



Année universitaire : 2016-2017

Master Sciences et Techniques : CMBA

Chimie des Molécules Bio-Actives



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Titre : Recherche des molécules bioactives dans les différents types des patates consommées au Maroc

Présenté par :
HNI Brahim

Soutenu Le 15 Juin 2017 devant le jury composé de :

Pr. A. BOUKIR	FST Fès	Examineur
Pr. A. BENTAMA	FST Fès	Examineur
Pr. F. ERRACHIDI	FSAC Casablanca	Examineur
Pr. F. OUZZANI CHAHDI	FST Fès	Encadrant
Pr. Y. KANDRI RODI	FST Fès	Encadrant
Pr. R. CHABIR	FMP Fès	Encadrante

Stage effectué à : laboratoire de physiopathologie et nutrition (LPN) de faculté de médecine et pharmacie Fès.

Soutien financier par le projet : N° PPR/2015/35

« A la lumière de la connaissance, l'heureux résultat semble presque aller de soi ; tout étudiant (...) peut l'appréhender sans trop de difficulté. Mais les longues années de tâtonnements, de recherches dans le noir, avec leur lancinante tension, l'alternance des périodes de confiance et de découragement, puis finalement la sortie vers la lumière, seuls ceux qui ont prouvé cela peuvent le comprendre. »

A. Einstein (1934).

« Moi, je sais, sans être sorcière, à quoi sont bonnes les moindres herbes que tu écrases sous tes pieds ; et quand je sais leur usage, je les regarde et ne méprise ni leur odeur ni leur figure. (...) l'on méprise trop souvent ce qui ne paraît ni beau ni bon, et que, par là, on se prive de ce qui est secourable et salutaire. »

La petite Fadette. George Sand (2014).

Dédicaces

À mes très chers parents

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Je dédie ce modeste travail également à tous les membres de mes familles, mes frères, mes sœurs et tous mes amis. Aussi à ceux qui ont contribué de près ou du loin pour la réussite de ce travail.

Brahim Hni





Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à **Mr. Y. KANDRI RODI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et **Mr. F. OUZZANI CHAHDI**, Professeur et directeur de master chimie des molécule bioactives à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et **Mr F. ERRACHIDI**, professeur à la faculté des science Hassan II de Casablanca et **Mme R. CHABIR**, professeur à la faculté de Médecine et Pharmacie de Fès et directeur de laboratoire de Physiopathologie et nutrition pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, leur disponibilité, leurs conseils précieux et leur confiance qu'ils m'ont accordé.

Je tiens à remercier **Mr. A. BENTAMA**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.

J'exprime des vifs remerciements à **Mr. A. BOUKIR**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour avoir accepté être membre du jury et examiné ce travail.

Mes remerciements vont aussi à **Mlle L. LEMJALLAD**, **Mlle S. BOUHADDAOUI** étudiantes en doctorat à la Faculté de médecine et pharmacie de Fès qui ils n'ont épargné aucun effort pour m'aider à soulever toutes les difficultés rencontrées, leurs remarques et leurs précieux conseils donnés avec une extrême mobilité, ont été très utiles pour mener à bien le présent travail. Je vous remercie vivement.

Mes remerciements s'adressent également à tous mes professeurs de la FSTF, pour leur information et leur aide durant ces deux années de Master.

Il me faut ensuite remercier à tous mes amis et tous ceux qui m'ont aidé, de près ou loin, dans la réalisation de ce travail.

Enfin, un grand merci à ma famille qui m'a soutenue et tout au long de ces années. Je les remercie du fond du cœur pour leur amour et pour leur soutien indéfectible, tout au long de toutes ces années d'études.

Merci à tous !!!

LISTE D'ABRÉVIATIONS

PT	: Pomme de terre
PD	: Patate douce
°C	: Degré Celsius
%	: Pourcentage
Min	: Minute
v/v	: Volume par volume
ml	: Millilitre
DO	Densité optique
A.A.	: Activité antiradicalaire
Abs	: L'absorbance
AlCl ₃	: Le chlorure d'aluminium
CI ₅₀	: Concentration inhibitrice à 50%
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
mg Gal / 100g	: Milligramme d'équivalent acide gallique par 100 gramme
mg Qer / 100g	: Milligramme d'équivalent quercétrine par 100gramme
RL	: Radicaux libre
ERO	: Espèces réactives oxygénées
NaNO ₂	: Nitrite de sodium
Na ₂ CO ₃	: Carbonate de sodium

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Voie de biosynthèse des composés phénoliques.	3
Figure 2 : Structure chimique de quelques composés aromatiques.....	4
Figure 3 : Familles des flavonoïdes.....	5
Figure 4 : voie de biosynthèse des caroténoïdes.	6
Figure 5 : phase d'initiation	9
Figure 6 : phase de propagation	9
Figure 7 : phase de terminaison.....	9
Figure 8 : Structure de la vitamine C	10
Figure 9 : Structure de la vitamine E.....	11
Figure 10 : Structure du β -carotène.....	11
Figure 11 : Structure générale du noyau des flavonoïdes	12
Figure 12 : Structure de la gallate d'épigalocathéchine	12
Figure 13 : Noyau de base des coumarines.	13
Figure 14 : Structure du resvératrol.....	13
Figure 15 : Structure de la manguiférine.....	13
Figure 16 : Antioxydants de synthèse les plus utilisés.....	14
Figure 17: Appareillage de Soxhlet.....	16
Figure 18 : la description botanique de pomme de terre.	21
Figure 19 : la description botanique de la patate douce.	22
Figure 20 : structure chimique de L'anthrone ou "oxo-9-dihydro-10 anthracène.....	24
Figure 21 : la réaction oxydoréduction entre un ose et les ions cuivreux.	24
Figure 22 : le protocole de dosage de glucose par liqueur de Fehling.	25
Figure 23 : complexe cuivre protéine.....	27
Figure 24 : les étapes de l'extraction des composés phénoliques.....	31
Figure 25 : structure de l'acide gallique.	32
Figure 26 : structure quercétine.....	33
Figure 27 : Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive.	35
Figure 28 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant AH.	36
Figure 29 : les variétés de patate étudiant.	38
Figure 30 : Évolution pondérale des pommes de terre étudiées sous les conditions de dessiccation.	39
Figure 31 : gamme d'étalonnage établie à 580nm.	40
Figure 32 : gamme d'étalonnage établie à 620nm.	41
Figure 33 : gamme d'étalonnage du dosage des protéines établie à 540nm.	43
Figure 34 : gamme d'étalonnage du dosage des protéines par la méthode de Lowry.....	44
Figure 35 : gamme d'étalonnage de la de bêta-carotène	48
Figure 36 : Eude spectrale de bêta-carotène pure (0,05mg/ml).	49
Figure 37 : Eude spectrale de bêta-carotène extraite de la pomme de terre.	50
Figure 38 : Eude spectrale de bêta-carotène extraite de la patate douce.	50
Figure 39 : Gamme d'étalonnage exprimée en acide Gallique.	51
Figure 40 : gamme d'étalonnage exprimée en quercétine.....	52
Figure 41 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits de pomme de terre en fonction de la concentration.	54

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Liste des principaux oxydants	7
Tableau 2 : Principales sources de production des radicaux libres.	8
Tableau 3 : la systématique de la pomme de terre.	20
Tableau 4 : la systématique de la patate douce.	21
Tableau 5 : description de méthode de Lowry et de Biuret.....	26
Tableau 6 : Dilution de solution de l'albumine sérum bovine.....	28
Tableau 7 : préparation de gamme BSA par méthode de Lowry.	29
Tableau 8 : dilution de l'acide gallique.	31
Tableau 9 : dilution de bêta-carotène.	34
Tableau 10 : Évolution du poids des échantillons de pommes de terre étudiées en fonction du temps sous les conditions de dessiccation.	38
Tableau 11 : Taux d'humidité des pommes de terre.	39
Tableau 12 : Évaluation des sucres totaux à 580nm dans de pommes de terre étudiées.....	40
Tableau 13 : Évaluation des sucres totaux à 620nm dans la pommes de terre étudiées.	41
Tableau 14 : La gamme d'étalonnage de glucose	42
Tableau 15 : Évaluation des sucres dans pomme de terre par méthode de Fehling.	42
Tableau 16 : Évaluation des sucres dans patate douce par méthode de Fehling.	43
Tableau 17 : Évaluation des protéines par la méthode de de Biuret.	44
Tableau 18 : Évaluation des protéines par la méthode de de Lowry.....	45
Tableau 19 : Évaluation des lipides dans les pommes de terre étudiés.....	45
Tableau 20 : Évaluation de vitamine C dans la pomme de terre par dosage directe.....	46
Tableau 21 : Évaluation de vitamine C dans la patate douce par dosage directe.....	46
Tableau 22 : Évaluation de vitamine C dans pomme de terre par dosage indirecte.....	47
Tableau 23 : Évaluation de vitamine C dans patate douce par dosage indirecte.	47
Tableau 24 : Évaluation de bêta-carotène dans la pomme de terre.	48
Tableau 25 : Évaluation de bêta-carotène dans la patate douce.	49
Tableau 26 : Évaluation des composés phénoliques dans les pommes de terre étudiés.	51
Tableau 27 : Évaluation des flavonoïdes dans les pommes de terre étudiés.....	53
Tableau 28 : Évaluation de l'activité anti-radicalaire dans les extraits étudiés.....	54
Tableau 29 : Résultat de l'analyse des macronutriment et micronutriment des pomme de terre et de la patate douce.	55

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIE	2
I. Les pigments	3
1. Définition	3
2. Composé phénolique	3
3. Caroténoïdes :	6
II. Oxydants et antioxydants	7
1. Oxydant.....	7
2. Stress oxydant.....	8
3. Antioxydants	9
III. Différents procédés d'extraction.....	14
1. Définition	14
2. Techniques d'extraction	14
3. Les facteurs qui influencent la performance de l'extraction	17
PARTIE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	19
I. Matériel végétal.....	20
1. Identification botanique des espèces végétales étudiées	20
II. Évaluation de taux d'humidité	23
III. Dosage des sucres totaux	23
1. Hydrolyse acide des sucres	23
2. Dosage par méthode d'anthrone.....	23
3. Dosage par méthode Fehling	24
IV. Dosage des lipides.....	26
V. Dosage des protéines	26
1. Extraction.....	27
2. Méthode de Biuret.....	27
3. Méthode de Lowry.....	28

VI. Dosage des composés phénoliques	30
1. Principe	30
2. Matériels et réactifs.....	30
3. Extraction des composés phénolique	30
4. Mode opératoire.....	31
5. Courbe d'étalonnage	31
6. Détermination de la teneur proprement dite.....	32
VII. Dosage des flavonoïdes totaux	32
1. Principe	32
2. Mode opératoire.....	32
VIII. Dosage de la vitamine C.....	33
1. Dosage direct de la vitamine C	33
2. Dosage indirect de la vitamine C	33
IX. Dosage de bêta-carotène	34
1. Extraction.....	34
2. Dosage de bêta-carotène.....	34
X. Test d'activité antioxydante	35
1. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH	35
 PARTIE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	 37
I. Humidité	38
II. Dosage les macronutriments.....	39
1. Dosage des sucres.....	39
2. Dosage des protéines.....	43
3. Dosage des lipides	45
III. Dosage les micronutriments.....	46
1. Dosage de la vitamine C.....	46
2. Dosage de bêta-carotène.....	47
3. Dosage des composés phénoliques	51
4. Dosages des flavonoïdes.....	52
IV. Activité anti-oxydant :.....	53
V. Discussion générale.....	55
 CONCLUSION GÉNÉRALE	 57
 REFERENCE.....	 58

Introduction générale

Le Maroc par sa nature économique agraire présente une grande diversité végétale valorisable sur le plan économique. Ce développe ne peut garder sa pérennité que s'il trouve des débouchés industriels en agroalimentaires, en cosmétique et en médecine. Dans cet esprit une base de données scientifique et technique (biochimique, phyto-chimique, génétique, nutritionnelle, agronomique.....) doit être élaboré pour assurer l'industrialisation visée des produits agricoles. Cette base de données est très importante dans la mesure où on trouve que certains pays sont capables d'imposer leurs produits sur le marché international. À titre d'exemple on peut citer que la franchise Macdonald[®] utilise la pomme de terre égyptienne, produite par des agriculteurs agréés selon un cahier de charge, comme source unique pour préparer les frites.

Le plan nutritionnel est mal valorisé au Maroc, portant c'est le plan le plus important par ce qu'il est le facteur majeur qui influence notre état de santé. En effet, une alimentation variée et équilibrée est un élément primordial dans le cadre de la prévention des maladies. Au Maroc la carence en Vitamine A est un problème de santé publique, raison pour laquelle le Ministère de la Santé a établi des stratégies pour lutter contre cette carence, tels que la supplémentation et la fortification largement employée. Tandis que, l'éducation nutritionnelle et la valorisation des produits cultivés et consommés au Maroc à peu d'intérêt dans nos stratégies, raison pour laquelle nous nous sommes intéressés dans ce travail à explorer ce patrimoine végétal.

Les deux arguments cités au-dessus nous ont incité à chercher un patrimoine végétal qui est mal valorisé. La recherche sur le terrain nous a orienté vers le marché des tubercules qui présente une consommation non rationnelle sur le plan économique et sur le plan nutritionnel. Cette problématique s'articule autour de la consommation majoritaire, voir écrasante, des pommes de terre par rapport à la patate douce. Cette tendance doit être corrigée car la population marocaine souffre de plusieurs problèmes sanitaires où culmine les maladies chroniques tel que la glycémie, les maladies cardiaques, les cancers....

Notre contribution ainsi, ambitionne la valorisation des tubercules riches en sucres mais qui présentent des vertus thérapeutiques et industrielles très importantes. Les retombés de ce choix sont bien sûr économiques et sanitaires.

Les tubercules visés par cette étude sont la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) et la patate douce (*Ipomoea batatas*).

PARTIE I : Étude bibliographie

I. Les pigments

1. Définition

Tout comme un colorant, un pigment modifie la couleur du milieu qui le reçoit mais à la différence de ce dernier il se présente sous forme de poudre insoluble. Il est donc nécessaire de choisir un milieu qui puisse maintenir les pigments sans qu'il y ait décantation : un tel milieu est appelé un liant et peut par exemple être constitué d'huile. Les pigments peuvent être d'origine organique (végétale ou animale) mais sont le plus souvent de nature minérale. On peut retrouver des pigments dans des produits cosmétiques mais ils sont surtout présents dans les peintures [1].

2. Composé phénolique

a. Introduction

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, la détermination de leur teneur dans certains produits alimentaires quotidiennement consommés fait appel à un dosage colorimétrique par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques, est de nos jours devenue incontournable. Les composés phénoliques incluent les polyphénols et les mono phénols, caractérisés par la présence d'un à plus de six cycles aromatiques acylés par deux (ou plus) groupements hydroxy-phénols. Bien que très différentes, ces deux classes de molécules partagent de nombreuses propriétés et caractéristiques. Les mono phénols sont bien souvent des acides synthétisés à partir de la phénylalanine, comme l'acide caféique ou l'acide p-coumarique, en amont de la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Les précurseurs de cette voie sont le malonyl-CoA et le p-coumaroyl-CoA provenant respectivement du métabolisme des sucres et de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes [2]. Il existe de nombreuses sous-classes et ramifications au sein de la voie de biosynthèse allant par exemple des chalcones aux anthocyanes en passant par les flavonoïdes.

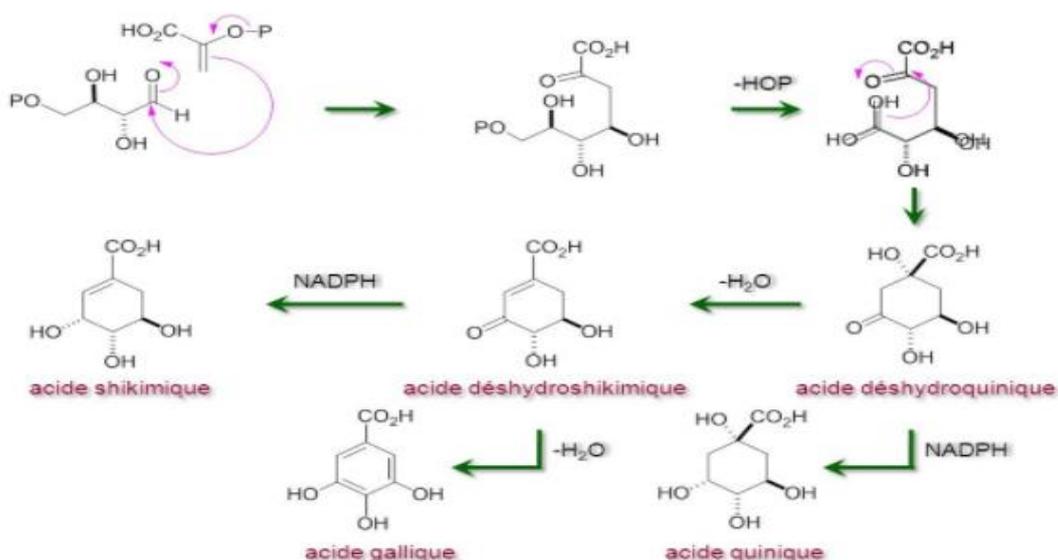


Figure 1 : Voie de biosynthèse des composés phénoliques.

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside, etc.

En effet, les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus. Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxy cinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits. [3].

b. Classification

Parmi ces constituants les polyphénols sont réputés pour leurs excellentes propriétés Antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancérigènes, et antimicrobiennes [4].

✓ Les phénols simples

Ce sont des phénols de structure simple, dont le squelette est basé sur le C6-C1 et au maximum C6-C2 (figure 2). Dans les plantes supérieures, ces composés dérivent de la voie biosynthétique des phénylpropanes suivies par une dégradation du squelette C6-C3 initialement formé. Une voie directe représentée par aromatisation de l'acide shikimique semble être la voie principale vers l'acide gallique, le précurseur des tanins hydrolysables. [4]

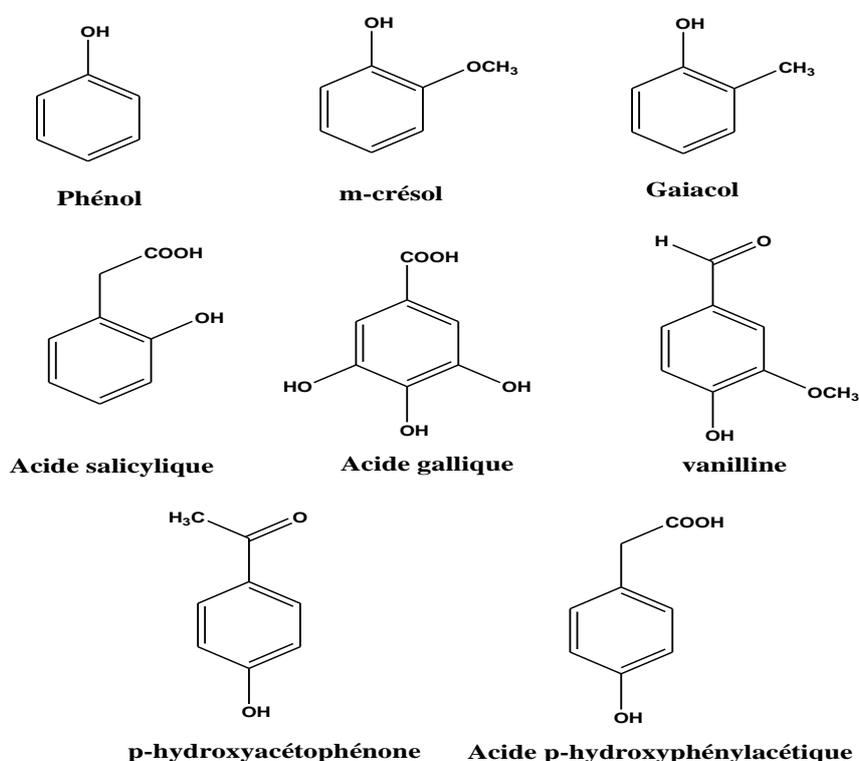


Figure 2 : Structure chimique de quelques composés aromatiques.

✓ Les flavonoïdes

L'évolution des plantes vasculaires est directement liée au développement de la capacité de lignification ou plus précisément à l'expansion du métabolisme phénylpropanes (impliquant l'acide shikimique comme intermédiaire obligatoire). Les flavonoïdes partagent la même voie de biosynthèse que la lignine et sont représentés par des composés avec des squelettes C6-C3-C6, c'est-à-dire à la base de phénylpropanes. Leur structure moléculaire est caractérisée par un squelette carboné de type diphényle 1,3-propane qui comprend 15 atomes de carbone répartis en deux cycles benzéniques notés A et B reliés entre eux par la structure chromane à trois carbones (C). [4]

Plusieurs sous-groupes de flavonoïdes existent selon le degré d'insaturation et d'oxydation de l'hétérocycle : flavone, flavanone, flavane, isoflavones [5]. Les flavonoïdes existent généralement dans la nature sous forme hydroxylée et combinés à diverses molécules, ce qui explique la grande variété de ces composés (figure 3). La présence de glucides ou de groupements méthyle sur les hydroxyles phénoliques est très fréquente. Pour la plupart des flavonoïdes, la chaîne aliphatique propane est incluse dans un hétérocycle pyrane.

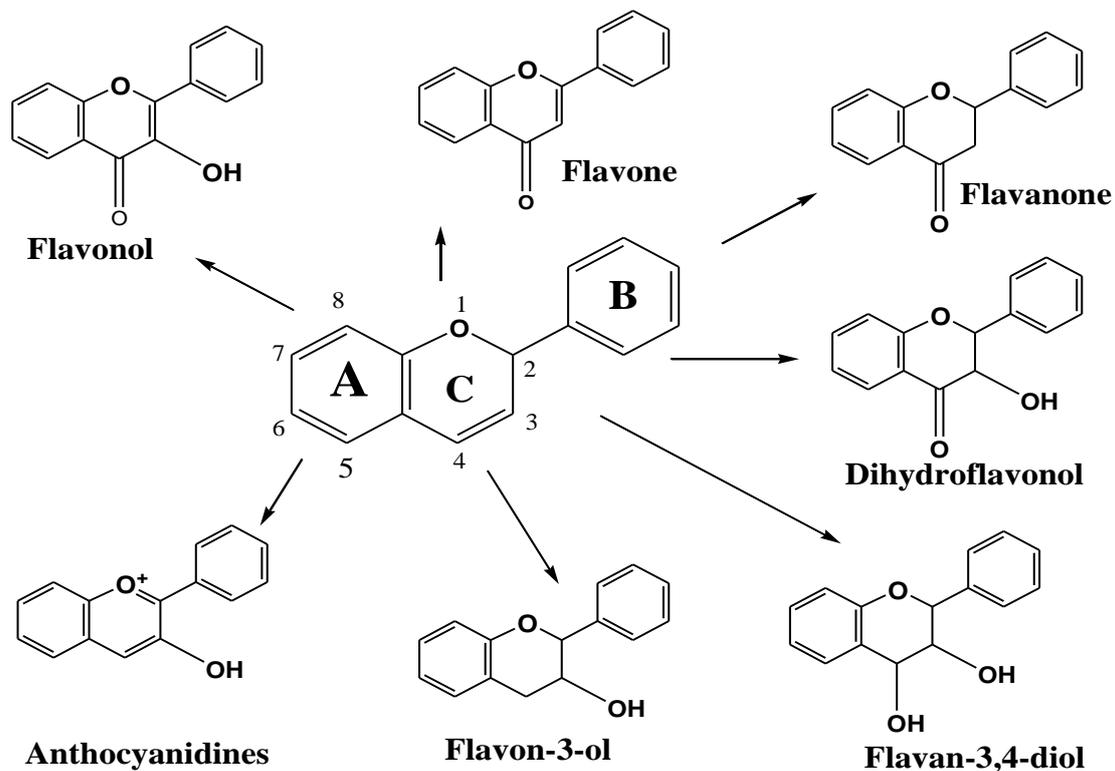


Figure 3 : Familles des flavonoïdes.

Les flavonoïdes jouent un rôle dans la pigmentation des plantes, la fixation du diazote atmosphérique par les plantes légumineuses, la défense chimique contre les prédateurs (phytoalexines) et la reproduction des plantes. [4]

3. Caroténoïdes :

Il existe actuellement un consensus visant l'amélioration des propriétés nutritionnelles des aliments afin de lutter contre les carences en micronutriments [6]. Par exemple, un apport limité en caroténoïdes de type provitamine A, principalement rencontré dans les pays en voie de développement, représente un réel problème puisque les carences en vitamine A, indispensable à l'homme, peuvent mener à la cécité. La provitamine A apportée par l'alimentation est un dimère de vitamine A dont la production chez l'homme est assurée par hydrolyse de la double liaison médiane et la formation d'une fonction alcool.

Il existe plus de 700 caroténoïdes, dont plus de 50 sont de type provitamine A. On les trouve chez de nombreuses espèces photosynthétiques ou non. On les trouve aussi bien dans des bactéries, des champignons qu'évidemment des plantes à fleurs. Seulement 40 sont retrouvés en quantité non négligeable dans l'alimentation humaine. Constitués généralement d'une chaîne de huit motifs isoprènes de 40 carbones pouvant être terminée par un cycle ou acylée par divers groupements, on peut les classer en trois classes :

- les caroténoïdes acycliques.
- les caroténoïdes cycliques.
- les xanthophylles.

Grâce aux propriétés optiques conférées par leurs structures, une grosse partie des molécules de cette famille sont des pigments, connus pour donner des couleurs allant du jaune clair au rouge. Dans la classe des caroténoïdes acycliques, on retrouve par exemple le phytogène qui est un des premiers caroténoïdes formés dans la voie de biosynthèse et qui apparaît incolore [7]. Le lycopène, également acyclique, est bien connu puisqu'il est le caroténoïde majeur responsable de la couleur rouge du fruit le plus consommé de la planète : la tomate (*Solanum lycopersicum*).

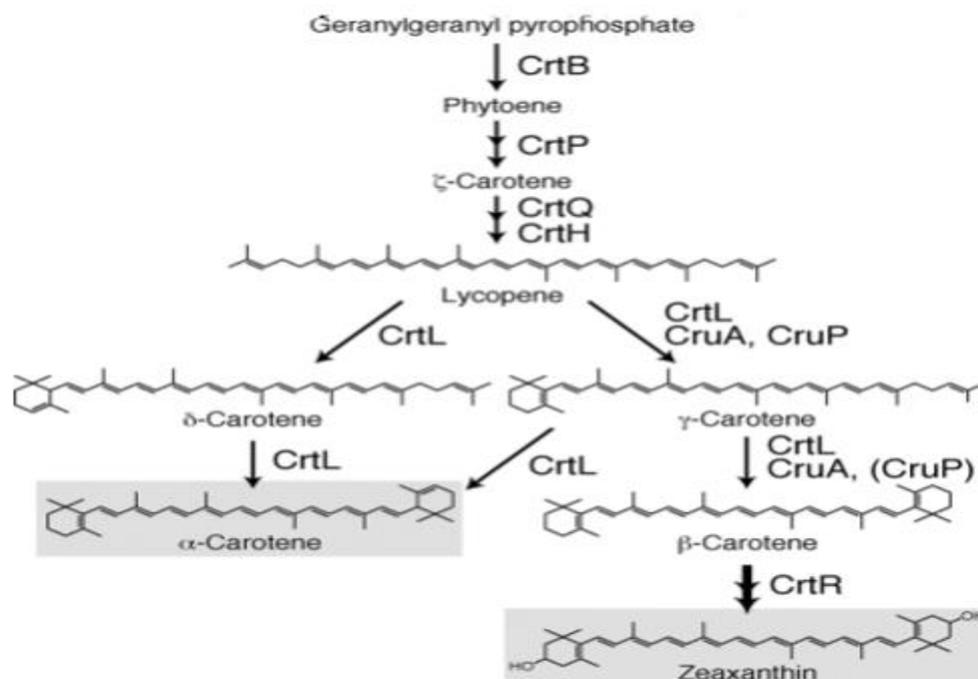


Figure 4 : voie de biosynthèse des caroténoïdes.

II. Oxydants et antioxydants

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [8].

1. Oxydant

a. Définition

Ce sont des molécules toxiques, appelées aussi radicaux libres. Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne [9].

Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (ERO) [10]. Les principales ERO sont listés dans le tableau 1.

Tableau 1: Liste des principaux oxydants [11]

Radicale	Formule
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
Peroxyde d'hydrogéné	H_2O_2
Hydroxyle	OH^{\cdot}
Peroxyde	ROO^{\cdot}
Hydro peroxydes	$ROOH$
Alcoyles	RO^{\cdot}
Oxygéné singulet	$1/2O_2$
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}

b. Origine des radicaux libres (RL)

La production de ces espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d' O_2 pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (voir tableau 2) [8].

Les autres sources de production de radicaux libres sont représentées dans le tableau 2. Elles sont classées en deux catégories [12] :

- Sources endogènes : les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme,
- Sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres.

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif.

Tableau 2 : Principales sources de production des radicaux libres. [12]

Sources endogènes	Production des radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries). Cellules phagocytaires. Métabolisme de l'acide arachidonique. Système xanthine/xanthine oxydase.
Sources exogènes	Rayonnement électromagnétique. Métaux de transition. Médicament.

2. Stress oxydant

a. Principe

Lorsque l'un des systèmes protecteurs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre une défaillance, l'action des radicaux libres devient incontrôlable. Ceci entraîne des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement la mort de l'organisme. [13] La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant ». Ce terme est défini initialement comme étant « Un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers ». [14] Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut-être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels et à des dégâts cellulaires irréversibles ». [15, 16]

b. Mécanisme d'oxydation

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales. [17]

- Une phase d'initiation qui peut être due à l'intervention d'un radical hydroxyle HO qui arrache un atome d'hydrogène selon la réaction suivant :



Figure 5 : phase d'initiation

L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que par les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

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

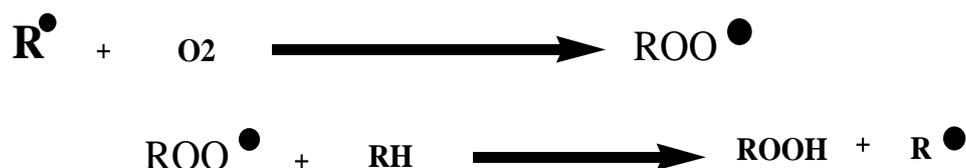


Figure 6 : phase de propagation

- Une phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés pour aboutir à des composés stables selon les réactions suivantes :



Figure 7 : phase de terminaison

3. Antioxydants

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme « antioxydant ».

a. Définition

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat, et dont les produits de réaction avec l'oxydant ne sont pas toxiques. [18, 19]

b. Caractéristiques des antioxydants

Un composé est considéré antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes [15 et 18] :

- 1- Il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.
- 2- Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.

3- L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.

4- La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

c. Mode d'action des antioxydants

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est, en outre, capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire. Les antioxydants préventifs ont une action stabilisatrice en décomposant par exemple les peroxydes en des produits stables de terminaison ce qui empêche directement la formation des radicaux libres. Ils peuvent aussi chélater les catalyseurs des réactions d'oxydation tels que les ions métalliques ou bien réagir avec l'oxygène [19].

Les piègeurs des ERO rentrent en compétition avec des radicaux déjà existants et contribuent à bloquer la phase de propagation. On différencie deux types de piégeage [17] :

- le premier par libération d'un atome d'hydrogène, souvent par une structure aromatique (cas des dérivés du phénol : tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...),
- et le deuxième par libération d'un électron. La combinaison de ces antioxydants préventifs et piègeurs peut générer des effets synergiques.

d. Sources d'antioxydants

En plus des substances propres à l'organisme, l'alimentation, la synthèse et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants [20].

➤ Source alimentaire :

Certaines substances sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement : la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le β -carotène.

✓ La vitamine C ou acide ascorbique :

C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, les choux, le poivron, les agrumes. [21]

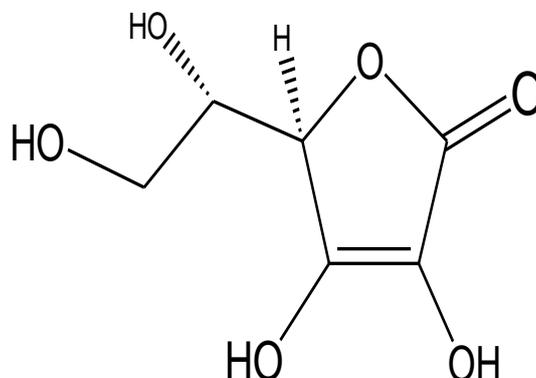


Figure 8 : Structure de la vitamine C

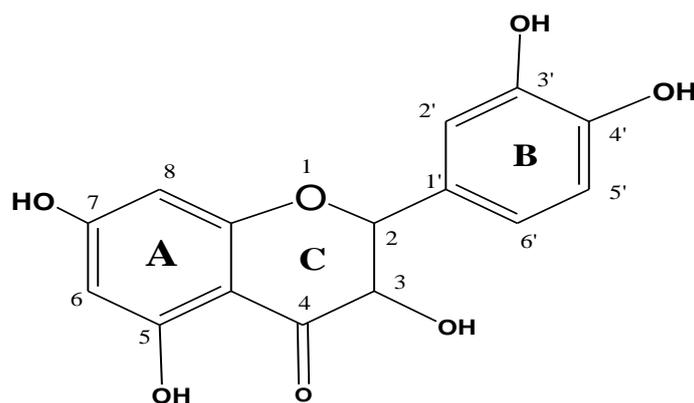


Figure 11 : Structure générale du noyau des flavonoïdes

✓ Les tanins

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure [24]. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides [24].

Un exemple de tanins est la gallate d'épigalocathéchine.

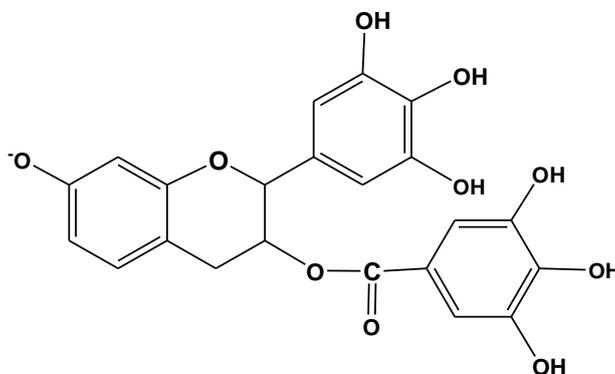


Figure 12 : Structure de la gallate d'épigalocathéchine

✓ Les coumarines

Les coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles des flavonoïdes. [22]

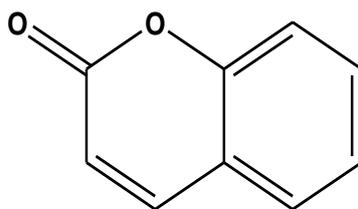


Figure 13 : Noyau de base des coumarines.

✓ Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, précurseur de l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. [22] Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol (Figure 14) est le composé le plus étudié. En effet, cette molécule, isolée du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes. [22]

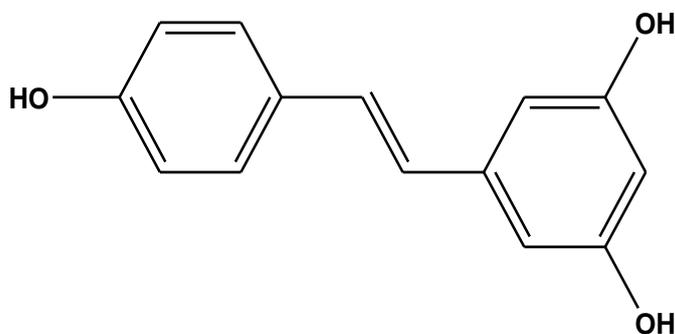


Figure 14 : Structure du resvératrol.

✓ Les xanthones

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont essentiellement : leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase [25]. La manguiférine (Figure 15) est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition de la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes. [25]

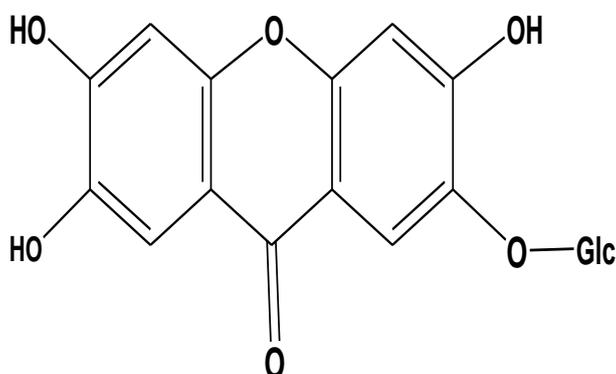


Figure 15 : Structure de la manguiférine.

➤ Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Figure 16). Cependant, leur sécurité est très discutée. Il a été montré qu'ils pourraient être toxiques [26]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales [27]. Ainsi, le besoin de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant limitée dans plusieurs pays en raison de leurs possibles effets indésirables sur la santé humaine) impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine [28].

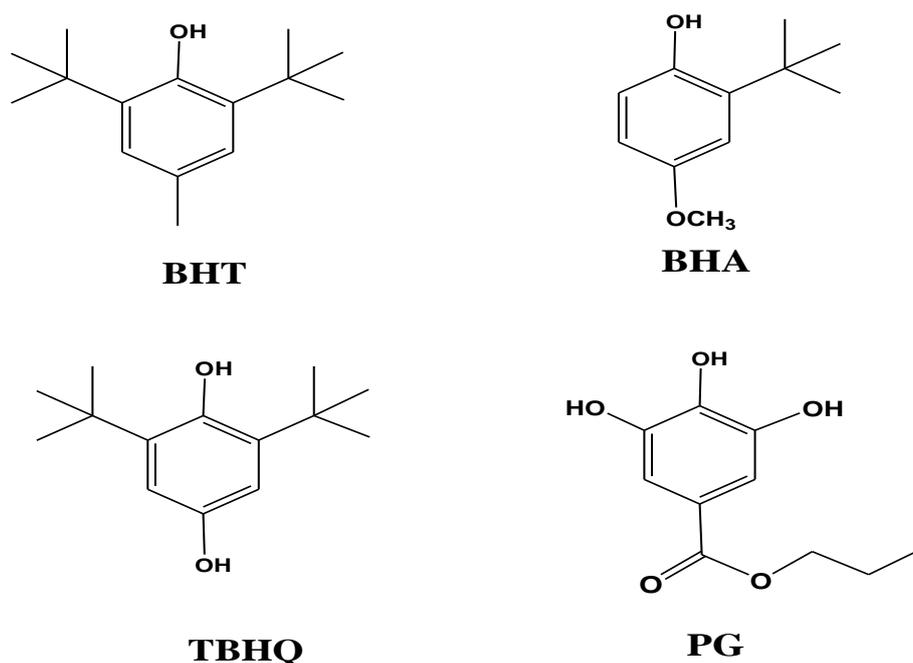


Figure 16 : Antioxydants de synthèse les plus utilisés.

III. Différents procédés d'extraction

1. Définition

Une extraction consiste à retirer (extraire) une ou des espèces chimiques d'un milieu solide ou liquide. [29]

2. Techniques d'extraction

Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide.

Il existe plusieurs techniques d'extractions. Ces techniques peuvent être traditionnelles, conventionnelles (utilisées depuis longtemps) et nouvelles (développées plus récemment) [30].

a. Techniques traditionnelles

Avec les techniques traditionnelles, les plantes peuvent être utilisées en infusion, décoction ou macération [31] :

➤ **Infusion**

Cette technique est nécessaire si l'on utilise les parties fragiles et nobles de la plante (telles que les fleurs, sommités fleuries). Le procédé consiste ici, en premier, à faire bouillir une certaine quantité d'eau. Dès le début de l'ébullition, on retire le récipient de la source de chaleur. On y ajoute la quantité nécessaire de plante et on laisse infuser (en général de 10 à 20 minutes). On filtre, ensuite, pour consommer le filtrat après avoir laissé un peu refroidir éventuellement.

➤ **Décoction**

Elle est utile lorsque l'on utilise les parties dures, ligneuses de la plante (racines, rhizomes, écorces). On met en présence les quantités requises de plante et d'eau sur une source de chaleur, puis on chauffe jusqu'à ébullition. La décoction permet une extraction plus complète des principes actifs que l'infusion, mais ne s'applique pas à toutes les plantes, la température modifiant ou dégradant certains principes.

➤ **Macération**

On peut soit faire au préalable une décoction et ensuite laisser macérer toute la nuit, après avoir arrêté de chauffer, soit laisser macérer à froid dès le départ. La préparation de la macération est la même que celle de l'infusion, à la différence qu'il suffit de laisser en contact plusieurs heures, voire plusieurs jours les plantes et le liquide extracteur.

b. Techniques conventionnelles

Parmi les techniques conventionnelles, on trouve [32] :

➤ **L'entraînement à la vapeur (hydro-distillation) :**

C'est une technique largement utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. L'avantage de cette technique réside en la diminution de la température de distillation. Les composés volatils sont donc entraînés à des températures beaucoup plus basses que leur température d'ébullition, ce qui évite leur décomposition.

➤ **L'extraction par Soxhlet :**

C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages du Soxhlet sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion de solvant pur, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. De plus, Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction et peut être utilisée quel que soit la matrice végétale. Ses inconvénients les plus significatifs sont la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée (devant être ultérieurement évaporé), ce qui limite sa rentabilité économique et la rend peu écologique. Il n'y a pas de possibilité de travailler à froid, ce qui peut être gênant avec des substances sensibles à la chaleur. Cette technique est limitée d'un point de vue de la sélectivité du solvant et n'est pas facilement automatisable (figure 17).

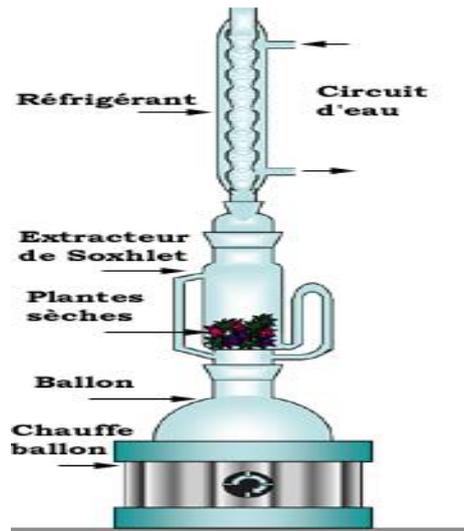


Figure 17: Appareillage de Soxhlet

➤ **L'extraction en mode batch par agitation :**

L'avantage majeur de l'extraction en mode batch par agitation devant le Soxhlet est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants et de contrôler la température d'extraction pour éviter le risque de destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures postérieures de filtration et de concentration relativement longues.

➤ **L'extraction assistée par sonication :**

C'est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par sonication permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale. Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus. L'étape limitante est la filtration et le rinçage après l'extraction.

c. Techniques nouvelles

Afin de pallier aux problèmes environnementaux et économiques dus à la grande quantité de solvant demandée par les méthodes classiques, plusieurs méthodes utilisant des paramètres physiques sont apparues [33].

Parmi les « techniques nouvelles » on peut citer [32] :

➤ **L'extraction assistée par micro-ondes (Hydro distillation par Micro-ondes sous Vide pulsé (VMHD)) :**

Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150°C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants. Les autres

inconvénients de cette technique sont d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait.

➤ **L'extraction accélérée par solvants (Accélérâtes Solvent Extraction ASE®) :**

Technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions (100 – 150 bar) élevées. La pression exercée est assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE®, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : on évite les échauffements locaux et on consomme de plus petites quantités de solvant en comparaison à l'extraction par Soxhlet et par batch avec agitation. Ses inconvénients sont liés à son coût élevé et surtout à sa non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent aussi mener à une dégradation des solutés thermolabiles.

➤ **L'extraction avec des fluides supercritiques :**

Cette technologie considérée "verte" est très attractive et performante. Les avantages de cette méthode devant les méthodes conventionnelles sont basées sur une durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée et la facilité d'éliminer le solvant après l'extraction par simple décompression. Son grand inconvénient est le coût élevé de l'appareillage.

3. Les facteurs qui influencent la performance de l'extraction

✓ **Taille des particules :**

Tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) [34].

✓ **La nature du solvant**

Un solvant d'extraction est choisi en fonction de ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique, etc. Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une température d'ébullition peu élevée, une faible viscosité, non toxique, ininflammable, et non explosif [35].

✓ **La température**

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction. Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation,
- La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire,
- Elle augmente les coefficients de diffusion,

- Enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation [36].

✓ **Temps d'extraction**

Les quantités de substances extraites sont en fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé etc.) Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement [37].

✓ **Degré d'agitation**

L'agitation mécanique des particules dans le solvant, qui permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu, a un effet toujours favorable sur l'opération. Dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide et d'augmenter le coefficient de transfert [38].

PARTIE II : Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Cette étude s'insère dans le cadre de valorisation des molécules Bio-Actives extraire à partir des aliments produits et consommés au Maroc. Dans ce but des échantillons de deux variétés de pomme de terre ont été prélevés de la ville de Fès, afin de recherché les molécules Bio-Actives.

1. Identification botanique des espèces végétales étudiées

a. Pomme de terre :

➤ Description

La pomme de terre fait partie de la famille des Solanacées. Cette plante originaire d'Amérique du sud a été introduite en Europe au XVIe siècle [39].

Tableau 3 : la systématique de la pomme de terre.

Nom commun	Pomme de terre
Nom systématique	Solanum tuberosum
Famille	Solanacées
Type de végétation	Légume-racine vivace cultivé en annuel car gélif
Type de feuillage	Feuilles vertes, ovales et gaufrées.
Couleur	Blanc, violet.
Quelques Variétés :	<p>Pomme de Terre "Agata" : La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Amandine" : Variété qui est la "fille" de la Charlotte. Très précoce et productive elle est résistante au mildiou. La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Belle de Fontenay" : variété hâtive de petit rendement mais d'excellente qualité gustative. La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Bernadette" : Variété récente. Une des meilleures au niveau du rendement et résistante aux maladies. Précoce avec une peau et une chair jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Bintje" : Variété classique demi-précoce. La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Bleue d'Artois" : Variété originale demi-précoce de très bon rendement et de bonnes qualités gustatives. La peau et la chair sont bleu violacé.</p> <p>Pomme de Terre "Carrera" : Variété demi-précoce de bon rendement et bonne conservation. La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Œil de Perdrix" : Variété ancienne mi- précoce de bon rendement et de bonne qualité gustative. La peau est jaune marbrée de rouge et la chair claire presque blanc.</p> <p>Pomme de Terre "Pompadour" : Variété demi-tardive vigoureuse de bon rendement et d'excellente qualité gustative. La peau et la chair sont jaunes.</p> <p>Pomme de Terre "Ratte" : Variété surnommée "corne de bélier" ou "saucisse de Lyon". Tardive, de petit rendement, elle est très recherchée. La peau et la chair sont jaunes.</p>

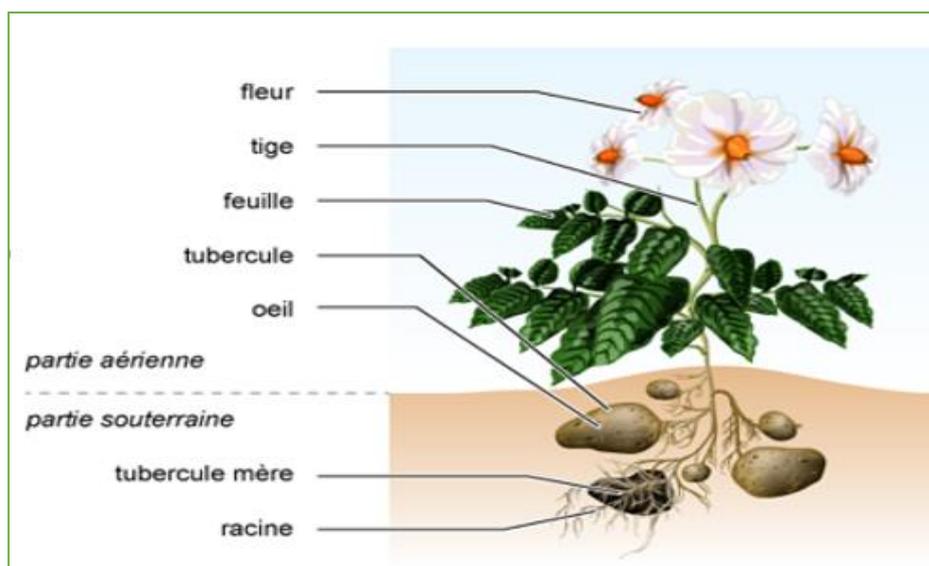


Figure 18 : la description botanique de pomme de terre.

➤ **Valeur nutritionnelle :**

Bien que la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) soit aujourd'hui le légume le plus consommé de la planète il est :

- ✓ Source de vitamine B6
- ✓ Source de sélénium
- ✓ Source de vitamine C
- ✓ Source de potassium
- ✓ Source des fibres et antioxydants

b. La patate douce

➤ **Description :**

La patate douce (*Ipomoea batatas*) est une plante vivace de la famille des Convolvulacées largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales pour ses tubercules comestibles.

Tableau 4 : la systématique de la patate douce.

Nom commun	Patate Douce
Nom systématique	<i>Ipomoea Batatas</i>
Famille	Convolvulacées
Origine	Amérique du Sud
Couleur	Blanc, rouge, violet.
Quelques Variétés	Patate Douce "De Malaga" : Variété à chair jaune. Patate Douce "D'Amérique" : Variété à chair rouge. Patate Douce "D'Afrique" : Variété de gros tubercule à chair orangée.

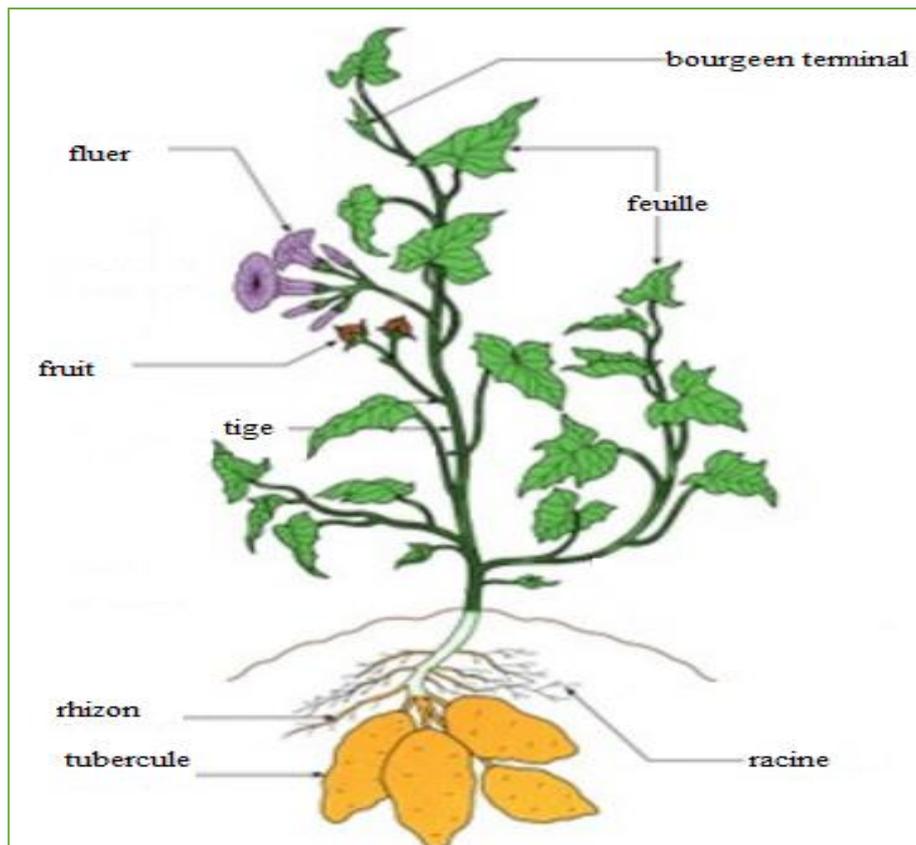


Figure 19 : la description botanique de la patate douce.

➤ **Valeur nutritionnelle :**

- ✓ Les variétés à chair orange ou pourpre sont plus riches en éléments nutritifs que les jaunes et encore plus que les blanches.
- ✓ Les tubercules avec la chair blanche ou jaune pâle sont moins sucrés et ont un taux d'humidité inférieur à celles qui sont rouges, roses et orange. Ils sont très riches en amidon. Leur saveur sucrée.
- ✓ Elle contient une grande quantité de bêta-carotène précurseur de la vitamine A.
- ✓ Les composés phénoliques qu'elle contient, la patate douce pourrait avoir une action positive sur l'oxydation du cholestérol
- ✓ Les tubercules contiennent de l'amidon et du saccharose (de l'ordre de 6 %) pouvant servir à la production d'alcool par fermentation (bière) et distillation, ainsi qu'à la
- ✓ La patate douce est une excellente source de vitamine A.
- ✓ La patate douce est une excellente source de cuivre.
- ✓ La patate douce est une excellente source de manganèse.
- ✓ La patate douce bouillie est une bonne source de vitamine B2, tandis que la patate douce cuite au four avec la pelure en est une source.
- ✓ La patate douce bouillie est une bonne source de vitamine B5, tandis que la patate douce cuite au four avec la pelure en est une source.
- ✓ La patate douce est une bonne source de vitamine C qui
- ✓ Pouvoir antioxydant : Élevé

II. Évaluation de taux d'humidité

Le taux de l'humidité représente la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Il a été déterminé en mettant un échantillon de matière végétal (10g) à sécher dans une étuve réglée à 40°C pendant 96h en suivant la masse chaque 24h jusqu'à qu'il est stable. Après refroidissement, une deuxième pesée a été effectuée. L'humidité est exprimée en pourcentage et calculée par la formule suivante :

$$H \% = \frac{M_H - M_S}{M_S} \times 100$$

Avec :

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M_H : masse de l'échantillon avant séchage (matière fraîche).

M_S : masse de l'échantillon après séchage (matière sèche).

III. Dosage des sucres totaux

1. Hydrolyse acide des sucres

Dans un ballon, déposer 1g de patate et 10 ml de HCl et 100ml de l'eau distillé. Mettre le ballon au bain-marie à 100°C pendant 60 minutes. Le contenu du ballon constitue l'hydrolyse acide des sucres solubles. Ce milieu contient, entre autres, les sucres réducteurs provenant du saccharose et les sucres réducteurs préexistants libres.

2. Dosage par méthode d'anthrone

a. Principe :

L'anthrone, d'après MORRIS, réagit avec tous les oses, diosides et polysaccharides essayés, dont notamment l'amidon et les diverses dextrines. A poids égal, glucose et fructose donnent avec l'anthrone la même réaction colorée. MORRIS a aussi montré que l'anthrone développe pratiquement la même couleur pour un composé sucré ou les produits d'hydrolyse de ce composé ; des poids égaux de glucose (sucre en C 6), de maltose, de saccharose (diosides) et de glycogène (polyosides) donnent à peu de chose près la même couleur, que ces sucres soient ou non hydrolyse au préalable.

Dissoute en milieu sulfurique concentré, l' anthrone apparaît de couleur jaune clair et donne avec les solutions de glucides une coloration bleue, d'où selon la concentration de ces solutions une gamme assez lumineuse allant du vert au bleu-vert. Une couleur rouge se développer avec les protéines [40].

Le dosage des glucides totaux fait suivant la méthode à l'anthrone (Sattler & Zerban, 1948) [41]. Cette méthode fait intervenir une hydrolyse acide, la courbe étalon est réalisée avec des concentrations de 0 à 1mg/ml de glucose. Les mesures sont effectuées par colorimétrie à 620nm.

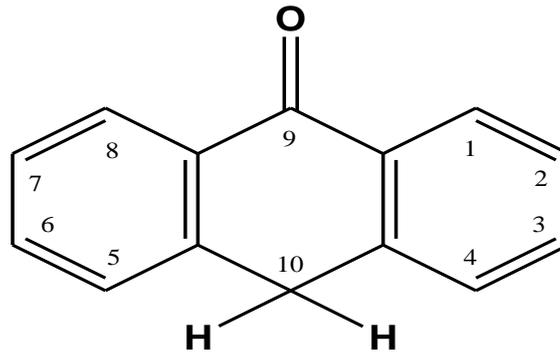


Figure 20 : structure chimique de L'anthrone ou "oxo-9-dihydro-10 anthracène

b. Technique de dosage

1g d'anthrone est dissous dans 1 demi-litre d'acide sulfurique à 95% (acide préparé par addition d'un litre d'acide sulfurique pur à 50ml d'eau distillée) 5ml de la solution sucrée à analyser sont placés dans un tube en verre de 25mm de diamètre, puis recouverts par 10ml du réactif sulfurique à l'anthrone. Après agitation tournante du tube pour homogénéisation, ce dernier est placé au moins 10 mn dans un portoir et la couleur qui se développe au cours de l'échauffement du mélange est ensuite mesurée dans un photo-colorimètre équipé d'un filtre coloré de 580nm (orange) ou 620nm (rouge). Un blanc, réalisé avec le réactif et de l'eau distillée, permet le réglage au 0 du photo colorimètre. Une courbe d'étalonnage avec des solutions plus ou moins diluées de glucose est à refaire à chaque série des mesures.

3. Dosage par méthode Fehling

a. Principe

La réaction de Fehling est une réaction caractéristique des aldéhydes. Ainsi, le test à la liqueur de Fehling met en évidence la présence des glucides (aldose ou cétose*) par l'action réductrice d'une solution de sel cuivrique. (* : En milieu alcalin, le cétose est isomères en aldose et se comporte donc comme un sucre réducteur.)

Cette méthode de dosage repose sur la réduction de la liqueur de Fehling, mélange d'une solution de sulfate de cuivre et de sel de Seignette en présence de soude, par les sucres présents dans la variété de patate. Son principe repose sur la réduction de l'oxyde cuivrique CuO en petits grains rouges-brique d'oxyde cuivreux Cu₂O.

Au cours de la réaction, l'ion cuivre (II) oxyde l'aldéhyde pour donner un acide carboxylique sous sa forme basique (ion carboxylate), et un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre(I) Cu₂O selon l'équation d'oxydo-réduction :

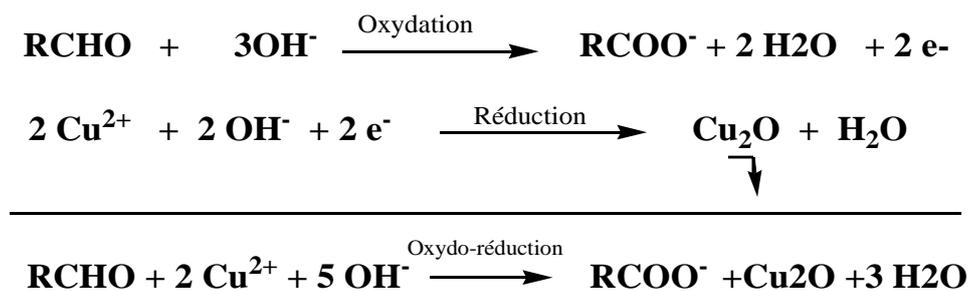


Figure 21 : la réaction oxydoréduction entre un ose et les ions cuivreux.

Les cétones, qui ne peuvent subir d'oxydation ménagée, ne réagissent pas avec la liqueur de Fehling.

b. Réactifs

- Solution A de liqueur de Fehling : 40 g de (CuSO₄), 5 H₂O + 2 ml d'H₂SO₄ + 1000 ml d'eau distillée
- Solution B de liqueur de Fehling : 200 g de tartrate neutre de sodium et de potassium (KNaC₄H₄O₆.4H₂O) + 150 g de pastilles de NaOH ou 375 ml de lessive de soude + 1000 ml d'eau distillée
- 100 ml de solution étalon de glucose à 0.5%

c. Étalonnage de la liqueur de Fehling

Introduire dans un erlenmeyer 10 ml de solution A, 10 ml de solution B et 30 ml d'eau distillé. Puis porter à ébullition et verser goutte à goutte la solution de glucose à 5 g/l placée dans la burette. Maintenir l'ébullition entre chaque addition de glucose. Un précipité rouge d'oxyde cuivreux se forme et le surnageant bleu se décolore.

- Soit V le volume versé en ml.

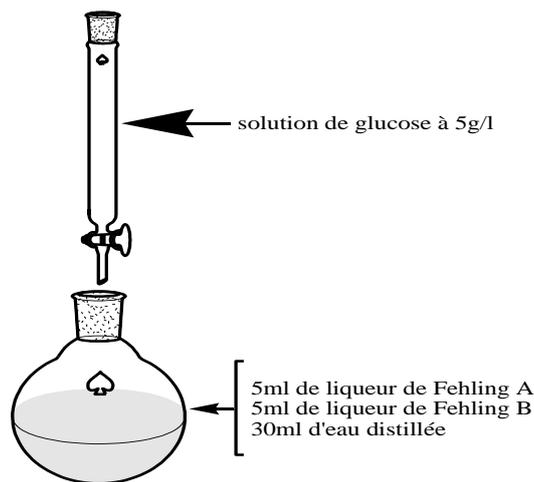


Figure 22 : le protocole de dosage de glucose par liqueur de Fehling.

d. Dosage des sucres réducteurs dans l'échantillon

- Verser dans un erlenmeyer 10 ml de solution A (pipette jaugée), 10 ml de solution B (éprouvette) et 30 ml d'eau
- Porter à ébullition et verser goutte à goutte la solution déféquée et diluée placée dans la burette en opérant comme précédemment
- Soit V' le volume versé en ml.

Donc la concentration en sucre est :

$$5 \frac{V}{V'} \text{ FD g/l}$$

Avec :

- FD est le facteur de dilution

IV. Dosage des lipides

La patate (30g) subit un broyage dans un solvant d'hexane (50ml) afin d'en extraire les lipides. Après broyage on effectue une filtration on répète 3 fois l'extraction, ensuite on procède à une mise à l'étuve afin d'éliminer les dernières traces du solvant. Le résidu final est pesé après disparition complète du solvant. On pèse la masse et on déduit la concentration des lipides dans la variété de patate [42]

V. Dosage des protéines

Les protéines sont composées d'acides aminés. Beaucoup des méthodes de dosage des protéines utilisent des propriétés des acides aminés. De nombreuses méthodes ont été mises au point pour doser les protéines. Ce sont généralement des méthodes spectrophotométriques basées sur diverses caractéristiques spectrales ou réactionnelles des acides aminés constituant les protéines. Le choix dépend des besoins et des caractéristiques recherchées : fiabilité, sensibilité, rapidité, taille des échantillons, possibilité de récupérer l'échantillon après dosage, présence de substances interférentes dans l'échantillon, etc.

Ces méthodes sont basées sur la réaction d'agents chromophores avec les liaisons peptidiques ou avec certains acides aminés des protéines. Cette réaction donne naissance à une coloration (dans le visible) dont l'intensité (l'absorbance (A) ou densité optique (DO)) est directement proportionnelle à la concentration de la protéine. Les méthodes colorimétriques les plus utilisées pour doser les protéines sont celles de Biuret, Lowry.

Tableau 5 : description de méthode de Lowry et de Biuret

Méthode	Biuret	Lowry
Référence	Gornall et al. (1949) J. Biol. Chem. 177, 751	Lowry et al. (1951) J. Biol. Chem. 193, 251
Réactif	Le biuret (NH ₂ -CO-NH-CO-NH ₂)	Le biuret et le réactif de Folin-Ciocalteu (phosphomolybdate et phosphotungstate - 1927)
Groupements réactifs	Formation d'un complexe pourpre avec la liaison peptidique en présence de cuivre à pH basique	Le réactif de Folin-Ciocalteu réagit avec la Tyr et le Trp et, dans une moindre mesure, avec la Cys, l'His et la liaison peptidique
λ mesure	5450 nm	745 nm
Sensibilité	Faible (seuil = 100 µg)	Élevée (seuil = 1 µg)
Rapidité et complexité	Méthode simple et moyennement rapide	Méthode moyennement simple et moyennement rapide
Interférence	Dosage influencé par les autres solutés	Dosage fortement influencé par les autres solutés.
Variation d'une protéine à une autre	Faible : la formation du complexe est à peu près équivalents pour toutes les protéines puisque le biuret réagit avec la liaison peptidique	Forte

1. Extraction

Comme toutes les substances amphiphiles, le SDS est constitué d'une tête polaire (-) et d'une queue hydrophobe. Ce détergent s'adsorbe, grâce à sa chaîne aliphatique, sur les protéines et les dénature complètement. Le SDS est un détergent dont la formule est : $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-OSO}_3\text{-Na}^+$. 1.4gr de SDS se lie par gramme de protéine, soit une molécule de SDS pour 2 acides aminés. La portion protéique du complexe protéine-SDS ainsi obtenu subit un changement de conformation conduisant à un haut degré d'ordre : le complexe (chargé négativement) prend la forme d'un bâtonnet. Ce qui permet une séparation des protéines dans un champ électrique en fonction exclusivement de leur masse moléculaire.

2. Méthode de Biuret

a. Principe

Gornall et al. (1949) J. Biol. Chem. 177, 751). En milieu alcalin, les ions cuivriques se lient par coordination aux atomes d'azote des liaisons peptidiques des peptides et protéines. La couleur rose du complexe formé se superpose à la couleur bleue de la solution cuivrique. La coloration obtenue est violacée. Le dosage est réalisé en ajoutant le réactif de biuret, composé de cuivre.

En milieu alcalin, les protéines qui possèdent au moins 4 liaisons peptidiques forment avec les ions cuivre II (Cu^{2+}) un complexe bleu-violet dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines. Cette coloration varie également en fonction de la nature des protéines à doser, de l'alcalinité du milieu, de la concentration en sulfate de cuivre et de la température. Ce complexe possède un pic d'absorbance à 540 nm.

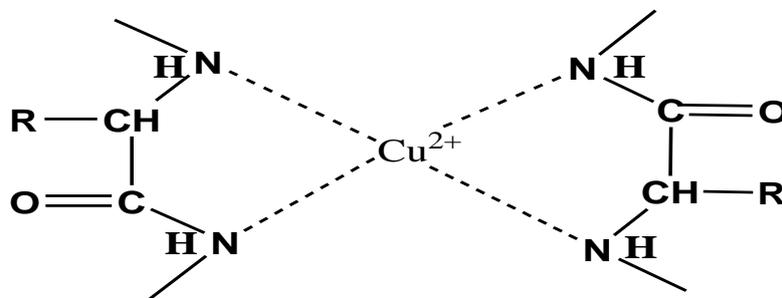


Figure 23 : complexe cuivre protéine.

b. Réactif

Le réactif de Gornall est composé des produits suivants :

- 1,5g de sulfate de cuivre (coloration bleue)
 - 30g d'hydroxyde de sodium ($\text{pH} > 7$)
 - 6g de tartrate double de sodium et de potassium (empêche précipitation des Cu^{2+})
 - 1g d'iodure de potassium (évite réduction des Cu^{2+})
 - 1000ml d'eau distillé
- Eau physiologique : 9g de NaCl dans 1000ml d'eau distillé
Sérum albumine bovine

c. Modes opératoires

- 1 ml échantillon à doser ou étalon avec une solution de NaCl à 9 g/L. 0,8 à 10 mg de protéines par tube. (Les dilutions éventuelles des solutions protéiques sont réalisées en NaCl à 9 g/L.)
- Réactif de Gornall 4 ml (réactif très stable) ;
- Homogénéiser, attendre 30 minutes à l'obscurité et lire au spectrophotomètre à 540 nm.

d. Gamme d'étalonnage.

Préparer la gamme à partir d'une solution de l'albumine sérum bovine à $C = 1 \text{ mg.ml}^{-1}$.

Tableau 6 : Dilution de solution de l'albumine sérum bovine.

Tubes	0	1	2	3	4	5
Volume sérum albumine (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
H2O physiologie (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Réactif de Gornall (ml)	4	4	4	4	4	4

- Agiter.
- Laisser incuber 30 min à l'obscurité.
- Lire l'absorbance à 540 nm.

e. Dosage d'une solution protéique.

- Utiliser l'échantillon de de l'extrait dilué (Diluant = H2O physiologie)
- Ajoute de 4ml de réactif de Gornall.
- Homogénéiser, attende 30min à l'obscurité.
- Lire l'absorbance à 540 nm et déterminée la concentration en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec albumine sérum bovin.

3. Méthode de Lowry

a. Principe

Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry et al. (1951). Le sulfate de cuivre en milieu alcalin et le réactif de Folin-Ciocalteu (acide phosphomolybdo-tungstique) en présence d'une protéine donne une coloration bleue, qui est le résultat de deux réactions :

Réaction de Biuret : qui en présence de sulfate de cuivre en milieu alcalin, permet le dosage des liaisons peptidiques des protéines. Réaction du réactif de Folin sur la tyrosine et le tryptophane, qui sont réduits en un complexe bleu. Les ions Cu^+ et les radicaux du Trp, Tyr et Cys réduisent le complexe acide phosphotungstique/acide phosphomolybdique (couleur jaune) contenu dans le réactif Folin-Ciocalteu ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$), produisant ainsi une couleur bleue.



En général, l'absorbance est mesurée à des longueurs d'ondes entre 500 nm et 750 nm où 500 nm est considérée pour le dosage de fortes concentrations en protéines, alors que 750 nm est adoptée pour le dosage de faibles concentrations en protéines.

b. Réactifs

- Réactif A : Na_2CO_3 à 2% dans NaOH 0,1 N.
- Réactif B : tartrate de Na et K à 2% dans l'eau.
- Réactif C : $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ à 1% dans l'eau.
- Réactif D : mélange constitué de 96 ml de réactif A, 2 ml de réactif B et 2 ml de réactif C (préparé juste avant l'emploi).
- Réactif E : réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10.
- Solution étalon de l'albumine sérum bovine du sang à 0,1 mg/ml (BSA).
- Échantillon

c. Mode opératoire

Diluer la solution de l'échantillon si nécessaire, sachant qu'on utilisera cette nouvelle solution pour doser les protéines.

On ajoute à 5ml de la solution D 0.5ml de l'échantillon, le mélange est homogénéisé et laissé à température ambiante pendant 15min, on y ajoute 0.5ml du réactif de Folin et on laisse la réaction colorée se développe pendant 30 min à l'obscurité. La lecture de l'absorbance est effectuée à 750 nm. [43]

Le dosage des protéines et la gamme est effectué selon le tableau suivant :

On dispose d'une solution mère de BSA à 1 mg.ml⁻¹.

À partir de la solution mère de BSA et du tampon on faire une gamme étalon.

Tableau 7 : préparation de gamme BSA par méthode de Lowry.

	Gamme étalon						Ech 1	Ech 2
Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7
Volume de SAB (0.1mg/ml) en ml	0	0.21	0.4	0.6	0.8	1		
Eau distillée en ml	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0		
Échantillon en ml							1	1
Réactif D en ml	5	5	5	5	5	5	5	5
Incubation	10 minutes							
Réactif E en ml	1	1	1	1	1	1	1	1
Incubation	Minutes à l'obscurité							

VI. Dosage des composés phénoliques

1. Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu est une méthode colorimétrique c.à.d. la teneur en polyphénols va être déterminé par la lecture des densités optiques à l'aide d'un spectrophotomètre. Le dosage colorimétrique est une technique qui repose sur la loi de BEER-LAMBERT, qui exprime la proportionnalité entre l'absorbance de la lumière à une longueur d'onde donnée et la concentration de la substance qui absorbe. Le principe de la technique est le suivant : on réalise une gamme étalon constituée d'une série de solutions de concentrations connues du composé à doser et on mesure l'absorbance de chaque solution. On reporte les résultats de mesure sur un graphe avec en abscisses la concentration (ou la quantité) de substance et en ordonnées la valeur d'absorbance correspondante. [44]

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} . L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés. [45]

Loi de beer-lambert : $A = \epsilon * l * C$

Avec :

A : absorbance de la solution sans unité

ϵ : coefficient d'extinction molaire en $ml \times mg^{-1} \times cm^{-1}$

l : longueur de cuve traversée par la lumière en cm

C : concentration molaire en mg/ml

2. Matériels et réactifs

- ✓ Échantillon
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Tubes à essais.
- ✓ Balance de précision
- ✓ Acide gallique
- ✓ Éthanol
- ✓ Réactif de Folin-Ciocalteu
- ✓ Carbonate de sodium

3. Extraction des composés phénolique

L'objectif de l'extraction est de séparer les substances phénoliques de la matière première, le solvant dissout le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. On a fait extraction avec 3 solvant différent tel que le méthanol, l'éthanol et eau. Les polyphénols sont extraits par macération de 5g de pomme de terre ou patate douce dans 50mL de solvant. On procède à une deuxième avec 30ml de solvant puis un troisième 20ml de solvant pendant 2 heures à une température ambiante. Ce mélange est filtré par papier filtre à chaque extraction [52].

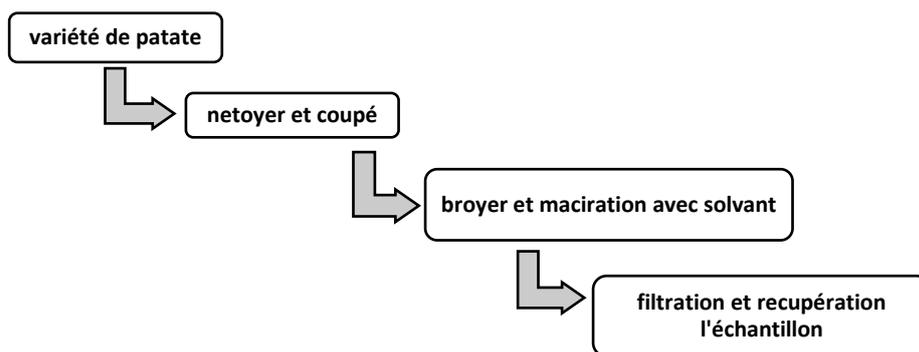


Figure 24 : les étapes de l'extraction des composés phénoliques.

4. Mode opératoire

Dans un tube à essai, on ajoute 1ml de chaque extrait est mélangé avec 0,5 ml d'une solution de Folin-Ciocalteu. Après 5 minutes, 5ml de la solution de Na₂CO₃ 5% est ajoutées sous agitation vigoureuse. Après 30 minutes de repos à température ambiante, on mesure l'absorbance à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 750 nm. [46]

5. Courbe d'étalonnage

Pour préparation de la gamme d'étalonnage, on pèse 10 mg de l'acide gallique qui sera dilué dans 1 ml du l'éthanol (solution mère). À partir de cette solution d'acide gallique de 10mg/ml, on prépare les dilutions suivantes.

Tableau 8 : dilution de l'acide gallique.

Solution mère de L'acide gallique	Solution 1	Solution 2	Solution 3	Solution 4	Solution 5
10 mg /ml	1 mg /ml	0,5 mg /ml	0,25 mg /ml	0,1 mg /ml	0,05 mg /ml

On prépare 5 tubes à essai avec :

- 1 ml de chaque solution diluée de l'acide gallique.
- Ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu
- Ajouter 1 ml de la solution de Na₂CO₃ 5% dilué dans l'eau distillée.

Les mélanges sont secoués et sont maintenues dans l'obscurité à température ambiante jusqu'à la lecture des absorbances par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 750 nm.

Le blanc est représenté par 1 ml de l'éthanol additionné à 0,5 ml de Folin-Ciocalteu et 1ml de la solution de Na₂CO₃ 5% dilué dans 5ml d'eau distillée. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

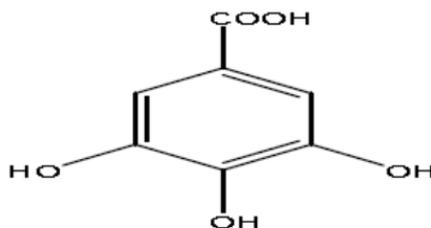


Figure 25 : structure de l'acide gallique.

6. Détermination de la teneur proprement dite

La teneur en composés phénolique est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. La lecture des absorbances est faite à 750 nm, après agitation et repos d'une heure. La Concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnages obtenus en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique (Gal) par gramme de l'échantillon.

- Prélever 0.5 ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais ;
- Ajouter 5 ml d'eau distillée dans chaque tube ;
- Ajouter 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Après 3 mn, ajouter 0.5 ml de carbonate de sodium à 20 % ;
- Laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Lecture dans spectrométrie à 750nm. [47]

VII. Dosage des flavonoïdes totaux

1. Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux dans les extraits de la plante a été réalisé par la méthode colorimétrique de chlorure d'aluminium $AlCl_3$. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Arouet-Grand [48].

2. Mode opératoire

Pour cela, 0,5 ml de l'extrait est introduit dans un tube contenant 2 ml d'eau distillée. A $t=0$, 0,15 ml de nitrite de sodium $NaNO_2$ à 5% est ajouté. On agite pendant 6 minutes puis on rajoute 0,15 ml d' $AlCl_3$ à 10%. Après 5 minutes on rajoute 1 ml de $NaOH$ (1M) puis on ajuste le volume à 5 ml avec de l'eau distillée.

Une droite d'étalonnage est réalisée avec la quercétine (flavonoïde de référence) dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. La quantité des flavonoïdes totaux est exprimée en μg quercétine /mg d'extrait. La quantité de flavonoïdes totaux de l'extrait testé est calculée à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage.

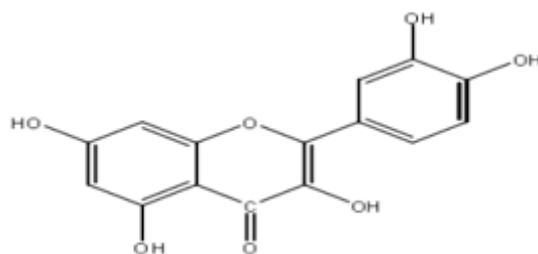


Figure 26 : structure quercétine.

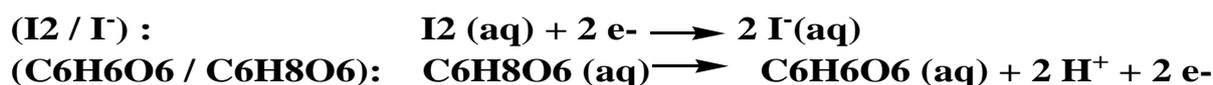
VIII. Dosage de la vitamine C

1. Dosage direct de la vitamine C

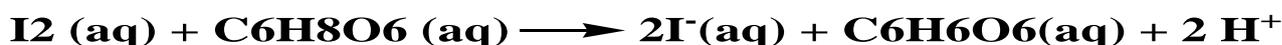
a. Principe du dosage

On fait réagir un volume connu avec du diiode introduit en quantité connue. Le diiode dissous étant la seule espèce colorée en solution, l'équivalence est repérée par le changement de teinte dû au changement de la nature du réactif limitant. Il s'agit d'une réaction oxydoréduction.

Demi-réaction :



Réaction totale :



b. Mode opératoire

- ✓ Peser 100g une pomme de terre, puis couper en petite morceaux
- ✓ Broyer avec 100ml de l'eau distillé dans Moulinex puis filtrer le liquide.
- ✓ Introduire, dans un bécher, un volume $V_1 = 10,0\text{mL}$ de liquide, mesuré avec une pipette jaugée, et 2 goutte d'amidon.
- ✓ Remplir une burette graduée avec la solution de diiode de concentration $C=0.01\text{M}$.
- ✓ Faire un dosage rapide.

Soit $V_{\text{éq}}$ le volume équivaut alors mesuré.

La concentration de vitamine C sera calculer par la relation d'équivalent : $C_2 \cdot V_2 = C_1 \cdot V_{\text{éq}}$

2. Dosage indirect de la vitamine C

a. Principe

La technique utilisée est celle du dosage redox par retour. Un volume connu est mis en présence d'une quantité connue de diiode en excès. La totalité de la vitamine C réagit avec le diiode en excès et le diiode restant est dosé par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

L'équation bilan de la réaction d'oxydoréduction entre $(\text{I}_2 / \text{I}^-)$ et $(\text{S}_4\text{O}_6^{2-} / \text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ est suivant :



b. Mode opératoire

- ✓ Peser 100g de pomme de terre, puis couper en petite morceaux
- ✓ Broyer avec 100ml de l'eau distillé puis filtrer le liquide.
- ✓ Dans un bécher, introduire avec une pipette jaugée $V = 10,0\text{mL}$ de l'échantillon.
- ✓ Ajouter 2 goutte de l'amidon, qui sert d'indicateur coloré.
- ✓ Ajouter avec la burette graduée, un volume $V_2 = 5,0\text{mL}$ de diiode de concentration $C=0.01\text{M}$. La solution est alors noire, due à l'excès de diiode.
- ✓ Remplir la burette avec une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ à $C=0.01\text{M}$
- ✓ Dosage rapide de la solution jusqu'à disparition complète de la coloration noire.

Le volume $V_{\text{éq}}$ est le de thiosulfate de sodium versé à l'équivalence. La concentration de vitamine C sera calculer par la relation d'équivalent :

$$C_2 \cdot V_2 = (C_1 \cdot V_1 - (C_2 \cdot V_{\text{éq}}/2))$$

IX. Dosage de bêta-carotène

1.Extraction

Pour l'extraction des caroténoïdes, la patate broyée finement avec 100ml de l'eau distillé par Mortier et extraits par 150ml l'hexane durant 12 heures. La partie supérieure de l'échantillons (phase hexane) est ensuite dosé par spectrophotométrie d'absorption à 452nm.

2.Dosage de bêta-carotène

a. Principe

Les méthodes actuellement utilisées sont basées sur la spectrométrie d'absorption visible ; elles nécessitent une préparation relativement longue et complexe de l'échantillon à analyser. Le spectre d'absorption des caroténoïdes dans l'hexane est enregistré entre 400 et 500 nm et la mesure de l'absorbance au maximum d'absorption donne la concentration selon la loi de Beer-Lambert. Chacun des échantillons est ensuite dosé par spectrophotométrie d'absorption à 452nm.

b. Mode opératoire

Après un broyage de la patate de manière à obtenir une pâte homogène, une prise d'essai de 5g environ de pâte sont prélevés dans un tube. Les caroténoïdes sont extraits par 20 ml d'hexane. Après agitation, on centrifuge le mélange à 3000 tr min⁻¹ pendant 5 min. Après centrifugation, les phases hexadiques sont réunies et doser par spectrométrie d'absorption à 452nm.

c. Préparation de la gamme d'étalonnage

Soit une solution (S) avec une concentration de 0.1 mg/ml de bêta-carotène ; Diluer la solution mère comme suivant :

Tableau 9 : dilution de bêta-carotène.

Solution mère de bêta-carotène (0.1 mg/ml)	Solution 1	Solution 2	solution 3	solution 4	solution 5 bland
0.1 mg / ml	0.0875mg/ml	0,075mg/ml	0,05mg/ml	0.025mg/1 ml	0 mg / 1 ml

X. Test d'activité antioxydante

1. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH

a. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical stable présentant en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres en 2,2-diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune [49].

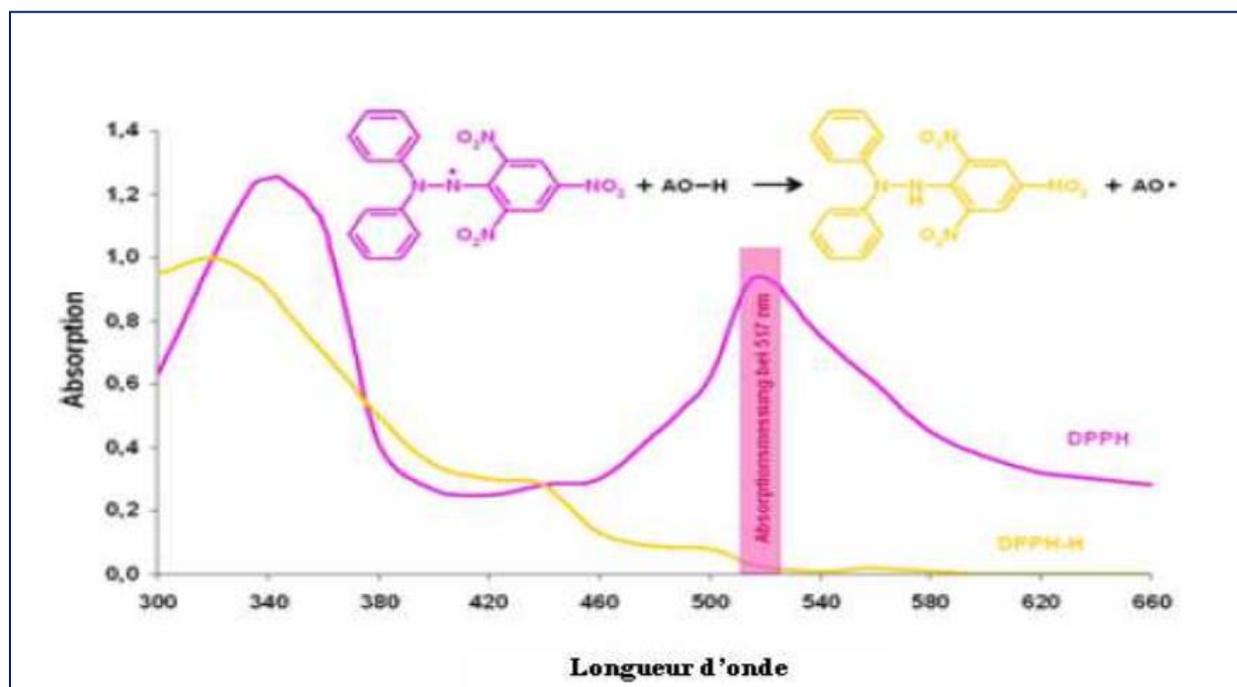


Figure 27 : Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive.

b. Mode opératoire :

Le protocole est celui décrit par Maigri et al [50]. On introduit 2.5 ml de chaque extrait (0,2 mg/ml) dans des tubes et 2.5ml de la solution méthanolique du DPPH (0,04 mg/ml). Après agitation au vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre. Différentes concentrations ont été testées allant de 0.5 mg/ml à 0,05 mg/ml afin de déterminer la concentration qui réduit 50% du DPPH (CI50). Les essais ont été effectués trois fois pour chacune des concentrations.

L'activité antiradicalaire de nos échantillons est évaluée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = [(Abs_{517} \text{ DPPH} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ DPPH}] * 100$$

c. Calcul des CI50

CI50 est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les CI50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés

pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. La figure suivante montre le mécanisme de réduction du radical DPPH : [51]

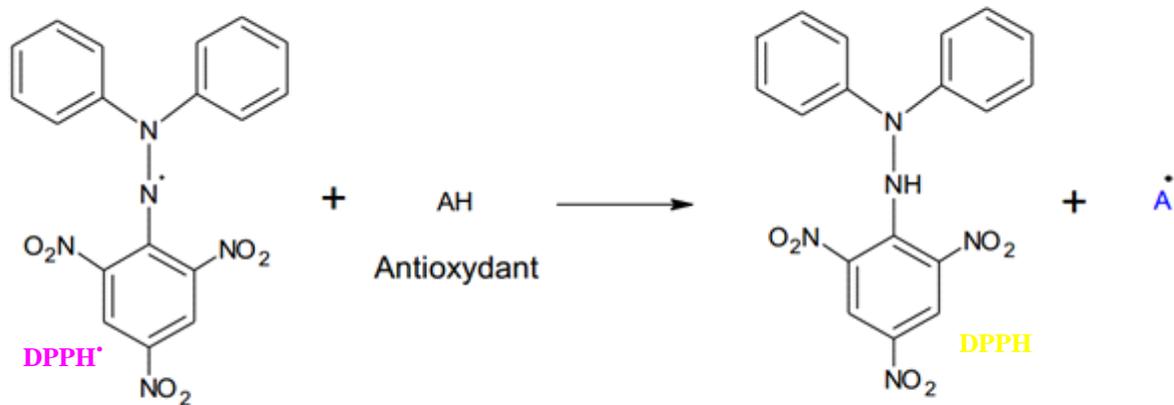


Figure 28 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant AH.

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

PARTIE III : Résultats et discussion

I. Humidité

Le taux d'humidité est un paramètre physicochimique largement utilisé pour caractériser l'état de fraîcheur des produits végétale. Ce critère hydrique donne un des éléments de réponse les plus importants dans la qualité des pommes de terre. Les variétés qui ont fait l'objet de cette étude sont illustrés dans la figure suivante (figure 29) :

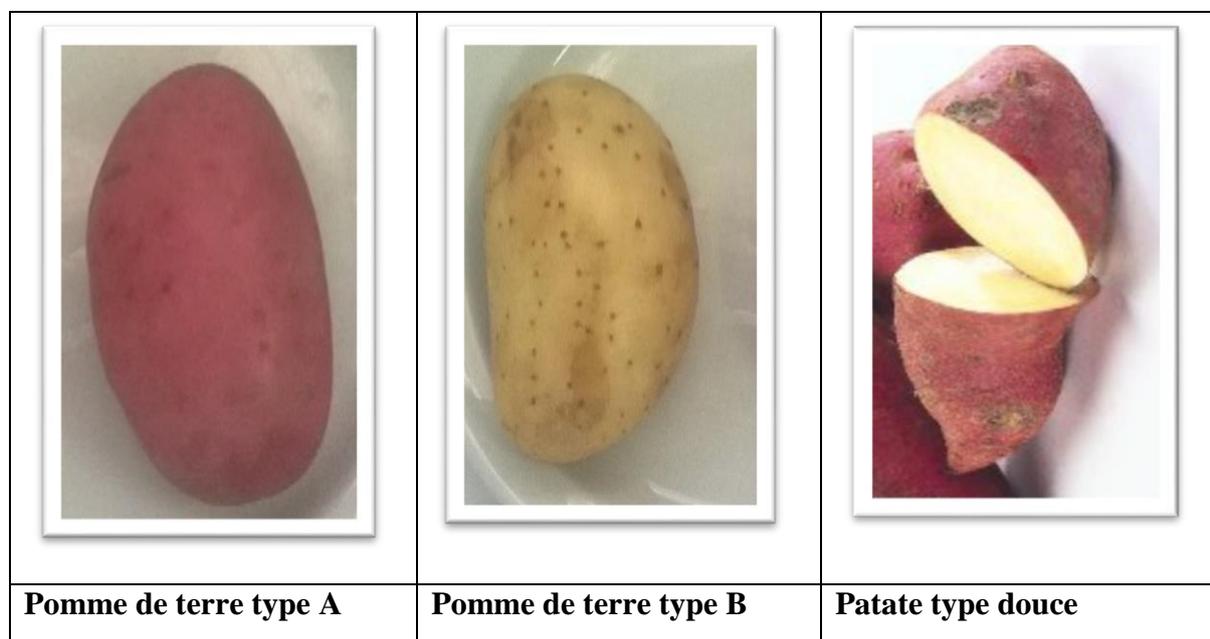


Figure 29 : les variétés de patate étudiées.

Le taux de l'humidité représente la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Les résultats de cette analyse sont illustrés dans le tableau suivant (tableau 10). La représentation graphique est illustrée dans la figure 30.

Tableau 10 : Évolution du poids des échantillons de pommes de terre étudiées en fonction du temps sous les conditions de dessiccation.

Temps (heures)	Masse de variété A (g)	Masse de Variété B (g)	Patate douce (g)
0	10	10	10
24	1.4	1.9	2.9
48	1.5	1.9	2.8
72	1.4	1.9	2.8
96	1.4	1.9	2.8

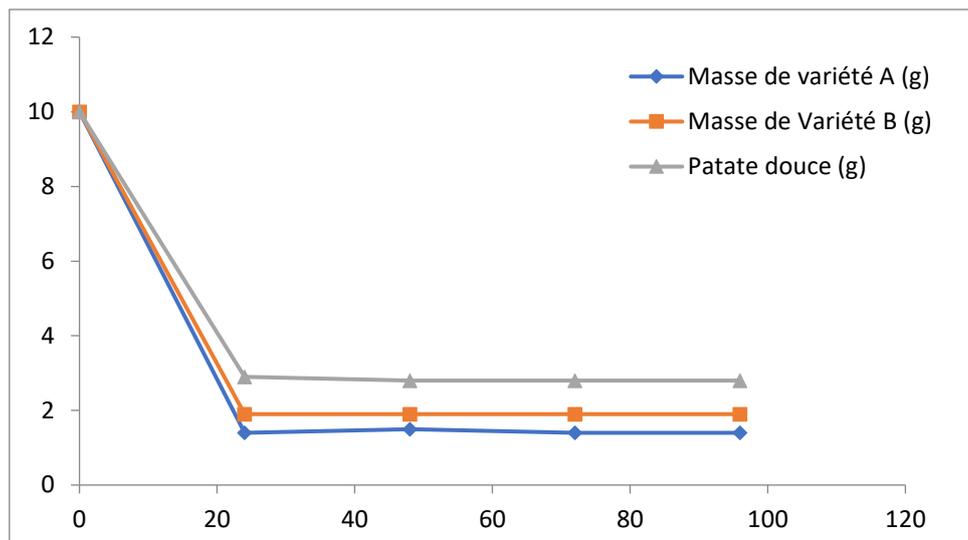


Figure 30 : Évolution pondérale des pommes de terre étudiées sous les conditions de dessiccation.

D'après la figure 34, les cinétiques de dessiccation montrent que la patate douce retient plus d'eau que les deux variétés de pomme de terre type A et B. Au terme de la dessiccation (96 heures) de pommes de terre étudiées, nous avons calculé le taux d'humidité dont les valeurs sont résumées dans le tableau 11.

Tableau 11 : Taux d'humidité des pommes de terre.

Variété	Taux d'humidité (%)
Pomme de terre A	83
Pomme de terre B	80
Patate douce	72

En guise de conclusion de cette étude hydrique des pommes de terre étudiés, on constate que la patate douce est moins humide que les autres pommes (Type A et B). Ceci peut être expliqué par le fait que la pomme de terre riche en sucres monomères qui exerce une pression osmotique intracellulaire qui reteint l'eau dans la biomasse.

II. Dosage les macronutriments

Dans cette thématique nous avons ciblé trois grandes familles de molécules qui jouent un rôle dans le métabolisme primaire Humain, il s'agit des glucides, des lipides et des protéines.

1. Dosage des sucres

Dans cette partie nous avons visé l'évaluation de la charge glucidique des pommes de terre étudiées. Dans cette optique nous avons fait appel à deux méthodes à savoir :

1. La méthode d'Anthrone pour doser les sucres totaux.
2. La méthode Fehling pour doser les sucres réducteurs.

a. Dosage sucres totaux par méthode d'anthrone

Le dosage des sucres totaux a été réalisé selon la méthode d'Anthrone. Ce dernier ($C_{14}H_{10}O$) a été utilisé comme chromophore dans le dosage. L'absorbance a été lue à la longueur d'onde de 580 et 620 nm. Les résultats obtenus sont représentés par une courbe d'étalonnage exprimé en équivalent glucose exprimé en mg/ml.

- Analyse des sucres totaux à la longueur d'onde 580nm

La gamme d'étalonnage a donné un coefficient R^2 de 0,99 qui confirme la validité et la justesse du dosage. La figure suivante (figure 31) illustre la relation linéaire ($y = 5,3846x + 0,1082$) entre la concentration en sucres équivalent et la densité optique du chromophore qui absorbe à 580nm.

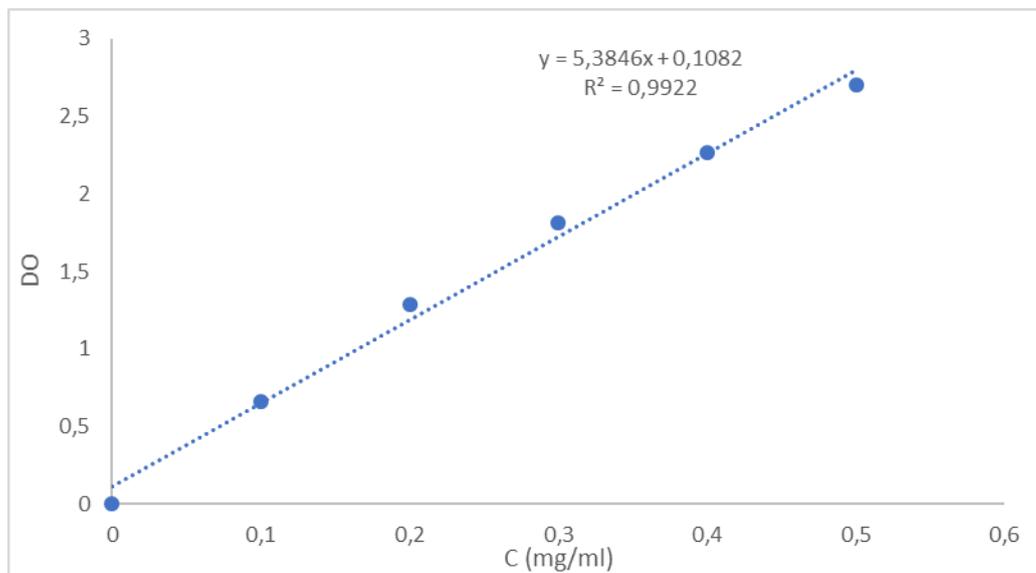


Figure 31 : gamme d'étalonnage établie à 580nm.

Les résultats des analyses sont résumés dans le tableau suivant (tableau 12). Le rapport (PD/PT) 0.75 montre nettement que la patate douce est moins chargée en glucides. Il serait utile de la consommer par les gens diabétiques.

Tableau 12 : Évaluation des sucres totaux à 580nm dans de pommes de terre étudiées.

Échantillon	Essai	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne	Rapport (PD/PT)
Pomme de Terre (PT)	1	0,163	1	1,02	15265,75	12480,03	0,75
	2	0,156	1	0,89	13315,75	±	
	3	0,14	1	0,59	8858,59	3284,32	
Patate Douce (PD)	1	0,189	1	1,50	22508,63	16658,62	
	2	0,16	1	0,96	14430,04	±	
	3	0,155	1	0,87	13037,18	5113,91	

Conclusion :

La concentration en sucres totaux dans la pomme de terre selon cette méthode est $16,5 \pm 5,11$ g/100g, elle est nettement supérieure à celle de patate douce selon la même méthode : $12,48 \pm 3,28$ g/100g.

- Analyse des sucres totaux à la longueur d'onde 620nm

La gamme d'étalonnage a donné également un coefficient R^2 de 0.99 qui confirme la validité et la justesse du dosage. La figure suivante (figure 32) exhibe une relation linéaire ($y= 6,487x + 0,029$) entre la concentration en sucres équivalent et la densité optique du chromatophore qui absorbe à 620nm.

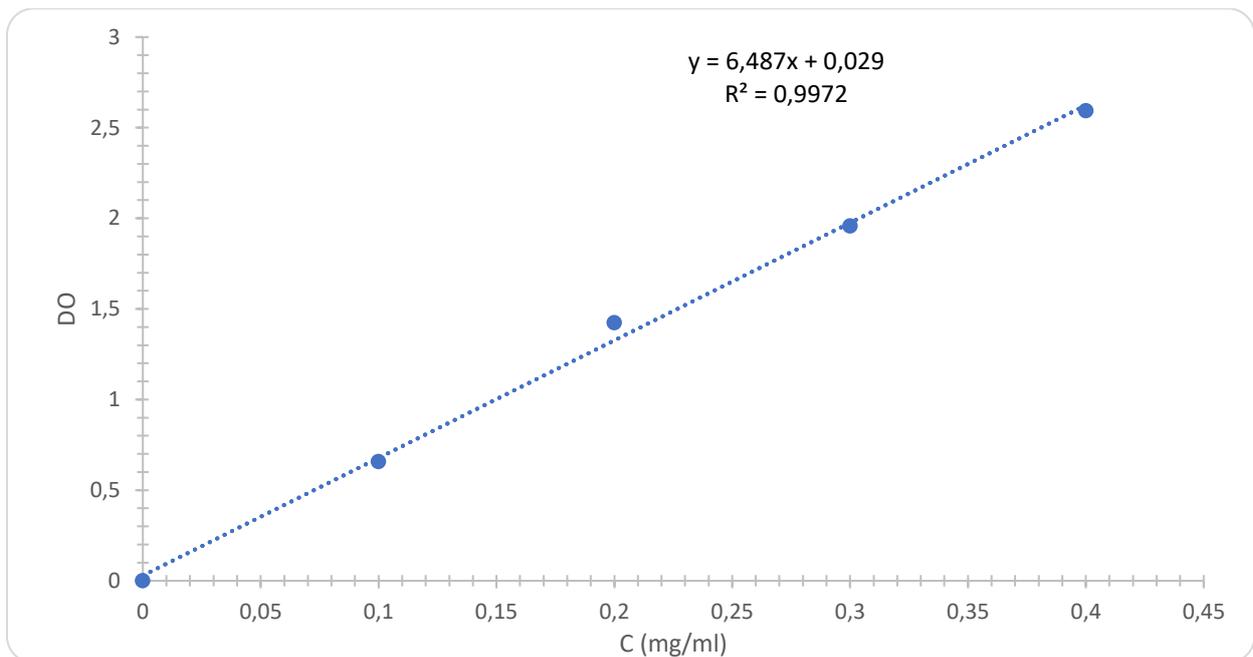


Figure 32 : gamme d'étalonnage établie à 620nm.

Les résultats des analyses réalisées à 620 nm sont résumés dans le tableau suivant (tableau 13). Le rapport (PD/PT) 0.85 montre que la patate douce est un peu moins chargée en glucides.

Tableau 13 : Évaluation des sucres totaux à 620nm dans la pommes de terre étudiées.

Échantillon	Essai	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne	Rapport (PD/PT)
Pomme de Terre (PT)	1	0,193	100	2,52	2528,13	2538,41	0,854
	2	0,201	100	2,65	2651,45	±	
	3	0,187	100	2,43	2435,64	108,27	
Patate Douce (PD)	1	0,163	100	2,06	2065,66	2168,43	
	2	0,166	100	2,11	2111,91	±	
	3	0,18	100	2,32	2327,73	139,88	

Conclusion :

Pas de différence significative entre la concentration en sucres totaux dans la pomme de terre selon cette méthode est $2,538 \pm 0,108/100g$ et celle de patate douce selon la même méthode $2,168 \pm 0,139g/100g$.

b. Dosage des sucres réducteurs par méthode Fehling

Cette méthode de dosage repose sur la réduction de la liqueur de Fehling mélange d'une solution de sulfate de cuivre et de sel de Seignette en présence de soude, par les sucres réducteurs, présents dans la variété de patate. Son principe repose sur la réduction de l'oxyde cuivrique CuO en petits grains rouges-brique d'oxyde cuivreux Cu₂O.

- Étalonnage de réactif :

Tableau 14 : La gamme d'étalonnage de glucose

	Solution A	Solution B	Eau distillée	Véq de glu	Concentration
Essai 1	5 ml	5 ml	30 ml	5,1 ml	5g/l
Essai 2	5 ml	5 ml	30 ml	5 ml	
Essai 3	5 ml	5 ml	30 ml	4,9 ml	

Véq moyenne est 5ml

- Pour pomme de terre :

Tableau 15 : Évaluation des sucres dans pomme de terre par méthode de Fehling.

	Solution A	Solution B	Eau distillée	V'eq	Concentration
Essai 1	5 ml	5 ml	30 ml	18,5 ml	1,31g/l
Essai 2	5 ml	5 ml	30 ml	20,5 ml	
Essai 3	5 ml	5 ml	30 ml	18 ml	

V'eq moyenne est 19ml.

Conclusion :

La concentration des sucres réducteurs dans la pomme de terre selon cette méthode est $13,15 \pm 0,91g/100g$.

- Pour patate douce :

Tableau 16 : Évaluation des sucres dans patate douce par méthode de Fehling.

	Solution A	Solution B	Eau distillée	V'éq	Concentration
Essai 1	5 ml	5 ml	30 ml	16 ml	1,63g/l
Essai 2	5 ml	5 ml	30 ml	15 ml	
Essai 3	5 ml	5 ml	30 ml	15 ml	

V'éq moyenne est 15.33 ml.

Conclusion :

La concentration des sucres réducteurs dans patate douce selon cette méthode est 16.30g/100g.

2. Dosage des protéines

Il existe de nombreuses méthodes de dosage des protéines, comportant souvent un certain nombre de variantes. Le choix d'une méthode de dosage dépendra avant tout de la quantité de protéines à doser, des interférences possibles avec des contaminants non protéiques puis de la facilité de mise en œuvre, de la rapidité de la réponse souvent importante en cours de procédé, ainsi que des conditions de dosage.

a. Méthode de Biuret

Les protéines sont dosées par la méthode de biuret. Le sérum albumine bovine est utilisé comme étalon. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 540 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans la courbe d'étalonnage figuré ci-dessous (figure 37). La gamme d'étalonnage a donné un coefficient R^2 de 0.99 qui confirme la validité et la justesse du dosage. La figure suivante (figure 33) exhibe une relation linéaire ($y = 0,0447x + 0,0131$) entre la concentration en sucres équivalent et la densité optique du chromatophore qui absorbe à 620nm.

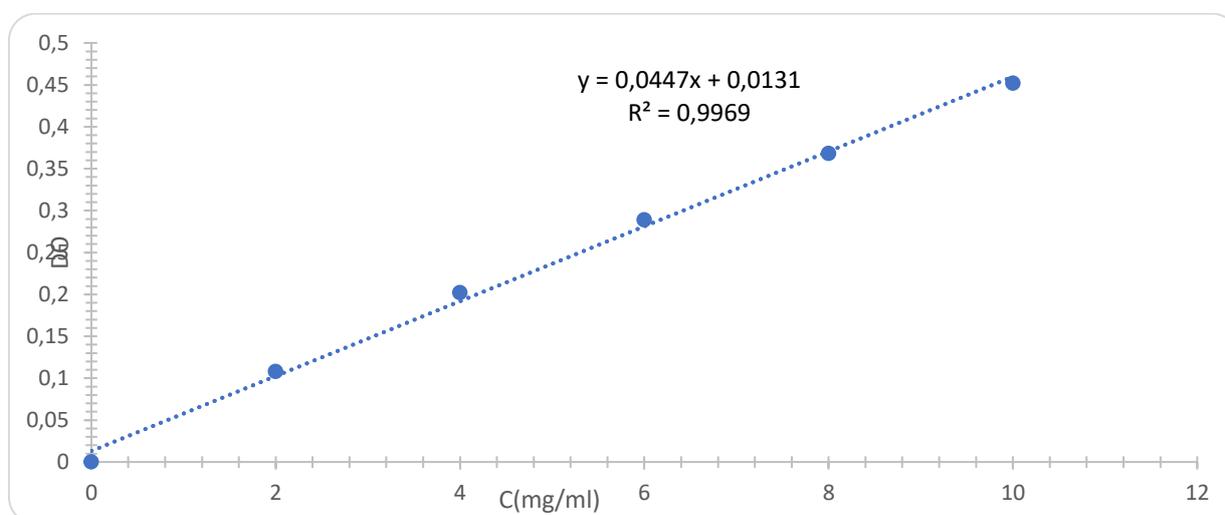


Figure 33 : gamme d'étalonnage du dosage des protéines établie à 540nm.

Les résultats des dosages des protéines par la méthode de Biuret réalisées sont résumés dans le tableau suivant (tableau 17). Le rapport (PD/PT) 1.77 montre clairement que la patate douce est riche en protéines.

Tableau 17 : Évaluation des protéines par la méthode de de Biuret.

Échantillon	Essai	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne	Rapport (PD/PT)
Pomme de Terre (PT)	1	0,077	10	1,43	2859,06	2933,63	1,77
	2	0,08	10	1,50	2993,29	±	
	3	0,079	10	1,47	2948,55	68,35	
Patate Douce (PD)	1	0,128	10	2,57	5140,94	5200,60	
	2	0,14	10	2,84	5677,85	±	
	3	0,12	10	2,39	4783,00	450,40	

Conclusion :

La concentration des protéines dans la pomme de terre selon cette méthode est $2933,63 \pm 68,35$ mg/100g, elle est nettement inférieure à celle de patate douce à savoir : $5200,59 \pm 450,40$ mg/100g.

b. Méthode de Lowry

Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry (1951). Le sérum albumine bovine est utilisé comme étalon. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 700 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 34).

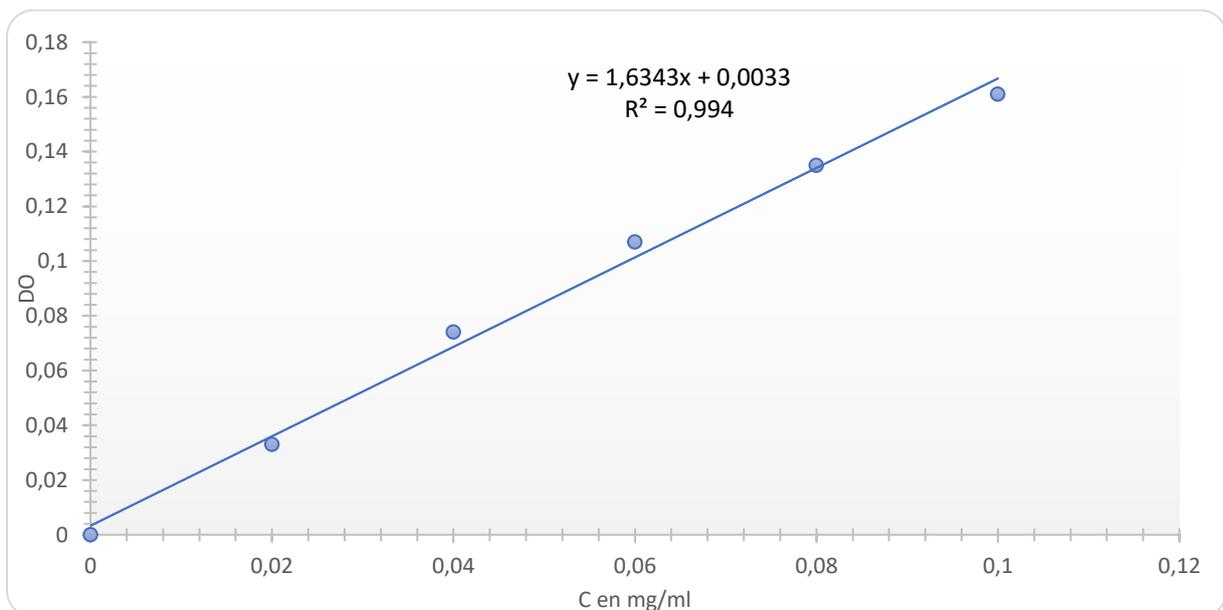


Figure 34 : gamme d'étalonnage du dosage des protéines par la méthode de Lowry.

Les résultats des dosages des protéines par la méthode de Lowry réalisées sont résumés dans le tableau suivant (tableau 18). Le rapport (PD/PT) 1.56 confirme que la patate douce est riche en protéines. Ce résultat reste toujours en faveur la consommation de la patate douce par les diabétiques.

Tableau 18 : Évaluation des protéines par la méthode de de Lowry

Échantillon	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne	Rapport (PD/PT)
Pomme de Terre (PT)	0,05	1	1,43	2857,49	2796,30	1,56
	0,051	1	1,46	2918,68	±	
	0,046	1	1,31	2612,74	161,89	
Patate Douce (PD)	0,084	1	2,47	4937,89	4366,80	
	0,076	1	2,22	4448,39	±	
	0,064	1	1,86	3714,13	615,95	

Conclusion :

Selon la méthode de Lowry la concentration des protéines dans patate douce est presque le double de celle de la pomme de terre $4,37 \pm 0,615 \text{g}/100\text{g}$ et $2,80 \pm 0,162$, respectivement. A noté que les résultats sont presque les même par les deux méthodes.

3. Dosage des lipides

La teneur de pomme de terre et patate douce en lipides est représentée dans tableau suivant (tableau 19) :

Tableau 19 : Évaluation des lipides dans les pommes de terre étudiés.

Échantillon	Concentration des peptides (mg/100g)
Pomme de terre (PT)	109
Patate douce (PD)	292

D'après ces résultats, la patate douce est plus riche en lipides par rapport à la pomme de terre.

III. Dosage les micronutriments

1. Dosage de la vitamine C

a. Dosage direct de la vitamine C par I₂

Le dosage se fait rapidement pour éviter l'oxydation de vitamine C avec l'air. Soit V_{éq} le volume équivalent mesuré. Les résultats sont rassemblés dans les tableaux suivant (tableau 20 et 21) :

Concentration de vitamine calculer par la relation suivant : **[Vitamine C] = 0,01* V_{éq}/10.**

- Pour pomme de terre :

Tableau 20 : Évaluation de vitamine C dans la pomme de terre par dosage directe.

N° d'essai	Volume d'échantillon (ml)	Volume d'indicateur coloré	Volume à l'équivalent (ml)	Concentration en vitamine C en mol/l	Concentration en vitamine C en g/l
1	10	2 gouttes	1,6	0,0016	0,28
2	10	2 gouttes	1,5	0,0015	0,26
3	10	2 gouttes	1,4	0,0014	0,24

Les résultats du dosage montrent que la moyenne de concentration est 0,26±0,02 g/l. La concentration en vitamine C dans 100g de pomme de terre vaut donc : 76,71±5,90mg/100g.

- Pour la patate douce :

Tableau 21 : Évaluation de vitamine C dans la patate douce par dosage directe.

N° d'essai	Volume d'échantillon (ml)	Volume d'indicateur coloré	Volume à l'équivalent (ml)	Concentration en vitamine C en mol/l	Concentration en vitamine C en g/l
1	10	2 gouttes	0,3	0,03	5,28
2	10	2 gouttes	0,2	0,02	3,58
3	10	2 gouttes	0,3	0,03	5,28

La moyenne de concentration est 4,7±0,98g/l.

De la même la concentration de vitamine C dans patate douce est : 469,65±97,93mg/100g.

b. Dosage indirect de la vitamine C par Na₂S₂O₃

Soit le volume V_{éq} de thiosulfate de sodium versé à l'équivalence. Concentration vitamine C est calculer par la relation suivant : $[Vitamine\ C] = (0,01 \cdot 5 - 0,01 \cdot V_{éq} / 2) / 10$.

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux suivants (tableau 22 et 23) :

- Pour pomme de terre :

Tableau 22 : Évaluation de vitamine C dans pomme de terre par dosage indirecte.

N° de essai	Volume d'échantillon (ml)	Volume d'indicateur	Volume de d'iode (ml)	Volume d'équivalence (ml)	Concentration en vitamine C en mol/l	Concentration en vitamine C en g/l
1	10	2 gouttes	5	7	0,15	26,41
2	10	2 gouttes	5	6,9	0,155	27,29
3	10	2 gouttes	5	7	0,15	26,41

La concentration de vitamine C est : 26,71±0,51g/l. La concentration en vitamine C dans 100g vaut donc : 26.71±0.51mg/100g.

- Pour patate douce :

Tableau 23 : Évaluation de vitamine C dans patate douce par dosage indirecte.

N° de essai	Volume d'échantillon (ml)	Volume d'indicateur	Volume de d'iode (ml)	Volume d'équivalence (ml)	Concentration en vitamine C en mol/l	Concentration en vitamine C en g/l
1	10	2 gouttes	5	9,5	0,025	4,40
2	10	2 gouttes	5	9,4	0,02	3,52
3	10	2 gouttes	5	9,6	0,03	5,28

De la même la concentration de vitamine C est : 4,4±0,88g/l. De la même la concentration de vitamine C est : 440.3±0.88mg/100g.

2. Dosage de bêta-carotène

Les caroténoïdes sont des pigments naturels à l'origine des colorations rouges, jaunes et orangées des fruits, des légumes, des fleurs et des algues. On compte parmi les caroténoïdes : le bêta-carotène, le lycopène, la lutéine et la zooxanthine.

a. Préparation de la gamme d'étalonnage

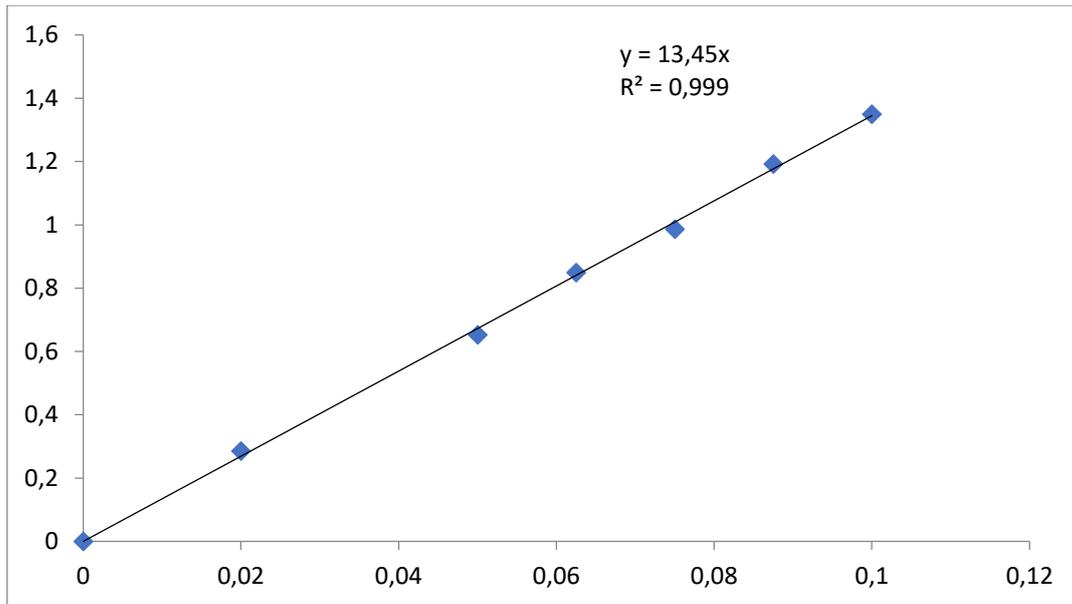


Figure 35 : gamme d'étalonnage de la de bêta-carotène

b. Dosage de l'échantillon

Après extraction, la phase hexane est ensuite analysée par spectrophotométrie d'absorption à 452nm. Le blanc représenté par hexane. Les résultats sont présents dans les tableaux suivant (tableau 24 et 25) :

- Pour la pomme de terre :

Le bêta-carotène dans la pomme de terre en se référant à la courbe d'étalonnages obtenus est 5,96mg/100mg.

Tableau 24 : Évaluation de bêta-carotène dans la pomme de terre.

Échantillon	DO	Dilution	Concentration (mg/ml)	Concentration (mg/100g)	Moyenne (mg/100g)
Essaie 1	0,007	100	0,2387	5,69	5,96
Essaie 2	0,007	100	0,2387	5,96	
Essaie 3	0,007	100	0,2387	5,96	

- Pour la patate douce

Le bêta-carotène dans la pomme de terre en se référant à la courbe d'étalonnages obtenus est 212±2mg/100mg.

Tableau 25 : Évaluation de bêta-carotène dans la patate douce.

Échantillon	DO	Dilution	Concentration (mg/ml)	Concentration (mg/100g)	Moyenne (mg/100g)
Essaie 1	0.15	50	0.64	214	212±2
Essaie 2	0.12	50	0.531	210	
Essaie 3	0.14	50	0.604	212	

c. Étude spectrale de bêta-carotène

L'étude spectrale se fait dans un domaine de longueurs d'onde visibles compris entre 400 et 800 nm. À partir d'une solution de pigments, on peut donc mesurer les caractéristiques d'absorption de la lumière en réalisant un spectre d'absorption à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible classique, qui permet de mesurer l'absorption (Abs) en fonction de la longueur d'onde.

L'étude été faite sur témoin de bêta-carotène et échantillon de pomme de terre et de patate douce. Les spectres d'absorption de chaque échantillon sont représentés ci-dessous (figure 36, 37 et 38) :

- Pour le bêta-carotène pur :

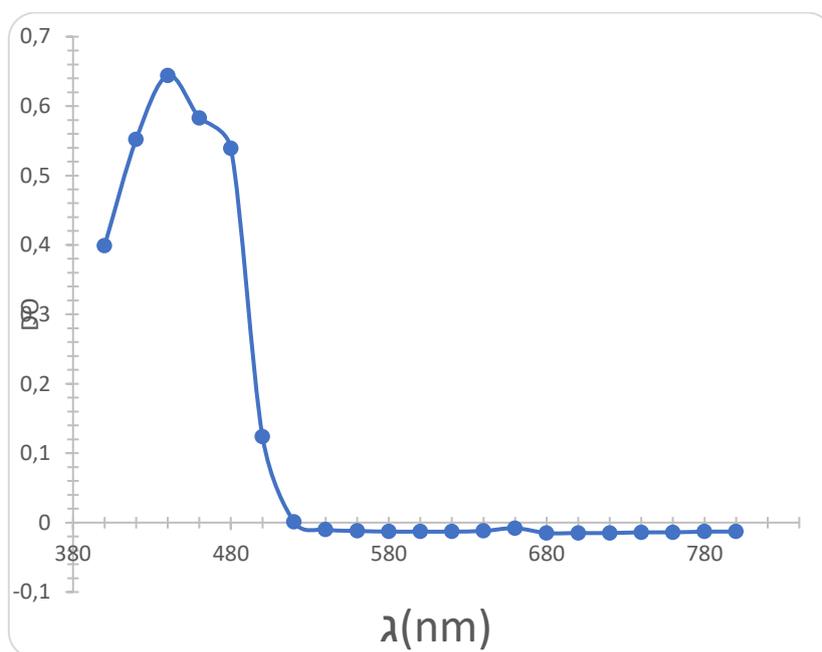


Figure 36 : Eude spectrale de bêta-carotène pure (0,05mg/ml).

- Pour la pomme de terre :

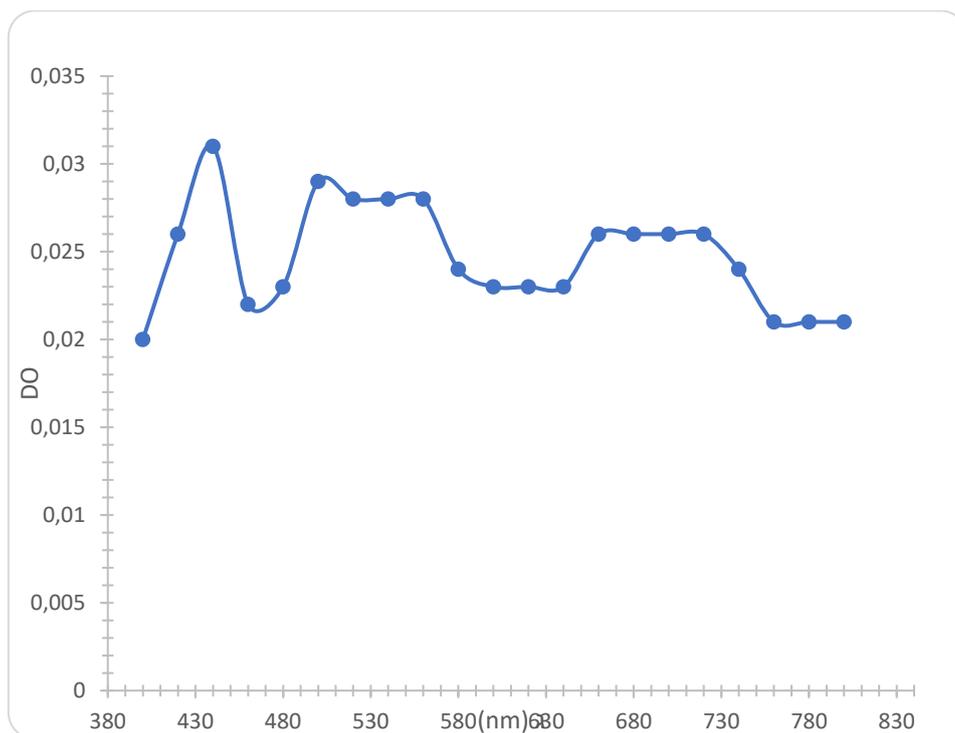


Figure 37 : Eude spectrale de bêta-carotène extraite de la pomme de terre.

- Pour la patate douce :

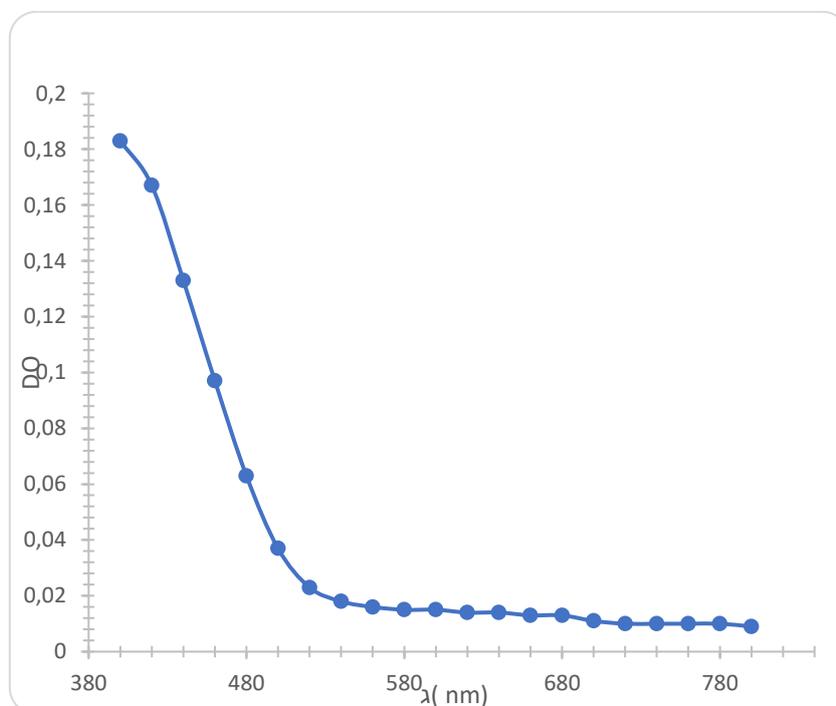


Figure 38 : Eude spectrale de bêta-carotène extraite de la patate douce.

Les résultats de cette étude spectrale des échantillons de pomme de terre et de la patate douce montrent que la patate douce est riche en caroténoïdes majoritaires sans contamination.

3. Dosage des composés phénoliques

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) établie avec des concentrations précises d'acides gallique Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage suivant (figure 39).

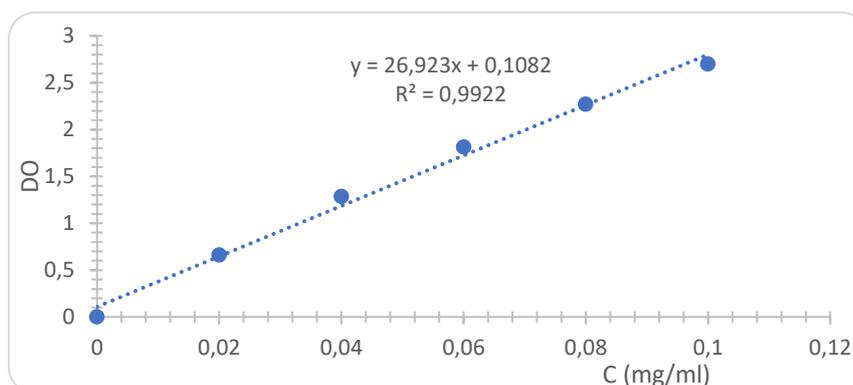


Figure 39 : Gamme d'étalonnage exprimée en acide Gallique.

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par 100 gramme de patate (mg Gal /100g patate). À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur en polyphénols totaux des différents extraits est représentée dans le tableau 26.

Tableau 26 : Évaluation des composés phénoliques dans les pommes de terre étudiés.

Échantillon	Essai	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne
Extrait methanolique de la pomme de terre Type A	1	0,504	1	0,05	95,23	95,11±0,57
	2	0,506	1	0,05	95,61	
	3	0,5	1	0,05	94,49	
Extrait methanolique de la patate douce	1	0,853	1	0,08	160,09	160,21±0,75
	2	0,858	1	0,08	161,01	
	3	0,85	1	0,08	159,53	
Extrait ethanolique de la patate douce	1	0,44	1	0,04	83,34	81,79±1,42
	2	0,425	1	0,04	80,55	
	3	0,43	1	0,04	81,48	
Extrait aqueux de la patate douce	1	0,75	1	0,07	140,95	140,57±0,98
	2	0,752	1	0,07	141,32	
	3	0,742	1	0,07	139,46	

Conclusion :

- La concentration des composés phénolique dans l'extrait methanolique de la pomme de terre Type A est 95mg Gal/100g.
- La concentration des composés phénoliques dans l'extrait methanolique de la patate douce est 160mg Gal /100g.
- La concentration des composés phénoliques dans l'extrait ethanolique de la patate douce est 81mg Gal /100g.
- La concentration des composés phénoliques dans l'extrait aqueux de la patate douce est 140,57 mg Gal /100g.
- Le Méthanol donne en plus un meilleur rendement d'extraction qui dépasse celui obtenu avec l'eau et avec éthanol.

4. Dosages des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés par la méthode de $AlCl_3$. Le quercétine a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 510 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage. La gamme d'étalonnage a donné un coefficient R^2 de 0,995 qui confirme la validité et la justesse du dosage. La figure suivante (figure 40) exhibe une relation linéaire ($y = 0,2394x + 0,008$) entre la concentration en flavonoïde équivalent et la densité optique du chromatophore qui absorbe à 510nm.

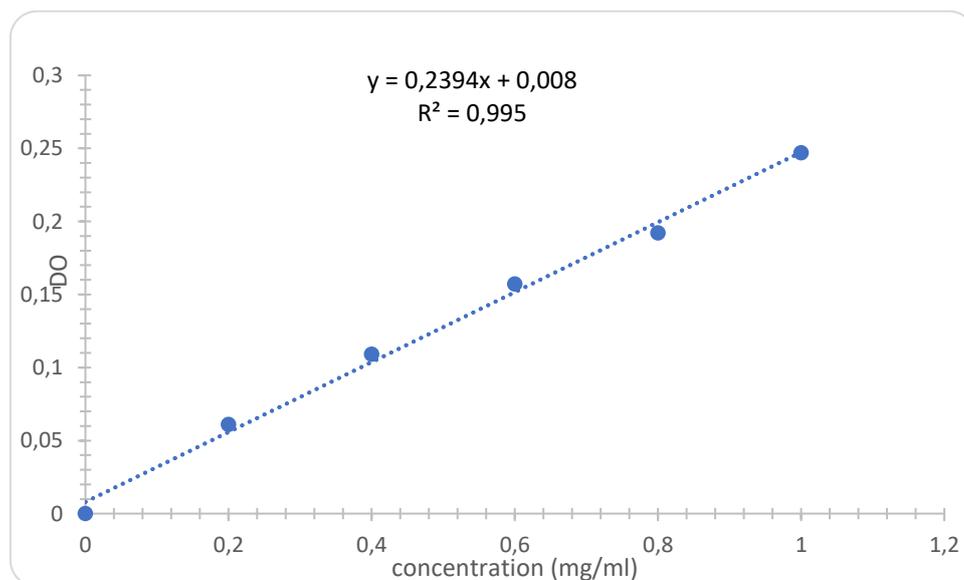


Figure 40 : gamme d'étalonnage exprimée en quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétrine par 100gramme de patate (mg Quer /100g de patate). À partir de la courbe d'étalonnage, les concentrations en flavonoïdes sont présentés dans le tableau suivant (tableau 27) :

Tableau 27 : Évaluation des flavonoïdes dans les pommes de terre étudiés.

Échantillon	Essai	DO	Dilution	C (mg/ml)	C (mg/100g)	Moyenne
Extrait méthanolique de la pomme de terre Type A	1	0,055	1	0,20	392,65	448,34±58,68
	2	0,069	1	0,25	509,61	
	3	0,061	1	0,22	442,77	
Extrait méthanolique de la patate douce	1	0,588	1	2,42	4845,45	5026,46±193,11
	2	0,634	1	2,61	5229,74	
	3	0,607	1	2,50	5004,18	
Extrait éthanolique de la patate douce	1	0,181	1	0,72	1445,28	1495,41±54,78
	2	0,194	1	0,78	1553,88	
	3	0,186	1	0,74	1487,05	
Extrait aqueux de la patate douce	1	0,083	1	0,31	626,57	724,03±92,40
	2	0,105	1	0,41	810,36	
	3	0,096	1	0,37	735,17	

Conclusion :

- La concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de la pomme de terre Type A est 550 mg Qer/100g.
- La concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de la patate douce est 1495 mg Qer/100g.
- La concentration des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de la patate douce est 5025 mg Qer/100g.
- La concentration des flavonoïdes dans l'extrait aqueux de la patate douce est 726 mg Qer/100g.
- Le Méthanol donne en plus un meilleur rendement d'extraction qui dépasse celui obtenu avec l'eau et avec éthanol.
- D'après les résultats l'extrait méthanolique de la patate douce est riche en flavonoïdes.

IV. Activité anti-oxydant :

Les résultats de l'activité anti radicalaire des extraits sont regroupés dans le tableau suivant (tableau 28) :

Tableau 28 : Évaluation de l'activité anti-radicalaire dans les extraits étudiés

Concentration	0	0,05	0,1	0,25	0,35	0,5
AA% Extrait méthanolique de la pomme de terre	0	1,3	6,12	24,3	35,25	52,88
AA% Extrait méthanolique de la patate douce	0	47,3	92,76	95	95,36	96,29
AA% Extrait éthanolique de la patate douce	0	36,55	73,1	90,35	92,95	95,92
AA% Extrait aqueux de la patate douce	0	2,04	5,57	20,04	52,7	67,35

Les résultats figurant dans le tableau en-dessus, illustrent les pourcentages de l'activité anti radicalaire des extraits de patate vis-à-vis du radical libre DPPH. La valeur de l'activité anti radicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits. Cela permet de mettre en évidence une diminution significative de la concentration du radical DPPH en raison de la capacité de piégeage des extraits les radicaux libres.

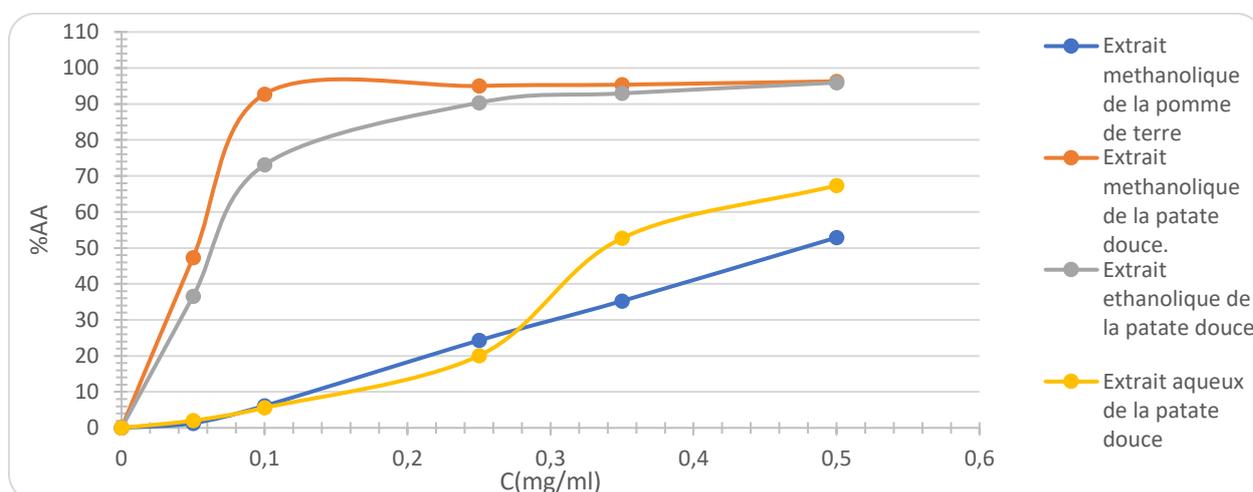


Figure 41 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par les différents extraits de pomme de terre en fonction de la concentration.

D'après le graphique, on remarque que ; seuls les extraits méthanoliques qui ont pu réduire le DPPH à plus de 50% ; valeur connue sous le nom de IC₅₀. L'extrait méthanolique atteint la valeur IC₅₀ le premier avec une concentration de 0,005 mg/ml suivis par l'extrait éthanolique avec une concentration de 0,01mg/ml.

Les valeurs de la concentration des extraits méthanoliques avec lesquelles on a pu atteindre la valeur IC₅₀ sont proches cela signifie que nos extraits sont tous les deux riches en composés phénoliques et en flavonoïdes (les bons donneurs du proton H), et même on peut constater que les teneurs en extraits en polyphénols sont presque égales.

Conclusion :

Tous ces résultats indiquent clairement que les extraits méthanoliques de pièges à radicaux libres et des antioxydants puissants. Cette activité est liée en grande partie à la composition des extraits et leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes.

V. Discussion générale

Au cours de la dernière décennie un regain d'intérêt a été constaté pour la patate douce en Afrique Sub-saharienne (ASS). Le nombre de projets intervenant dans le domaine de la patate douce s'est accru de même que la demande en formation au profit des professionnels du développement et des producteurs. Les spécialistes de la patate douce du Centre International de la Pomme de Terre (CIP) sont de plus en plus sollicités pour la formation. [52]

La carence en vitamine A constitué un problème de santé publique très grave chez les enfants. Chez les femmes, le problème est aussi important. Vue que la vitamine A est indispensable à la croissance et au développement normal du fœtus. Les déficiences en vitamine A ont un impact sur l'immunité et les tissus épithéliaux, en plus de son action sur la vision, elle aggrave les formes de diarrhées et de l'infection respiratoire chez les enfants. Les principales sources alimentaires de vitamine A dans l'alimentation sont essentiellement les aliments d'origine végétale. Parmi les aliments très riche en vitamine A, la patate douce largement consommé dans les pays d'Afrique Sub-saharienne, mais peut consommer au Maroc. [53]

Le but de notre travail et la valorisation de la patate douce par la recherche des molécules bioactives pour l'encouragement de sa consommation par la population marocaine qui n'échappe pas à cette épidémie mondiale de la carence en vitamine A à savoir 41% des enfants âgés de 6 mois à 5 ans inclus avaient un taux de rétinol sérique inférieur au seuil de 20 µg/dL (FAO, 2011[54]).

Nos résultats ont montré que la patate douce cultivé au Maroc présente une haute qualité nutritionnelle en comparaison avec la pomme de terre cultivé aussi au Maroc comme signalé dans le tableau suivant (tableau 29) :

Tableau 29 : Résultat de l'analyse des macronutriment et micronutriment des pomme de terre et de la patate douce.

Type	Élément	Pomme de Terre (PT)	Patate Douce (PT)
Humidité	Teneur en eau (%)	83	72
Les macronutriments	Teneur en sucres (g/100g)	12	16
	Teneur en protéine (g/100g)	3	5
	Teneur en lipide (g/100g)	0,1	0,3
Les micronutriment	Teneur en vitamine C (g/100g)	0,02	0,4
	Teneur en bêta-carotène (g/100g)	0,006	0,2
	Teneur en composés phénoliques (g/100g)	0,1	0,2
	Teneur en flavonoïde (g/100g)	0,1	1
Activité anti-radicalaire	CI ₅₀ de l'extrait methanolique (mg/ml)	0,4	0,05

La comparaison de nos résultats avec d'autre étude à l'échelle internationale rapporté par Agence pour la Recherche et l'Information en Fruits et Légumes montre que notre patate douce présente des teneurs en macronutriments et micronutriments supérieurs comme le montre le tableau suivant (Tableau 30) [55].

Tableau 30 : Résultat de comparaison des macronutriment et micronutriment de patate douce et celle rapporté par l'Agence pour la Recherche et l'Information en Fruits et Légumes (ARTFL).

Type	Élément	Patate Douce (PT) ARTFL	Patate Douce (PT) Maroc
Humidité	Teneur en eau (%)	78	72
Les macronutriments	Teneur en sucres (g/100g)	16,3	16
	Teneur en protéine (g/100g)	1,69	5
	Teneur en lipide (g/100g)	0,145	0,3
Les micronutriment	Teneur en vitamine C (g/100g)	0,0162	0,4
	Teneur en bêta-carotène (g/100g)	0,105	0,200
	Teneur en composés phénoliques (g/100g)		0,2
	Teneur en flavonoïde (g/100g)		1
Activité anti-radicalaire	CI ₅₀ de l'extrait methanolique (mg/ml)		0,05

Donc nous pouvons conclure que la patate douce marocaine présente une haute qualité nutritionnelle. Il est à noter aussi, que notre étude est une étude préliminaire et que nous somme intéressé à une seule variété, d'autres études doivent être réalisé pour la valorisation des différentes variétés de cette aliment peu consommé au Maroc.

Conclusion générale

En guise de conclusion de ce travail on peut déduire que nos conceptions sur les tubercules sont trempeuses et que la réalité des choses doit être reprise d'une manière professionnelle pour acquérir des données valorisables sur le patrimoine végétal nutritionnel marocain. À notre surprise, il s'est avéré que la patate douce présente plusieurs vertus nutritionnelles et thérapeutiques. Cette différence qualitative et quantitative montre bel et bien que l'usage des tubercules riches en amidon sont très diversifiées. Suite à cette analyse quantitative en micro et macronutriments on peut déduire que :

- La patate douce est moins riche en sucres
- La patate douce est riche en protéines
- La patate douce est riche en lipides
- La patate douce est riche en composés phénoliques
- La patate douce est riche en flavonoïdes
- La patate douce est riche en vitamine C
- La patate douce est riche en bêta-carotène
- La pomme de terre est riche en sucre
- La pomme de terre est riche en protéines
- La pomme de terre est pauvre en lipides
- La pomme de terre est pauvre en bêta-carotène
- La pomme de terre est pauvre en composés phénoliques
- La pomme de terre est pauvre en flavonoïdes

Ces éléments de réponse ouvrent des pistes de recherche pour valoriser la patate douce au Maroc. Des études très poussées doivent être entreprises pour orienter le choix des marocains fortement influencés par la pomme de terre usuelle.

Ces données préliminaires très limitées sur deux types de tubercules (*Solanum tuberosum*) et (*Ipomoea batatas*) seront élargies sur d'autres espèces marocaines qui poussent sous d'autres conditions que de ceux qui ont fait l'objet de cette étude. D'autres variétés de pommes de terre, de patate douce et de topinambour feront l'objet d'une étude plus approfondie.

Reference

- [1] DE REYNAL Béatrice 2009. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires collection technique et documentation.
- [2] Forman G & Helier W (1 999). Biosynthesis of flavonoids. Elsevier, Sankawa U. (Ed). In Comprehensive Natural Products Chemistr. pp.7 1 3-748. Amsterdam, Netherland
- [3] M. Boudjouref, "Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L.," université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie 2011.
- [4] PEREZM. E. G ; caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune : étude de leur capacité antioxydant ; Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en Sciences du bois pour l'obtention du grade de maîtres sciences (M.Se.), 2008
- [5] Fengel, D., Wegener, G. Wood chemistry ultrastructure reactions. Walter de Gruyter. Berlin. New York. 1984 p 85
- [6] Bouis H. E. (2003). Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? Proceedings of the Nutrition Society 62, 403-1.
- [7] Fraser P. D. & Bramley P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. Progress in Lipid Research 43, 228-265.
- [8] G. Yakhlef, "Etude De L'activité Biologique Des Extraits De Feuilles De Thymus Vulgaris L. Et Laurus Nobilis L.," Université El Hadj Lakhdar De Batna, 2010.
- [9] Maître des Conférences des Universités, I.Hininger-Favier, (2014) « Le Stress oxydant », Laboratoire de Biologie du stress Oxydant. Faculté de Pharmacie. Grenob.
http://www.iep-eu.com/img-user/Stress_oxydant.pdf
- [10] Gutteridge, J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence, , 19:141-158.
- [11] BOUGANDOURA Nabila (2011), « Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Saturé jacalamint hasspnepta (nabta) et Ajugaiva L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. »
- [12] Justine, Odile, Carole PASTRE (2005) □ intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques,
- [13] Z. Durackova, F. Djrolo, H Hougbe , G. Avode, V. Attoulou, B. Addra, N. Kodjoh, M. Avimadj, (2008). Oxidants, Antioxydants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdzakova A (ed). P :19-43.
- [14] Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. Médecine/sciences n°3, vol.22, 266-72. Baskin S.I and Salem H.(1994). Oxidant, Antioxydant and Free Radicals. Academic press Inc. 363 (25-62). Jenkins A.J., Hill M.A. and Rowley K.G. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed). p123-160
- [15] Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M., (2008). Oxidants, Antioxydants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdzakova A (ed). P :19-43.
- [16] Abuja P.M and Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta 306 (1-17). Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin.
- [17] HUANG D., OU B, and PRIOR R.L. (2005). "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (6): 1841-1856.
- [18] Ursini F., Tubaro F., Rong J and Sevanian A. (1999). Optimization of nutrition: Polyphenols and vascular protection. Nutrition reviews. Vol 57, n°8: 241-249.

- [19] GARDES-ALBERT, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., ABEDINZADEH, Z., JORE, D. (2003). "Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?" L'actualité chimique, novembre-décembre 2003
- [20] BOUTINE D. Évaluation De L'activité Antioxydante Et Antibactérienne D'une Plante Endémique Algérienne *Ampelodesma Mauritanica*. Diplôme de Magister Spécialité: CHIMIE ORGANIQUE. Université Badji Mokhtar-Annaba. 2011, page 19_25
- [21] Colette E. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Pharmacie Bamako. 147 P.
- [22] Ahamet S. (2003). Etude phytochimique et des activités biologiques. Thèse Pharmacie, Bamako; 117 P.
- [23] Igor Passi L B. (2002). Etude des activités biologiques. Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P
- [24] Cavin A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P
- [25] Sidibé F. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique Thèse de Pharmacie, Bamako ; 79 P.
- [26] KANOUN KHADIDJA (2010-2011), Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaïne).
- [27] Heidi Mighri, Hafedh Hajlaoui, Ahmed Akrouf, Hanen Najjaa, Mohamed Neffati, (2010) (Mighri et al, 2010):, Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone.
- [28] Barlow, S.M. (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson, B.J.F, Food Antioxidants: 253-307.
- [29] Extraction des espèces chimiques (03/2014):
<http://www.physagreg.fr/Cours2nd/Chimie/Theme1/Cours/Chimie-Chapitre2-extraction.pdf>
- [30] M.D. Luque de Castro and L.E. Garcia-Ayuso, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 (1998) 1-10
- [31] Mode d'extraction de principe actif (3/2014):
<http://phyto-tpe.e-monsite.com/pages/mode-d-extraction-du-principe-actif.html>
- [32] Les différents procédés d'extraction des principes actifs des plantes (3/2014):
<http://nathaliepirioudeslandes.wordpress.com/2012/10/18/les-differents-procedes-d-extraction/>
- [33] Petigny Antoine (2011):
<http://web04.univ-lorraine.fr/ENSAIA/marie/web/ntic/pages/2011/petign.html>
- [34] Mafart, P. and E. Béliard (1993). Génie Industriel Alimentaire techniques séparatives. Paris, Techniques et Documentation-Lavoisier.
- [35] Schügerl, K. 1994. Solvent Extraction in Biotechnology. Springer-Verlag: Berlin ISBN 3540576940.
- [36] Canace, J. E. and G. Mazza (2003). "Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries." *Journal of Food Engineering* 59(4): 379-389.
- [37] Groubert, A. (1984). techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.
- [38] Campbell-Platt, G. (Ed.). 2009. Food Science and Technology. Oxford: Blackwell-Wiley. ISBN: 978-0-632-06421-2.
- [39] Jérôme Lambion., 2006. Protection phytosanitaire en culture de pomme de terre Biologique : fiche 1 : Lutte contre les champignons et les bactéries pathogènes. Institut technique d'agriculture biologique.
- [40] MORRIS (D. L.), 1948.- Quantitative determination of carbohydrates with Dreywd's hthme reagent. *Science*, 5 mars 1948, 107, 254-255.
- [41] Sattler L. & Zerban F.W.(1948) The anthrone reaction as affected by carbohydrate structure. *Science* 108 : 207

- [42] E. G. Bligh and W. J. Dyer, "A rapid method for total lipid extraction and purification." *Can.J.Biochem.Physiol.*, vol. 37, no. 8, pp. 911–917, 1959.
- [43] B. OLIVER, H. LOWRY, NIRA, J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, and R. J. RANDALL, "protein measurement with the folin phenol reagent," *J. Biol. Chem.*, vol. 193, no. 1, pp. 265–275, 1951.
- [44] Singleton V. L. and Rossi J. A.(1965), Colorimetry of total phenols with phosphor molybdicphosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- [45] M. Boudjouref, "Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L.," université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie 2011
- [46] Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002), Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 655–665.
- [47] F. LECHEB, "Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin," Université M'hMED BOUGARA Boumerdès, algérie 2010.
- [48] Arvouet-Grand A., Vennat B., Pourrat A., Legret P (1994), Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, p, 462- 468.
- [49] Matkowski A., Tasarz P. and Szypuła E. (2008). Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (11): 321-330.
- [50] K.Sarabjot & M.Poonam, "Study of Total Phenolic and Flavonoid Content , Antioxidant Activity and Antimicrobial Properties of Medicinal Plants," *J. Microbiol. Exp.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–6, 2014.
- [51] F. LECHEB, "Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin," Université M'hMED BOUGARA Boumerdès, algérie 2010.
- [52] Djeridane A, yousfi M, nagjemi B, boutassouna D, stocker P, vidal N. (2006). Antioxidant activity of some algian medicinal plants extracts containing phenolic compound, *food chemistry*.97: 654-660.
- [53] Jan W. Low, Responsable de l'Initiative Patate Douce pour le Profit et la Santé, Centre international de la pomme de terre, Juin 2013.
- [54] MOST, USAID Micronutrient Program. 2004. Enquête sur la Carence en Vitamine
- [55] Profil Nutritionnel du Maroc - Division de la nutrition et de la protection des consommateurs, FAO, 2011
- [56] Lai YC, Huang CL, Chan CF, Lien CY, Liao WC. Studies of sugar composition and starch morphology of baked sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *J Food Sci Technol*. 2013 Dec;50(6):1193-9.



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques



Nom et prénom : HNI Brahim

Année universitaire : 2016/2017

Titre : Recherche des molécules bioactives dans les différentes patates consommées au Maroc.

Résumé

La pomme de terre (*Solanum tuberosum*), appartient à l'ordre des Solanales, à la famille des Solanacées, à la sous-famille des Solanoideae, à la tribu des solanae, au genre Solanum L., au sous-genre Patato. Elle est très utilisée pour l'alimentation de l'Homme à des fins nutritionnelles. La teneur en eau du tubercule de la pomme de terre est de 83% du poids frais. Le restant est constitué principalement par les protéine (2.7 à 2.9%), les lipides (0.1 à 0.2%), des sucres (16 à 17%), des matières minérales ainsi que par des pigments tel que le bêta-carotène (0.05 à 0.06%) et des composé phénolique (0.09 à 0.1%). L'extraits a été obtenus par la macération. Le rendement d'extraction par méthanol est 2.47%. La teneur totale en composés phénolique a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode $AlCl_3$ (2 à 3%), pour même extrait. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH. La valeur IC_{50} a été estimée à 400 μ g/ml pour les mêmes extraits.

La patate douce (*Ipomoea batatas*) appartient à la famille des Convolvulacées. Sa teneur en eau du tubercule de la patate douce est de 72% du poids frais. Le restant est constitué principalement par les protéine (4 à 5%), les lipides (0.2 à 0.3%), des sucres (13 à 14%), des matières minérales ainsi que par des pigments tel que le bêta-carotène (0.2 à 0.3%) et des composé phénolique (0.14 à 0.16%). Les extraits ont été obtenus tous par la macération. Les rendements d'extraction sont : (3.84 % pour le méthanol) – (2.40% pour éthanol) - (3.47% pour l'eau). La teneur totale en composés phénolique a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu dans les extrait de méthanol, éthanol et eau. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode $AlCl_3$, pour même extrait. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH. La valeur IC_{50} a été estimée à 50-70-320 μ g/ml pour les mêmes extraits.

Mots-clés : la pomme de terre, la patate douce, composés phénoliques, vitamine C, flavonoïdes, bêta-carotène, activité anti-oxydant.