

SCREENING PHYTOCHIMIQUE

Le screening phytochimique est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal par des réactions physico chimiques.

J.B. Harborne (1989). Methods in Plant Biochemistry in Plant Phenolics, Academic Press, London, UK.

Test des alcaloïdes

A 2g de poudre sèche de la matière végétale est additionné 40ml de HCl dilué à 1%. L'ensemble est laissé en macération pendant une demi-heure puis filtré. Dans un tube à essai, introduire 5ml de filtrat et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

Test des flavonoïdes

2g de poudre pulvérisée de la matière végétale sont macérés dans 40ml de HCl dilué à 1% pendant 24 heures.

Après avoir filtré le mélange, on prend 2ml du filtrat et on le rend basique par l'ajout de NH_4OH . L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieur du tube indique la présence des flavonoïdes.

Test des tanins

2g de poudre de matière végétale sont macérées pendant 2 heures dans une solution hydro-alcoolique de C_2H_5OH à 1% ; puis le mélange est filtré sur papier filtre.

Tester le filtrat avec quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 2% (2g $FeCl_3$ dans 100ml C_2H_5OH). L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tanins.

Test des saponisides

Dans une fiole renfermant 80 ml d'eau bouillante on introduit 2g de matière végétale pulvérisée, on maintient l'ébullition pendant 30minutes, puis on filtre le mélange et on laisse refroidir.

Quelque millilitre du filtrat sont mises dans un tube à essai puis on agite dans le sens de la longueur du tube. L'apparition d'une mousse qui dure quelques instants indique la présence des saponines.

Test des cardénolides

Macérer 2g de poudre de matière végétale dans 40ml de H_2O pendant 2 heures. Filtrer et prélever 5ml du filtrat, l'extraire avec un mélange de 5ml de $CHCl_3$ et de C_2H_5OH . Evaporer la phase organique et dissoudre le précipité dans 1,5ml de CH_3COOH . Ajouter quelques gouttes de la solution de $FeCl_3$ 2% suivi de 0,5ml de H_2SO_4 concentré. Sur les parois du tube à essai, l'apparition d'une couleur vert-bleu indique la présence des cardénolides.

Test des stérols et terpènes

Prendre 2g de poudre pulvérisée de la matière végétale, la macérer dans 30 ml d'éther de pétrole ou dans le toluène, pendant une heure.

Filtrer et évaporer le résidu obtenu et le dissoudre dans 0,5ml d'acide acétique et 0,5ml de CHCl_3 .

Les 2 phases sont transférées dans un tube à essai puis ajouter 1ml de H_2SO_4 concentré. Dans la zone de contact entre les 2 liquides un cercle violet ou marron est formé puis il devient gris, ce qui indique la présence des stérols et terpènes.

Dosage des polyphénols totaux (PPT)

L'estimation des polyphénols se fait généralement par des méthodes spectrophotométriques. Ces méthodes sont couramment utilisées, principalement pour leur simplicité et leur sensibilité élevée.

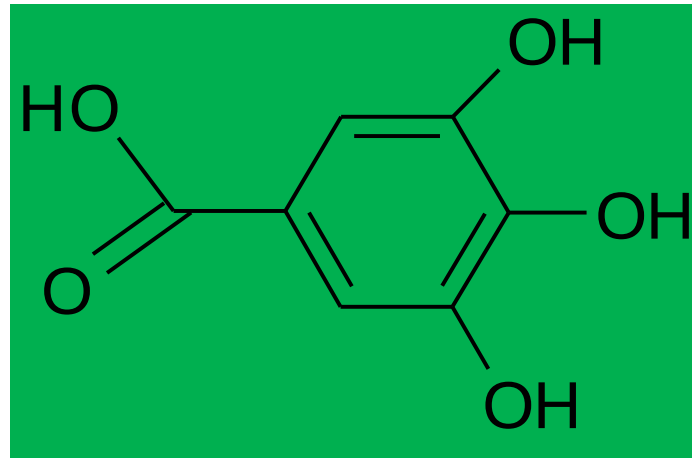
La teneur en polyphénols totaux sera déterminée par le test de Folin-Ciocalteu [1,2]. Une courbe d'étalonnage est établie avec l'acide gallique et les résultats sont exprimés en équivalence d'acide gallique.

1. D.O. Kim, W.J. Seung and C.Y. Lee (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81 321-326.
2. A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker and N. Vidal (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds *Food Chemistry*, 97 654-660.

Réactif et principe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu, en milieu alcalin, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ces hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe molybdotungstique bleu qui absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm.

Sachant que la coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.



Mode opératoire

Préparation des extraits

1 g de poudre de matière végétale est extrait avec 10 ml de méthanol-eau (7:3) pendant 24 heures dans l'obscurité. Le filtrat obtenu est utilisé pour l'analyse.

Méthode

1ml d'extrait de plante ou de la solution d'acide gallique (20, 40, 60, 80, 100 mg/l) convenablement dilué est introduit dans une fiole jaugée de 25 ml contenant initialement 9 ml d'eau distillée. On ajoute ensuite 1 ml du réactif de Folin et on agite.

Après 5 minutes, une solution de Na_2CO_3 à 7% (10 ml) est ajoutée tout en agitant. La solution est immédiatement diluée et ajustée au trait de jauge avec de l'eau distillée et est mélangée vigoureusement.

Après une incubation de 90 min sous l'obscurité et à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 750 nm en utilisant le méthanol comme blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Notons qu'une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en équivalents de mg d'acide gallique (EGA) par gramme de plante sèche. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux sont déterminés suivant la méthode décrite Kim et al. [1] où on utilise le trichlorure d'aluminium et la soude.

Réactifs et principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe avec les flavonoïdes en présence de la soude, un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la catéchine dont la formule chimique est représentée par la figure suivante:

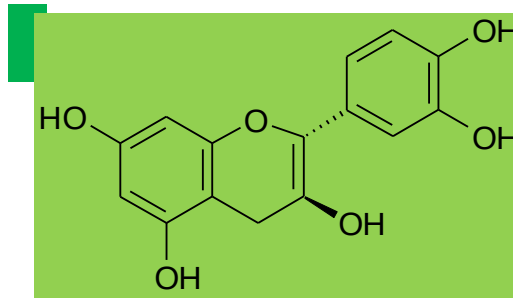


Figure : Structure de la (+)-catéchine.

Préparation des extraits

1g de poudre de matière végétal est extrait avec 10 ml de méthanol (100%) pendant 24 heures dans l'obscurité. Le filtrat obtenu est utilisé pour l'analyse.

Méthode

L'extrait convenablement dilué (1ml) ou la solution du composé étalon, catéchine (20, 40, 60, 80, 100 mg/l) est introduit dans une fiole jaugée de 10 ml contenant au préalable 4 ml d'eau distillée. A l'instant $t = 0$, on y introduit 0,3 ml de NaNO_2 à 5 % (P/v). A $t = 5$ mn on y ajoute 0,3 ml de AlCl_3 à 10 % ; 6 minutes après, on y ajoute 2 ml de NaOH à 1M. Immédiatement le mélange réactionnel est dilué avec 2,4 ml d'eau bidistillée et est agité vigoureusement.

L'absorbance de la solution rose est déterminée à 510 nm contre un blanc (contenant du méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en flavonoïdes totaux des différentes parties de plante est exprimée en équivalents de mg de catéchine (mg CE) par gramme de plante sèche. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois. Sachant qu'une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec la catéchine dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.