnage de la vitamine C	29
Figure 17 : la capacité anti oxydante total de deux variétés de colza	30
Figure 18 : corrélation entre VCEAC et la teneur en phénols totaux	31

Figure 19 : La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	32
Figure 20 : Histogramme représentant La capacité des extraits de deux variétés de colza	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Réactifs chimiques utilisés dans ce travail	08
Tableau 2 : classification classique et photo du colza	09
Tableau 3 : Aspect, couleur et rendement de chaque extrait de colza	17
Tableau 4 : Teneurs en phénols totaux de chaque extrait des deux variétés de colza...	20
Tableau 5 : Teneurs en flavonoïdes de chaque extrait des deux variétés de colza.....	22
Tableau 6 : Teneur en Tanins de chaque extrait des deux variétés de colza.....	24
Tableau 7 : pourcentage des flavonoïdes et tanins en % dans les polyphénols de chaque extrait de deux variétés de colza	25
Tableau 8 : VCEAC des différents extraits par le test DPPH des deux variétés de colza.....	29
Tableau 9 : VCEAC des différents extraits par le test FRAP des deux variétés de colza.....	33

Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I. Introduction générale.....	1
II. Matériels et méthodes.....	7
II.1.Réactifs chimiques et matériel végétal.....	8
II.1.1.Réactifs chimiques.....	8
II.1.2. Lieu et climat de la collecte des échantillons.....	8
II.1.2. 1.Classification botanique du colza	9
II.2. Extraction des composés phénoliques.....	10
II.3. Quantification des composés phénoliques	12
II.3. 1.Dosage des phénols totaux	12
II.3. 2.Dosage des flavonoïdes.....	12
II.3.3.Dosage des tanins.....	13
II.4.Evaluation de L'activité antioxydante.....	13
II.4.1.Mesure de l'activité anti radicalaire par la méthode DPPH	13
II.4.2.Test de FRAP.....	14
III.Résultats et discussions.....	17
III.1 Rendements des extraits phénoliques.....	17
III.2Analyses colorimétriques par spectrophotométrie UV-Visible.....	18
III.2.1Les teneurs en phénols totaux.....	18
III.2.2Les teneurs en Flavonoïdes.....	21
III.2.3 Les teneurs en tanins	23
III.3 Evaluation de l'activité antioxydante.....	28

III.3 .1 le test chimique DPPH.....	28
III.3 .2 Test de FRAP	32
IV. Conclusion.....	35
Références bibliographiques.....	38

Introduction générale

Introduction générale

Aujourd'hui, les plantes médicinales, aromatiques et oléagineuse sont considérées comme un élément important du patrimoine traditionnel de santé humaine. Elles sont utilisées dans de nombreuses activités telles que la médecine, la fabrication, les tissus, et les parfums.

Les oléagineux sont considérés comme l'un des cultures stratégiques les plus importantes dans les pays du monde, puisqu'ils sont sources importante d'aliment, ou les gens consomment se différentes façon dans leur alimentation, et il est également l'un des produits alimentaires importants qui ont un ont écart importantes pénuries alimentaires à cause l'incapacité des producteurs locaux à satisfaire la croissance de la consommation de ce produit. En faisant osciller leurs prix locaux.

Dans le monde, la production d'oléagineux a considérablement augmenté ces dernière années pour répondre à la forte demande en huiles végétales mais aussi en protéines . les principaux producteurs de graines oléagineuses dans le monde sont les Etats –unis avec 23% Du marché [1].

En 2017, les principales graines oléagineuses produites dans le monde ont été le soja (60%), suivi du colza (12%) , et u tournesol (8%) . [1]

Les statistiques pour l'année 2002 en Algérie montrent une augmentation de l'importation des huiles végétales avec une consommation d'année sur l'autre. De 200000 tonnes en 1980 à 320000 tonnes en 2010, Après une pause de qui a duré plusieurs années pour cette culture oléagineuses pour atteindre l'autosuffisance en huile alimentaire. [2]

Le colza (*Brassica napus L*) ou Rape en anglais ,colza en espagnol ,en italien et en portugais , est une espèce annelle à la familles des brassicaceas [3] , c'est une sources d'huile végétales en Algérie, cultivé pour ses graines oléagineuses. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour produire de l'huile de colza , qui est riche en acides gras essentielles tels que l'acide linoléique et l'acide oléique , qui favorisent la santé , contribuent à améliorer la santé des maladies cardiaque et des vaisseaux sanguins et à abaisser la taux de cholestérol dans le sang . Il contient également des fibres alimentaires qui améliorent la santé du système digestif et réduisent le risque de maladies chroniques telles que le diabète et les maladies cardiaque. Le colza est également utilisé comme source d'alimentation du bétail et comme matière première pour la production de biocarburants et pour la fabrication de savon. [4]

Introduction générale

La culture des graines de colza remonte à des milliers d'années, car le bras du colza est tracé depuis l'Asie bien que son développement ait eu lieu dans de nombreux pays du monde, dont l'Inde, la Suisse et l'Allemagne. L'Australie, le Danemark, la Hollande, la Roumanie et l'Europe cependant, la plupart des travaux de développement de colza moderne de haute qualité dit canola ont été réalisés au Canada [5]

Le colza est le seul oléagineux qu'on peut cultiver par tous dans le monde, étant donné leur teneur élevée en huile et en protéines environ 46% et 21% respectivement [6].

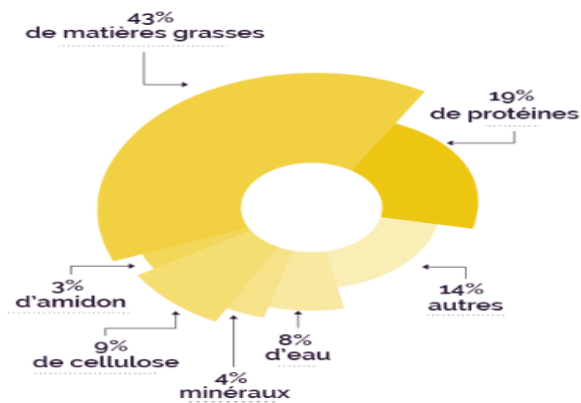


Figure 01 : La composition de graine de colza [7]

Avec une production mondiale annuelle de l'ordre de 64 millions de tonnes (Mt), le colza occupe une position stratégique dans la production de graines oléagineuses. Dans l'Union Européenne (UE) elle représente la première graine oléagineuse produite localement. Au Canada le canola est devenu l'une des exportations agricoles les plus précieuses [8]

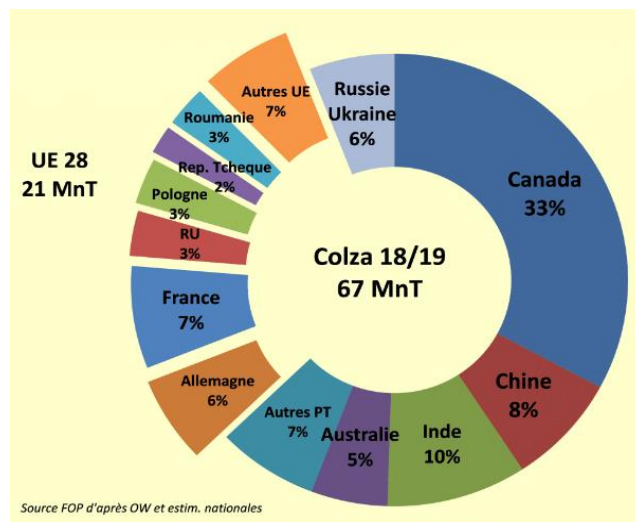


Figure 02: Le producteur du colza en 2018 [8]

Introduction générale

Les composés phénoliques ou poly phénols sont des métabolites secondaires végétaux, dont la structure est caractérisée par un ou plusieurs cycles aromatiques.[9], Il existe plus de 8 000 composés phénoliques différents connus avec différentes structures. Les composés phénoliques sont considérés comme des ingrédients naturels importants dans les aliments .on trouve dans de nombreux légumes ,fruits et noix , Ils se caractérisent par leur propriétés antioxydant et anti inflammatoires comme les carottes par exemple peuvent également être utilisées pour prévenir de nombreuses maladies chroniques telles que les maladies cardiaques , le colon , le diabète et les maladies inflammatoires [10].

Les composés phénoliques peuvent être divisés en fonction de leur structure Ils sont divisés en plusieurs sections : les phénols simples, les acides phénoliques et coumarine et isocoumarin et naphthoquinone et xanthone et stilbene et antraquinone et flavanoïdes et lignane et tanins et de Parmi ces catégories , les acides phénoliques et les flavonoïdes représentent les sections les plus répandues . [11]

Les flavonoïdes sont le groupe le plus important de la famille des polyphénols et se composent de plus de 4 000 composés. C'est du poids molécule faible, contenant 15 atomes de carbone disposés selon une configuration (C6–C3–C6) sur deux cycles aromatiques (cycles A et B) relié à une chaîne de 3 atomes de carbone appelée le cycle C. [12]

Les flavonoïdes sont divisés en 13 familles selon le nombre d'échangeurs d'hydroxyles et la présence de doubles liaisons entre C2 et C3 dans boucle C; Et le plus important Flavones , flavanoles , Flavonoles , Flavanones ,Isoflavones , Anthocyanins , anthocyanidins . [12]

Les Tanins sont des composé phénoliques à haut poids moléculaire allant de 500 à 3000 Daltons Il est largement distribué dans les aliments et les fourrages d'origine végétale, , les feuilles et les racines ont responsables du gout des fruits et légumes (raisins , dattes , café) , les tanins sont caractérisé en étant capable de se lier à des protéines formant des complexes qui conduisent à la sédimentation, les tanins sont classées comme hydrolysables et tanins condensé [13].

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié . transitoire seulement et corrigez le soit en acceptant un autre électron , soit en transférant cet électron à une autre molécules [14]

Introduction générale

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres dérivés de l'oxygène moléculaire et représentent la plus grande classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants. [15]

Les radicaux libres endommagent les cellules et les tissus du corps et provoquent de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et l'athérosclérose. Les antioxydants préviennent ou réduisent l'excès d'oxydation dans le corps, protégeant ainsi les cellules et les tissus des dommages causés par l'excès d'oxydation. [16]

Les antioxydants sont définis comme tout produit chimique qui peut dégrader ou ralentir

Il inhibe significativement les processus d'oxydation des substrats biologiques [17]. Ce sont des composés qui réagissent contre les radicaux libres et les rendent si inoffensifs [18]

Les antioxydants présents dans les plantes sont connus pour leur effet sur le ralentissement des processus de stress oxydatif car ils contiennent un large éventail de ressources antioxydantes naturelles telles que des vitamines, des minéraux, des polyphénols et des flavonoïdes [19]

Auparavant des études ont été menées ont prouvé que le colza contient des quantités élevées des composés phénoliques par rapport aux autres oléagineux. Les plus importants de ces composés sont les dérivés de l'acide sinapique et acide de hydroxy cinnamique et le plus commun est le sinapine [20], bien que d'autres petits composés phénoliques dans le colza comprennent l'acide p-hydroxy benzoïque, vanillique, gentisique, protocatéchique, syringique, p-coumarique, férulique, caféique et chlorogénique et dans les feuilles de colza oléagineux quatre acides hydroxy cinnamiques (caféique, p-coumarique, férulique, et acide sinapique) [21]

Une autre étude a prouvé la présence de types de flavonoïdes, mais en faible quantité, dans le colza, on distingue deux flavonoïdes majoritairement sont les 3-(o-sinapoyl .sophoroside)-7-o-glucoside kaempférol et 3-(o-sinapoyl .glucoside)-7-o-sophoroside kaempférol [22]

Des études sur les tanins condensés du colza ont été rapportées pour la première fois avant Ribereau Gayon et Bate-Smith Vérifiez ensuite ce résultat et ont montré que les tanins condensés étaient principalement localisés dans les pellicules de colza, Durkee (1971) qui a identifié la cyanidine et la pélargonidine [23]. Leungat (1979) on trouvé leucocyanidine comme principale sous-unité présente et ils ont émis l'hypothèse que les tanins condensés existaient majoritairement sous forme de polymères de leucocyanidine [24]. Shahidi (1990) et Naczki ont également trouvé que les variétés de colza contiennent de 0.68% à 0.77% des tanins condensés [25].

Introduction générale

Auger ont montré que les proanthocyanidines présentes dans les pellicules de colza étaient des oligomères de (-)-épicatéchine [26]

L'objectif de notre travail est la quantification des extraits phénoliques et l'évaluation de leur pouvoir antioxydant des deux variétés de colza cultivées en Algérie

L'étude comprend trois parties : une introduction générale, une deuxième partie qui est consacrée à la présentation du matériel et la description des protocoles expérimentaux utilisés et une troisième partie qui est réservée à la présentation et la discussion des résultats obtenus. Elle termine par une conclusion et des perspectives.

Matériels et Méthodes

II. Matériels et méthodes

II.1. Réactifs chimiques et matériel végétal

II.1.1. Réactifs chimiques

Tous les produits utilisés dans ce travail sont d'un grade analytique élevé (Tableau 1)

Tableau 1 : Réactifs chimiques utilisés dans ce travail

Produits	Formules chimiques	Firme
Méthanol Acétone Hexane	CH_3OH $\text{CH}_3\text{H}_6\text{O}$ C_6H_{14}	Honeywell/ Riedel- de haen
Acide ascorbique acétate d'éthyle DPPH Trichlorure d'aluminium Catéchine Acide gallique sulfate de sodium Quercétin Réactif de Folin Ciocalteau Vanilline	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ $\text{C}_4\text{O}_2\text{H}_8$ $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ AlCl_3 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ Na_2Co_3 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$; $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	Sigma – Aldrich
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	Biochem- chemopharma
Sulfate de sodium anhydride	Na_2So_4	Fluka
Acide chlorhydrique	Hcl	Analar normapur
Acide acétique acétate de sodium Chlorure de fer	CH_3CooH $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ Fecl_3	Prolabo

Nous avons utilisé un spectrophotomètre **UV nano 3000** de type **SHIMADZU**, et les résultats sont traités par **Microsoft office Excel 2010**.

II.1.2. Lieu et climat de la collecte des échantillons

La collecte des grains de deux variétés de colza (*Barassica-napus .L*) origine et hybridé a été effectuée au cours de l'année 2021 au niveau de la région de Bordj Bou Arreridj- qui caractérisé par un climat tempéré méditerranéen.




Figure 3 : Localisation géographique de la wilaya Bordj Bou Arreridj

Le matériel végétal investigué est séché à l'abri de la lumière et de l'humidité puis broyé à l'aide d'un mortier traditionnel.

II.1.2. 1. Classification botanique du colza :

Tableau 2 : Classification classique et photo du colza [27]

Classification classique	photo
<p>الاسم بالعربية: الكانولا / السلجم الزيتي</p> <p>Règne : plantae</p> <p>Sous -règne : tracheobionta</p> <p>Division : magnoliophyta</p> <p>Classe : magnoliopsida</p> <p>Sous classe : dilleniidae</p> <p>Ordre : capparales</p> <p>Famille : brassicaceae (crucifères)</p> <p>Genre : brassica</p> <p>Espèce : brassica napus</p> <p>Sous famille : brassicoideae</p> <p>Nome binomina : brassicoideae</p> <p>L'intérêt thérapeutique : Le colza est une source importante de deux des acides gras essentiels nécessaires à l'organisme et une source d'acides oméga-3 , que l'homme ne consomme pas en rôle important dans la temporalité des maladies cardiaques et vasculaires et certaines maladies inflammatoires [28].</p>	 <p>https://www.shutterstock.com/fr/image-photo/rapeseed-plant-yellow-flowers-seeds-mustard-1392360443</p>

II.2. Extraction des composés phénoliques

L'objectif de l'étape de l'extraction est de séparer les substances phénoliques de la poudre solide et de les faire passer en solution. Pour l'extraction des composés phénoliques des tourteaux des grains de colza on a employé l'extraction à froid ou macération l'une des méthodes d'extraction les plus utilisés.

La macération est un processus qui consiste à laisser la poudre ou la graine de matière végétal pendant une longue période avec le solvant pour extraire les principes actifs .

La macération des tourteaux des grains de colza de deux variétés a été réalisé par quatre système de solvant : Méthanol /eau **80/20 :V/V**, Acétone / eau **70/30 :V/V** , Acétone **100 ml** , Méthanol **100ml** à température ambiante à l'obscurité.

Le rendement de matière végétale de chaque extrait est calculé en utilisant la formule suivante : [29]

$$R\% = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

Ou :

R : le rendement en %

m1 : La masse de résidu sec (g)

m0 : la masse de la poudre végétale (g)

Les différentes étapes de l'extraction sont schématisées dans l'organigramme ci-dessous :

Matériels et méthodes

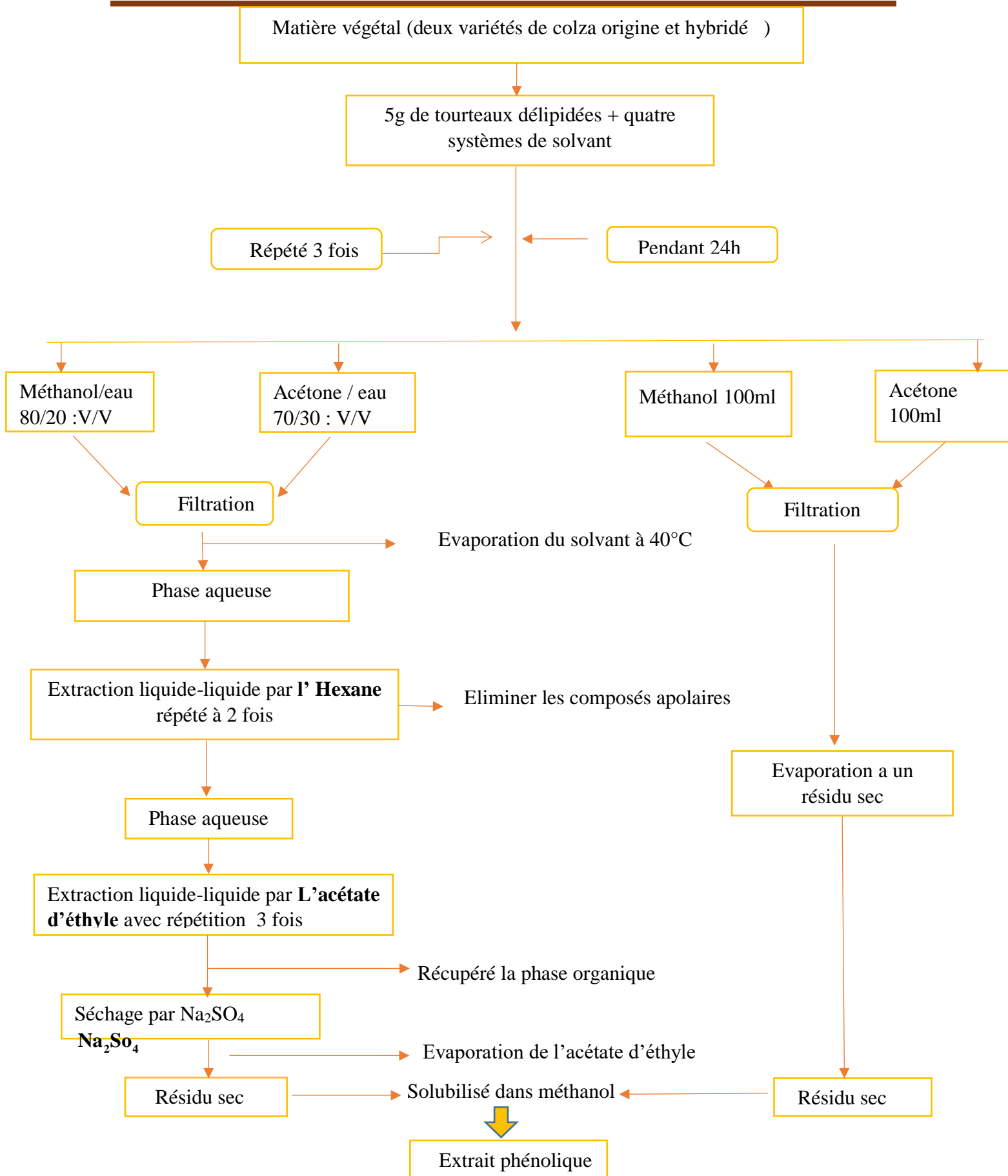


Figure 4 : les étapes d'extraction des composés phénoliques

II.3. Quantification des composés phénoliques

II.3. 1. Dosage des phénols totaux

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène[30]. La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [31]

Mode opératoire

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotomètre UV-visible [32]

Dans des tubes à essai, 100 μ l de chaque extrait ou de standard est mélangé avec 500 μ l de réactif de folin –ciocalteu (10%), après deux minutes, 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (5%) est ajouté à chaque tube. après une incubation du mélange réactionnel pendant (30min) à température ambiante et à l'obscurité. La lecture est effectuée contre un blanc à une longueur d'onde 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- visible.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à partir de concentrations de solution mère (0.5g/l).

II.3. 2. Dosage des flavonoïdes

Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes. Ce complexe est de couleur jaune et il absorbe à 430 nm [33]

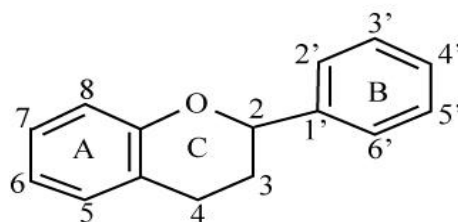


Figure 5 : structure de base des flavonoïdes

Mode Opératoire

un volume de 500µl de chaque extrait ou standard est ajouté a 500µl de AlCl₃ Préparé dans méthanol (2%), après incubation 15 min à température ambiante et à l'obscurité . L'absorbance a été mesurée à 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. La courbe d'étalonnage est effectuée par la quercétine à partir de concentration de solution mère (0,1g/L dans méthanol)

II.3. 3.Dosage des tanins

Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide [34] . Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins en présence d'acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 500 nm.

Mode Opératoire

Un volume de 100 µl de l'extrait ou standard est ajouté a 1000 µl réactif de vanilline et HCL (8 %(v/v) d'HCl à 36% dans le méthanol) et 1 % (m/v) de vanilline dans le méthanol , avec incubation a bain-marie à 30°C pendant 20 min. La lecture de l'absorbance est effectuée à 500 nm par spectrophotomètre UV-Visible , contre un blanc.

La courbe d'étalonnage est effectuée par la catéchine à partir de concentration de solution mère 3g/l

II.4. Evaluation de L'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante d'un produit peut se réaliser selon plusieurs méthodes. Au cours de cette étude nous avons choisi d'évaluer l'activité anti-oxydante avec deux techniques chimiques à savoir : pouvoir piégeage du radical libre DPPH et pouvoir réducteur de fer FRAP

II.4. 1. Mesure de l'activité anti radicalaire par la méthode DPPH

Principe

L'activité anti radicalaire a été évaluée en utilisant le DPPH, qui fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant [35]

Le DPPH (2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydante lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [36]

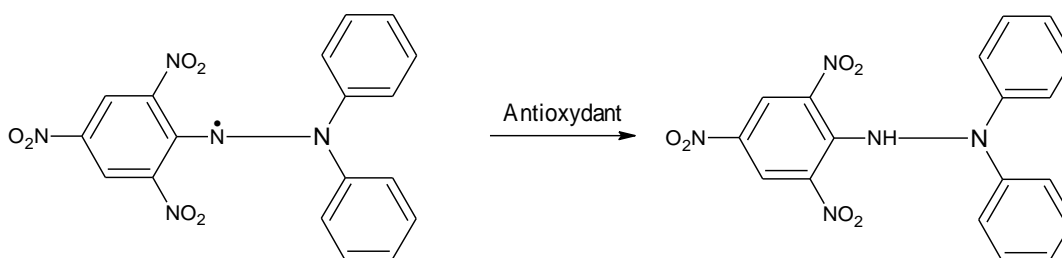


Figure 6 : Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant [37]

Mode opératoire

Une quantité de 1ml de chaque extrait (concentration croissante) est additionnée à 1ml d'une solution de DPPH• (250µM) préparée dans méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV-visible.

Les mesures de densités optiques en présences de chaque extrait nous ont permis de calculer le pouvoir anti radicalaire PAR et qui est estimé selon l'équation ci-dessous puis sont exprimés par rapport a la vitamine C par les paramètres VCEAC (vitamine C équivalent antioxydant capacity).

$$\text{PAR} = (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{extrait}}) / \text{Abs}_{\text{control}} \times 100$$

Abs_{control}: absorbance en absence d'antioxydante (contrôle négatif)

Abs_{extrait} : absorbance en présence d'antioxydante (extrait ou standard).

II.4. 2. Test de FRAP

Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés [38]

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm [39].

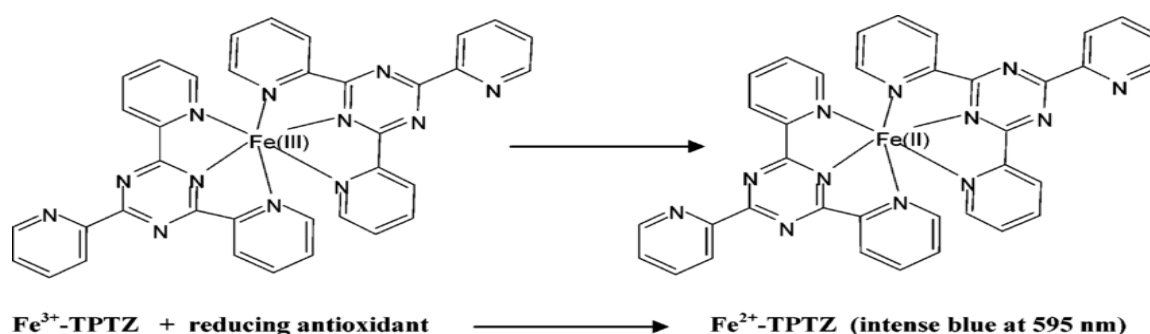


Figure 7 : Réaction de la méthode FRAP [40].

Mode Opérateur

La détermination de la capacité antioxydante par la méthode du FRAP est réalisée comme suit : Le réactif de FRAP était fraîchement préparé avec les proportions 10/1/1(v/v/v) d'une solution tampon (PH= 3.6), TPTZ (10Mm) et chlorure ferrique (20mM) respectivement.

Un volume de 50 μl des différents extraits ou standard ont été ajouté à 1ml du réactif de FRAP, après 7min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 595nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV-visible [41]

Une courbe d'étalonnage a été établie pour des différentes concentrations de vitamine C a fin de référer le pouvoir antioxydant exprimé en VCEAC (vitamine C équivalent antioxydant capacity).

-Toutes les mesures ont été effectuées trois fois, et les lectures moyennes ont été enregistrées.

Résultats et Discussions

III. Résultats et discussions

III.1 Rendements des extraits phénoliques

Les solvants d'extraction utilisées dans ce travail sont : le mélange hydrométhanolique, un autre hydroacétonique , méthanolique et acétonique. Le séchage de 5g de la tourteaux délipidées a l'obscurité est recommandé pour éviter sa dégradation causée par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire [42].de plus le broyage augmente la surface de contact avec le solvant et facilite sa pénétration a l'intérieurs des cellules [43].

Le tableau «3» présente les rendements des extraits, leurs couleurs et leurs aspects. Les extraits phénoliques obtenus présentent généralement un aspect visqueux de couleur jaune

Tableau 3 : Aspect, couleur et rendement de chaque extrait de colza

Les extraits		Rendements %	Couleurs	Aspects
Colza origine	Méthanol (100 v)	12.28	jaune	visqueux
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0.53	jaune	visqueux
	Acétone (100 v)	6.04	jaune	visqueux
Colza hybridé	Méthanol/eau (80/20 v/v)	13.97	jaune	visqueux
	Méthanol (100 v)	9.82	jaune	visqueux
	Acétone/eau (70/30 v/v)	1.69	jaune	visqueux
	Acétone (100 v)	4.72	jaune	visqueux

Les rendements de l'extraction de deux variétés de colza origine et hybridé varient entre 0.53% à 13.97%.

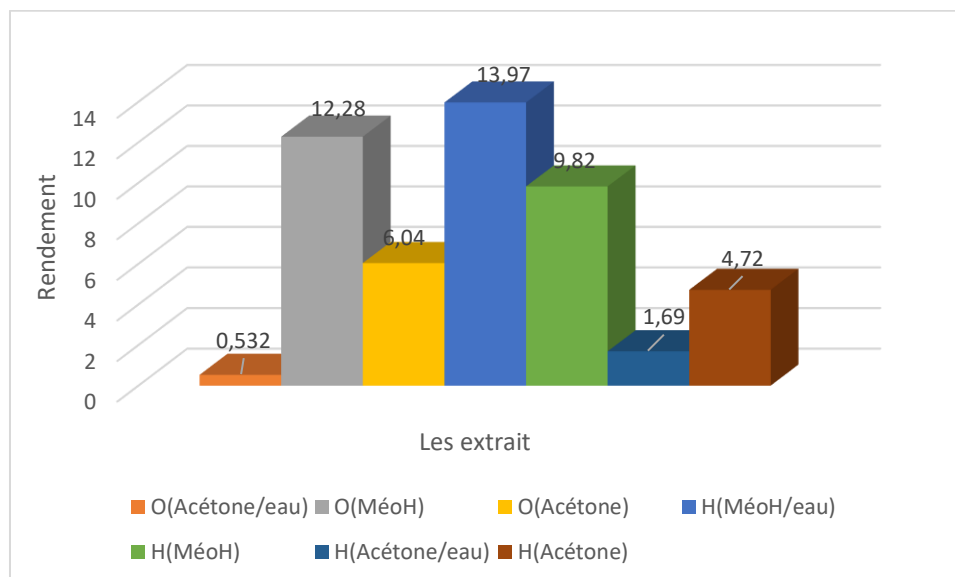


Figure 8 : Histogramme des Rendements d'extraction des composés phénoliques dans les différents extraits

Le meilleur rendement est observé par l'extrait hydrométhanolique de colza hybridé (13.97%) suivi par l'extrait Méthanolique de colza origine et hybridé 12.28% et 9.82% respectivement, tandis que les extraits acétonique de colza origine et hybridé ont présenté un rendement de l'ordre 6.04% et 4.72 % respectivement. Le plus faible rendement a été obtenu avec l'extrait hydroacétonique de colza origine avec de taux 0.53%.

Généralement cette différence dans les rendements entre les deux variété de colza est influencée par plusieurs facteurs tel que le type de plantes, la période de récolte, la nature de solvant, la solubilité des substances phénoliques et la polarité de chaque solvant [44] ainsi la durée d'extraction, la tailles des particules de l'échantillons, l'agitation et la température comme elle peut être liées aux composés à extraire particulièrement leurs masses moléculaires et leurs polarités.

III.2 Analyses colorimétriques par spectrophotométrie UV-Visible

III.2 .1 Les teneurs en phénols totaux

La détermination de la teneur en phénols totaux de deux variété de colza de chaque extrait à été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 8) et exprimée en

milligrammes équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g MS).
Ces valeurs représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèles \pm l'écart type.

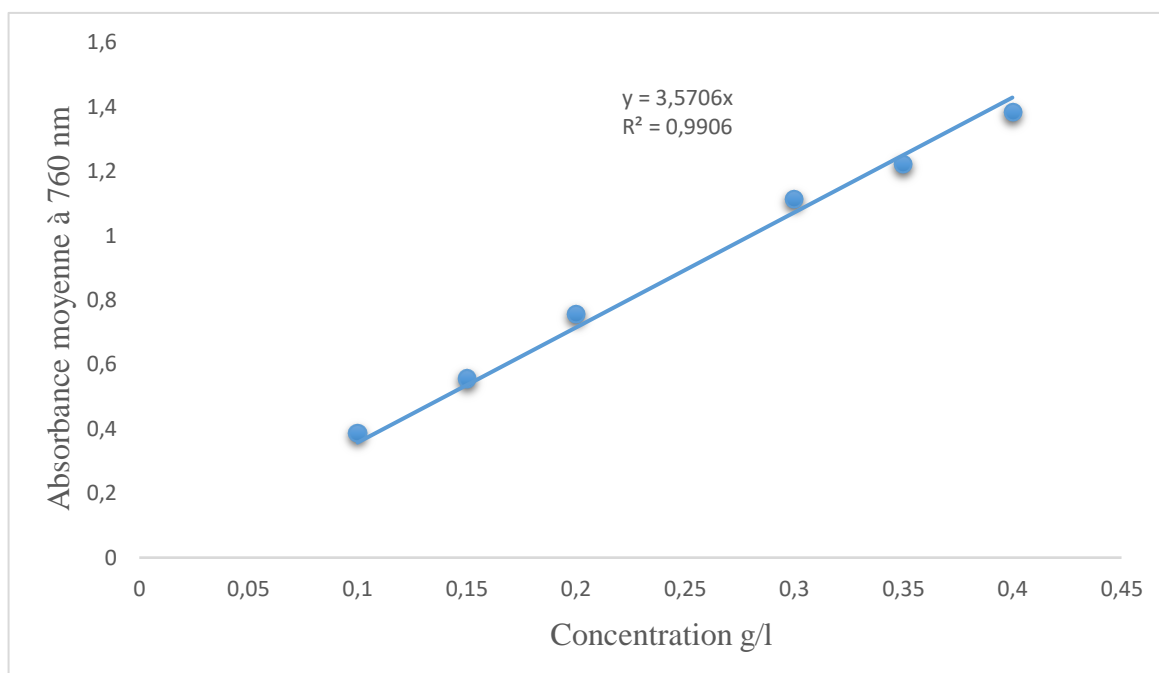


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats d'études quantitatives des teneurs en phénols totaux des différents extraits de deux variétés de colza sont présentés dans le tableau suivant :

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais réalisés en parallèles \pm l'écart type

Tableau 4 : Teneurs en phénols totaux de chaque extrait des deux variétés de colza

Les extraits		Teneurs en phénols (mg EAG /g MS)
Colza origine	Méthanol (100 v)	9.07 ± 0.059
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0.95 ± 0.0285
	Acétone (100v)	0.78 ± 0.0235
Colza hybridé	Méthanol /eau (80/20 v/v)	4.99 ± 0.015
	Méthanol (100 v)	4.75 ± 0.0021
	Acétone/eau (70/30 v/v)	1.88 ± 0.001
	Acétone (100 v)	1.28 ± 0.0025

D'après les analyses des résultats pour les dosages des phénols totaux, on constate que les teneurs en composés phénoliques varient entre 0.78 et 9.07 mg EAG / g MS.

Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés dans l'extrait méthanolique de colza origine (9.07 mg EAG / g MS), suivie par l'extrait hydrométhanolique et méthanolique de colza hybridé 4.99 et 4.75 (mg EAG / g MS) respectivement tandis que l'extrait hydroacétonique et acétonique de colza hybridé présentent des teneurs par ordre (1.88 mg EAG /g MS) et (1.28 mg EAG / g MS) .

Les teneurs les plus faibles sont remarquées dans les extraits hydroacétonique et acétonique de colza origine avec des taux respectivement (0.95 et 0.78 mg EAG / g MS).

En outre, nous avons enregistré que l'extrait méthanolique de colza origine et l'extrait hydrométhanolique de colza hybridé qui ont donné un rendement le plus important en résidu sec ont offert aussi une teneur importante en phénols totaux. Ce résultat pourra être expliqué par le fait que la polarité des extraits influe sur le type de composés extraits.

Ces valeurs sont supérieures a des résultats d'une étude réalisée sur les graines de colza jaune et noir qui a trouvé des valeurs entre 2.8 et 6.44 mg / g MS respectivement [45] du même, ils sont supérieurs a des résultats obtenus dans une autre étude par boufadda ;2019 [46] sur

lobularia maritima de la même famille de colza (Brassiceau) ou la quantité des polyphénols dans l'extrait méthanolique est de 5.39 mg /g MS.

Nous concluons à travers notre étude que le méthanol est le solvant le plus adapté pour une extraction maximal des phénols, ce qui est lié à la forte solubilité des phénols dans les solvants polaires. La teneur peut être variée aussi selon le temps d'extraction et le type de solvant

Ces différences de résultats peuvent être dû à la faible spécificité du réactif de Folin Ciocalteu qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Il a été montré que le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénolique, mais également de certains sucres et protéine . [47]

La teneur phénolique d'une plante dépend aussi certains facteurs tels que , les conditions climatiques , les diversités et la situation géographique, le moment de la récolte , les conditions de stockage [48-49]

III.2 .2 Les teneurs en Flavonoïdes

La quantification du contenu en flavonoïdes de deux variétés de colza de chaque extrait par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) est rapportée en milligramme équivalent quercétine par gramme de la matière sèche à l'aide d'une courbe d'étalonnage de la quercétine

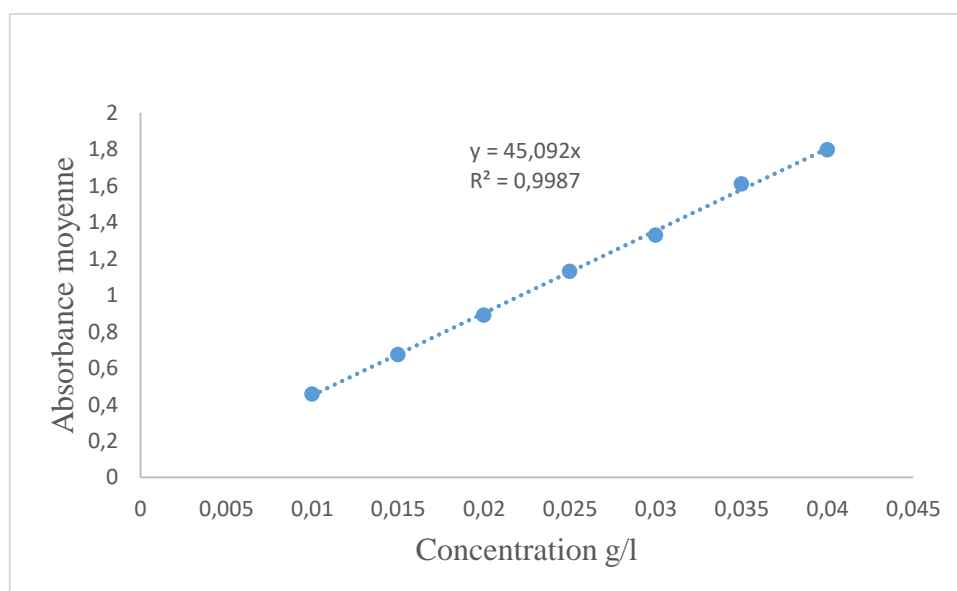


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats de la détermination de la teneur en flavonoïdes exprimés en équivalent de la quercétine sont donnés dans le tableau (5) et les pourcentage des flavonoïdes dans les polyphénols de chaque extrait sont regroupés dans le tableau (7). Les valeurs sont la moyenne de trois mesures \pm Ecart type

Tableau 5 : Teneurs en flavonoïdes de chaque extrait des deux variétés de colza

Les extraits		Teneurs en Flavonoïdes (mg EQ / g MS)
Colza origine	Méthanol (100 v)	0.235 \pm 0.023
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0.025 \pm 0.026
	Acétone (100 v)	0.0068 \pm 0.005
Colza hybridé	Méthanol/eau (80/20 v/v)	0.071 \pm 0.004
	Méthanol (100 v)	0.038 \pm 0.0085
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0.17 \pm 0.0045
	Acétone (100 v)	0.019 \pm 0.03

Les résultats des teneurs en flavonoïdes varient entre (0.0068 et 0.235 mg EQ / g MS) , le taux le plus élevé a été trouvé dans l'extrait méthanolique de colza origine tandis que le plus faible

teneur est enregistré dans l'extrait acétonique de colza origine, tout les extraits en générale ont présenté des faibles teneurs a l'exception de l'extrait méthanolique de colza origine .

Nous avons comparé nos résultats avec une étude sur les graines de colza jaune et noir [45] ou la teneur en flavonoïdes est 3.78 ± 0.05 mg / g MS de grains noir et 0.83 ± 0.01 mg /g MS de grains jaune , ces valeurs sont supérieures à nos teneurs en flavonoïdes , cette variation des teneurs peuvent être due à la méthode et le temps d'extraction ,la région de la plante et les condition climatique telle que l'exposition au soleil , la saison de la récolte, stade de maturité de la plante et la nature de solvant organique.

III.2 .3 Les teneurs en tanins :

Les quantités des tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide. Les résultats sont déterminés à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (figure10) et ils sont exprimés en milligramme équivalent la catéchine par gramme de matière sèche.

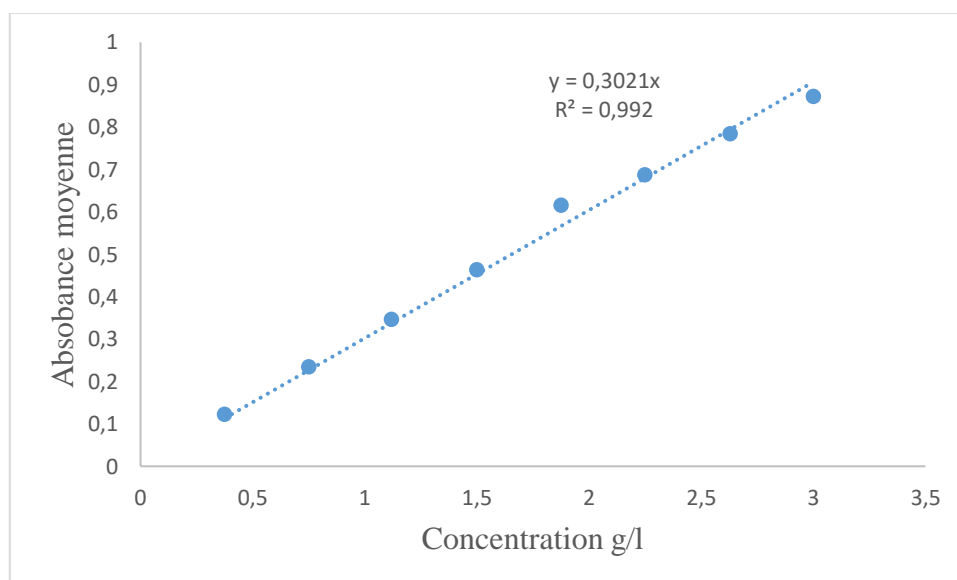


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Les teneurs en tanins dans les différents extraits de colza sont illustrées dans le tableau (6) Les valeurs sont la moyenne de deux mesures \pm Ecart type

Tableau 6 : Teneur en Tanins de chaque extrait des deux variétés de colza

Les extraits		Teneurs en tanins (mg EC /g MS)
Colza origine	Méthanol (100 v)	4.56 ± 0.021
	Acétone/eau (70/30 v/v)	1.57 ± 0.016
	Acétone (100 v)	2.19 ± 0.0665
Colza hybridé	Méthanol/eau (80/20 v/v)	0.73 ± 0.0005
	Méthanol (100 v)	1.10 ± 0.0105
	Acétone/eau (70/30 v/v)	1.41 ± 0.0235
	Acétone (100 v)	3.61 ± 0.084

Les tanins sont des composés largement distribués dans de nombreuses espèces des plantes où elles jouent un rôle dans la protection contre les prédateurs et aussi utilisés comme des pesticides et dans la régulation de la croissance des plantes [50]. La quantité des tanins varie de 0,73 au 4.56 mg EC /g de matière sèche. L'extrait méthanolique de colza origine présente la valeur la plus élevée de $4.56 \pm 0,021$ mg EC/g et la plus faible valeur a été trouvé dans l'extrait hydrométhanolique de colza hybridé (0.73 mg EC/g MS) suivi par l'extrait méthanolique de colza hybridé (1.10 mg EC / g MS)

A travers notre étude, nous constatons que la teneur en tanins est plus élevée dans l'extrait méthanolique de colza origine, contrairement au hybridé qui étaient plus faibles, cela peut être dû aux variation génétique qui peuvent caractériser la formation des plantes.

Nous avons également enregistré des bonnes teneurs en acétone dans les deux variétés, ce qui s'explique par le fait les solvants polaires sont meilleurs que ceux trouvés avec l'eau pour extraire les tanins dans les graines délipidées de colza.

Tableau 7 : pourcentage des flavonoïdes et tanins en % dans les polyphénols de chaque extrait de deux variétés de colza

Les extraits		Pourcentage %	
		Les flavonoïdes dans les phénols totaux	Les tanins dans les phénols totaux
Colza origine	Méthanol (100 v)	2,59	50,27
	Acétone/eau (70/30 v/v)	2,63	Non identifier
	Acétone (100 v)	0,87	Non identifier
Colza hybridé	Méthanol/eau (80/20 v/v)	1,42	14,62
	Méthanol (100 v)	3,63	29,72
	Acétone/eau (70/30 v/v)	2,02	58,51
	Acétone (100 v)	1,48	Non identifier

La majorité des extraits des deux variétés de colza présentent des pourcentages en flavonoïdes et en tanins inférieurs à 50 % qu'on peut déduire alors, que presque toutes ces extraits à l'exception de l'extrait hydroacétonique de colza hybridé sont en possession d'un matériel faible en flavonoïdes et moyennement riche en tanins (58,51) , et ceci peut être dû à la méthode d'extraction des composés phénoliques ou à des conditions climatiques.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que nos extraits sont relativement moyennement riches en tannins condensés et très faible en flavonoïde par rapport à d'autres plantes médicinales de même famille ou d'autres familles.

En effet, les molécules de flavonoïdes et des tanins tirent leurs activités biologiques à partir de leurs propriétés physicochimiques comme inhibiteurs d'enzymes, antioxydants, préventif à l'égard des maladies cardiovasculaires même antiparasitaires [51].

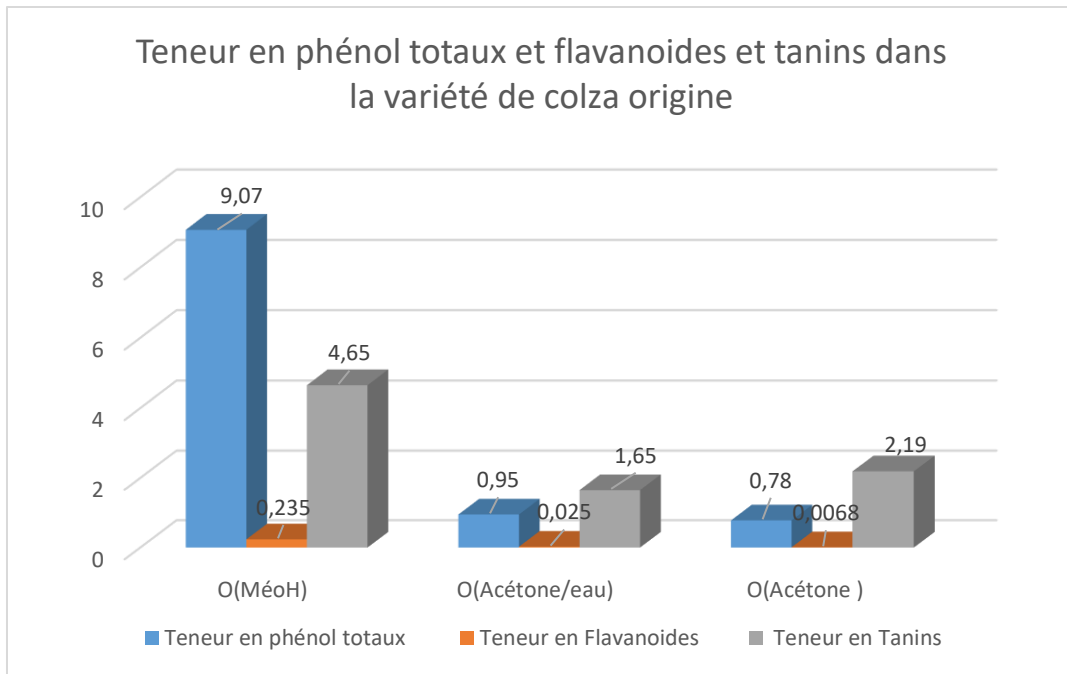


Figure 12 : Histogramme des teneurs en phénol totaux et en flavonoïdes et en tanins de colza origine

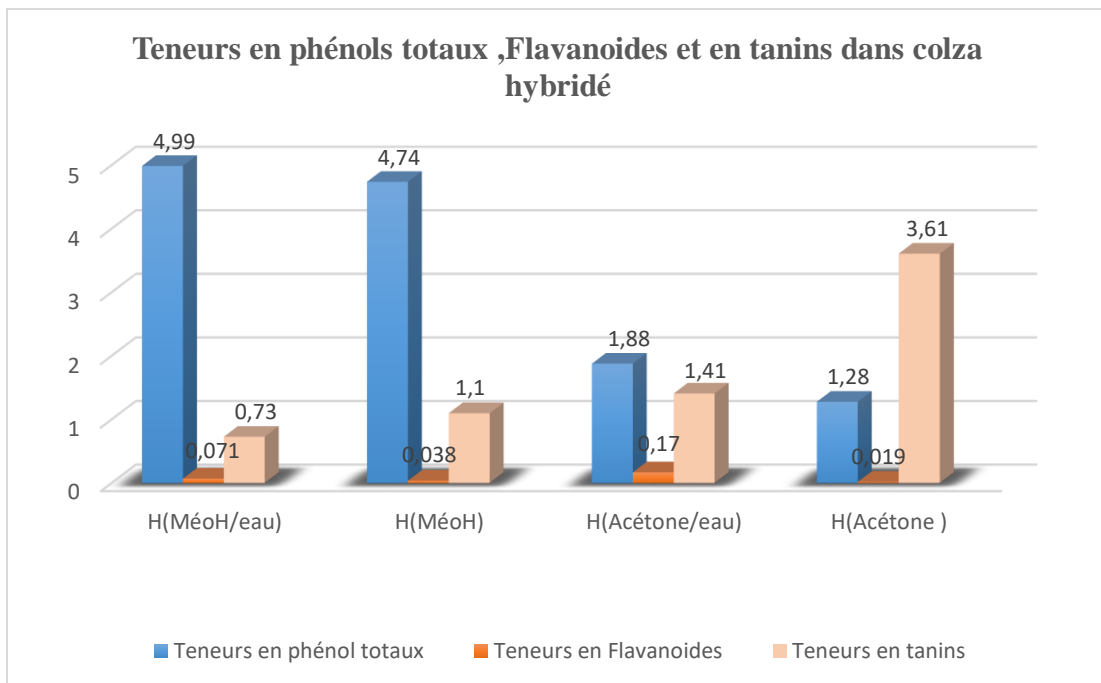


Figure 13 : Histogramme des teneurs en phénols totaux et en Flavonoïdes et en tanins de colza hybridé

A Traverser ces résultats obtenus par les histogrammes, on remarque que les graines délipidés de colza riche en phénols totaux et en tanins et faible en teneur en flavonoïdes.

Nos résultats obtenus nous ont paru illogiques car il a été toujours constaté que la somme des teneurs des flavonoïdes et des tanins n'excède pas la valeur de la quantités des phénols totaux. Les résultats décalés résultent vraisemblablement de La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu pour le dosage des phénols totaux est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. [52].ainsi la réaction de complexations utilisés dans le dosage des tanins n'est pas spécifique et peut être il existe d'autre composés qui forment un complexe avec la vanilline ce qui augmente la teneur en tanins.

Afin de chercher la présence d'une corrélation linéaire entre les différents extraits des deux variétés de colza. Nous avons essayé de tracer des courbes représentant la variation des quantités des phénols totaux en fonction des teneurs en flavonoïdes et en tanins (figure 13) vu qu'il ont montré une mauvaise corrélation à l'exception de la teneur en composé phénolique avec les flavonoïdes qu'on a trouvé une moyenne corrélation ($R^2=0.4908$) et le rendement en fonction de teneurs en phénols, ces résultats peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes et des tanins ne varie pas proportionnellement avec tout le contenu en polyphénols ou rendement des deux variétés de colza.

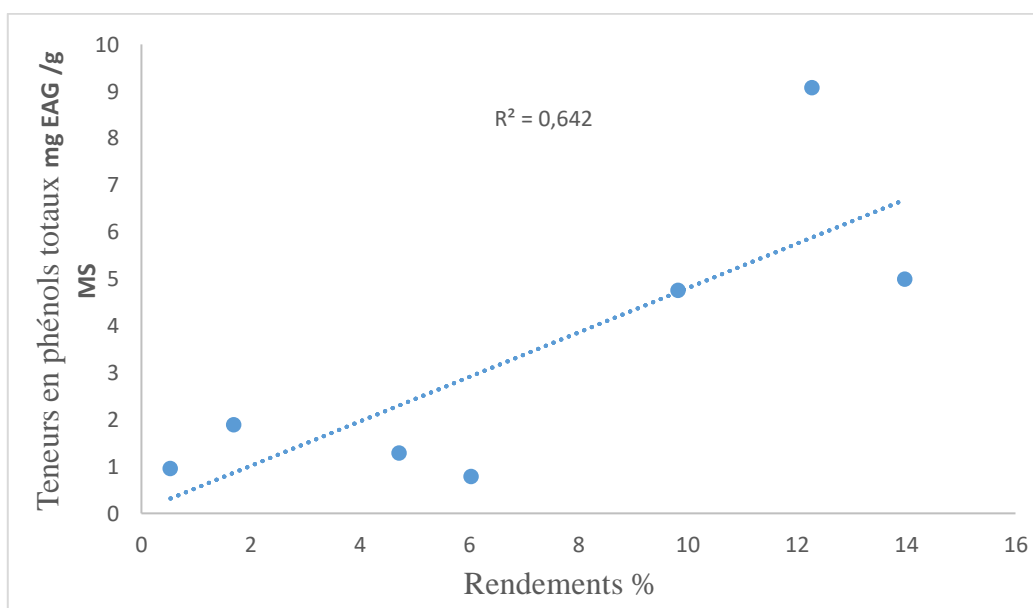


Figure 14 : Variation de la concentration en phénols totaux en fonction du rendement d'extraction des différents extraits du colza

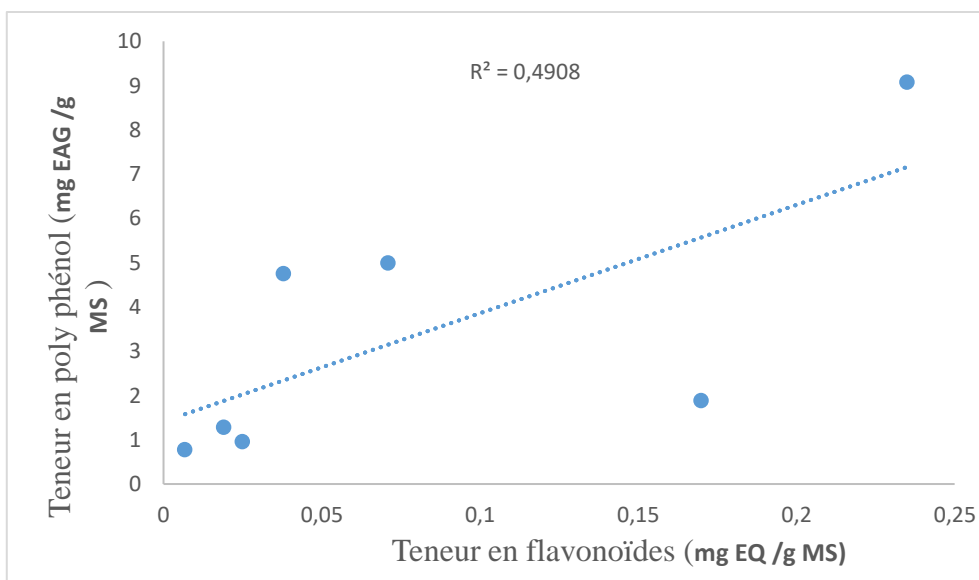


Figure 15 : Variation de la concentration en phénols totaux en fonction de la teneur en flavonoïdes des différents extraits du colza

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante

Il y a augmentation parallèle de l'intérêt croissant pour les antioxydants et de l'utilisation des méthodes pour estimer l'efficacité de ces substances. De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé deux méthodes différents a savoir : le test DPPH et le test du réduction du fer ferrique par le test de FRAP.

III.3 .1 le test chimique DPPH

les mesures de la diminution de l'absorbance du DPPH provoquées par la présence des extrait après 30 minutes ont permis de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits .

Les résultats obtenu sont exprimé en milligramme équivalent en vitamine C (antioxydants de références) par un gramme de la matière sèche ou tout simplement VCEAC (vitamine C équivalent antioxydant capacity) .les valeurs VCEAC les plus élevées correspondent aux activités les plus fortes.

A l'aide de la courbe d'étalonnage de la vitamine C nous avons évalué l'activité antioxydante des différents extraits exprimée dans le tableau (8).ces valeurs représentent la moyenne de trois essaie réalisés en parallèle \pm l'écart -type

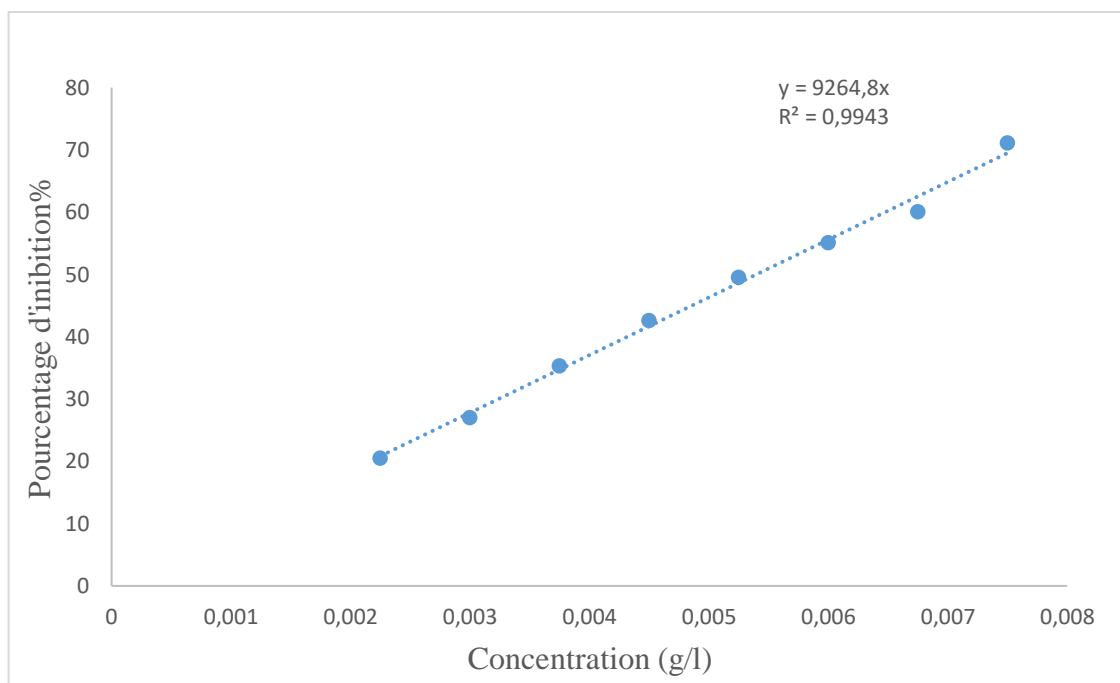


Figure 16 : La courbe d'étalonnage de la vitamine C

Tableau 8: VCEAC des différents extraits par le test DPPH des deux variétés de colza

Les extraits		VCEAC (mg EVC / g MS)
Colza origine	Méthanol (100 v)	2,55 ± 0,0215
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0,583 ± 0,04
	Acétone (100 v)	0,131 ± 0,0185
Colza hybridé	Méthanol /eau (80/20 v/v)	2,24 ± 0,0275
	Méthanol (100 v)	1,96 ± 0,006
	Acétone/eau (70/30 v/v)	0,61 ± 0,0355
	Acétone (100 v)	0,0706 ± 0,018

La capacité antioxydante des deux variétés de colza origine et hybridé est varié entre 0,0706 2,55 mg EVC / g MS

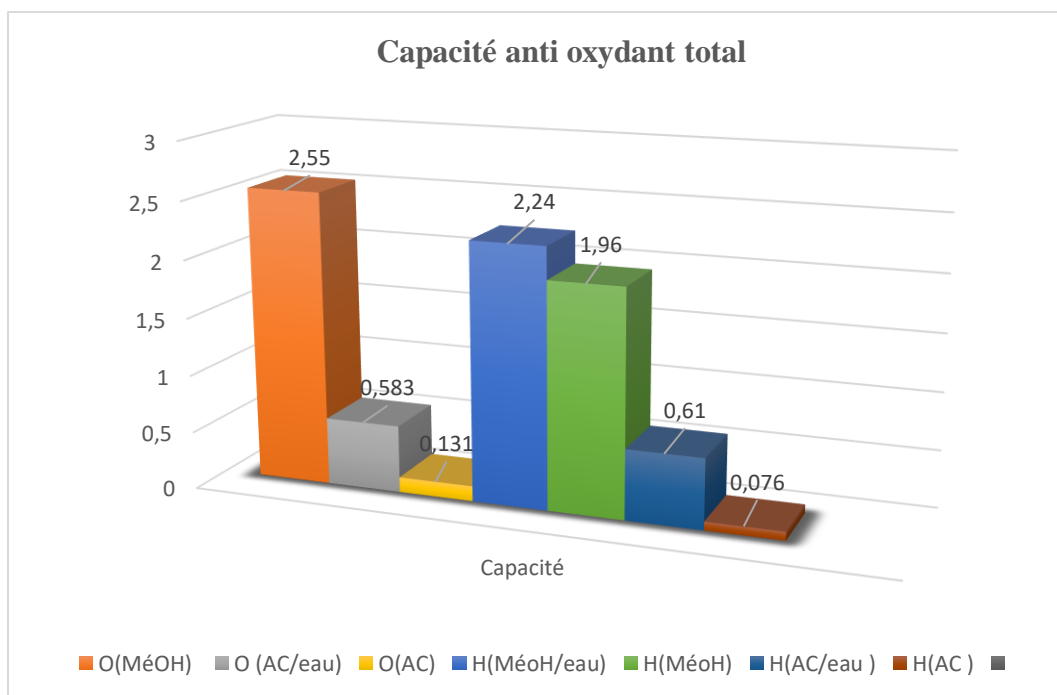


Figure 17 : la capacité antioxydante total de deux variétés de colza

D'après les résultats présentés dans le tableau précédant (tableau 8), on constate que le maximum d'activité a été enregistré dans l'extrait Méthanolique de colza origine, suivie par l'extrait hydrométhanolique de colza hybridé et l'extrait méthanolique de la même variété aux taux suivants 2,24 et 1,96 mg EVC / g MS respectivement.

Les extraits hydroacétonique de colza origine et hybridé et l'extrait acétonique de colza origine ont donné des activités moyennes et qui peuvent être expliquées par la nature des composés peu polaires qui exercent des capacités donatrices de protons moyennes, l'activité antioxydante la plus faible a été remarquée dans l'extrait acétonique de colza hybridé avec un taux de $0,0706 \pm 0,0018$ mg EVC / g MS.

Nous avons essayé de comparer nos résultats avec le travail mené par nos collègues au laboratoire sur les tourteaux délipidés de *Pistacia terebinthus* ou nous avons noté que nos extraits phénoliques sont plus actifs que les extraits de *Pistacia terebinthus* [53].

Une autre étude par (Bhandari, Shiva et al.) [54] a été menée sur le chou-fleur et le brocoli (brassicées) même famille de colza a montré une activité remarquable par rapport à nos extraits. Nous concluons de ces résultats que nos extraits ont une activité antioxydante plus élevée dans l'extrait méthanolique et hydrométhanolique des deux variétés de colza.

À travers ces résultats, on constate qu'il existe une relation entre la teneur en phénols et l'activité antioxydante, et cela a été prouvé dans l'extrait méthanolique de colza origine.

Plusieurs auteurs ont souligné cette relation car les phénols sont un contributeur majeur à l'activité antioxydante totale [55]

Cependant, on a essayé de trouver une corrélation linéaire entre les valeurs de VCEAC et les teneurs en phénols ,le tracé obtenu reflète une bonne corrélation positive ($R^2=0.85$),ces résultats confirment que les composés phénoliques sont les responsables de ses potentialités antioxydantes et il sont en accord avec ce qui est annoncé dans la littérature par plusieurs auteurs [56-57].

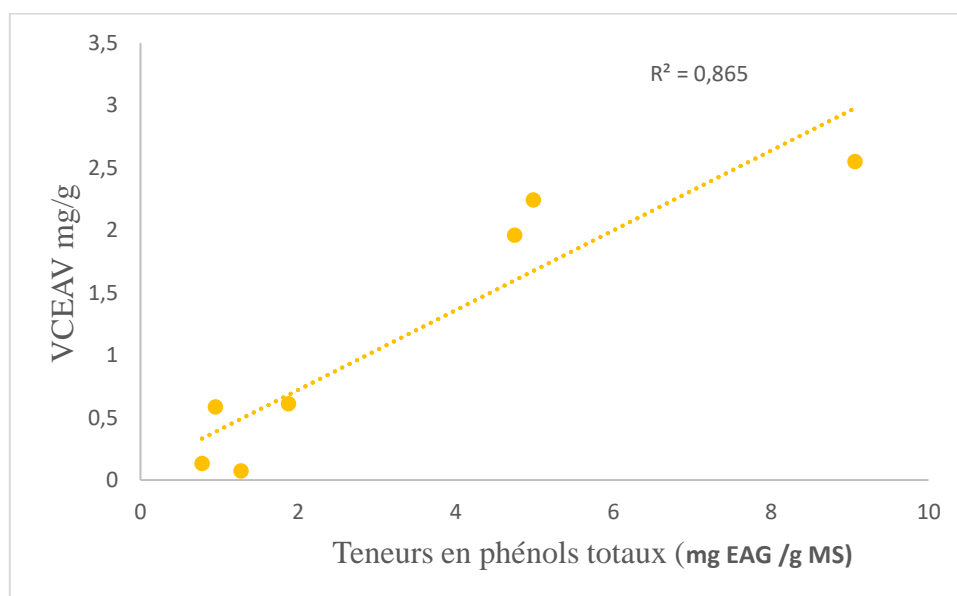


Figure 18 : corrélation entre VCEAC et la teneur en phénols totaux

La diminution de l'activité antioxydante peut être due à plusieurs facteurs :

- Faible teneur en composés phénolique de ces extrait , considérés comme des antioxydants
- Le DPPH (2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl) peut affecter la diminution et la puissance de l'activité antioxydant car il est très sensible et ne doit pas être exposé à la lumière
- L'effet de la nature et de la polarité des solvants d'extraction , car certain solvants peuvent ne pas être en mesure de dissoudre certains des composés antioxydants
- Les caractéristiques de la graine et les condition environnementales et climatiques difficiles telle que l'humidité, la sécheresse et la chaleur peuvent également réduire l'activité des anti oxydants
- Les processus de stockage des plantes peuvent endommager certaines antioxydants et réduire leur efficacité

III.3 .2 Test de FRAP

L'activité antioxydante de nos extraits de deux variété de colza a été évalué en utilisant la méthode de pouvoir réducteur. Cette méthode est un essai simple, rapide et reproductible

En fait la méthode de FRAP est une méthode colorimétrique qui mesure la capacité d'un échantillon à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferrique (Fe^{+2})

Les résultats de l'étude de l'activité réductrice des extraits de colza a été évalué à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Figure18), et il sont exprimés en milligramme équivalent L'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (tableau 9). Ces valeurs représentent la moyenne de trois essaie réalisés en parallèle \pm l'écart -type

Les valeurs VCEAC les plus élevées correspondent aux activités réductrices les plus fortes.

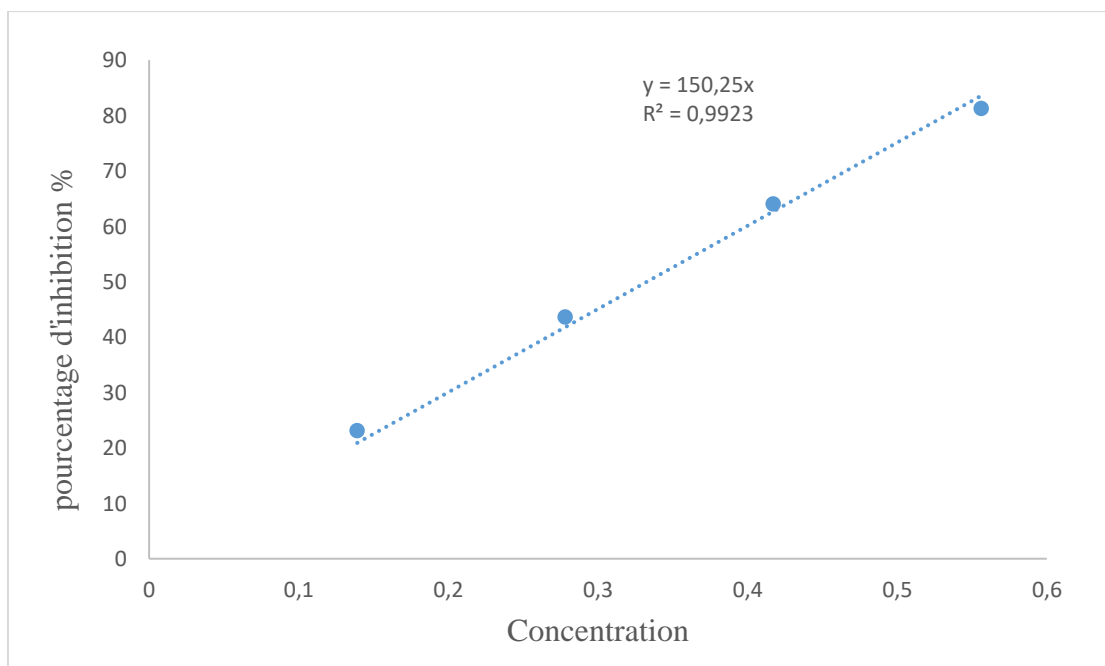


Figure 19 : La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Tableau 9: VCEAC des différents extraits par le test FRAP des deux variétés de colza

Les extraits		VCEAC (mg EVC / g MS)
Colza origine	Méthanol (100 v)	22,40 ± 0,0215
	Acétone/eau (70/30 v/v)	8,62 ± 0,04
	Acétone (100v)	9,65 ± 0,0185
Colza hybridé	Méthanol /eau (80/20 v/v)	105,78 ± 0,0275
	Méthanol (100 v)	205,2 ± 0,006
	Acétone/eau (70/30 v/v)	69,54 ± 0,0075
	Acétone (100 v)	9,78 ± 0,018

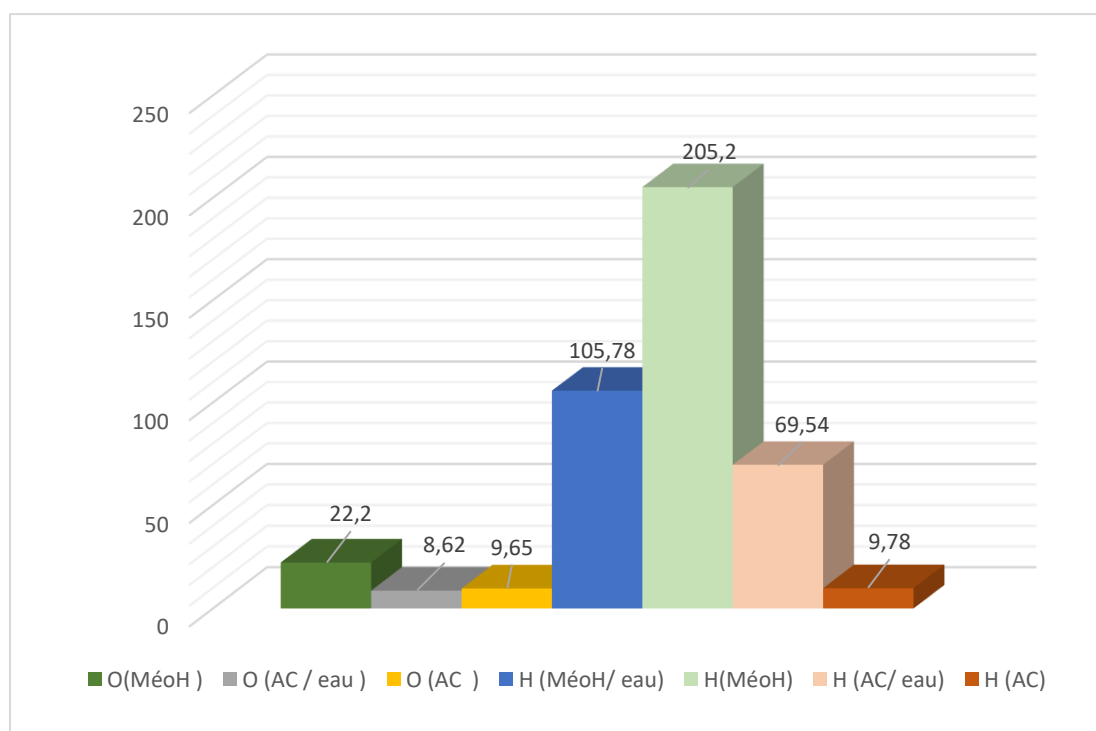


Figure 20 : Histogramme représentant La capacité des extraits de deux variétés de colza

L'ensemble des extraits étudiés révèle des propriétés réductrices intéressantes qui se manifestent les valeurs suivantes : VCEAC allant de 8 à 205 mg EVC / g MS .

Les meilleur capacité réductrices sont observés dans les extraits méthanoliques et hydrométhanoliques de colza hybridé avec les taux 205,2 et 105,78 mg EVC/g MS) respectivement , suivie par l'extrait hydroacétonique de colza hybridé (69,54 mg EVC/ g MS) et l'extrait méthanolique de colza origine avec un valeur égale a 22,20 mg EVC/ g MS)

Les activités du pouvoir réducteur les plus faibles sont affichées pour les extraits acétonique de colza hybridé et origine avec des valeurs par ordre 9,78 et 9 mg EVC/ g MS, suivie par l'extrait hydroacétonique de colza origine (8,62 mg EVC/ g MS)

Les résultats obtenus dans le présent travail indique que le type de solvant et le génotype de la plante ont un effet significatif sur la réduction de l'activité antioxydante

Ce pouvoir réducteur des extraits de colza peut être dû à la présence de groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent jouer le rôle de donner s'électrons

Quelques travaux antérieurs ont également montré que les valeurs de l'activité du pouvoir réducteur sont supérieure par rapport aux valeurs de notre étude (wang et al.2018)(Lučić, D et al 2023). [45-58].

En général, le potentiel réducteur des extrait végétaux est dû à la présence de molécule capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables , parmi lesquelles les poly phénols [59]. .

En fin , on peut dire que le colza a une capacité antioxydante car il contient des polyphénols , des flavonoïdes et des tanins , ces composés capables de neutraliser les radicaux libres , de répondre aux dommages oxydatifs et de prévenir les dommages cellulaires



Conclusion

Conclusion Générale

L'objectif principal de notre travail est de quantifier les composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydantes des différents extraits des graines des deux variétés de Colza origine et hybridé de la région de Bordj Bou Arreridj.

Tout d'abord, les extraits phénoliques sont obtenus par la méthode de macération dans quatre systèmes de solvants (méthanol, acétone, méthanol/eau, acétone/eau) nous a permis d'obtenir sept extraits. Les résultats du rendement d'extraction sont variables selon la nature du solvant et sa polarité. Le rendement le plus élevée a été trouvé dans l'extrait méthanolique de colza hybride avec un taux (13,97%).

Les teneurs en polyphénols avec le réactif de Folin – Ciocalteu sont variables et qui s'étalent entre 0,78 et 9,07 mg EAG / g MS, l'extrait méthanolique de colza origine est le plus riche en polyphénol avec une teneur $9,07 \pm 0,059$ mg EAG / g MS.

L'évaluation quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium a montré des faibles teneurs en flavonoïdes varient entre 0,0068 et 0,235 mg EQ / g MS, la meilleure teneur est présentée par l'extrait méthanolique de colza origine $0,235 \pm 0,023$ mg EQ / g MS.

La quantification des tanins a été effectuée par la méthode de la vanilline. Les résultats obtenus ont permis de déduire que l'extrait méthanolique de colza origine est très riche en tanins ($4,56 \pm 0,021$ mg EQ / g MS), suivie par l'extrait acétonique dans colza hybridé ($3,61 \pm 0,084$ mg EQ / g MS) par rapport aux autres extraits.

L'activité antioxydante de nos extraits de deux variétés de colza a été évaluée par deux méthodes : la méthode de réduction du radical libre (DPPH) et la méthode de pouvoir réducteur de fer (FRAP).

Après l'analyse des résultats, nous constatons que l'extrait méthanolique de colza origine possède un fort pouvoir anti radicalaire $2,55 \pm 0,0215$ mg EVC / g MS et l'extrait méthanolique de colza hybridé a fourni le meilleur pouvoir réducteur de fer avec le taux $205,2 \pm 0,0075$ mg EVC / g MS.

En fin, selon les résultats obtenus nous pouvons conclure que les extraits de colza ont une bonne activité antioxydante en particulier l'extrait méthanolique qui est le plus actif, son effet antioxydant soit probablement lié à la présence de certaines molécules bioactives, sachant que les antioxydants aident à prévenir certains types de cancer et de stress oxydatif et sert à protéger contre les infections et à prévenir les maladies cardiaques.

Ces résultats préliminaires, il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur cette plante, à savoir l'isolement de substances qui sont tendent les diverses activités détectées. De

Conclusion Générale

plus , des études approfondies concernant l'identification des composés phénoliques , les alcaloïdes , les saponines , les tanins ... ect par des méthodes plus performantes seront nécessaires . pour mieux évaluer l'activité antioxydante , d'autre in vitro et in vitro seraient intéressantes , afin de mettre à la disposition des populations une plante active avec des posologies précises .

Références bibliographiques

- [1]- USDA, 2018. Oilseeds : World Markets and Trade
- [2]- Colza de Printemps 'Edition CETIOM centre de grignon BP46- 78850 thivernal – Grignon
- [3]- Nabloussi A, (2015). Amélioration génétique du colza : enjeux et réalisations pour un développement durable de la filière . Meknès Édition INR
- [4]- Jiang, Y., Wu, K., Lin, Y., Chen, H., & Chen, F. (2019). Advances in research on the nutritional composition and physiological functions of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(22), 6185-6194
- [5]- Chegut.m ,Hardy.c, Lebarbier.r, Marot.m-f, Martin. e, Martin.p (2019) . Filière colza . file en ligne www.draaf.nouvelle-aquitaine.agriculture.gouv.fr consulter le20fevrier 2021
- [6] -Valorisation Nutritionnelle des Protéines de Colza par un Traitement Hydro-Thermique desGraines1Author links open overlay panelD.J. Mothadi-Nia, H.M. Bau, F. Giannangeli, L. Mejean,G.Debry,J.Evvar
- [7] - https://www.researchgate.net/figure/Composition-de-la-graine-du-colza-Source-Terres-Univia-dapres-Feedbase_fig2_360810222
- [8]- _m/marche-mondial-des-oleagineux-juin-2018/www.fopoleopro.com
- [9]- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-74
- [10]- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie* 5, 264-270.
- [11]-Dykes, L., Rooney, L. W. (2007). Phenolic compounds in cereal grains and health benefits.*Cereal*
- [12] -Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial
- [13]-Martin-Tanguy, J., Guillaume, J. and Kossa, A. (1977), Condensed tannins in horse bean seeds: Chemical structure and apparent effects on poultry. *J. Sci. Food Agric.*, 28: 757-765.
- [14] - Afonso,V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : role dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74, 636 – 643.
- [15] -Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- [16] -Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press
- [17] -Boyd B, Ford C, Koepke C, Horn E, McAnalley S et McAnalley B. (2003). Etude piloteouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science et Nutrition*, 4(6): 7
- [18] - Vansant G., (2004). Radicaux libres et antioxydant : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone

- [19] -Kromhout D. Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutr.* 2001 Apr;4(2B):441-57. doi: 10.1079/phn2001133. PMID: 11683540
- [20] -Szydłowska-Czerniak A., Trokowski K., Karlovits G., Szlyk E. Determination of Antioxidant Capacity, Phenolic Acids, and Fatty Acid Composition of Rapeseed Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58:7502–7509. doi: 10.1021/jf100852x.
- [21] -Cartea, María Elena et al. “Phenolic compounds in Brassica vegetables.” *Molecules* (Basel, Switzerland) vol. 16,1 251-80. 30 Dec. 2010, doi:10.3390/molecules16010251
- [22]-Naczka, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A* 1054, 95–111
- [23] - Durkee, A.B., 1971. The nature of tannin in rapeseed (*Brassica campestris*). *Phytochemistry* 10, 1583–1585. Estimations FranceAgriMer, 2018. Marché des oleo-protéagineux
- [24] - Leung, J., Fenton, T.W., Mueller, M.M., Clandinin, O.R., 1979. Condensed tannins of rapeseed meal. *J. Food Sci.* 44, 1313–1317.
- [25] - Shahidi, F. (Ed.), 1990. *Canola and Rapeseed*. Springer US, Boston, MA.
- [26] - Auger, B., Marnet, N., Gautier, V., Maia-Grondard, A., Leprince, F., Renard, M., Guyot, S., Nesi, N., Routaboul, J.-M., 2010. A Detailed Survey of Seed Coat Flavonoids in Developing Seeds of *Brassica napus* L. *J. Agric. Food Chem.* 58, 6246–6256.
- [27] <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Colza.html>
- [28] _ FAO/OMS, 1977. *Les graisses et huiles en nutrition humaine. Etude FAO :Alimentation et nutrition, n° 3.* FAO, Rome, Italie. 90pp
- [29] _ Stanojevid L, Stankovid M, Nikolid V, Nikolid L, Ristid D, Čanadanovic-Brunet J, et al. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. extracts. *Sensors.* 2009;9(7):5702-14
- [30] _ Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Sciences et techniques du vin. Tome 1.* Edition. Dunod, Paris, p 671.
- [31] _ Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.
- [32] _ Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*, 97, 705 – 711.
- [33] _ Chang, C., Yang, M., Wen, H. et Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis* 10: 178-182
- [34] _ Julkunen-Titto R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 33: 213-217.
- [35] _ Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie*, 28: pp
- [36] _ Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology.* 28: pp
- [37] _ Celiktas, O. Y., E. Bedir, et al. (2007). "In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide." *Food Chemistry* 101(4): 1457-1464.

- [38] _ Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626.
- [39] _ Chung, Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F., & Chou S. T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458
- [40] _ Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 4290-302
- [41] _ Rivero-Pérez, M. D., Muniz, P., González-Sanjosé, M. L. (2008). Contribution of anthocyanin fraction to the antioxidant properties of wine. *Food and Chemical Toxicology*, 46: pp 2815–2822
- [42]-Djeridane A, Hamdi A, Bensania W, Yousfi M, (2015). the in vitro evaluation of antioxidant activity, alpha glucosidase and alpha amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes and metabolic syndrome : clinical research and reviews* 9, 324-331.
- [43]- Satyagit D, Zahid L, Alexander I (2006). *natural products isolation*. humana press Inc. 999 riveriew drive, suite 208, totowa, New jersey 07512, 518p
- [44]- Silabdi, S., extraction, purification et caractérisation d'antioxydants naturels en vue d'une valorisation nutritionnelle. (Mémoire fin d'étude). Blida 2010
- [45]- Wang, Yue & Meng, Guisheng & Chen, Sailing & Chen, Yajie & Jiang, Jinjin & Wang, You-Ping. (2018). Correlation Analysis of Phenolic Contents and Antioxidation in Yellow- and Black-Seeded Brassica napus. *Molecules*. 23. 1815. 10.3390/molecules23071815.
- [46] - Ghennou, S., & Boufodda, chahira. (2019). Dosage des polyphénols et activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Lobularia maritima* Desf. Dans la région de Mostaganem [Mémoire de master]. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
- [47]- Vuorela S. Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, Helsinki, 2005, p. 76.
- [48]- Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassicavegetables: A review. *LWT*. 40: pp 1-11
- [49] - Raigón, M. D., Prohens, J., Julio E. Muñoz-Falcón & Nuez, F. (2008). Comparison of eggplant landraces and commercial varieties for fruit content of phenolics, minerals, dry matter and protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: pp 370– 380
- [50]- Katie Ferreli, E.; Thorington; Richard, W. *Squirrels: the animal answer guide*. Baltimore: Johns Hopkins University Press., 2006, P. 91 ISBN 0-8018-84020-0.
- [51] - G. F. Ferrazzano., I Amato., A Ingenito., A Zarrelli., G Pinto and A Pollio., 2011. Plant Polyphenols and Their Anti-Carcinogenic Properties: A Review, *Molecules*; 1486 -1507pp
- [52]- Vuorela, S. (2005) Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki

[53]-DAAMACHE Nacira, DJERIBIA Nehla. Contribution à l'étude des extraits lipidiques et phénoliques des fruits immatures de *Pistacia terebinthus* de la région d'Aflou (Gueltet Sidi Saad)-Laghouat(mémoire de master)

[54]-_Bhandari, Shiva Ram, and Jung-Ho Kwak. 2015. "Chemical Composition and Antioxidant Activity in Different Tissues of Brassica Vegetables" *Molecules* 20, no. 1: 1228-1243

[55] -Zhou, K.; Yu, L. Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT Food Sci. Technol.* 2006, 39, 1155–1162

[56]-Kalia k ;Sharma K ;Singh,HP.Et singh,B (2008).effects of extraction methods on phenolic contents and antioxydant activity in aerial aarts of *potentilla atrsanguinea* lodd.and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC .*J. Agric.food chem.*56 :10129-10134.

[57]-stagos D ;Portesis N ;Spanou C ; MossialosD ;Aligiannis N ;et Chaita F (2012)correlation of total polyphenolic content with antioxydant and antibacterial activity of 24 extracts from greek domestic lamiaceae species .*food and chemical toxicology* 50 :4115-4124.

[58]-Lučić, D., Pavlović, I., Brkljačić, L., Bogdanović, S., Farkaš, V., Cedilak, A., Nanić, L., Rubelj, I., & Salopek-Sondi, B. (2023). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Kale (*Brassica oleracea* L. Var. *acephala* DC.) and Wild Cabbage (*Brassica incana* Ten.) Polyphenolic Extracts. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(4), 1840.

[59]- Ferrari J, 2002 : Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des *Thymelaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elle: *Gnidiainvolucrata*tend. ex A.Rich. Thèse de doctorat. Lausanne. P242. Ferreira et al, 2007

المخلص

أجريت الدراسة الحالية بهدف قياس المركبات الفينولية وتقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبارين DPPH و FRAP ، الجزء الأول من هذه الدراسة يتعلق باستخراج وقياس البوليفينول والفلافونويد والتانينات. الجزء الثاني دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الفينولية لنوعين من بذور السلجم الزيتي من منطقة برج بو عريريج ، وبحسب نتائج التحاليل وجدنا أن أهم محصول في المركب الفينول كان في مستخلص الهيدروميثانول 13.97٪. يُظهر القياس الكمي للبوليفينول والفلافونويد والتانينات أن بذور السلجم الزيتي غنية بالبوليفينول والعصص مقارنة بكمية الفلافونويد. وجد أن المستخلص الميثانولي لبذور الفت الأصلية كان الأعلى في جميع المحتويات. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة أن مستخلصاتنا لها نشاط مضاد للأكسدة قوي وخاصة المستخلصات الميثانولية.

الكلمات المفتاحية : السلجم الزيتي ، البوليفينول، الفلافونويد ، التانينات ، النشاط المضاد للأكسدة ، اختبار DPPH إختبار FRAP

Résumé

La présente étude a été menée dans le but de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer l'activité antioxydante par deux test DPPH et FRAP ,la première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des polyphénols ,flavonoïdes et tanins .la deuxième partie c'est l'étude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de deux variétés de graine de colza de la région de bordj bou Arreridj .d'après les résultats des analyses nous avons constaté que le rendement le plus significatif en composé phénoliques se trouvait dans l'extrait hydrométhanolique (13,97%).La mesure quantitative des poly phénols , des flavonoïdes et des tanins montre que le colza est riche en poly phénols et en tanins par rapport à la quantité des flavonoïdes . Il a été constaté que l'extrait méthanolique du colza origine était le plus élevé dans toutes les teneurs. L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que nos extraits ont une activités antioxydante puissante surtout les extraits méthanoliques .

Mots clés : Le colza, poly phénols, flavonoïdes, tanins, l'activité antioxydante, test DPPH , test FRAP

Abstract

the present study was conducted with the aim of quantifying the phenolic compounds and evaluating the antioxidant activity by two tests DPPH and FRAP, the first part of this study concerns the extraction and quantification of polyphenols, flavonoids and tannins. second part is the study of the antioxidant activity of phenolic extracts of two varieties of rapeseed from the region of Bordj bou Arreridj. According to the results of the analyzes we found that the most significant yield in phenolic compound was in the hydromethanolic extract (13.97%).The quantitative measurement of polyphenols, flavonoids and tannins shows that rapeseed is rich in polyphenols and tannins in relation to the quantity of flavonoids. It was found that the methanolic extract of the original rapeseed was the highest in all the contents.The evaluation of the antioxidant activity showed that our extracts have a powerful antioxidant activity especially the methanolic extracts

Key words :

Rapeseed, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity, DPPH test, FRAP test