

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Microbiologie Appliquée"

*Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques issus de *Curcuma longa* L.*

Présenté et soutenu publiquement par

M^{elle} HAMZAOUI Hiba Elrahmane

M^{elle} HATEM Nadjat

M^{elle} KETROUSSI Soumia

Devant le Jury:

Président: M^{me} MAKHLOUFI C.

Promoteur: M^{me} BENARABA R.

Co-promoteur: M^{me} BENGUIAR R.

Examineur: Mr ACEM K

Année universitaire: 2017–2018

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir données la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairées le chemin de la réussite.

*Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude vont particulièrement à Madame **BENARABA R**, qui nous a encadrées depuis les premiers instants. Sa pédagogie, son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience, sa disponibilité et sa gentillesse ont été importants pour nous et ont largement contribué à l'évolution de cette étude.*

*Nous remercions Madame **BENGUIAR R**, pour nous avoir fait l'honneur d'être notre Co-promotrice.*

*Nous tenons à remercier profondément Madame **MAKJLOUFI** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Aussi, nous tenons à remercier profondément Monsieur **ACEM** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions s'adressent à Madame **Fatiha** et M^{lle} **Noura** pour leurs conseils et encouragements.*

*Nos immenses remerciements vont à tous nos amis de la promotion Master II **Microbiologie Appliquée**.*

Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

HAMZAOUI Hiba Elrahmane

HATEM Nadjet

KETROUSSI Soumia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail.

***A la mémoire de mon grand père:** Qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je lui dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, l'accueille dans son éternel paradis.*

***A ma très chère mère : Mokhtari Affia :** Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

***A mon très cher père : Hamzaoui Mostefa :** Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

***A mon cher petit frère Ahmed Yacine** Pour toute l'ambiance dont tu m'as entourée, pour toute ta spontanéité et ton élan chaleureux, Je te dédie ce travail. Puisse Dieu le tout puissant exhausser tous tes vœux.*

***A mes très chères sœurs Nousseiba, Khaoula, Amina :** En souvenir d'une enfance dont nous avons partagée les meilleurs et les plus agréables moments. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.*

*À mon beau-frère : **Mulham Kharraz.***

*À mes chers neveux : **Mohamed, Mustapha.***

***A ma grande famille :** je cite en particulier, mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.*

*À Mes meilleures amies: **Kheïra, Nadjet, Soumia, Hamida, Nour, Mimi et Miada.***

À tous ceux qui m'ont apportée d'aide de près ou de loin.

HAMZAOUI Hiba Elrahmane

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce travail réalisé grâce à l'aide d'allah le tout puissant

*A mon cher père **HATEM Ahmed** qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*A la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie **ma mère** qui m'a apportée son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.*

*A mon seul frère **Abd Elhakim** et mes sœurs **Rima** et **Souad** qui m'ont soutenue et étaient toujours avec moi*

*A toute ma famille particulièrement mes cousines **Imen, Djamila, Nouria, Alia, Fatima***

*A mon binôme **Hiba** et **Soumia***

*A mes adorables amies **BELKACEM Djihad, KOUREK Imen** pour tous ces bons moments qu'on a eu à partager sous le signe d'une amitié pérenne.*

*A toute la promotion de Master II **Microbiologie Appliquée***

A tous mes enseignants pour m'avoir tout donnée, ce qui est inestimable, le savoir et le savoir faire, je vous dis merci.



HATEM Nadjef

Dédicaces

A l'aide d'Allah le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*A Ma famille **KETROUSSI** Et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents ;*

*A ma mère **Keltoume** et mon père **Khalef***

*A ceux qui m'ont toujours encouragée pour que je réussisse
Dans mes études,
Pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long mes étude.*

*A ma 2ème famille : Mes parents : **Abdelkader, Zineb.***

*A Mon marie **Kadi.***

*A mes sœurs : **Asmaa, Aya.***

*A mes frères : **Abderrahmane, Sadik, Younes.***

*A mes nièces: **Inesse, Mayssa.***

*A tous mes professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire
Ou de l'enseignement supérieur surtout M^{me} **Benaraba Rachida** pour son encadrement.*

*A tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de ce mémoire surtout
M^{me} **Fatiha** et M^{lle} **Noura.***

*A mon binôme, **Nadjet** et **Hiba** pour tout ce qu'on a eu à partager avec moi
dans les moments difficiles de ce travail.*

*Et sans oublier toutes les étudiantes de la spécialité
Microbiologie appliquée.
(Promotion 2017-2018)*


Soumia

LISTE DES ABREVIATIONS

AG	Acide gallique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
CE₅₀	Concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% la concentration initiale du ferricyanure de potassium
DPPH[•]	2, 2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle
EAC	Extrait aqueux de Curcuma
EAG	Equivalent en acide gallique
EEC	Extrait éthanolique de Curcuma
EMC	Extrait méthanolique de Curcuma
EQ	Equivalent en quercétine
ES	Erreur standard
FeCl₃	Chlorure de fer
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
CI₅₀	Concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration de DPPH [•] initiale de 50%
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium.
K₂HPO₄	Phosphate de potassium dibasique
KH₂PO₄	Phosphate de potassium monobasique
MS	Matière sèche
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
RFC	Réactif de Folin Ciocalteu
TCA	Acide Trichloracétique
Vit C	Vitamine C

LISTE DES FIGURES

Figure N°01 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.....	10
Figure N°02 : Inhibition du Radical libre DPPH*	16
Figure N°03 : Rendements d'extraction des composés phénoliques de <i>Curcuma longa L.</i> pour les trois solvants utilisés.....	18
Figure N°04 : Teneur en composés phénoliques totaux du <i>Curcuma longa L.</i> pour les trois solvants utilisés exprimée en mg EAG par g de matière sèche	19
Figure N°05 : Teneur en flavonoïdes du <i>Curcuma longa L.</i> pour les trois solvants utilisés exprimée en mg EQ par g de matière sèche	19
Figure N°06 : Pouvoir réducteur des extraits de <i>Curcuma longa L.</i> exprimé en CE ₅₀	22
Figure N°07 : Pouvoir réducteur de l'acide gallique, vitamine C et la quercétine exprimé en CE ₅₀	22
Figure N°08 : Courbe de corrélation entre la concentration de l'EEC et la capacité de réduire le fer	23
Figure N°09 : Courbe de corrélation entre la concentration de l'EMC et la capacité de réduire le fer	23
Figure N°10 : Capacité de piéger le radical libre DPPH* par les extraits issus de <i>Curcuma longa L.</i> exprimé en CI ₅₀	23
Figure N°11 : Capacité de piéger le radical libre DPPH* par l'acide gallique, la vitamine C et la quercétine exprimée en CI ₅₀	23

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°01	: Matériel et produits chimiques utilisés.....	08
---------------------	---	-----------

LISTE DES ANNEXES

- Annexe I** : Stress oxydant, causes et conséquences
- Annexe II** : Description, classification et composition de *Curcuma longa L.*
- Annexe III** : Les polyphénols
- Annexe IV** : Résultats numériques
- Annexe V** : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques
- Annexe VI** : Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydante

LISTE DES ABREVIATIONS	<i>i</i>
LISTE DES FIGURES	<i>ii</i>
LISTE DES TABLEAUX	<i>iii</i>
LISTE DES ANNEXE	<i>iv</i>

INTRODUCTION

SOMMAIRE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Radicaux libres.....	03
I.2. Stress oxydatif.....	03
I.3. Antioxydants, rôle et fonction	04
I.3.1. Polyphénols et leur classe	04
I.4. <i>Curcuma longa L.</i>	05
I.4.1. Présentation du <i>Curcuma longa L.</i>	05
I.4.2. Composition de <i>Curcuma longa L.</i> en polyphénols.....	05
I.4.3. Propriétés thérapeutiques de <i>Curcuma longa L.</i>	06
I.4.3.1. Propriétés anti-inflammatoires.....	06
I.4.3.2. Propriétés anticancéreuses.....	06
I.4.3.3. Effet cardioprotecteur	06

II. ÉTUDE EXPERIMENTALE

II.1. Objectifs du travail	07
II.2. Lieu et durée de travail	07
II.3. Matériel et produits chimiques	08
II.4. Matériel végétal	09
II.5. Procédure expérimentale	10
II.5.1. Préparation du matériel végétal	11
II.5.2. Préparation des différents extraits à partir de la plante <i>Curcuma longa L.</i>	11
II.5.2.1. Rendement d'extraction.....	12
II.5.2.2. Dosage des composés phénoliques.....	12

II.5.2.3. Dosage des flavonoïdes	13
II.5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de <i>Curcuma longa L.</i>	14
II.5.3.1. Test de réduction de fer FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	15
II.5.3.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH [•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	16
II.6. Analyse statistique	17

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendements d'extraction.....	18
III.2. Quantification des composés phénoliques totaux et flavonoïdes.....	19
III.3. Evaluation de l'activité antioxydante	21
III.3.1. Evaluation du pouvoir réducteur des extraits de <i>Curcuma longa L.</i> (<i>Ferric Reducing Antioxydant Power</i>).....	21
III.3.2. Evaluation de la capacité de piégeage du radical libre DPPH [•] (2,2-diphenyl-1picrylhydrazil) par les extraits de <i>Curcuma longa L.</i>	23

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

Actuellement, le développement des pathologies à stress oxydatif et l'effet indésirable de certaines molécules pharmaceutiques de synthèse, mène les chercheurs à puiser dans le monde végétal en quête d'une solution alternative. En effet près de la moitié des médicaments que nous utilisons ont une composition d'origine végétale, et le quart renferme des extraits ou des molécules actives provenant directement des plantes. Ainsi, par l'intermédiaire des médicaments de synthèse ou d'hémi-synthèse autant que par le biais de la phytothérapie, les plantes constituent le mode de traitement le plus répondu dans le monde, y compris dans les pays occidentaux (**Adida et al., 2016**). Les propriétés thérapeutiques de ces matrices naturelles sont dues à la présence de composés bioactifs appelés «métabolites secondaires».

Ces biomolécules, à vertus thérapeutiques complémentaires ou synergiques, font l'objet aujourd'hui d'un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique du fait qu'elles ont été étudiées et reproduites chimiquement pour être incorporées dans de nombreux médicaments, ceci est dû essentiellement à leur puissante activité antioxydante offrant ainsi des stratégies prometteuses dans la prévention de certaines pathologies à stress oxydatif. Le mécanisme sous-jacent implique la neutralisation des radicaux libres, le piégeage des métaux de transition, l'induction des enzymes antioxydante et l'inhibition de certaines voies de signalisation, menant ainsi à la prévention contre les dommages oxydatifs et ralentissent le vieillissement cellulaire (**Efraigne et Incemail, 2009**).

Parmi l'ensemble des métabolites secondaires, les composés phénoliques représentés majoritairement par les flavonoïdes, suscitent de plus en plus l'intérêt des chercheurs, car ils sont considérés comme de très puissants antioxydants (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). Dans l'arsenal des plantes médicinales caractérisées par leur richesse en ces composés on trouve le *Curcuma longa L.* et plus particulièrement son rhizome, un des éléments essentiels de la médecine ayurvédique, utilisé également en médecine traditionnelle depuis la nuit des temps (**Dias et al., 2013**), pour stimuler la digestion et traiter les troubles qui lui sont liés. Actuellement plusieurs vertus sont attribuées au *Curcuma longa L.* telles que l'activité anti-inflammatoire, la stimulation du système immunitaire, la prévention de certains cancers, l'action sur les troubles digestifs, hépatiques et l'activité antioxydante (**Li et al., 2011**).

Cependant, il a été clairement établi que l'efficacité phytothérapeutique et/ou pharmaceutique d'une plante médicinale, repose essentiellement sur l'aspect qualitatif et quantitatif de l'extrait issu de cette plante (**Yan et Asmah, 2010**). C'est pour cette raison qu'il est nécessaire d'apporter une attention particulière au procédé et au type de solvants utilisés pour l'extraction de ces composés actifs et déterminer l'extrait phénolique à efficacité

optimale qui permet de restituer toute la complexité moléculaire de cette plante. C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de ce présent travail. Ce dernier s'intéresse dans un premier temps à optimiser l'extraction des composés phénoliques issus de *Curcuma longa L.*, en utilisant différents solvants et dans un deuxième temps, sélectionné l'extrait le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes ayant l'activité antioxydante la plus importante. L'évaluation de cette activité est basée sur la capacité de réduire les métaux lourds et l'effet *scavenger* des radicaux libres et ce dans l'optique de l'exploiter dans les stratégies de lutte et de prévention vis-à-vis des pathologies à stress oxydatif.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais il peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes qui peuvent provoquer des dommages sur l'ADN, les protéines cellulaires essentielles et les lipides membranaires (peroxydation lipidique), pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire (**Arora et al., 2002**) Parmi les espèces réactives on trouve l'ion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et radical hydroxyle (OH^{\bullet}), ces derniers sont appelés les radicaux libres.

I.1. Radicaux libres

En effet, les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (**Andzi Barhé et Feuya Tchouya, 2016**). Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Il existe normalement un équilibre dynamique entre la production de radicaux libres et leur neutralisation par les systèmes de protection. Cet équilibre est parfois dépassé, soit lors d'une insuffisance d'apports en antioxydants ou une déficience des enzymes protectrices et par conséquent l'organisme se trouve dans un état de « stress oxydatif », ouvrant la porte à de nombreuses pathologies, notamment le cancer (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

I.2. Stress oxydatif

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales a été envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant. Il se définit comme étant un déséquilibre au sein d'un individu entre la production d'éléments oxydants et de mécanismes de défense antioxydante (**Sayre et al., 2008**). Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense. Quand l'un ou l'autre de ces mécanismes est présent, le stress oxydant est initié et contribue à l'apparition de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives ou le cancer (**Morena et Canaud, 2002**). L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques qui sont désignés par le terme « antioxydants ».

I.3. Antioxydants, rôle et fonction

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations comparées à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat (**Young et Woodside, 2001**). Le rôle physiologique des antioxydants, comme le suggère cette définition, est de prévenir les dommages aux composants cellulaires résultant de réactions chimiques impliquant des radicaux libres.

Ces derniers peuvent être produits en excès à cause des agents externes (pollution, les radiations, UV ou l'alcool), de ce fait notre système endogène de défense se trouve incapable de réduire toutes ces espèces réactives, notre organisme a alors besoin d'une alimentation riche en antioxydants. Parmi ces antioxydants, on trouve les vitamines C, E et A, ainsi que les polyphénols et les flavonoïdes (**Venkatachalam et Muthukrishnan, 2012**).

I.3.1. Polyphénols et leurs classes

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux depuis les racines jusqu'aux fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**). Ils prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de certains cancers, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

Les flavonoïdes constituent un groupe important des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols et qui sont quasiment universels chez les végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont constitués d'un squelette de base commun composé de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles (**Atanasova, 2009**). Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits comme les raisins, les légumes particulièrement les oignons, les boissons telles que le thé et le café et également dans les herbes et les épices telles que le gingembre et le Curcuma.

I.4. *Curcuma longa* L.

I.4.1. Présentation du *Curcuma longa* L.

Curcuma longa L. est un membre vivace de la famille des Zingiberaceae et est cultivé dans les régions tropicales et subtropicales du monde, principalement en Inde et en Chine (Nguyen *et al.*, 2017). Il était à l'origine apprécié principalement comme épice alimentaire et comme colorant naturel pour les vêtements jusqu'à récemment quand il a été découvert comme une source potentielle de nouveaux médicaments pour une variété de maladies. Son importance en médecine a commencé avec la découverte que le rhizome de la plante est riche en composés phénoliques (Elvira *et al.*, 2015), identifiés comme curcuminoïdes, en particulier la curcumine. Certaines des activités biologiques et des propriétés thérapeutiques attribuées à la curcumine étaient des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-cancérigènes et antivirales (Akram *et al.*, 2010).

I.4.2. Composition de *Curcuma longa* L. en polyphénols

Les curcuminoïdes désignent un groupe de composés phénoliques présents dans le curcuma, qui sont chimiquement apparentés à son principal ingrédient, la curcumine. Trois curcuminoïdes ont été isolés du curcuma, à savoir la curcumine, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine (Labban, 2014). Tous les trois confèrent la pigmentation jaune distinctive à la plante *Curcuma longa* L. et en particulier à ses rhizomes. Bien que la structure chimique de la curcumine ait été déterminée dans les années 1970 et 1980, les utilisations potentielles des curcuminoïdes en médecine ont récemment fait l'objet d'études approfondies.

I.4.3. Propriétés thérapeutiques de *Curcuma longa* L.

La curcumine et ses dérivés se sont avérés être bioactifs. Certaines des propriétés pharmacologiques et biologiques de la curcumine sont discutées comme ci-dessous.

I.4.3.1. Propriétés anti-inflammatoires

Traditionnellement la curcumine est connue pour ses effets anti-inflammatoires, la curcumine a été indiquée dans les deux dernières décennies comme un puissant agent immunomodulateur capable de moduler l'activation des cellules T, B, macrophages, cellules tueuses naturelles et cellules dendritiques. L'administration orale de curcumine dans les cas d'inflammation aiguë s'est révélée aussi efficace que la cortisone ou la phénylbutazone, et moitié moins efficace dans les cas d'inflammation chronique (Steffi et Srinivasan, 2014).

I.4.3.2. Propriétés anticancéreuses

Selon de récents travaux de recherches, la curcumine possède différentes qualités pouvant en faire un agent anticancéreux important. L'effet protecteur de la curcumine contre les dommages radicalaires sur les lipides de l'ADN peut servir de mécanisme significatif pour aider à réduire le risque de cancer chez certains individus. Des chercheurs ont suggéré que la curcumine inhibe la croissance des cellules tumorales par des moyens provoquant l'apoptose (mort cellulaire). La curcumine est considérée comme une star pour la prévention du cancer (Nawaz et al., 2011).

I.4.3.3. Effet cardioprotecteur

Les effets protecteurs du curcuma sur le système cardiovasculaire comprennent l'abaissement des taux de cholestérol et de triglycérides, la diminution de la sensibilité des lipoprotéines de basse densité (LDL) à la peroxydation des lipides et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire. La curcumine est un puissant agent anti-inflammatoire qui protège contre les complications pulmonaires et cardiovasculaires.

Chapitre II
Matériel et méthodes

II. Matériel et Méthodes

II.1. Objectifs du travail

L'objectif de la présente étude consiste à :

- ✓ Optimiser l'extraction des composés phénoliques de *Curcuma longa L.* par le biais de la technique de macération et par l'utilisation de trois solvants différents (Ethanol 70%, Méthanol 70% et l'eau distillée);
- ✓ Déterminer la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes;
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et la capacité de piéger les radicaux libres);
- ✓ Criblage de l'extrait phénolique ayant l'activité antioxydante la plus importante.

II.2. Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative de cette présente étude, a été réalisée sur une période qui s'étale du 25 Janvier au 22 mars 2018. Elle a été effectuée au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire de Technologie Alimentaire, Biochimie de la faculté des Sciences de la Nature et de Vie *Université Ibn Khaldoun- Tiaret*
- Laboratoire d'Amélioration et de Valorisation des productions animales locales *Université Ibn Khaldoun- Tiaret*

II.3. Matériel et produits chimiques

Le matériel et les produits chimiques nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le *tableau N°01*:

Tableau N°01: Matériel et produits chimiques utilisés.

Matériel et Appareillages	Produits Chimiques et réactifs
Agitateur magnétique (ROTMAG)	Acide Ascorbique ($C_6H_8O_6$; PM =176,128 g/mol)
Balance analytique (OHAUS)	Acide gallique ($C_7H_6O_5$; PM=170,12g/mol)
Etuve (Heraeus)	Acide trichloracétique (163,38g/mol)
Spectrophotomètre (SHIMADZU)	Carbonate de sodium (Na_2CO_3 ;PM=106 g/mol)
Micropipettes	Chlorure de fer III ($FeCl_3$; PM=162,2g/mol)
Vortex (Techno Kartell)	2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle
	(DPPH [•]),($C_{18}H_{12}N_5O_6$; PM= 394,32 g/mol)
	Ethanol pur
	Ferricyanure de potassium, $K_3 [Fe^{+3}(CN)_6]$; PM= 329,26 g/mol
	Méthanol pur
	Phosphate de potassium dibasique (K_2HPO_4 ; PM= 228,23 g/mol).
	Phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4 ; PM= 136,09 g/mol).
	Quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$; PM=302,236 g/mol)
	Réactif de Folin-ciocalteau (PM=188,14g/mol, 2N)
	Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$; PM=133,34g/mol)

II.4. Matériel végétal

La plante *Curcuma longa L* qui a fait l'objet de notre étude, a été achetée le 24 Janvier 2018 chez un herboriste de la wilaya de Tiaret, sous forme de Rhizome secs. Ces derniers ont été identifiés au sein de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de *l'université Ibn Khaldoun de Tiaret*.

II.5. Procédure expérimentale

La procédure expérimentale regroupant les différentes étapes réalisées au cours de cette étude est illustrée dans la *figure N°01*

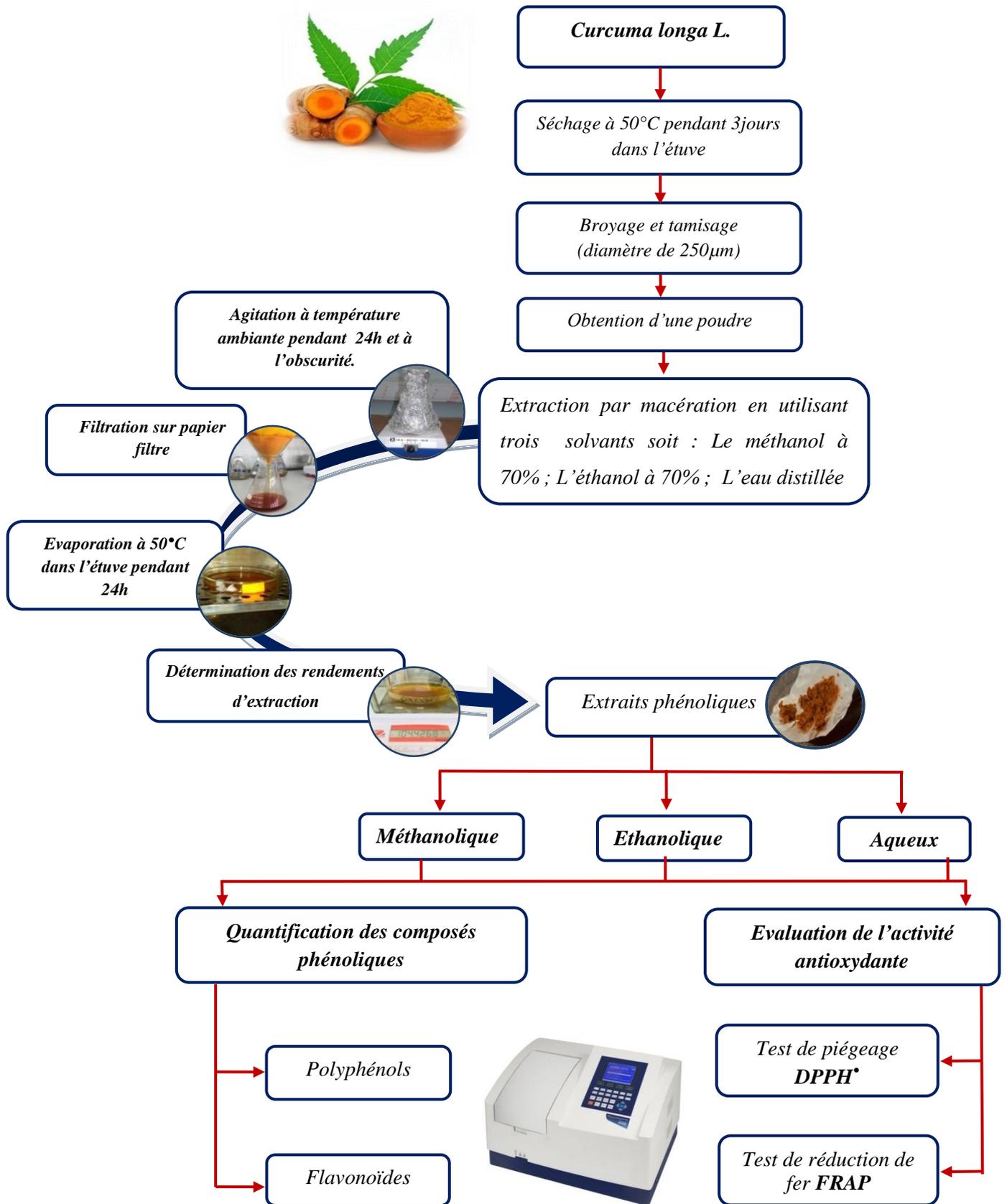


Figure N°01: Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.

II.5.1. Préparation du matériel végétal

Les rhizomes de *Curcuma longa L.* ont été soigneusement nettoyés et découpés en petits morceaux et séchés à l'étuve, à une température de 50 °C pendant 72 heures. Ces morceaux ont été ensuite broyés dans un mortier et tamisés dans un tamis ayant un diamètre de 250 µm de manière à obtenir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés.

II.5.2. Préparation des différents extraits à partir de la plante *Curcuma longa L.*

Différentes méthodes d'extraction peuvent être adaptées à l'extraction des composés naturels. Parmi celles-ci nous avons choisi la macération, une technique simple et facile à mettre en œuvre (**Tanvir et al., 2017**).

Principe

Le principe de cette méthode consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide afin d'en extraire les principes actifs. Pour ce faire, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, ensuite dissoudre le composé actif présent à l'intérieur et l'entraîner vers l'extérieur. Plusieurs auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Lumbu et al., 2005**).

Technique

Dans ce présent travail, trois solvants ont été utilisés ; le méthanol 70%, l'éthanol 70%, et l'eau et ce afin de définir le meilleur solvant qui optimise le rendement d'extraction.

En effet, 5 g de *curcuma longa L.* sous forme de poudre ont été macérés dans 100 ml de solvants (méthanol à 70%, éthanol à 70% et l'eau distillée) pendant 24h à une température ambiante et à l'obscurité. Après filtration sur papier filtre, le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant par évaporation à 50°C et ce afin d'obtenir un extrait sec. Ce dernier, a été conservé à -20°C pour des éventuelles expérimentations (**Tanvir et al., 2017**).

II.5.2.1. Détermination du rendement

Le poids de l'extrait sec a été calculé par la différence entre le poids de la boîte de Pétri en verre contenant l'extrait (après élimination du solvant) et le poids de la boîte de Pétri vide. Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (PF/PI) \times 100$$

Avec : **R** : Rendement en pourcentage (%)
PF : Poids de l'extrait sec en g
PI : Poids de la poudre mise à l'extraction en g

II.5.2.2. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de *Curcuma longa* L. a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au Folin-ciocalteau décrite par Singleton et al. , (1999).

Principe

Le réactif de Folin-ciocalteau de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par ce réactif, cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde $\lambda=760\text{nm}$ et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon, le dosage des composés phénoliques a été effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon : l'acide gallique de concentration connue.

Technique

250 µl d'extrait (préparé dans le solvant approprié avec les dilutions convenables) ont été ajoutés à 250 µl de réactif de Folin Ciocalteu (RFC) ayant une concentration de 0,2 N, après une incubation de 2 minutes, 500 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % ont été additionnés.

Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 20 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc sans extrait. Notons qu'une courbe d'étalonnage a été parallèlement réalisée (**voir annexe V, figure N°05**) afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, cette courbe a été établie avec des concentrations précises d'acide gallique (**0,125 ; 0,0625 ; 0,031 ; 0,0156 ; 0,0078 ; 0,0039 mg/ml**) utilisé comme standard de référence, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en mg EAG/ g de matière sèche et calculée selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

- Avec :
- C** : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g MS)
 - c** : Concentration de l'échantillon calculée.
 - D** : Facteur de dilution.
 - V** : Volume du solvant en ml utilisé pour l'extraction
 - m** : Masse de l'échantillon en g utilisée dans l'extraction

II.5.2.3. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Curcuma longa L.* a été réalisée par la méthode de **Bahorun et al., (1996)**.

Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la formation de complexes de couleur jaune entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Ceci traduit le fait que le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique

agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune présente une absorption maximale à 430 nm.

Technique

1ml d'extrait a été mélangé avec 1ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% (préparée dans l'eau distillée). Le mélange a été incubé à température ambiante et à l'abri de lumière pendant 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm contre un blanc préparé. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine avec différentes concentrations (**40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2.5 ; 1,25 ; 0,625 $\mu\text{g/ml}$**), (**voir annexe V, figure N°06**). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g de matière sèche) et calculée selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

- Avec :
- C** : Teneur en flavonoïdes exprimée en mg Equivalent quercétine par g de matière sèche.
 - c** : Concentration de l'échantillon calculée.
 - D** : Facteur de dilution.
 - V** : Volume de solvant en ml utilisé pour l'extraction
 - m** : Masse de l'échantillon en g utilisé dans l'extraction

II.5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Curcuma longa L.*

Dans cette étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits issus de *Curcuma longa L.* a été réalisée par deux techniques chimiques à savoir : la réduction du fer *Ferric Reducing Antioxydant Power* (FRAP) et le piégeage du radical libre DPPH•.

II.5.3.1. Test de réduction de fer FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Principe

Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) (**Oyaizu, 1986**).

Technique

Le pouvoir réducteur du fer Fe^{3+} dans les extraits a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. 500 μl de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 500 μl d'une solution de tampon phosphate 0,2M (pH=6,6) et 500 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble a été incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 min ensuite, 500 μl d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. A partir du mélange réactionnel précédent un aliquote de 1 ml a été combiné avec 1 ml d'eau distillée et 500 μl d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Le contrôle positif est représenté par trois solutions d'antioxydant standard : l'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique (vit C) dont les absorbances ont été mesurées dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le potentiel réducteur des extraits et des standards est exprimé par les valeurs de concentrations effectives à 50% (CE_{50}).

La CE_{50} a été rapportée comme étant la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50% la concentration initiale de ferricyanure de potassium. Tous les essais ont été effectués au moins trois fois et les graphiques ont été tracés en utilisant la moyenne de trois déterminations (**voir annexe VI**).

II.5.3.2. Évaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Principe

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse (Blois, 1958 ; Brand *et al.*, 1995). A température ambiante, le radical DPPH• présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm.

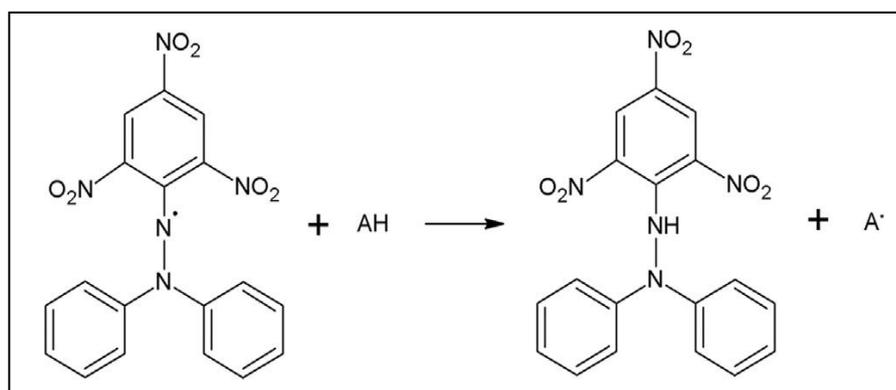


Figure N°02 : Inhibition du Radical libre DPPH•

Technique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

L'effet de chaque extrait sur le DPPH• est mesuré par la procédure décrite par Sanchez-Moreno *et al.* (1998).

Un volume de 750 µl de différentes concentrations de chaque extrait ou les standards antioxydants (acide gallique, quercétine et vitamine C exprimés en µg/ml) a été ajouté à 750 µl de la solution méthanolique du DPPH• à 4 mg/ml et fraîchement préparée.

Le mélange réactionnel a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 50 min, une lecture de l'absorbance a été effectuée à 517 nm. Les valeurs de CI_{50} ont été déterminées graphiquement par la régression exponentielle des extraits et des solutions standards (**voir annexe VI**) .

II.6. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard à la moyenne. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica Statsoft, (version 6.1, Statsoft, Tulsa. OK).L'ANOVA à un facteur a été utilisée pour effectuer la comparaison des moyennes (comparaison entre les trois extraits de Curcuma). Cette analyse a été suivie par le test Post-hoc Duncun afin de déterminer les différences significatives et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour un *p value* inférieur à 0,05 dans l'ensemble des analyses statistiques. Les constatations suivantes ont été retenues :

- *Pour un $p < 0,05$ la différence est significative (*)*
- *Pour un $p < 0,01$ la différence est très significative (**)*
- *Pour un $p < 0,001$ la différence est hautement significative (***)*

Chapitre III
Résultats et discussion

III. Résultats

III.1. Rendements d'extraction :

Les rendements obtenus après l'extraction des composés phénoliques de *Curcuma longa L.* en utilisant les trois solvants (méthanol, éthanol et l'eau) sont représentés dans la **figure N°03**. Ils sont exprimés en pourcentage massique.

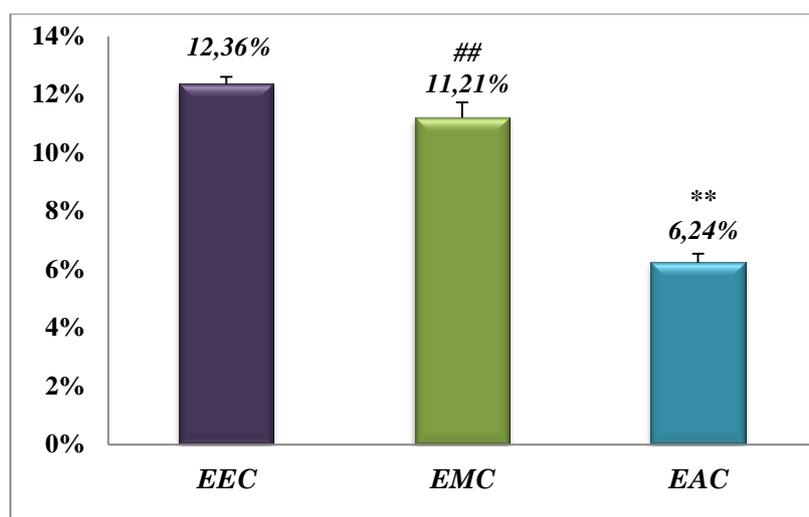


Figure N°03: Rendements de l'extraction des composés phénoliques de *Curcuma longa L.* pour les trois solvants utilisés

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm ES de trois essais indépendants).

(*): EEC vs EAC; (#): EMC vs EAC; (\$): EEC vs EMC

Le calcul des rendements par rapport au poids total de broyat (5g de matière végétale en poudre utilisée pour l'extraction), montre que l'extrait éthanolique présente un rendement de **12,36 %**, ce dernier est quasi-identique à celui obtenu lors de l'extraction méthanolique **11,21 %**, cependant l'extrait aqueux révèle le plus faible rendement avec un pourcentage de **6,24**. Ce dernier est significativement différent des deux rendements précédents, méthanol et éthanol, avec des *p* de *0,01* et de *0,007* respectif.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Ungphaiboon et al. (2005)**, cet auteur indique un rendement d'extraction de 30% pour l'extrait éthanolique issu de *curcuma longa L.* en utilisant la même technique d'extraction et le même solvant que ceux utilisés au cours de cette étude. Cependant le pourcentage du solvant est différent (95%) en comparaison avec notre solvant (éthanol à 70%).

Dans une autre investigation réalisée par **Panpatil et ses collaborateurs (2013)**, sur l'évaluation des activités biologiques des extraits issus de *Curcuma longa L.*, le rendement

d'extraction obtenu, en utilisant l'éthanol pur comme solvant, est de l'ordre de 8% . Ce résultat va de pair avec celui obtenu par, **Joshi *et al.* (2009)**. Ces derniers présentent des rendements de l'ordre de 7,93%, 8,03% et 8,02% pour l'extrait acétonique, éthanolique et propanolique respectivement. Cependant ces auteurs ont opté pour la technique soxhlet comme méthode d'extraction.

Toutefois, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuée, essentiellement la méthode, les solvants utilisés et la température d'extraction. Ces derniers affectent le contenu total en polyphénols. Aussi il est largement admis que les variations des rendements d'extraction pourraient être attribuées non seulement à la différence de la polarité du solvant utilisé, qui joue un rôle clé dans l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques ; mais aussi la polarité des composés phénoliques qui constituent l'extrait (**Felhi *et al.*, 2017**).

III.2. Quantification des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes :

Les teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes des différents extraits issus de *Curcuma longa L.* sont illustrés dans les figures N°04 et N°05

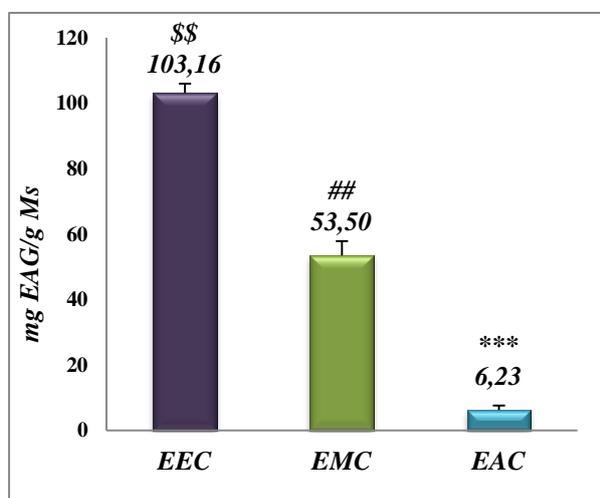


Figure N°04: Teneur en composés phénoliques totaux du *Curcuma longa L.* pour les trois solvants utilisés exprimée en mg EAG par g de matière sèche

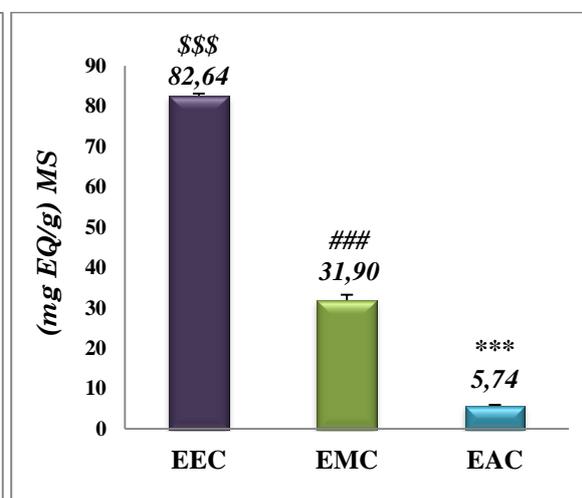


Figure N°05 : Teneur en flavonoïdes du *Curcuma longa L.* pour les trois solvants utilisés exprimée en mg EQ par g de matière sèche

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm ES de trois essais indépendants).

(*): EEC vs EAC; (#): EMC vs EAC; (\$): EEC vs EMC

De ces résultats il ressort que l'extraction par la technique de macération en utilisant l'éthanol, le méthanol à 70 % et l'eau distillée, aboutit à des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes très différentes. Ces teneurs varient considérablement entre les trois extraits de *Curcuma longa L.* On constate que l'extrait éthanolique représente le taux le plus élevé en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes. Les valeurs obtenues sont de l'ordre de $103,16 \pm 2,77$ mg EAG/g MS et $82,63 \pm 0,49$ mg EQ/ g MS respectivement et ce en comparaison avec les deux autres extraits : méthanolique et aqueux, où les teneurs sont de l'ordre ($53,50 \pm 4,33$ mg EAG/g MS ; $6,23 \pm 1,36$ mg EAG/g MS pour les composés phénoliques et $31,90 \pm 1,32$ mg EQ/g MS ; $5,74 \pm 0,16$ mg EQ/g MS pour les flavonoïdes). Cette divergence est très significative avec $p = 0,003$ pour l'EEC vs EMC et un $p = 0,0005$ pour l'EEC vs EAC, en ce qui concerne les polyphénols, alors que pour les flavonoïdes on note un $p = 0,0003$ pour l'EEC vs l'EMC et $p = 0,0001$ pour l'EEC vs l'EAC.

Aussi la comparaison des extraits alcooliques et aqueux laisse apparaître une présence très abondante des polyphénols et flavonoïdes dans les extraits alcooliques que dans l'extrait aqueux (**voir figure N°04 et 05**). Ceci laisse suggérer que l'extraction par macération avec l'utilisation de l'éthanol ou du méthanol donne des teneurs supérieures en composés phénoliques essentiellement flavonoïques en comparaison avec les teneurs obtenues avec de l'eau distillée comme solvant d'extraction. Cette différence dans les teneurs peut être attribuée à la polarité du solvant.

Les résultats du dosage des composés phénoliques obtenus au cours de cette étude corroborent ceux indiqués par **Mohd Nor et al. (2009)**. L'étude de ces auteurs est basée sur le dosage des composés phénoliques totaux de l'extrait éthanolique des rhizomes de *Curcuma longa L.* Ces auteurs indiquent que la concentration des polyphénols issus par cette macération (à l'éthanol pur) est de $116,3 \pm 0,02$ mg EAG/g MS. Cependant, **Kaur et Kapoor (2002)**, rapportent dans leur étude des teneurs de l'ordre de $175 \pm 7,2$ mg EAG /100g MS, alors que la teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique suggérée par **Indrianingsih et al. (2015)** est estimée à 43,2 mg EAG/g. Ces auteurs utilisent la technique de macération avec le méthanol à 80% comme solvant d'extraction. D'autres chercheurs, indiquent que l'extrait phénolique issu *Curcuma longa L.*, contient une teneur polyphénolique de l'ordre de $67,9 \pm 1,0$ mg EAG/100g (**Maizura et al., 2011**). Aussi dans une étude réalisée sur les rhizomes de cette plante, les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux, obtenus par la technique soxhlet, sont de l'ordre de 52,11 mg EAG/100 g, 68,64 mg EAG/100 g et 4,82 mg EAG/100 g respectivement (**Devi et al., 2015**).

Ces résultats vont de pair avec les résultats obtenus au cours de notre étude, dans le sens où celle-ci démontre que l'extrait éthanolique est le plus riche en polyphénols en comparaison avec les autres extraits.

Sahu et Saxena (2013), indiquent que les teneurs en flavonoïdes et polyphénols dans l'extrait méthanolique issus par macération sont de $79,36 \pm 0,01$ mg EQ/g et de $260 \pm 0,25$ mg EAG/g respectivement. Ces valeurs sont largement supérieures aux valeurs obtenues au cours de cette étude.

Il est clair qu'il existe des divergences entre les teneurs en polyphénols et flavonoïdes obtenues et celles évoquées par les littératures. Ceci peut trouver son explication dans le fait que les méthodes, les types de solvants, le pourcentage des solvants, la température, et la durée de l'extraction, peuvent influencer de manière significative l'estimation de la teneur et le type des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes dans les différents extraits (**Hayouni et al., 2007 ; Grujic et al., 2012**).

Aussi, la méthode de quantification des polyphénols peut être un facteur de divergence fondamental, en effet la technique au Folin-ciocalteu est une technique à faible spécificité. Ceci est dû à la sensibilité extrême de ce réactif à réduire tous les groupes d'hydroxyles ce qui est l'inconvénient principal de cette technique (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

En outre, **Moure et al. (2001)**, ont démontré que la polarité la plus élevée du solvant a tendance à donner de plus grandes quantités de polyphénols. Par conséquent, des différences significatives dans les teneurs en composés phénoliques observées entre les extraits alcooliques et l'extrait aqueux dans cette étude, peuvent être attribuées à la polarité du solvant.

III.3. Evaluation de l'activité antioxydante

III.3.1. Evaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Curcuma longa L.* (*Ferric Reducing Antioxydant Power*) :

Les résultats concernant l'activité réductrice des extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) de *Curcuma longa L.*, l'acide gallique (AG), la quercétine et l'acide ascorbique (Vit C) (utilisés comme antioxydants standards), sont illustrés dans les **figures N°06 et N°07**. Ils sont exprimés en concentration effectrice à 50% (CE₅₀).

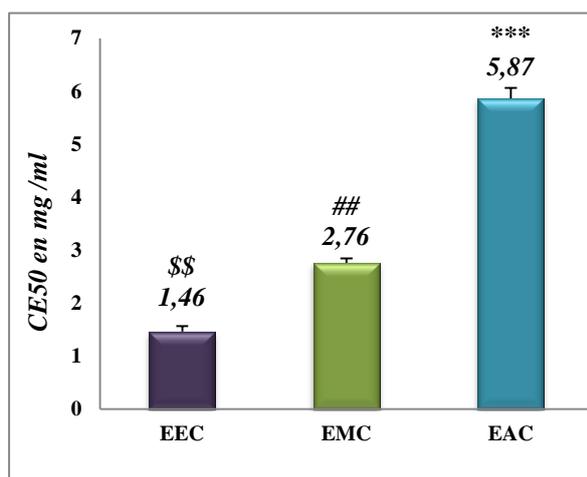


Figure N°06: pouvoir réducteur des extraits de *Curcuma longa L.* exprimé en CE50

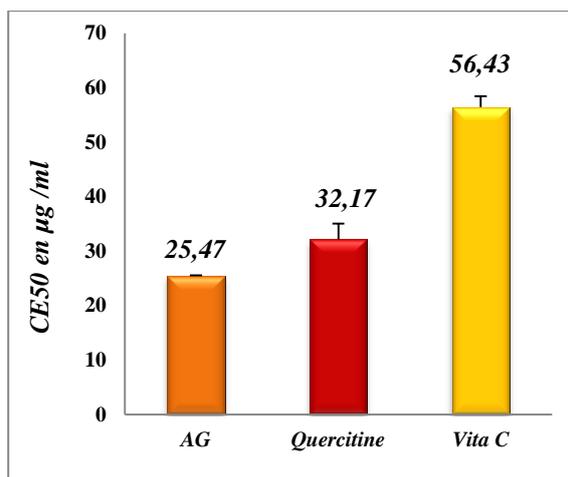


Figure N°07: pouvoir réducteur des standards exprimé en CE50

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne \pm ES de trois essais indépendants).

(*): EEC vs EAC; (#): EMC vs EAC; (\$): EEC vs EMC

L'ensemble des résultats mentionnés dans les **figures N°06** et **N°07**, indiquent que l'extrait éthanolique présente une activité antioxydante, reflétée par la capacité réductrice du fer, plus élevée et très significative en l'opposant aux extraits méthanolique et aqueux et ce avec des concentrations de l'ordre de $1,46 \pm 0,10$ mg/ml ; $2,76 \pm 0,08$ mg/ml ; $5,87 \pm 0,20$ mg/ml respectivement. Néanmoins, ce pouvoir de réduction du fer est largement faible par rapport au pouvoir réducteur des substances antioxydantes standards. Ceci est constaté par le biais des CE50 classées comme suit : Acide gallique : $25,47 \mu\text{g/ml} \pm 0,06$; quercétine : $32,17 \mu\text{g/ml} \pm 2,87$ et finalement l'acide ascorbique avec une CE50 de $56,43 \mu\text{g/ml} \pm 2,01$. Il en ressort que l'acide gallique présente un fort pouvoir réducteur comparativement à nos extraits de *Curcuma longa L.* et des autres antioxydants de références compte tenu de sa faible CE50. Les différents extraits issus de *Curcuma longa L.* exercent un effet dose dépendant.

En effet, d'après les résultats obtenus avec la technique FRAP une augmentation proportionnelle de la réduction du fer avec l'augmentation des concentrations des extraits de la plante étudiée a été constatée. Donc, il est évident qu'il existe une corrélation entre la teneur en polyphénols, essentiellement les flavonoïdes, et la capacité de réduire le fer, ce qui indique une forte corrélation positive et significative avec $r = 0,9994$ pour l'EEC et un $r = 0,9998$ pour l'EMC (voir **figures N°08** et **N°09**).

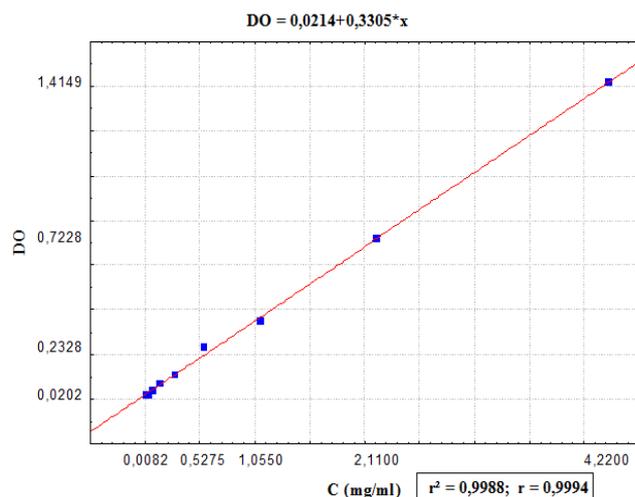


Figure N°08 : Courbe de corrélation entre la concentration de l'EEC et la capacité de réduire le fer

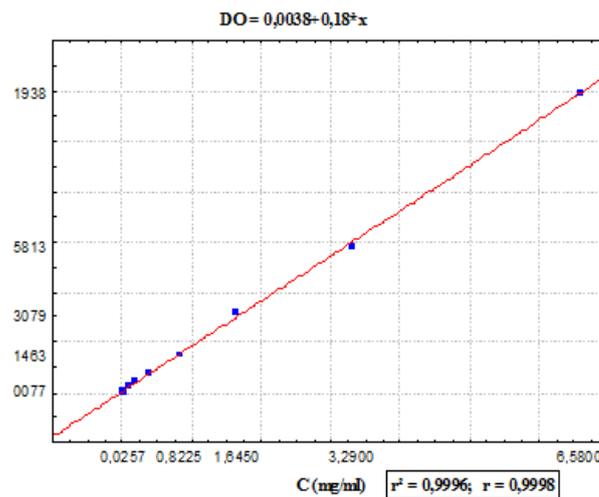


Figure N°09 : Courbe de corrélation entre la concentration l'EMC et la capacité de réduire le fer

III.3.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1picrylhydrazil) pour les extraits de *Curcuma longa L.* :

L'activité antioxydante des différents extraits de *Curcuma longa L.* par le biais du piégeage du radical libre DPPH[•], a été évaluée dans les mêmes conditions que celles des antioxydants standards (acide gallique, quercétine et la vitamine C). Ces résultats sont exprimés en concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀). Les figures N°10 et N°11 illustrent les différentes CI₅₀ obtenues.

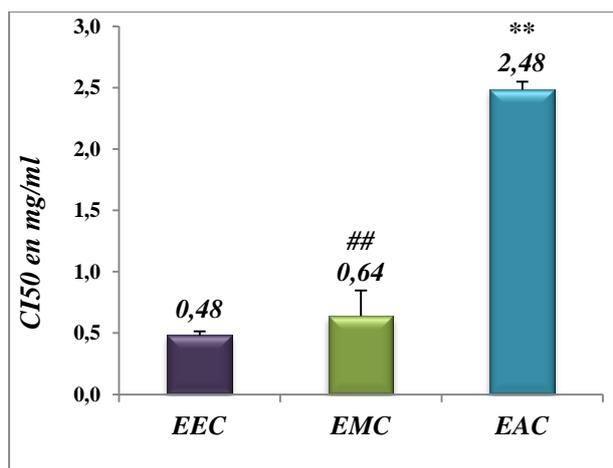


Figure N°10: Capacité de piéger le radical libre DPPH[•] par les extraits de *Curcuma longa L.* exprimée en CI₅₀

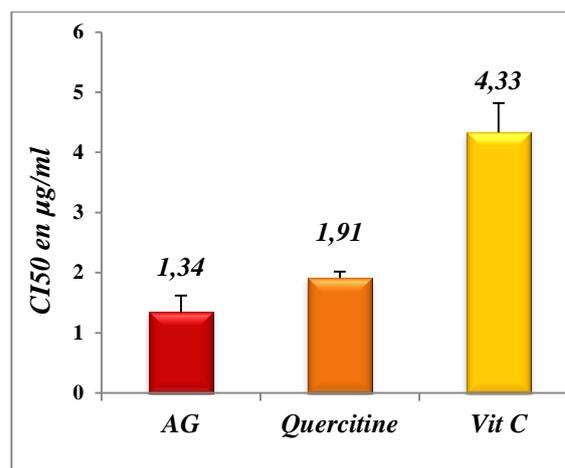


Figure N°11: Capacité de piéger le radical libre DPPH[•] par l'acide gallique, la vitamine C et la quercétine exprimée en CI₅₀

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± ES de trois essais indépendants).

(*): EEC vs EAC; (#): EMC vs EAC; (\$) : EEC vs EMC

D'après les résultats de la technique de piégeage du radical libre (DPPH[•]), l'extrait éthanolique représente l'extrait le plus actif avec une CI₅₀ de l'ordre de $0,48 \pm 0,032$ mg/ml, les deux autres extraits méthanolique et aqueux, montrent une activité inférieure à celle de l'extrait éthanolique avec des concentrations de $0,64 \pm 0,21$ mg/ml et de $2,48 \pm 0,06$ mg/ml respectivement. Toutefois, ce pouvoir reste significativement inférieur à celui constaté avec les antioxydants de référence (**voir figure N°11**).

Ces derniers montrent une activité antiradicalaire puissante appréciée par des CI₅₀ de l'ordre de $1,34 \pm 0,27$ µg/ml ; $1,91 \pm 0,48$ µg/ml et $4,33 \pm 3,19$ µg/ml pour Acide gallique, quercétine et la vitamine C.

L'activité antioxydante des extraits issus de cette étude s'avère différente à celle évoquée dans la littérature. En effet, ces résultats divergent de ceux obtenus par **Ramkissoon et al. (2013)**, ces derniers ont réalisé une expérimentation sur l'évaluation du profil antioxydant de l'extrait éthanolique de différentes plantes médicinales. Ils ont rapporté que l'extrait issu de *Curcuma longa L.* présente un pouvoir réducteur avec une concentration effectrice à 50 % de l'ordre de $2,043 \pm 0,189$ mg/ml. Dans une autre étude menée sur la capacité réductrice du l'extrait éthanolique issu de Curcuma la valeur de la CE₅₀ est de $5,33 \pm 0,60$ µmol/ml (**Račková et al., 2009**). Celle-ci est largement supérieure à celle obtenue dans notre étude. Aussi **Surveswaran** et ses associés ont étudié le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de plusieurs plantes d'origine Indienne. D'après leurs résultats le Curcuma présente une forte capacité réductrice avec une CE₅₀ de l'ordre de $3,76$ µmol/ml, ce qui révèle une activité antioxydante supérieure à celle obtenue avec nos extraits (**Surveswaran et al., 2007**).

Parallèlement, les résultats du test du piégeage du radical libre DPPH[•] évoqués par notre étude indique que l'extrait éthanolique présente l'activité antioxydante la plus importante, avec une CI₅₀ de l'ordre de $0,48 \pm 0,032$ mg/ml, par rapport aux autres extraits ($0,64 \pm 0,21$ mg/ml ; et $2,48 \pm 0,06$ mg/ml), ceci va de pair avec les résultats enregistrés par le test FRAP.

Aussi, les résultats du pouvoir de piéger le radical DPPH[•] de nos extraits sont largement inférieurs à ceux rapportés par **Srividya et al. (2009)**, ces derniers ont réalisé des études sur le pouvoir inhibiteur de l'extrait éthanolique issu de trois espèces différentes de Curcuma contre le radical DPPH[•]. Ils rapportent que l'espèce *Curcuma longa L.* possède l'activité antioxydante la plus élevée par rapport aux deux autres espèces avec une valeur de CI₅₀ de $37,45 \pm 2,5$ µg/ml, ce pouvoir est très puissant s'il est comparé à celui de notre extrait éthanolique.

Les résultats de **Srvidya et al. (2009)** confirment ceux obtenus par **Panpatil et al. (2013)**. Celui-ci démontre dans son expérimentation que 91% du radical libre DPPH[•] était réduit par l'extrait éthanolique de Curcuma pour une concentration de 183,38 µg/ml, cette concentration est supérieure à celle obtenue avec notre extrait éthanolique.

Une étude comparative menée par **Devi et al. (2013)**, sur le pouvoir inhibiteur des extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux issus par la technique soxhlet, contre le radical DPPH[•] exhibe une inhibition de 86,91% du radical libre DPPH[•] par l'extrait éthanolique, 83,104% d'inhibition de ce radical par l'extrait méthanolique et 69,19% par l'extrait aqueux. Cette étude indique que les extraits éthanolique et méthanolique sont les piègeurs du radical DPPH[•] les plus puissants en comparaison avec l'extrait aqueux. Il va de même pour nos extraits. Aussi dans l'investigation réalisée par **Ramkissoon et al. (2013)**, sur l'évaluation du profil antioxydant de l'extrait éthanolique de différentes plantes médicinales, l'extrait issu de *Curcuma longa L.* présente une activité antioxydant, via le piégeage de radicale DPPH[•], puissante avec une concentration de $0,206 \pm 0,173$ mg/ml.

Cependant, **Denre (2014)**, démontre dans son étude sur l'extrait méthanolique issu de *Curcuma longa L.*, une faible capacité de piéger le DPPH[•] avec une concentration d'inhibition de $5,99 \pm 0,68$ mg/ml. Cette activité antioxydante est faible en comparaison à celle de notre extrait évaluée à 0,64 mg/ml.

Cette dissimilitude observée entre nos résultats et ceux de la littérature, trouve probablement son explication dans la différence du statut phénolique (la constitution et la nature des composés phénoliques) entre les extraits du curcuma, elle-même dépendante de la variabilité de certains paramètres physicochimiques arrêtés dans chaque expérimentation comme la méthode, le solvant et les conditions d'extraction. Aussi la variété de la matrice végétale, le patrimoine génétique, la période de la récolte, les conditions de séchage, les conditions climatiques et le stade de développement de la plante sont des facteurs qui jouent un rôle crucial dans l'influence de l'activité biologique de l'extrait en l'occurrence l'activité antioxydante (**Macheix et al., 2005 ; Paulucci et al., 2013**). Ceci peut réduire la fiabilité et rendre difficile la comparaison entre notre étude et les études antérieures.

Aussi, on peut supposer qu'il existe une relation entre l'activité observée, la structure et la quantité des composés phénoliques qui constituent l'extrait. En outre l'efficacité optimale d'un extrait n'est pas due à un seul constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Jayaprakasha et al., 2006**) Donc, une analyse qualitative est appréciable afin de compléter cette investigation et tirer des conclusions plus probantes quant à la relation structure-activité de nos extraits.

CONCLUSION

Curcuma longa L. également connu sous le nom de curcuma, est l'une des plantes médicinales les plus populaires, largement distribuée dans les régions tropicales et subtropicales du monde et amplement cultivé en Asie du Sud-Est. Les rhizomes de cette plante fournissent une poudre jaune et savoureuse, utilisés depuis longtemps dans la médecine chinoise et ayurvédique (Martins *et al.*, 2013).

Curcuma longa L. possède plusieurs vertus illustrées dans la pharmacopée traditionnelle, telle que l'action sur les troubles digestifs et hépatiques. Actuellement, ces propriétés sont attribuées aux curcuminoïdes, un groupe de composés phénoliques composés principalement de curcumine, de déméthoxycurcumine et de bisdéméthoxycurcumine.

L'objectif de cette présente étude s'intéresse aux composés phénoliques du *Curcuma longa L.* et à leur extraction, et ce en utilisant la méthode de macération (avec différents solvants), dans le but d'évaluer *in vitro* leur activité antioxydante. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique et méthanolique possèdent le rendement le plus élevé estimé à 12,36 et 11,21% en comparaison à l'extrait aqueux avec un rendement de 6,24%.

La teneur en polyphénols totaux pour les extraits de *Curcuma longa L.* a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-ciocalteau, les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique est le plus riche en polyphénols avec un taux de 103,16 mg EAG/g de MS, suivi de l'extrait méthanolique contenant 53,50 mg EAG/g de MS et en fin l'extrait aqueux avec une faible teneur évaluée à 6,23 mg EAG/g de MS. Tandis que le résultat du dosage des flavonoïdes montre que les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux de *Curcuma longa L.* possèdent des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de 82,63 mg EQ/ g de MS ; 31,90 mg EQ/ g de MS ; 5,74 mg EQ/g de MS respectivement.

Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante estimée par la méthode de FRAP, l'EEC a une capacité de réduire le fer avec une CE_{50} (1,46 mg/ml), différente à celle obtenu par l'EMC CE_{50} (2,76mg/ml) et par l'EAC avec une CE_{50} de 5,87 mg/ml. Toutefois, l'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique présentent un fort pouvoir réducteur de fer ($CE_{50} = 25,47\mu\text{g/ml}$; $CE_{50} = 32,17\mu\text{g/ml}$; $CE_{50} = 56,43\mu\text{g/ml}$ respectivement) par rapport aux extraits de *Curcuma longa L.* Parallèlement et pour l'évaluation de l'activité de piégeage du radical libre DPPH•, la même remarque demeure. La CI_{50} la plus forte est celle de l'EEC, obtenue à 0,48mg/ml, contre celle de l'EMC et de l'EAC avec des CI_{50} de l'ordre de 0,64mg/ml et de 2,48 mg/ml respective. Si bien que les antioxydants standards présentent

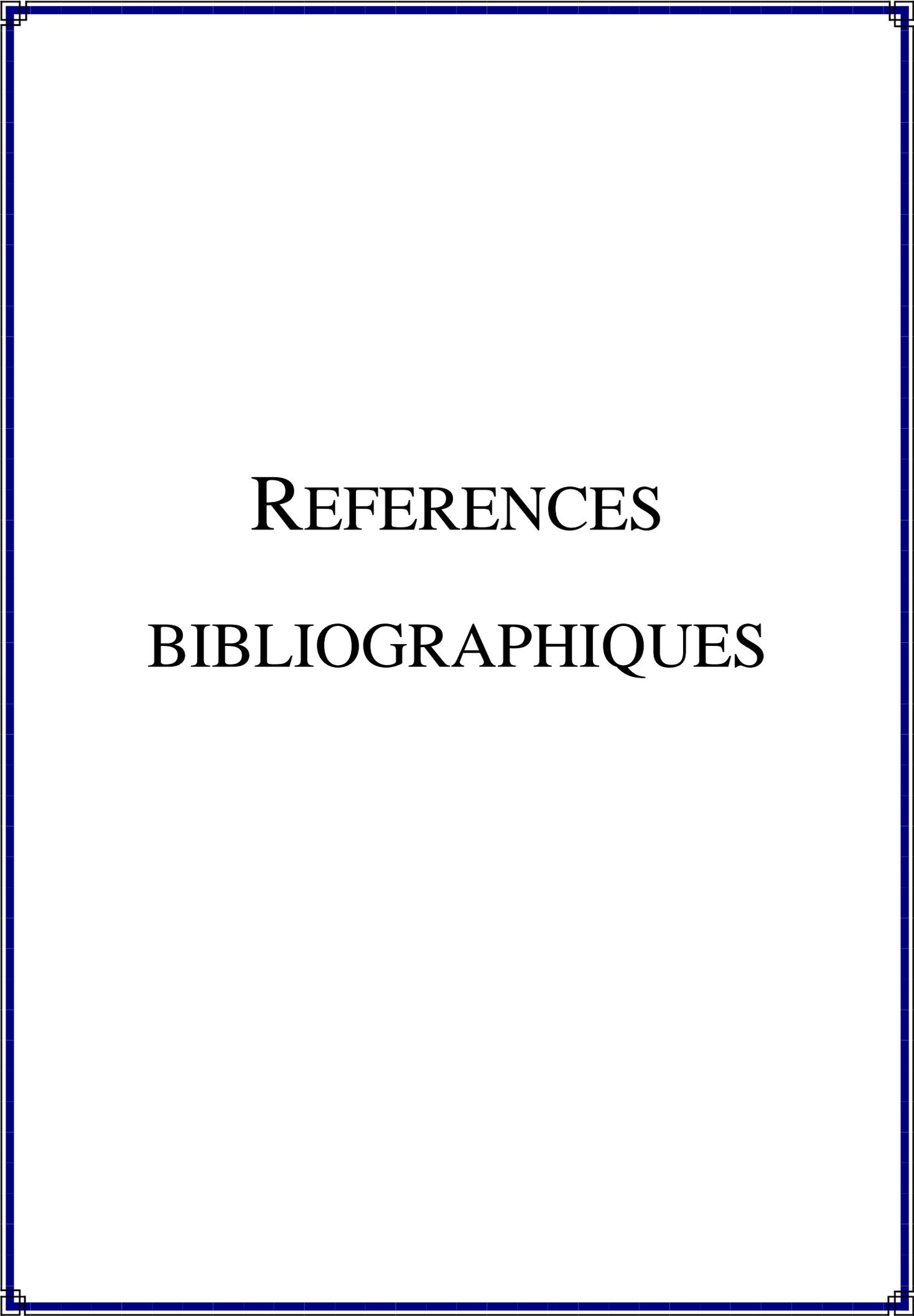
toujours une forte capacité de piégeage du radical DPPH[•] avec des CI₅₀ de l'ordre de µg/ml par rapport à nos extraits de *Curcuma longa L.*

Pour finir, le *Curcuma longa L.* est une source inépuisable de substances antioxydantes naturelles, ayant un large spectre de fonctions biologiques et devrait trouver une application autant que nouvelle formule pharmaceutique ou nutraceutique, indiquée aussi bien dans la prévention des pathologies causées par le stress oxydatif ainsi que dans les maladies caractérisées par un désordre inflammatoire. Ainsi, pour confirmer cette suggestion et dans la continuité de ce présent travail les perspectives suivantes peuvent être envisagées:

- ✓ Optimiser la méthode d'extraction en envisageant d'autres types de solvants pour la macération.

- ✓ Adopter d'autres méthodes d'extraction comme par exemple la méthode de soxhlet, extraction par sonicationetc.

- ✓ Faire des travaux supplémentaires pour identifier et isoler les composés bioactifs de Curcuma en utilisant des techniques plus fines (Chromatographie couplée à la spectrométrie de masse, HPLC et RMN...) et évaluer ses propriétés biologiques *in vivo*, telles que l'activation des voies de signalisation.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

Adida H., Benariba N., Bechiri A., Chekroun E., Djaziri R., (2016). Phytochemical study and evaluation of the antiradical activity of extracts of *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14, p207-212

Akram M., Mohiuddin E., Asif M., (2010). *Curcuma longa* and Curcumin. *Rom. J. Biol. – plant biol.*, vol 55, 2, p65–70

Andzi Barhé T., Feuya Tchouya G. R., (2016). Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa L.*, *Glycine max L. Merr.*, yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1), p1–8

Arora A., Sairam R. K., Srivastava G. C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current science*, 82(10), p1227-1235

Atanasova M., (2009). Revue de Génie Industriel Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits secs des feuilles des bouleaux argentés bulgares. *Revue de Génie Industriel*, 4, p21–25

B

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C., Pinkas M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46, p1086-1089

Bleu G. M., Traoré F., Coulibaly S., (2011). Effets pharmacodynamiques d'un extrait hydroalcoolique de *Curcuma longa Linné* (Zingiberaceae) sur le système cardiovasculaire, *Phytothérapie*, 9, p7–17

Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 181, p1199-1200

Boizot N., Charpentier J. P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier Technique de l'Inra, p79–82.

Bougandoura N., Bendimerad N., (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaminthasp. Nepeta (L.)Briq.* Nature and Technologie, 9, p14–19

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), p25-30

D

Denre M., (2014). The determination of vitamin C, total phenol and antioxidant activity of some commonly cooking spices crops used in West Bengal. International journal of plant physiology and biochemistry, 6(6), p66–70

Devi H. P., Mazumder P. B., Devi L. P., (2015). Antioxidant and antimutagenic activity of *Curcuma caesia Roxb.* rhizome extracts. Toxicology Reports, 2, p423–428

Dias F., Kimmelmeier C., Cristina C., Luciana C., Augusto C., Janeiro V., Machinski M., (2013). Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa L.* and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus Link.* Food Chemistry, 136(2), p789–793

E

Efraigne J. O. D., Incemail, J. P. (2009). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Rev Med Liège, 63 (1), p 10–19

Elvira A., Antonio C., Maribel L. (2015). Genotypic Characterization of Turmeric (*Curcuma longa L.*) Accessions from Mindanao, Philippines Using RAPD Markers, Procedia Chemistry, 14, p157 – 163

F

Fan-Cheng M., Yan-Qing Z., Dai R., Ruibing W., Chunming W., Li-Gen L., Xiao-Qi Z., Wen-Cai Y., Qing-Wen Z., (2018). Turmeric: A Review of its chemical composition, quality control, bioactivity, and pharmaceutical application. *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*, 7, p 299-350

Felhi S., Daoud A., Hajlaoui H., Mnafgui K., Gharsallah N., Kadri A., (2017). Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology*, 37(3), p.483-492

G

Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, p1220-1234

Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vladic J., Sudji, J., (2012). Effects of Different Extraction Methods and Conditions on the Phenolic Composition of Mate Tea Extracts. *Molecules*, 17, p2518-2528

H

Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M., (2007) The effects of solvents and extraction method on the phenolics contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera L.* and *Juniperus phoenicea L.* fruit extracts. *Food Chemistry*, 105, p1126–1134.

I

Indrianingsih A. W., Tachibana S., Itoh K., (2015). In Vitro Evaluation of Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Assay of Several Tropical and Subtropical Plants. *Procedia Environmental Sciences*, 28, p639–648

J

Jayaprakasha G. K., Rao L. J., Sakariah K. K. (2006). Food Chemistry Antioxidant activities of curcumin , demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin, 98, p720–724

Joshi P., Jain S., Sharma V., (2009). Turmeric (*Curcuma longa L.*) a natural source of edible yellow color. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2402–2406

K

Kapakos G., Youreva V., Srivastava A. K., (2012). Cardiovascular protection by Curcumin:Molecular aspects. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 49(5), p306–315

Kaur C., Kapoor H. C., (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*, 37, p153–161

Koechlin-ramonatxo C., (2006). oxidative stress and antioxidant supplementation , or an other way for nutrition in respiratory diseases, *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, p165–177

L

Labban L., (2014). Medicinal and pharmacological properties of Turmeric (*Curcuma longa*).*International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research*, 5(1), p17–23

Li S., Yuan W., Deng, G., Wang P., Yang P., Aggarwal B. B., (2011). Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa L.*), p28–54

Lumbu S., Kahumba B., Kahambwe T., Mbayo T., Kalonda M., Mwamba M., Penge O., (2005). Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs. *Annales de Pharmacie*, 3 (1), p 75-86

M

Macheix J-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique Edition : presses polytechniques et universitaires romandes.

Maizura M., Amina A., Wan Aida W. M., (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Sciences-New York*, 531, p 526–531

Martins R. M., Pereira S. V., Siqueira S., Salomão W. F., Alexandre L., Freitas P., (2013). Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract. *FRIN*, 50(2), p 657–663

Mohd Nor F., Mohamed S., Idris N. A., Ismail R., (2009). Antioxidative properties of *curcuma longa* extract in accelerated oxidation and deep frying studies. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(2), p141–147

Moure A., Cruz J. M., Franco D., DomõÂnguez M., Sineiro J., DomõÂnguez H., ParajoÂ C., (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, vol. 72, no. 2, p. 145– 171

Morand C. M. D., (2014). Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire, *Innovations Agronomiques*, 41(5), p71-87

Morena M., Canaud J. C. B., (2002). Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours, *Néphrologie*, 23, p201-208

N

Nawaz A., Khan G. M., Hussain A., Ahmad A., Khan A., (2011). Curcumin a natural product of biological importance. *Journal of Research*, 27(1), p7-14

Nguyen T. T. H., Si J., Kang C., Chung B., Chung D., Kim D., (2017). Facile preparation of water soluble curcuminoids extracted from turmeric (*Curcuma longa L.*) powder by using steviolglucosides. *Food Chemistry*, 214, p366–373

O

Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, p307–315

P

Panpatil V. V., Tattari S., Kota N., Nimgulkar C., Polasa K., (2013). *In vitro* evaluation on antioxidant and antimicrobial activity of spice extracts of ginger , turmeric and garlic, 2(3), p143–148

Paulucci V. P., Couto R. O., Teixeira C. C. C., Freitas L. A. P., (2013). Optimization of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(1), p 94–100

R

Račková L., Košťálová D., Bezáková L., Fialová S., Bauerová K., Tóth J., Obložinský M., (2009). Comparative study of two natural antioxidants, curcumin and *Curcuma longa* extract. *Journal of Food and Nutrition Research*, 48(3), p148–152

Ramkissoon J. S., Mahomoodally M. F., Ahmed N., Subratty A. H., (2013). Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(7), p561–569

S

Sahne F., Mohammadi M., Najafpour G. D., Moghadamnia A. A., (2016). Extraction of bioactive compound curcumin from turmeric (*Curcuma longa L.*) via different routes: a comparative study. *J. Biotechnol.*, 13(3), p 173–180

Sahu R., Saxena, J., (2013). Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non-Conventional Species of Curcuma. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), p176–179

Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A., Saura-Calixto F., (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (2), p 270-276

Sarni-Manchado P., Cheynier V., (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier/TEC ET DOC. Paris

Sayre L. M., Perry G., Smith M. A., Sayre L. M., Perry G., Smith M. A., (2008). Oxidative Stress and Neurotoxicity, *Chem. Res. Toxicol.*, 21, p172–188

Singleton V., Orthofer R., Lamuela- Raventos R., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteau reagent. *Methode of enzymologie*, 299, p152-178

Srividya A.R., Yadev A. K., Dhanbal S. P., (2009). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rhizome of *Curcuma aromatica* And *Curcuma Zeodaria* ,Leaves of *Abutilon Indicum*, 1(1), p14–19

Steffi P. F., Srinivasan M., (2014). Curcumin, a potent anticarcinogenic polyphenol. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(2), p1–8

Surveswaran S., Cai Y. Z., Corke H., Sun, M., (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938–953

T

Tanvir E. M., Hossen M. S., Hossain M. F., Afroz R., Gan S. H., Khalil M. I., Karim N. (2017). Antioxidant Properties of Popular Turmeric (*Curcuma longa*) Varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*, p1–8

Tokusoglu O., Simset A., Parvizi M., Eymen D., (2015). Turmeric Curcuminoid polyphenolics as antioxidant and anticarcinogenic agents. *Natural Science and Discovery*, 1(3), p 56–61

U

Ungphaiboon S., Supavita T., Singchangchai P., Sungkarak S., Rattanasuwan P., Itharat A., (2005). Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients. *Songklanakarin Journal of Sciences and Technology*, 27, p 569-578

V

Venkatachalam U., Muthukrishnan S., (2012). Free radical scavenging activity of ethanolic extract of *Desmodium gangeticum*. *Journal of Acute Medicine*, 2(2), p 36–42

Y

Yan S. W., Asmah R., (2010). Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. *International Food Research Journal*, 17(2),p 417–423

Young I. S., Woodside J. V., (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54, p176–186

ANNEXES

Annexe II. Description, classification et composition de *Curcuma longa* L.

1. Description botanique

Curcuma longa L. est une plante herbacée de 0,6 à 1 mètre de hauteur, vivace par des rhizomes, tuberculeux, elliptiques ou cylindriques. Ces rhizomes présentent des cicatrices circulaires qui correspondent à l'endroit d'insertion des tiges feuillées desséchées (Bleu *et al.*, 2015). Il possède de grandes feuilles pointues engainantes à limbes elliptiques de couleur verte pouvant mesurer jusqu'à 45 centimètres de long et 18 centimètres de large. A l'intérieur de ces longues feuilles s'élève une tige surmontée d'un plumet de fleurs jaunes qui mesure de 4 à 5 centimètres.



Règne	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Liliopsida
Sous classe	: Zingiberidae
Ordre	: Zingiberales
Famille	: Zingiberaceae
Genre	: <i>Curcuma</i>
Espèce	: <i>Curcuma longa</i> Linné

Figure N°02: Classification phylogénétique du *Curcuma longa* L. (Tokusoglu *et al.*, 2015)

1. Composition chimique

Tableau N°01: Valeurs énergétiques et nutritionnelles de *Curcuma longa* L. (Fan-Cheng *et al.*, 2018)

Energie	354 Kcal	Minéraux		Vitamines	
Eau	11.36 g	Magnésium	193 mg	Vitamine K	13.4 mg
Protéines	7.8 g	Calcium	183 mg	Vitamine B3	5.14 mg
Glucides	64.9 g	Phosphore	268 mg	Vitamine B6	1.80 mg
Fibres	21.10 g	Fer	41.42 mg	Vitamine B9	39 mg
Acides Gras		Manganèse	7.8 mg	Vitamine E	3.1 mg
Omega 9	3.12 g	Potassium	2525 mg	L'acide ascorbique	26 mg
Omega 3	0.48 g	Cuivre	603 mg	L'huile essentielle	
Omega 6	1.69 g	Curcumine	3888 mg	Sesquiterpènes, zingiberène	5 %

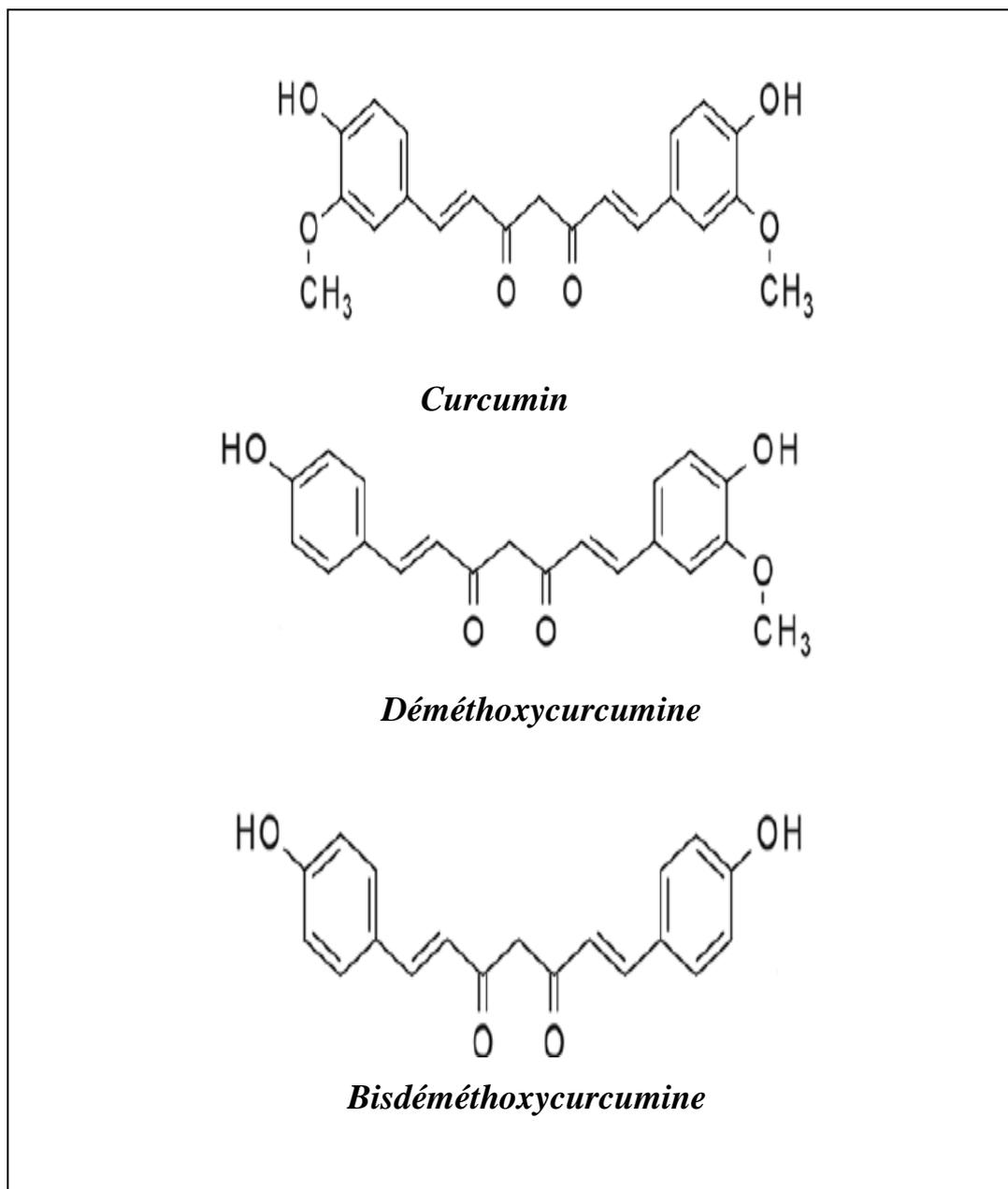


Figure N°03 : Structure chimique de curcuminoides (Sahne et al., 2016)

Annexe III. Les polyphénols

Tableau N°02: Principales classes des composés phénoliques (Sarni-Manchado et Cheynier 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C ₆	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques, Phenylpropenes	Acide caféique, acide férulique	Pomme de terre, Pomme, citrus
	Coumarines	Myristicin, eugénol	
	Isocoumarines	Scopolétine	
	Chromones	Myristicine, eugénol	
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones polyphénols	Eugenine	Noix
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Juglone, plumbagine	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Mangiférine	
	Anthraquinones	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Anthraquinones	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Quercétine, cyanidine, daidzéine	Fruit, légumes, fleurs, soja, pois
	Neolignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Eusiderine	
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Amentoflavone	
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki

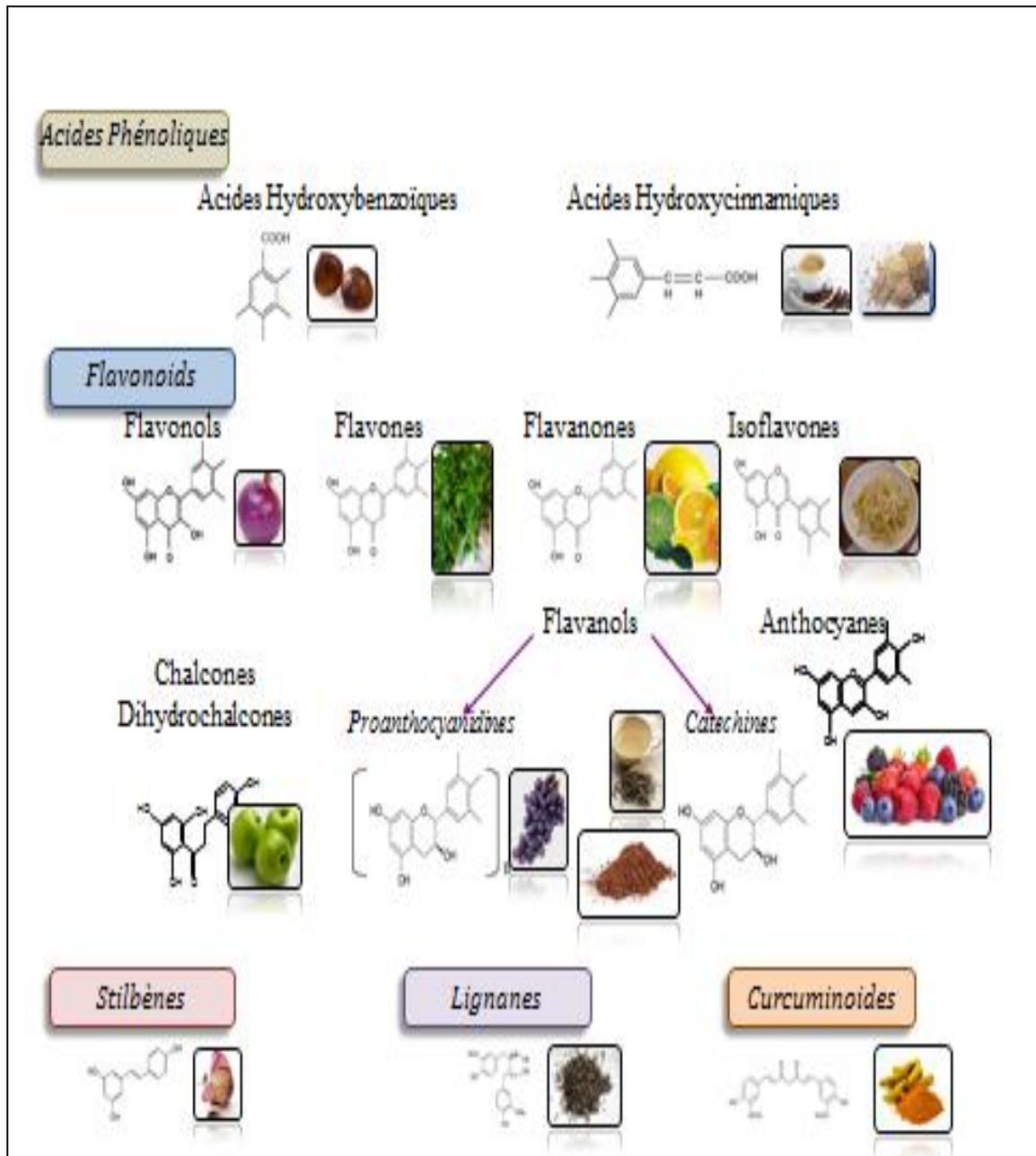


Figure N°04: Différentes familles de polyphénols et leurs principales sources alimentaire
(Morand et al. , 2014)

Annexe IV. Résultats numériques

Tableau N°03 : Rendement d'extraction de *Curcuma longa* L. par technique de macération

Extraits	Rendement massique% (m /m)
EEC	12,36% ± 0,0025
EMC	11,21% ± 0,005
EAC	6,24% ± 0,003

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de quatre essais indépendants

Tableau N°04: Teneur en composés phénoliques et de flavonoïdes de *Curcuma longa* L.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /g MS)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g MS)
EEC	103,16 ± 2,77	82,63 ± 0,49
EMC	53,50 ± 4,33	31,90 ± 1,32
EAC	6,23 ± 1,36	5,74 ± 0,16

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de trois essais indépendants

Tableau N°05: Activité antioxydante des extraits de *Curcuma longa* L.

Extraits	CE ₅₀ (mg/ml)	CI ₅₀ (mg/ml)
EEC	1,46 ± 0,10	0,48 ± 0,03
EMC	2,76 ± 0,08	0,64 ± 0,20
EAC	5,87 ± 0,20	2,48 ± 0,06

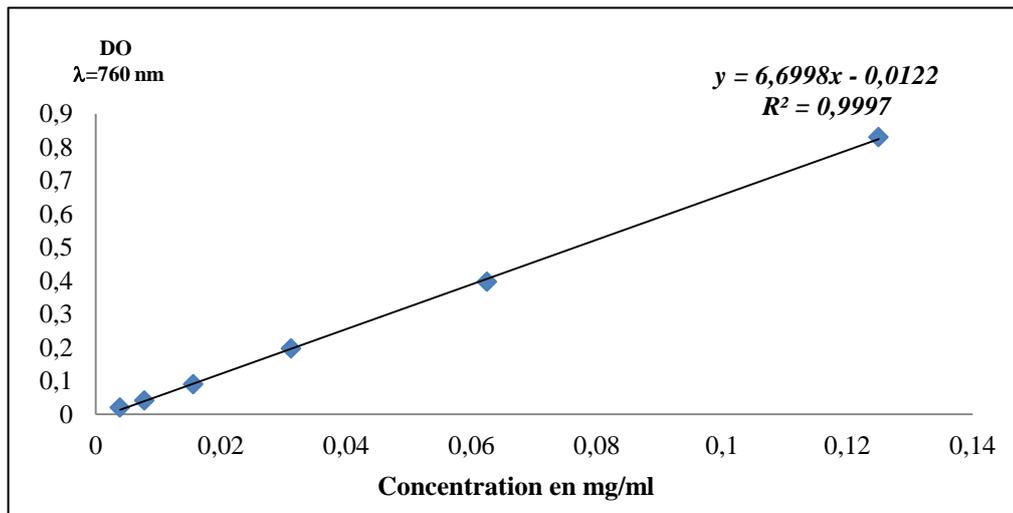
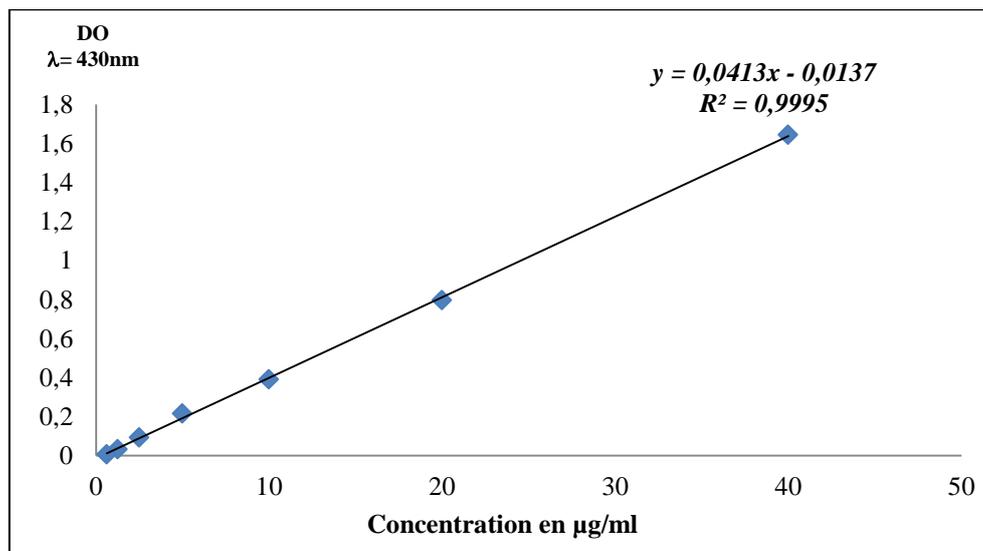
Tableau N°06 : Activité antioxydante des standards

Standard	CE ₅₀ (µg/ml)	CI ₅₀ (µg/ml)
Acide gallique	25,47 ± 0,06	1,34 ± 0,27
Quercétine	32,17 ± 2,87	7,62 ± 3,19
Vit C	56,43 ± 2,01	4,33 ± 0,48

Chaque valeur représente la moyenne ± ES de trois essais pour (FRAP) et deux essais pour (DPPH') indépendants

CE₅₀ = 0.5 +(-) b /a ; CI₅₀ = 0.68767472 / valeur absolu de l'exponentielle

$$\% = \frac{DO T^+ - DO \text{ de l'échantillon}}{DO T^+}$$

Annexe V. Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques*Figure N°05: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.**Figure N°06: Courbe d'étalonnage de la quercétine.*

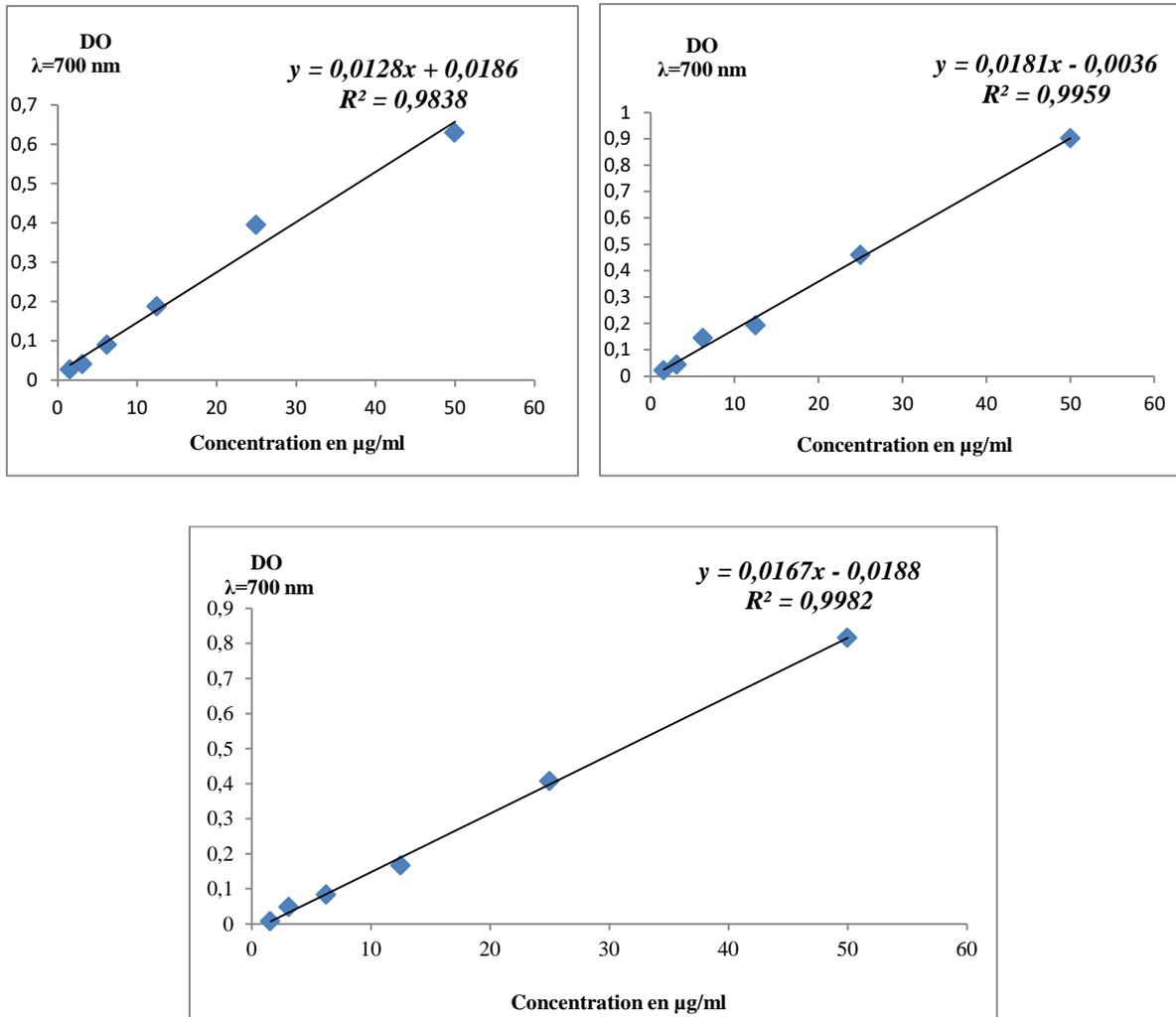
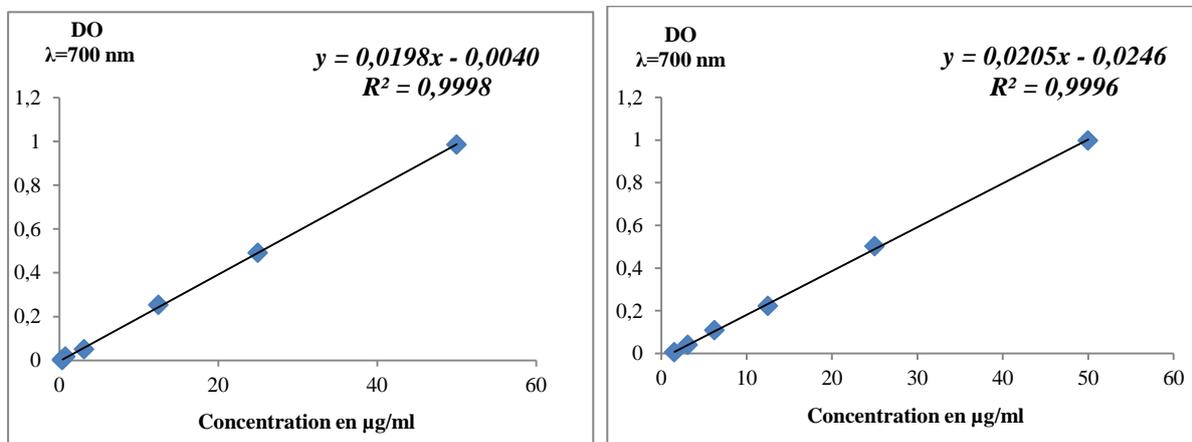
*Annexe VI. Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydante**1. Courbes de régression linéaire utilisées dans l'évaluation de la CE₅₀ par la méthode**FRAP*

Figure N°07: Courbes de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE₅₀ de quercétine.



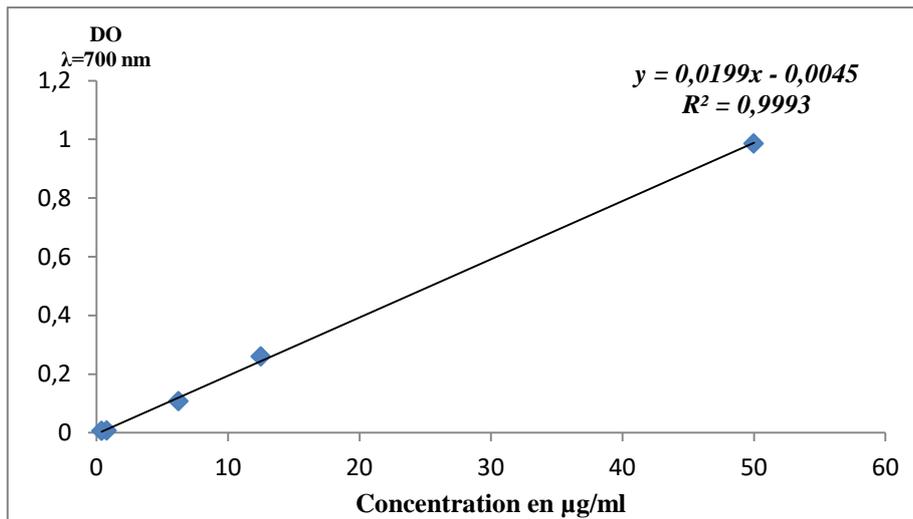


Figure N°08: courbes de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE_{50} de l'acide gallique.

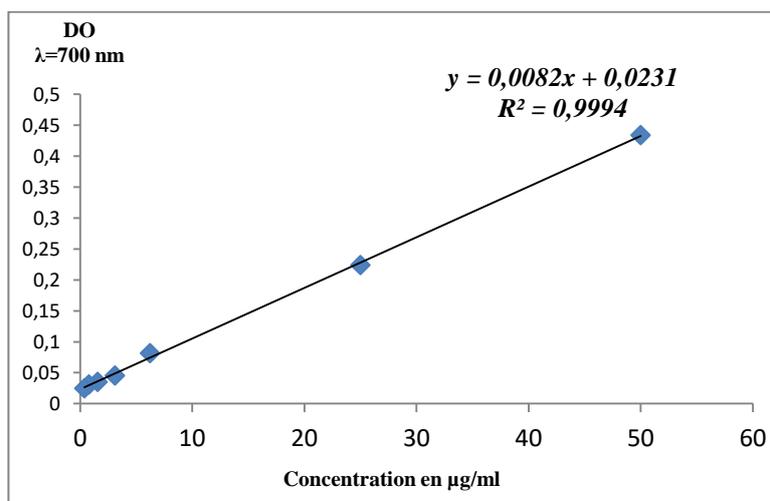
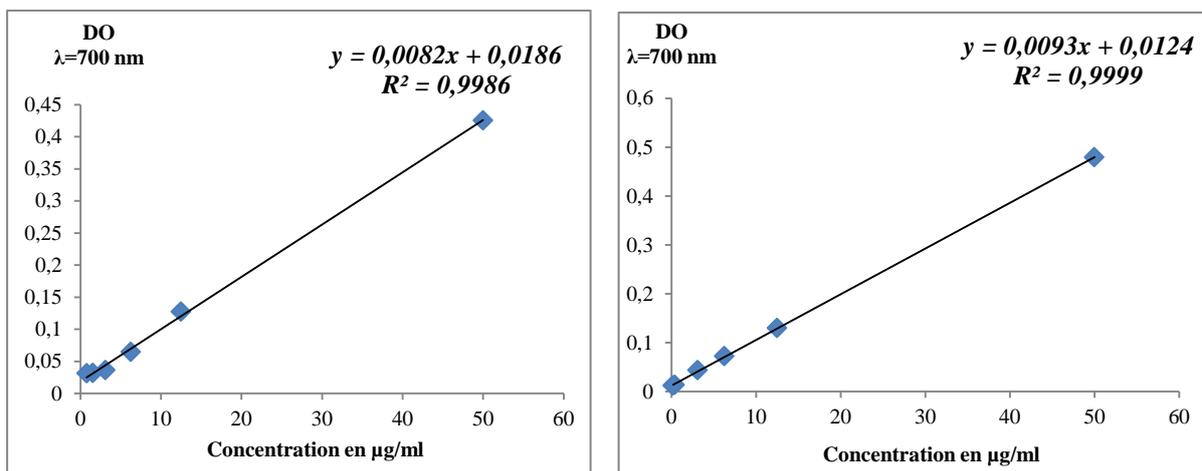


Figure N°09: Courbes de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE_{50} de la Vit C.

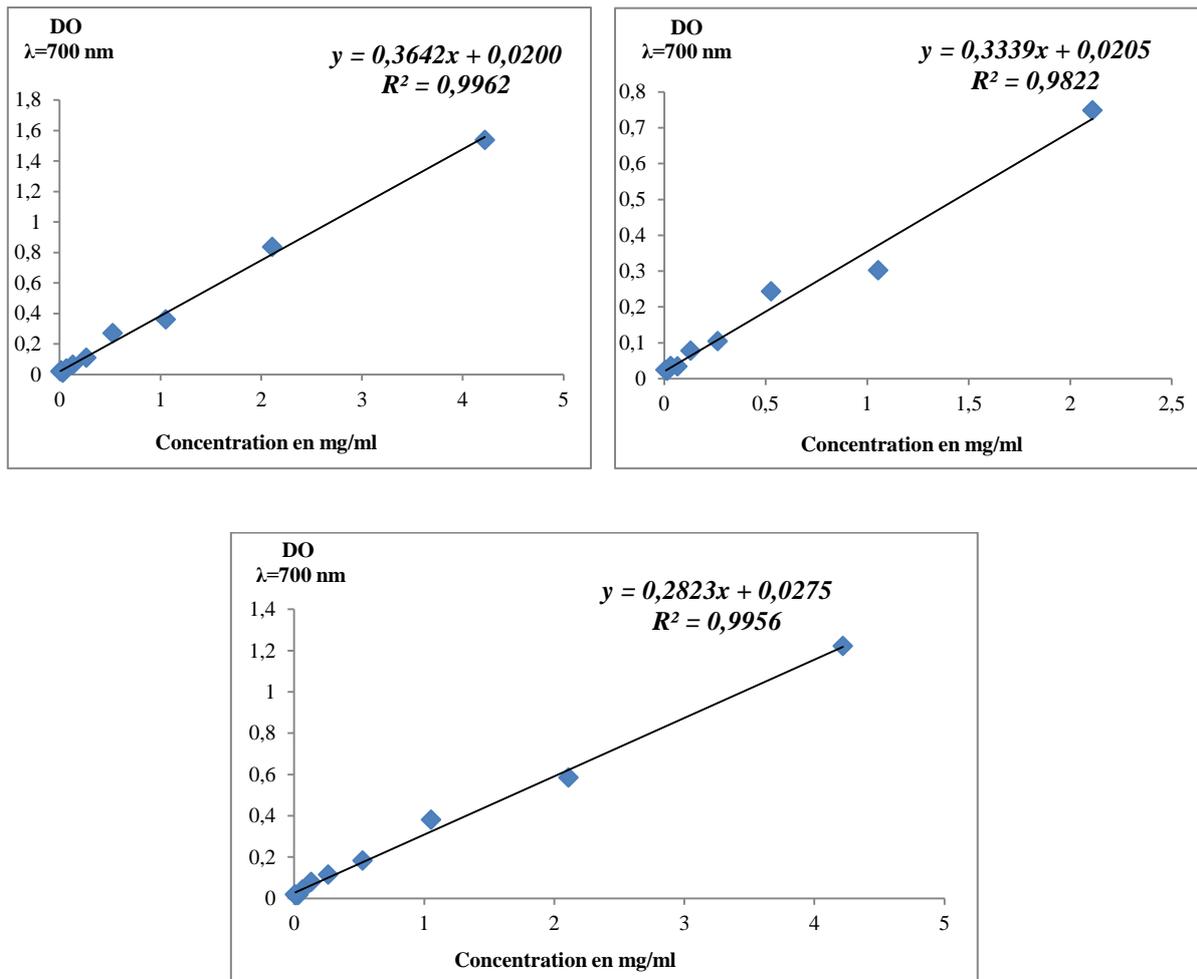
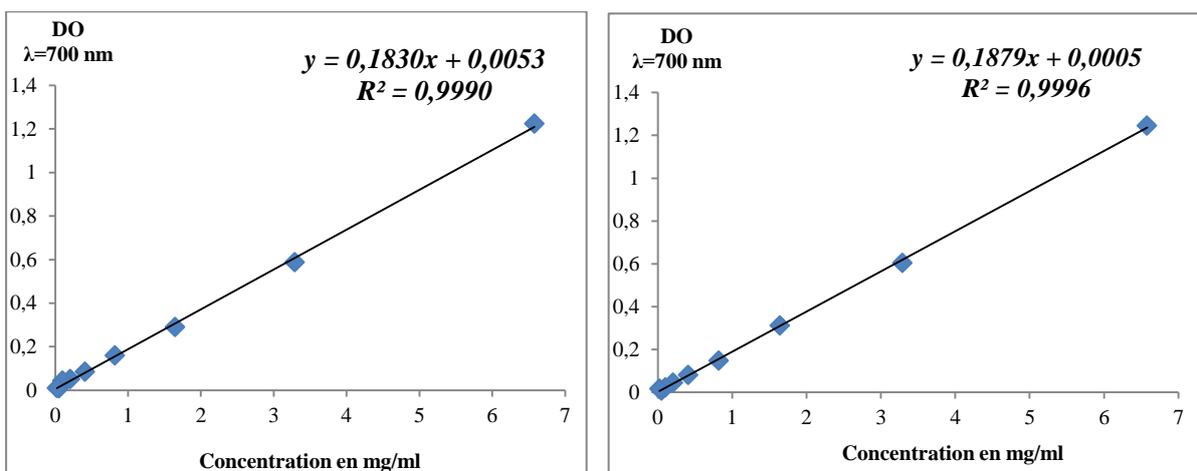


Figure N°10: Courbes de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE₅₀ de l'EEC.



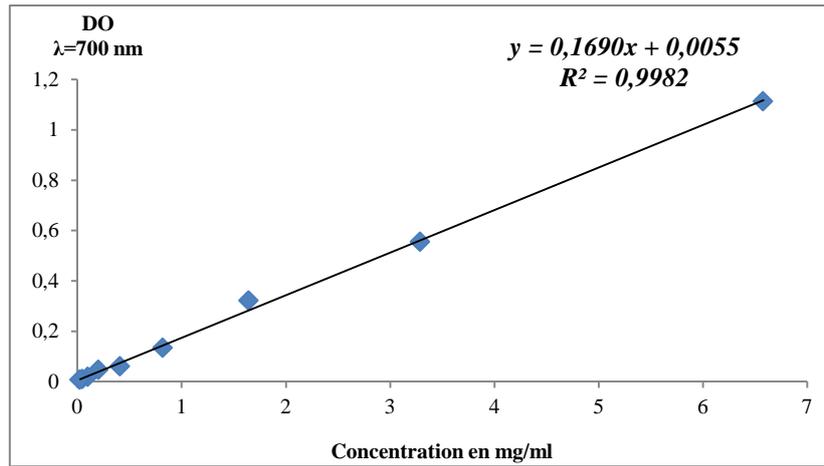


Figure N°11: Courbes de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE₅₀ de l'EMC.

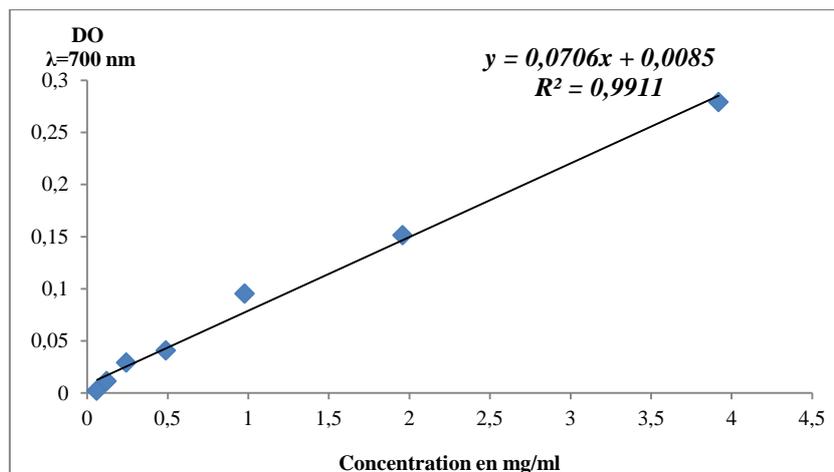
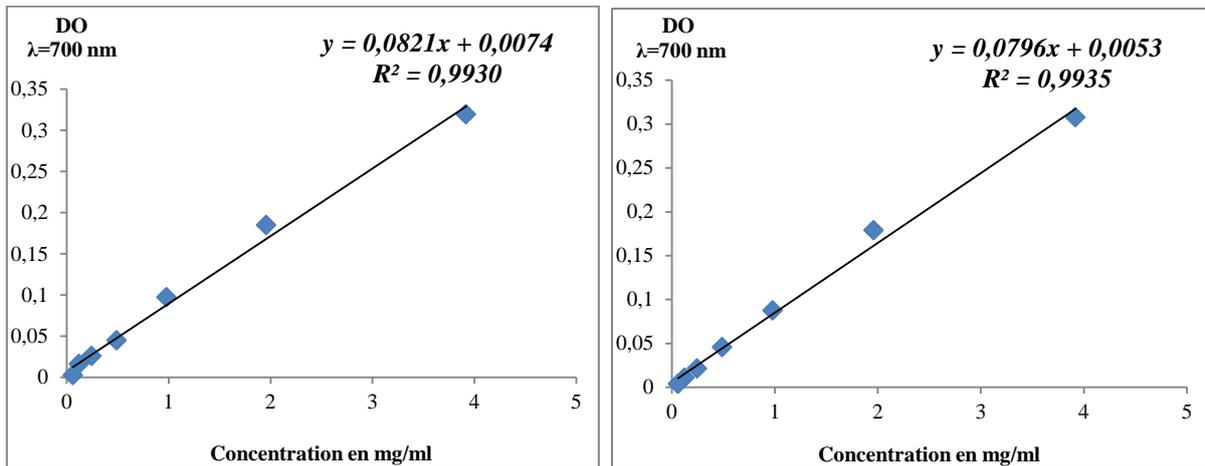


Figure N°12: Courbes de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE₅₀ de l'EAC.

2. Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} par le Test de DPPH•

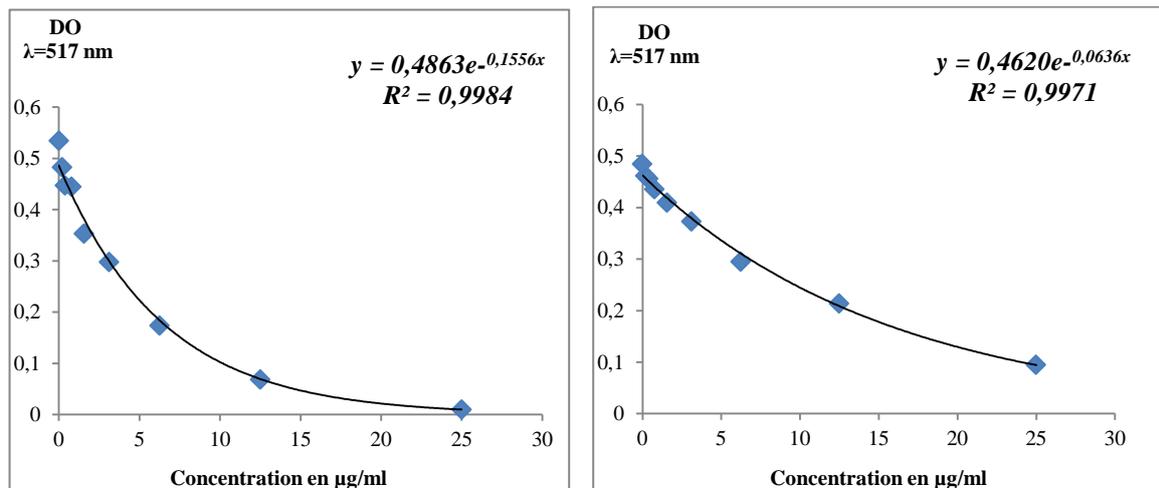


Figure N°13: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de quercétine.

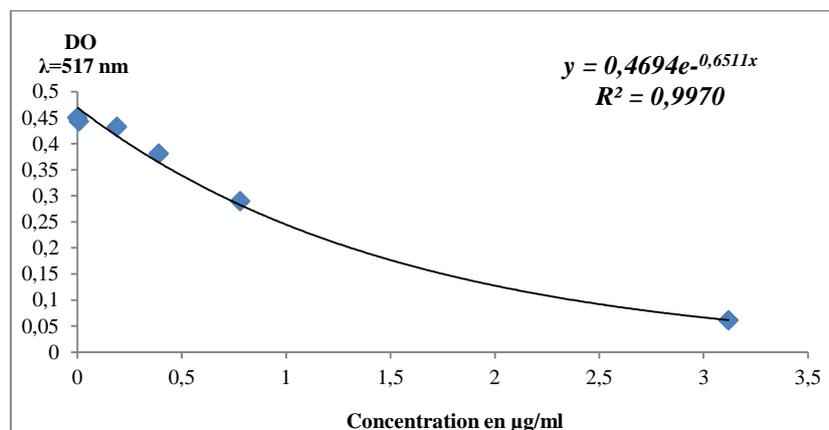
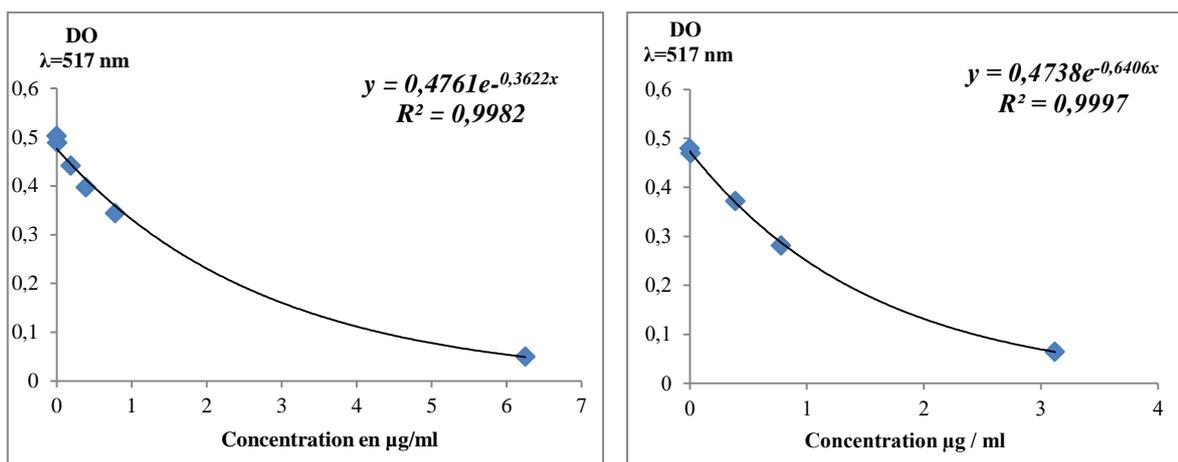


Figure N°14: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de l'acide gallique.

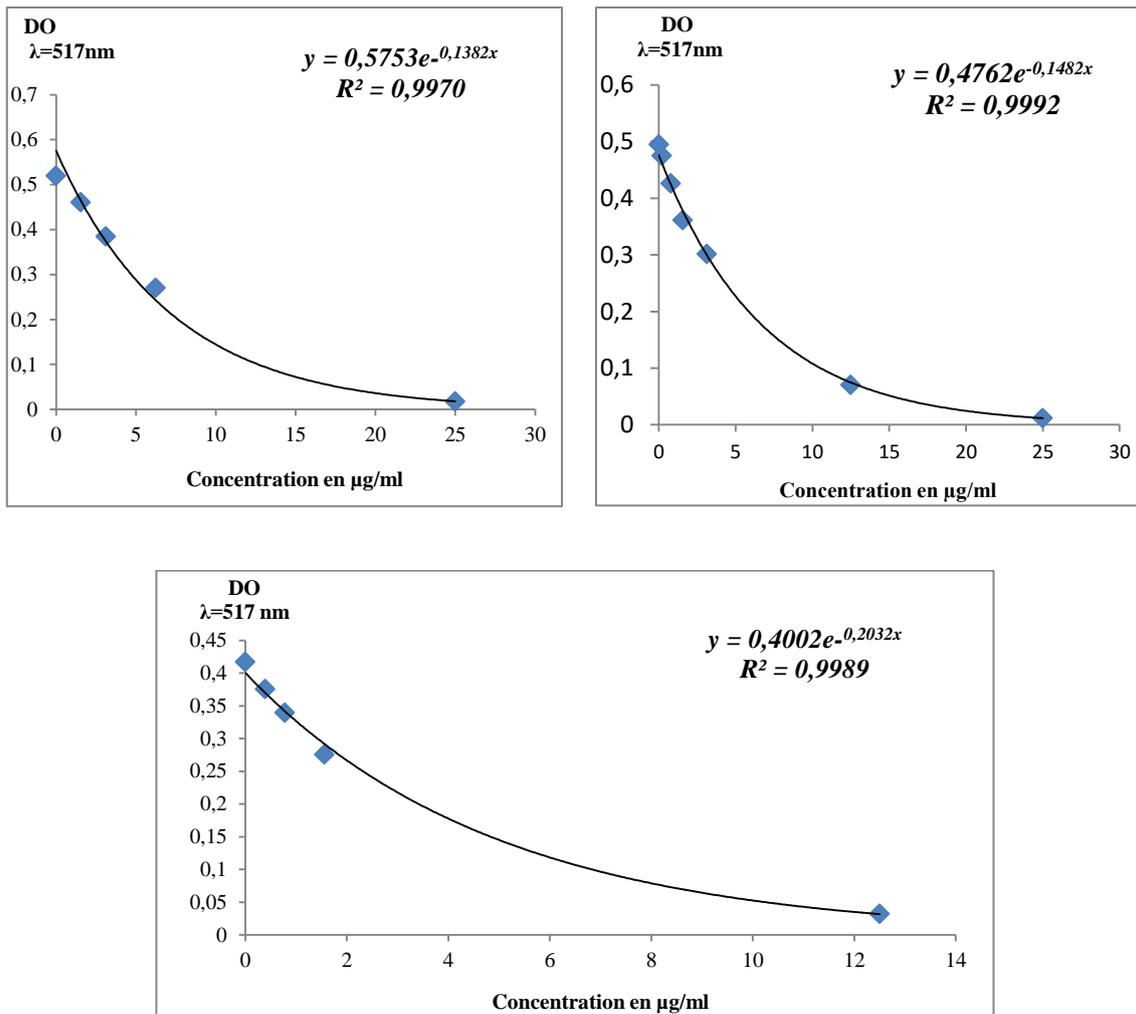


Figure N°15: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de la Vit C.

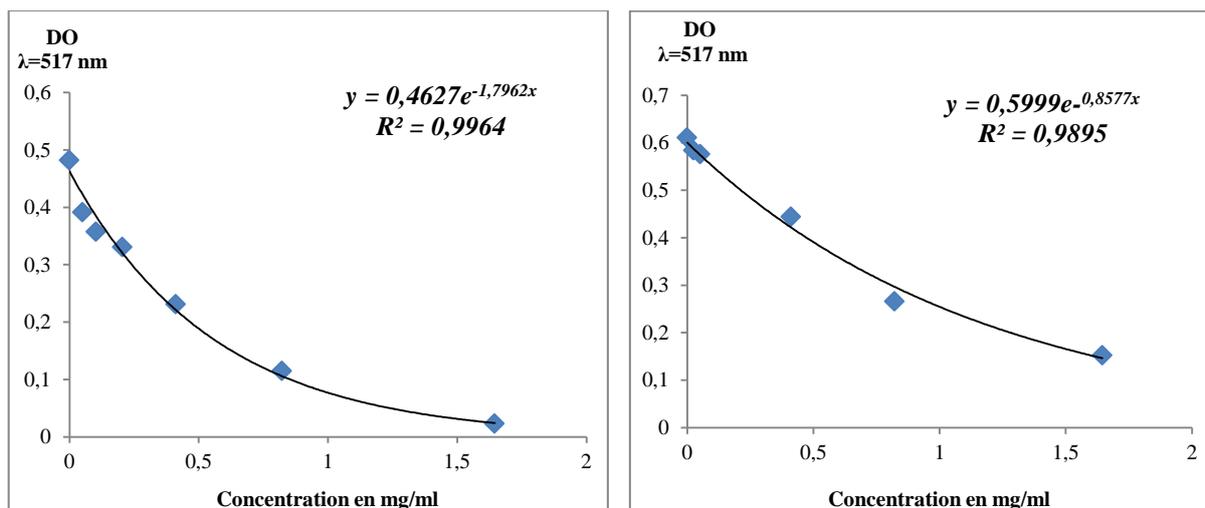


Figure N°16: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de l'EMC.

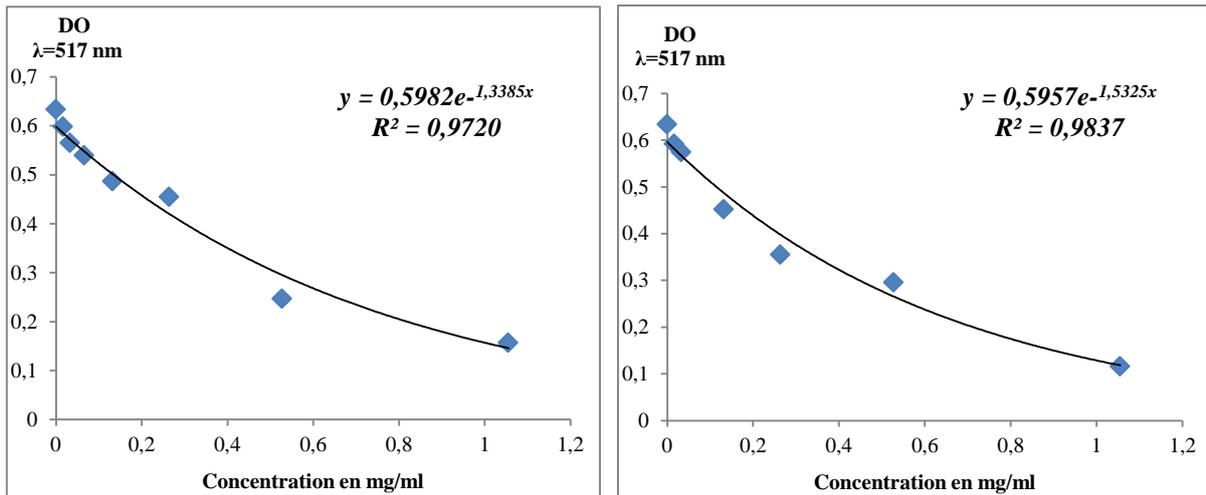


Figure N°17: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de l'EEC.

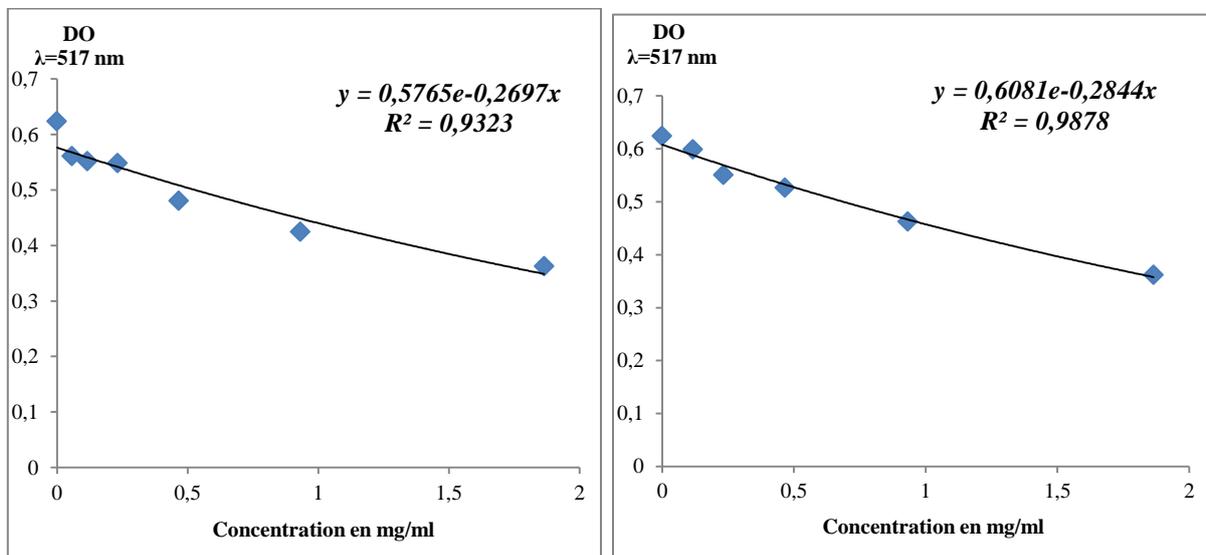


Figure N°18: Courbes hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI_{50} de l'EAC.

RESUME

Curcuma longa L. appartient à la famille des Zingiberaceae est l'un des herbes médicinales les plus populaires, utilisé et reconnue pour ses vertus thérapeutiques depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. L'objectif de cette présente étude est d'extraire les composés phénoliques par la méthode de macération en utilisant trois solvants différents et ce dans le but d'évaluer leur pouvoir antioxydant. Le rendement des extraits bruts (Extrait éthanolique, extrait méthanolique et extrait aqueux) est de l'ordre de: 12,36%, 11,21% et 6,24%. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par la méthode colorimétrique a témoigné la richesse des extraits en ces composés. Les résultats montrent que l'extrait éthanolique est caractérisé par la teneur la plus élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes avec un taux de $103,16 \pm 2.77$ mg EAG/g MS et de 82.63 ± 0.49 mg EQ/g MS, respective. L'évaluation du pouvoir antioxydant par deux techniques différentes à savoir la réduction du fer : FRAP et le piégeage du radical libre DPPH^{*}, indiquent aussi que l'extrait éthanolique possède une bonne efficacité antioxydante avec une CE₅₀ de $1,46 \pm 0,10$ mg/ml et une CI₅₀ de $0,48 \pm 0,032$ mg/ml, ces dernières sont supérieures a celles enregistrées par les deux autres extraits, méthanolique (une CE₅₀ de $2,76 \pm 0,08$ et une CI₅₀ de $0,64 \pm 0,20$ mg/ml) et aqueux (une CE₅₀ de $5,87 \pm 0,20$ et une CI₅₀ de $2,48 \pm 0,06$ mg/ml).

Mots clés : *Curcuma longa L.*, Composés phénoliques, Flavonoïdes, Activité antioxydante.

المخلص

كركم لونغا ينتمي إلى عائلة الزنجبيليات وهو يعتبر من النباتات الطبية الشعبية الأكثر استعمالاً منذ العصور القديمة وذلك بفضل خصائصه العلاجية المتعددة. الهدف من هذه الدراسة هو استخراج المركبات الفينولية بطريقة النقع باستعمال ثلاثة مذيبات مختلفة وذلك من أجل تقييم نشاطها المضاد للأكسدة. بينت النتائج أن مردود المستخلصات الخامة (المستخلص الإيثانولي، المستخلص الميثانولي و المستخلص المائي) مرتبة كالتالي 12.36% ، 11.21% و 6.24% نتائج القياس الكمي الإجمالي للمركبات الفينولية و الفلافونيدات بالطريقة اللونية شهدت على ثراء المستخلصات بهذه المركبات. تظهر النتائج أن المستخلص الإيثانولي يتميز بأعلى نسبة من المركبات الفينولية و الفلافونيدات بمستوى 103.16 ± 2.77 ملغ مكافئ حمض الغاليك / و 82.63 ± 0.49 ملغ مكافئ كارسيتين على التوالي. تقييم قوة مضادات الأكسدة باستخدام تقنيتين مختلفتين هما : القدرة الأرجاعية FRAP و قدرة محاصرة الجذر الحر DPPH^{*} يشير أيضاً إلى أن المستخلص الإيثانولي له فعالية مضادة للأكسدة عالية (مع تركيز 1.46 ± 0.10 مل / مل ، 0.48 ± 0.032 مل / مل على التوالي، أعلى من تلك المسجلة من مستخلصين آخرين المستخلص الميثانولي بتركيز 0.64 ± 0.20 مل / مل و 2.76 ± 0.08 مل / مل و المستخلص المائي بتركيز 5.87 ± 0.20 مل / مل و 2.48 ± 0.06 مل / مل.

الكلمات المفتاحية: الكركم لونغا، المركبات الفينولية، الفلافونيدات ، النشاط الضد الأكسدة.