

Sommaire

Introduction.....	1
Partie 1 : synthèse bibliographique	2
I- Les composés phénoliques.....	3
I-1. Généralité	
I-2- Définition	
I-3- Classification des composés phénolique	
I-4- Principales voies de biosynthèse des composés phénoliques	5
I-4-1- Voie d'acide shikimique	
I-4-2- Voie d'acide acétique	
I-4-3- Voies des phénylpropanoïdes	
I-5- Propriétés chimiques des composés phénoliques	
I-5-1- Propriété réductrice	
I-5-2- Polarisabilité	
I-5-3- Liaison hydrogène	6
I-5-4- Caractère acide de la fonction phénol	
I-5-5- Formation d'ester et d'éther-oxyde	
I-5-6- L'oxydation.....	7
II- L'extraction	
II-1- Définition	
II-2- L'extraction solide-liquide.....	8
II-4- L'extraction liquide-liquide	
II-5- Facteurs influençant les performances de l'extraction	
II-5-1- Taille des particules	
II-5-2- la nature du solvant	9
II-5- L'extraction par Soxhlet	

II-5-1- Principe	
III- Câprier.....	10
III-1- Définition	
III-2- Répartition dans le monde.....	11
Partie 2 : matériels et méthodes	
.....	13
II- Matière végétale.....	13
II- Matériel du laboratoire	
III- Extraction des composés phénoliques à partir du câpre « <i>Capparis spinosa</i> L» par Soxhlet	
III-1- Propriété chimique des solvants utilisés.....	14
III-1-1- L'hexane	
III-1-2- Méthanol	
III-1-3- L'éthanol	
III-2- L'élimination des huiles de câpre.....	5
III-2-1- Principe	
III-2-2- Mode opératoire	
III-3- L'extraction des composés phénoliques par deux solvants avec 3 et 5 cycles à partir de câpre	
III-3-1- Principe	
III-3-2- Mode opératoire	
III-4- Détermination du Rendement pondéral des composés phénoliques extraites en fonction de la nature des solvants et le nombre des cycles d'extraction.....	16
IV- Analyse quantitative et qualitative des composés phénoliques extraits à partir du câpre « <i>Capparis spinosa</i> L»	
IV-1- Analyse quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu's	
IV-1-1- Principe	
IV-1-2-	
Réactifs.....	17
IV-1-3- Mode opératoires	

IV-1-4- Détermination de la teneur des composés phénoliques proprement dite

IV-1-5- Analyses spectral des composes phénoliques

Partie 3 : résultats et discussions18

I- Extraction des composés phénoliques à partie du câpre « *Capparis spinosa* L».....19

I-1- Rendement d'extraction des composés phénoliques en fonction de la nature du solvant et du nombre des cycles d'extraction

I-2- Rendement pondéral par rapport la matière première des composés phénoliques en fonction de LA Nature du solvant et des cycles d'extraction.....
.....20

II- Analyses quantitatives et quantitatives des composés phénoliques extraits à partie du câpre « *Capparis spinosa*

II-1- Analyse quantitative des composées phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu's.....21

II-2. Analyse spectrale des composées phénoliques.....23

III

Conclusions.....
.....26

Introduction générale

Le génie chimie est définie comme étant la science ayant pour objectif d'étudier les conditions techniques, économiques mais également de sécurité possible, d'une réaction chimique.

Parmi les opérations les plus utilisées en génie chimique, on trouve l'extraction.

C'est une méthode très ancienne utilisée dans plusieurs domaines tels que la pharmacologie et l'agro-alimentaire. Ces derniers s'intéressent surtout aujourd'hui à utiliser les substances naturelles qui se trouvent dans les plantes telles que l'amertume, les composes phénoliques considérés comme des métabolites secondaire jouant plusieurs rôles dans les interactions entre la plante et son environnement.

Parmi ces rôles on trouve :

- Participation à la défense de la plante contre les agressions d'origine biologiques.
- Protection de la plante contre les rayonnements UV.

Dans ce travail, réalisé au laboratoire de physiologie et nutrition à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès, l'extraction solide-liquide est utilisée comme méthode pour la récupération des composés phénoliques à partir du câprier < *Capparis spinosa* L.>. Ainsi nous allons essayer d'optimiser plusieurs paramètres influençant ce type d'extraction afin de pouvoir définir par la suite un simple procédé d'obtention des composés phénoliques de cette matrice vivante.

Ce mémoire va être donc composé comme suit : après une synthèse bibliographique succincte, on décrit le matériel et les méthodes d'extraction utilisés pour finir, par la suite, avec les résultats obtenus et leur interprétation.



Partie 1 :
Synthèse bibliographique

I- Les composés phénoliques

I-1. Généralité

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (1). En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante des molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (2).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc.... (3).

I-2- Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols représentant pas moins de 800 composés différents. Le terme « polyphénols » est utilisé dans la littérature pour définir des substances possédant un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyle (libre, estérifiés ou étherifiés). Ils peuvent être des molécules simples, comme les acides phénoliques contenant un seul noyau phénolique ou bien des composés hautement polymérisés, de plus de 300 Daltons, comme les tanins.

Ce type de composé est présent dans de nombreux fruits et légumes, les boissons (thé, café), les jus de fruits, les céréales, l'huile d'olive...

I-3- Classification des composés phénoliques

D'après Macheix et al. Les composés phénoliques sont regroupés en nombreuses classes qui se différencient par :

- Les voies de la biosynthèse.
- La complexité du squelette de base (de simple C₆ à des formes polymérisées).
- Les degrés de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...).

Les polyphénols peuvent établir des liaisons avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines et d'autres métabolites secondaires qui peuvent être aussi des composés phénoliques)

La classification des composés phénoliques est différente selon les auteurs.

D'après Gayon (1968) les composés phénoliques se regroupent en quatre grandes familles :

- Les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines ;
- Les flavones, flavols et dérivés voisins ;
- Les chalcones, dihydrochalcones et auronés ;
- Les anthocyanes.

Par ailleurs, Harbone (1989) et Macheix (1990) ont regroupé les composés phénoliques en de nombreuses classes selon leurs structures. Les principales classes sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques (Harbone, 1989 et Macheix, 1990). (4)

Squelette carboné	Classe
C6	Phénols simples
C6_C1	Acides hydroxybenzoïques
C6_C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines
C6_C4	Naphtoquinones
C6_C2_C6	Stilbènes
C6_C3_C6	Isoflavonoïdes, Flavonoïdes
	Flavonols
	Anthocyanes
	flavanones
	flavanols
(C6_C3) ₂	Lignanes
(C6_C3) _n	Lignines
(C15) _n	Tanins

I-4- Principales voies de biosynthèse des composés phénoliques

I-4-1- Voie d'acide shikimique

Les acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont à l'origine de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux, ces acides aminés sont formés à partir de sucres simples issus du métabolisme

primaire par la voie de l'acides shikimique. La désamination de la phénylalanine donne naissance au précurseur direct des phénols : l'acide cinnamique (4).

I-4-2- Voie d'acide acétique

Cette voie donne naissance aux flavonoïdes dont le squelette de base a une double origine : 3 molécules d'acétyl et une molécule de P-coumaryl. La condensation de ces unités donne naissance aux flavonoïdes et particulièrement aux pigments anthocyanes et flavonols ou encore certains monomères de types flavonols dont la polymérisation conduit aux tanins condensés (4).

I-4-3- Voies des phénylpropanoïdes

Cette séquence biosynthétique permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques : acide caféique, férulique et sinapique qui se présentent généralement sous forme d'ester ou de glucoside (4).

I-5- Propriétés chimiques des composés phénoliques

I-5-1- Propriété réductrice

Le potentiel d'ionisation est l'énergie minimale fournie à une espèce chimique pour lui arracher un électron. Plus un composé aromatique est substitué à un groupement donneur d'électron, plus son potentiel d'ionisation est faible et son caractère réducteur est grand, il peut aussi subir une oxydation mono-électronique qui conduit à un radical cation. Dans le cas du phénol, le radical cation est un acide fort qui déprotone pour donner un radical phénoxy (4).

I-5-2- Polarisabilité

Les molécules possédant de gros atomes présentent des bandes d'absorption dans le domaine de l'UV proche et du visible. Elles sont hautement polarisables, c'est le cas des composés aromatiques. Les phénols les plus polarisables présentent des bandes d'absorption dans l'UV à des longueurs d'ondes max >300nm (flavonols et hydroxycinnamiques), voir 500nm dans le cas des pigments anthocyanes (4).

I-5-3- Liaison hydrogène

Les phénols sont le siège d'association intermoléculaire par liaison hydrogène. Dans le cas des composés phénoliques complexes, il peut y avoir des liaisons hydrogènes intramoléculaires dont les diverses propriétés sont :

- La modification de nombreuses propriétés physiques : le point de fusion et d'ébullition, la solubilité, les spectres d'absorption dans les domaines de l'ultraviolet et de l'infrarouge ;
- La diminution la réactivité des groupements phénoliques (solubilité en milieu alcalin, leur aptitude à la formation d'ester et d'éther-oxyde) ;

- Ce type de liaison devient plus fortes lorsqu'elles conduisent à la formation d'un cycle à 6 chaînons qu'un cycle à 5 chaînons ;
- Les liaisons intermoléculaires diminuent le point de fusion et la solubilité des composés phénoliques ce qui peut rendre leur purification difficile par formation de structures hexagonales (6 groupes phénoliques unis par des liaisons hydrogènes) (4).

I-5-4- Caractère acide de la fonction phénol

La déprotonation de la liaison OH des phénols entraîne la formation des ions phénolates, leur forte solvation (formation de liaison H avec l'eau) permet d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau (pka situé entre 8 et 10) (4).

I-5-5- Formation d'ester et d'éther-oxyde

La fonction ester provient de la réaction d'un acide avec un OH alcoolique ou phénolique. La fonction d'éther-oxyde provient de la déshydratation intermoléculaire des alcools, des phénols, ou des réactions d'alcool et d'aldéhyde (4).

Dans la nature, la formation des esters à partir des composés phénoliques fait intervenir la fonction acide d'un phénol et la fonction alcool d'une autre molécule. (Les composés phénoliques n'interviennent pas par leur fonction alcool) (4).

La formation d'éther-oxyde est très fréquente dans la nature et particulièrement la formation d'éther-oxyde mixte entre une fonction phénol et l'alcool méthylique (4).

I-5-6- L'oxydation

L'attaque des phénols par les agents oxydants provoque le départ de l'atome d'hydrogène et la formation d'un radical libre avec un atome d'oxygène simplement lié, mais possédant un électron célibataire. Généralement un tel radical est très instable et réagit rapidement. Après isomérisation sous forme de radical contenant en position ortho ou para un atome d'oxygène, le radical ainsi formé peut se dimériser, ou réagir avec un autre radical, en formant, par ordre une oxydation se faisant sur des molécules complexes à noyau catéchol, peut conduire à un produit polymérisé de coloration brun-noir (4).

L'oxydation des phénols peut se produire par un système enzymatique contenant les polyphénoloxydases (PPO), les laccases et les peroxydases avec ou sans H₂O₂ mais également par l'alcalinisation, surtout en présence d'ion métallique (4).

L'oxydabilité est une caractérisation de la fonction phénol. Cette réaction intervient par voie chimique ou par voie enzymatique, entraînant un brunissement des tissus végétaux qui pose des problèmes technologiques dans les industries agroalimentaire (Ribereau-Gayon.1968). Cette oxydabilité permet aussi la protection de certaines substances contre l'oxydation étant donné que les composés phénoliques sont prioritairement oxydés (4).

Cette caractéristique permet leur utilisation comme antioxydants notamment dans les huiles et les graisses (4).

II- L'extraction

II-1- Définition

Dans le processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction ; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide-liquide. Cependant, le solvant, capable de mettre en solution un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou non, dénommé soluté, génère une solution ou un extrait (solvant+soluté). Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération le système tend vers l'équilibre et la diffusion est quasi nulle.

II-2- L'extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est réalisée par contact intime entre le solide et le solvant. Au cours de l'extraction, la concentration du soluté dans le solide varie sans interruption, ce qui explique un état non stationnaire du transfert de matière. Une série de processus successifs a lieu traduisant l'interaction entre le solide contenant initialement le soluté et le solvant effectuant la séparation. Ces processus concernent :

1. La diffusion du solvant au sein de la matrice solide,
2. La dissolution du soluté dans le solvant,
3. La diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface,
4. Le transfert par convection ou diffusion du soluté contenu dans la solution près du solide vers la masse restante du solvant,

II-4- L'extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est un procédé qui permet la séparation de deux ou plusieurs constituants d'un mélange grâce à leur répartition inégale entre deux phases liquides non ou partiellement miscibles. Le principe est de mettre en contact intime une solution d'alimentation contenant les constituants à séparer (solutés) avec une seconde phase liquide appelée solvant. Après un temps suffisant, permettant d'obtenir l'équilibre entre les phases (égalité des potentiels chimiques), les deux liquides sont séparés par décantation centrifugation ou d'autres techniques permettant la récupération de l'extrait.

II-5- Facteurs influençant les performances de l'extraction

II-5-1- Taille des particules

Tous les auteurs s'accordant sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide), mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel. En effet, à taux de solide donné, la surface de contact entre le solide et le liquide augmente lorsque la taille de la particule diminue. D'autre part, dans les opérations de transfert de matière par diffusion (loi de Fick), le gradient de concentration augmente directement avec la diminution de la taille de la particule et le temps de traversée nécessaire intervient généralement proportionnellement au carré de la distance traversée. L'opération doit donc être nettement mieux à la suite d'un bon broyage.

II-5-2- la nature du solvant

Un solvant est, par définition, une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène. Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- Ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition ...
- La nature du principe à dissoudre
- Sa polarité (pouvoir de solubilisation)
- Ses caractéristiques économiques

II-6- L'extraction par Soxhlet

II-6-1- Principe

L'extraction Soxhlet est une extraction solide-liquide. Cet appareil permet à un solide tel qu'un sol, par exemple, d'être extrait de façon continue à l'aide d'un solvant. L'échantillon solide est placé dans une cartouche à cellulose. Ensuite, le solvant distillé du ballon à fond rond est recondensé par le réfrigérant et s'accumule graduellement dans la partie contenant la cartouche à cellulose (échantillon) (5).

- **Domaine d'application**

L'appareil peut être utilisé pour :

- l'extraction d'un composé soluble dans le solvant utilisé : les impuretés (insolubles) restent dans la cartouche, le composé se concentre dans le ballon, dissout dans le solvant. Si la solubilité du composé n'est pas très grande, on pourra même observer sa recristallisation lors du refroidissement du ballon, après avoir arrêté le fonctionnement de l'appareil.
- le lavage d'un composé solide par un solvant (à condition que ce composé soit totalement insoluble dans ce solvant).

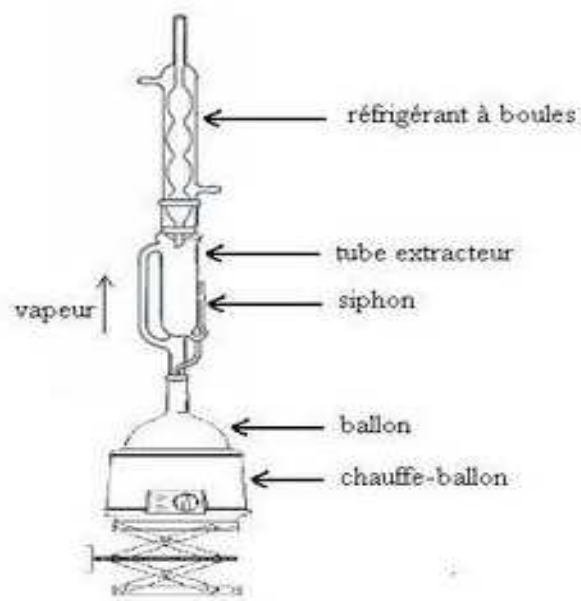


Figure 1: schéma de l'appareil de soxhlet

III- Câprier

III-1- Définition

Le câprier est une plante vivace arbustive très répandue dans les pays du bassin méditerranéen. Elle est cultivée pour ses boutons floraux appelés câpres (6).

Elle mesure, à l'âge adulte, 50 à 80 cm en hauteur et 1 à 1.5 m en largeur. Elle présente un tronc court avec plusieurs rameaux caractérisés par un aspect ascendant, une couleur verte ou rougeâtre selon les variétés et la présence d'épines stipulaires, les feuilles ont généralement des formes ovales à arrondies avec une grande variabilité entre individus portant sur la longueur du pétiole ainsi que sur la largeur et la forme du limbe (6).

Le développement des rameaux est caractérisé par deux phases, une première phase de croissance végétative pendant laquelle il n'y a pas d'initiation florale et une seconde phase qui commence une fois que le rameau forme dix nœuds et pendant laquelle on assiste à l'initiation des boutons floraux. Seule la partie terminale

des rameaux initie les bourgeons floraux, tant qu'ils ne sont pas ouverts. Ces bourgeons floraux appelés également câpres, constituent la partie de la plante la plus recherchée pour la consommation humaine (6).



Figure 2: capparidaceae (7)

III-2- Répartition dans le monde

Le câprier est cultivé dans les pays du bassin méditerranéen. Il est cependant connu également comme plante économique en Australie et il tend à se répandre en Amérique latine (8).

Parmi les pays qui cultivent et produisent le câprier on trouve : l'Italie, l'Espagne, la Tunisie et le Maroc, considéré comme le principal producteur de câpres dans le bassin méditerranéen. Il exporte la majeure partie de sa production dans des pays européens. La consommation locale étant presque nulle, le câpre n'étant que peu utilisée dans la cuisine traditionnelle. Le mérite d'avoir valorisé dans les années 40, le câprier, alors inutilisé dans une grande partie du pays, semble revenir à un italien de Gènes, Francesco bongiovanni, en 1986, les exportations ont dépassé les 3.000 tonnes. Plus d'un tiers de la production est écoulé sur les marchés italiens, les quantités exportées en France, aux USA, en Allemagne et en suisse sont, également, importantes (8).

On peut aussi trouver le câprier dans tous les pays riverains de la méditerranée. La Grèce, la Turquie, Malte et surtout l'Algérie faisant l'objet occasionnellement le commerce avec l'extérieur. Dans le sud de la France, en particulier en Provence et dans les régions côtières des Alpes maritimes, c'est actuellement une espèce d'une importance économique minimale, exploitée ou cultivée de temps en temps pour les besoins des familles des exploitants (8).

Partie 2 :
Matériels et Méthodes

II- Matière végétale

L'échantillon de « *Capparis Spinosa .l* » a été récolté dans la région de FES (oulad jamaâ) et acheminé au laboratoire de physiologie et nutrition de la faculté de médecine de Fès pour analysé.



Figure 3 : Fruits séchés de *Capparis Spinosa L.*

II- Matériel du laboratoire

- L'appareil soxhlet
- Becher ; ballon
- Chauffe ballon
- Ampoule à décanter
- Vortex
- Rotavapeur
- spectrophotomètre....

III- Extraction des composés phénoliques à partir du câpres « *Capparis spinosa L* » par Soxhlet

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée en utilisant l'appareil soxhlet.

L'appareil de Soxhlet se compose de :

- Ballon à fond plat
- Chauffe ballon
- Réfrigérant
- Extracteur

L'étape de l'extraction se base principalement sur deux grandes parties :

- l'élimination des huiles dans un premier temps.
- l'extraction des composés phénoliques dans un second temps.

III-1- Propriété chimique des solvants utilisés

III-1-1- L'hexane

L'hexane est un solvant utilisé couramment en chimie organique, sa formule brute est C_6H_{14} , il est incolore, volatil, et possède une odeur caractéristique.

- Propriété chimique :

- Température d'évaporation : $68,73\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Masse volumique : $0,659\text{ g.cm}^{-3}$
- Moment dipolaire : $0,09\text{D}$

III-1-2- Méthanol

Le méthanol ou alcool méthylique est de formule brute CH_3OH , c'est le plus simple des alcools, il est caractérisé par son odeur, inflammable, incolore et volatile.

- propriétés chimique :

- Température d'évaporation : 65°C
- Masse volumique : $0,790\text{ g.cm}^{-3}$
- Moment dipolaire : $1,7\text{D}$

III-1-3- L'éthanol

L'éthanol ou alcool éthylique, est un alcool primaire de formule brut C_2H_6O , il est caractérisé par sa miscibilité en toutes portions avec l'eau, et il est aussi l'une des plus anciennes drogues récréatives (couramment appelé alcool).

- **Propriété chimique :**

- Température d'évaporation : 79°C
- Masse volumique : 0,789 g.cm⁻³
- Moment dipolaire : 1,66 D

III-2- L'élimination des huiles de câpre

III-2-1- Principe

L'élimination des huiles de câpre est basée sur l'utilisation de l'hexane comme solvant d'extraction.

III-2-2- Mode opératoire

Dans un ballon de 500ml on introduit 300ml d'hexane. Une quantité de 50g de câpres est placée dans une cartouche de cellulose, le tout est introduit dans l'extracteur pour lancer le chauffage à ébullition.

L'extraction est réalisée en 5 cycles, le produit est récupéré dans un ballon adaptable à l'évaporateur rotatif, pour éliminer le solvant à une température de 90°C.

III-3- L'extraction des composées phénoliques par deux solvants avec 3 et 5 cycles à partir de câpre :

III-3-1- Principe

La matière végétale traitée par l'hexane subit une seconde extraction par deux solvants en 3 et 5 cycles.

III-3-2- Mode opératoire

Une quantité de 10g de l'extrait récupéré de la phase précédente est soumise à une deuxième extraction par le méthanol et/ou l'éthanol en 3 et 5 cycles. Les deux phases sont séparées par à l'aide d'une ampoule à décanter. La phase contenant les produits phénoliques est ensuite concentrée à l'aide d'un rotavapeur.



Figure 4 : Image des deux phases séparées

III-4- Détermination du Rendement pondéral des composés phénoliques extraits en fonction de la nature des solvants et le nombre des cycles d'extractions:

Le rendement du produit extrait pour chaque échantillon correspond à la quantité de produit extrait par rapport à la masse de la matière sèche selon la formule suivante :

$$Re(\%) = \frac{m}{Ms} * 100$$

Avec :

- Re(%) : Rendement en produit extraire pour la matière sèche
- m : masse de produit recueilli
- Ms : masse de la matière sèche

IV- Analyse quantitative et qualitative des composés phénoliques extraits à partir du câpre « *Capparis spinosa l.* »

IV-1- Analyse quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu

IV-1-1- Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [Ribereau, 1968].

IV-1-2-Réactifs

- Acide gallique
- Solvant
- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium

IV-1-3- Mode opératoire

- Préparation de la gamme d'étalonnage d'acide gallique

- Peser 200 mg d'acide gallique;
- dissoudre dans 100 ml de solvant, soit une solution (S1) avec une concentration de 2 mg/ml ;
- Diluer la solution mère comme suit : Prélever 5ml de la solution mère puis ajouter 5 ml de solvant pour obtenir une dilution S/2 (Refaire la même procédure pour les autres dilutions).

IV-1-4- Détermination de la teneur des composés phénoliques proprement dite

Mode opératoire

- 0.5 ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais ;
- 5 ml de solvant dans chaque tube ;
- 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu , et après 3 mn, ajouter 0.5 ml de carbonate de sodium à 20 % ;
- Laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Le blanc est représenté par 5 ml de solvant additionné de 0.5 ml de Folin-Ciocalteu et 0.5 ml de carbonate de sodium à 20 %.

La lecture des absorbances est faite à 760 nm. La Concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnages.

IV-1-5- Analyses spectral des composés phénoliques

L'objectif de cette analyse est de faire un balayage spectral à partir de 200 à 800nm

Partie 3
Résultats et Discussions

I- Extraction des composés phénoliques à partir du câpre « *Capparis spinosa* L.»

Dans cette partie du travail nous avons effectué une extraction puis un pesage des composés phénoliques via une balance de précision après séchage à l'étuve.

I-1- Rendement d'extraction des composés phénoliques en fonction de la nature du solvant et du nombre des cycles d'extraction

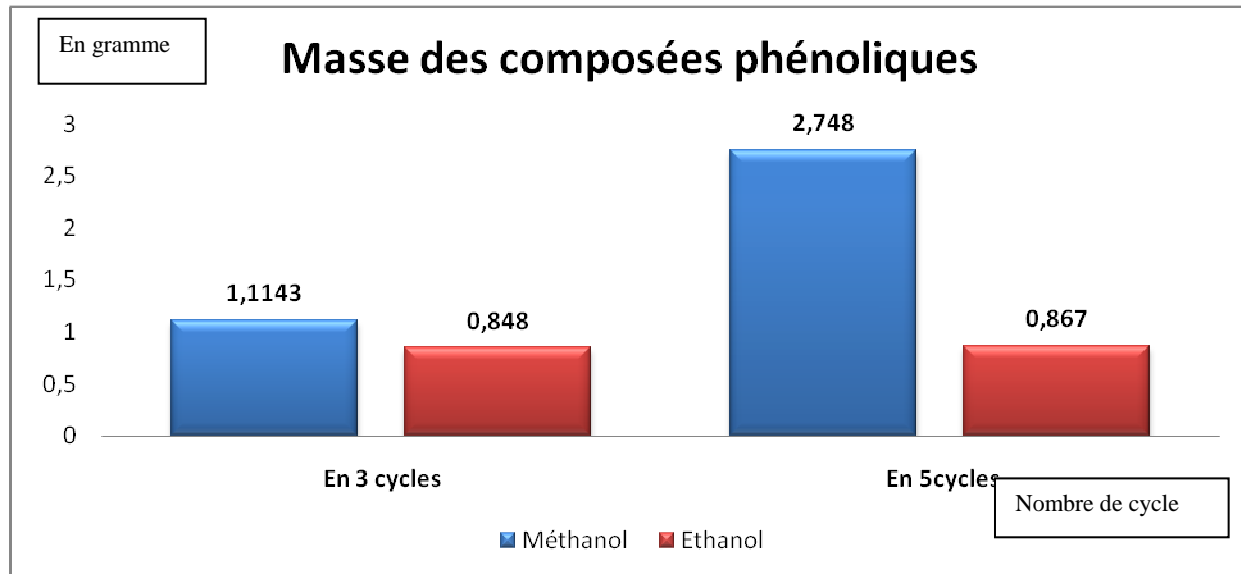


Figure 5 : Masse des composés phénoliques exprimées en g extraits en fonction de la nature du solvant et du nombre des cycles d'extraction

La figure : 6 représente la masse des composés phénoliques extraites en fonction de la nature des solvants et du nombre des cycles d'extraction. Les résultats obtenus montrent que les composés phénoliques extraits par le méthanol sont plus élevés que ceux extraits par l'éthanol. Gardant cet ordre de priorité les composés phénoliques extraits après 5 cycles d'extractions sont plus élevés que ceux obtenus après 3 cycles d'extraction.

Donc pour avoir un bon rendement d'extraction des composés phénoliques des câpres, il est judicieux de travailler avec le méthanol comme solvant d'extraction durant cinq cycles. Des optimisations ultérieures semblent être nécessaires pour maximiser le rendement.

I-2- Rendement pondéral par rapport à la matière première des composés phénoliques en fonction de la nature du solvant et des cycles d'extraction

Pour avoir une idée sur le coût d'extraction nous avons évalué le rendement d'extraction des composés phénoliques par rapport à la masse végétale initiale du câpre utilisé comme substrat d'extraction. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 2 : Rendement pondéral des composés phénoliques extraites en fonction de la nature des solvants et le nombre de cycles d'extraction

Solvant d'extraction	METHANOL	ETHANOL
3 cycles d'extraction	11,143%	8,48%
5 cycles d'extraction	27,48%	8,67%

Selon les résultats du tableau 1, on remarque que le rendement augmente de 16,337% lorsqu'on passe de 3 à 5 cycles d'extraction par le méthanol. On assiste aussi à une augmentation du rendement dans l'éthanol mais avec une faible ampleur ou on note une augmentation de 0,19%. Le rendement pondéral des composés phénoliques est important lors de l'utilisation du méthanol comme solvant d'extraction, ceci peut être expliqué par le phénomène de diffusion de la matière liée à la polarité du solvant.

Ainsi on peut conclure que le rendement augmente en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction des composés phénoliques et en adoptant 5 cycles d'extraction,

II- Analyses quantitatives et qualitatives des composés phénoliques extraits à partir de la câpre « *Capparis spinosa l.* »

Les techniques spectrométriques présentant comme objectif l'obtention des informations quantitative et/ou qualitative sur l'échantillon « sujet d'analyse » en se basant sur les interactions entre la matière et le rayonnement lumineux. L'interaction matière-rayonnement peut donner lieu au phénomène d'absorption.

II-1- Analyse quantitative des composés phénoliques par la méthode de Folin Cio-calteu

Dans cette étude des composés phénoliques de la câpre nous avons ciblé une analyse quantitative spectrophotométrique en élaborant une gamme d'étalonnage avec l'acide gallique comme composé phénolique.

Parallèlement, une étude spectrale qualitative a été menée pour comparé les contenus des fractions extraites par les deux solvants utilisés. Pour réaliser le dosage des gammes on a dilue l'acide gallique par les deux solvants (méthanol et éthanol).

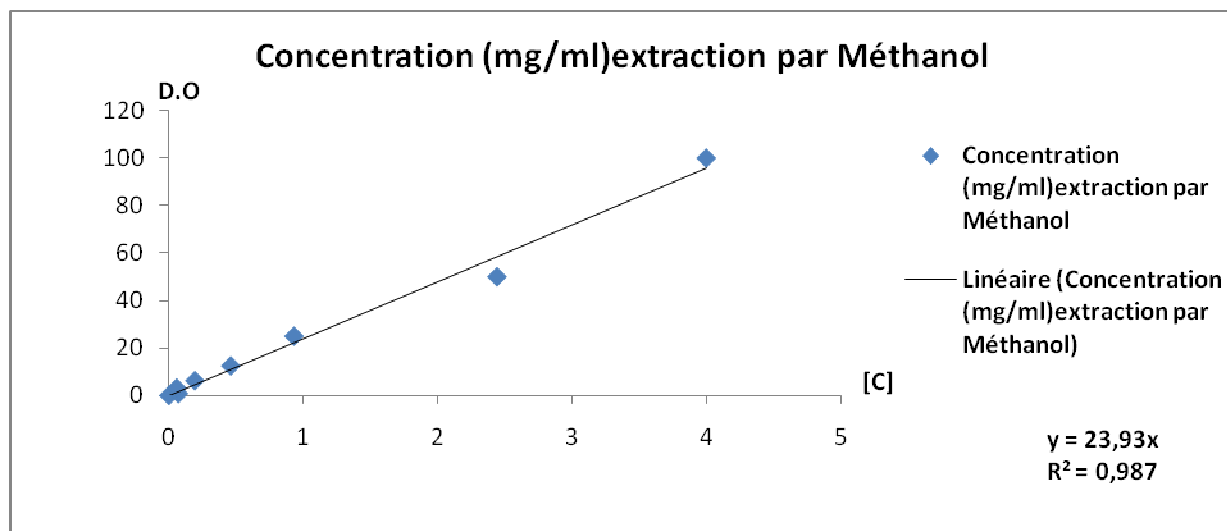


Figure 6 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique dans le Méthanol

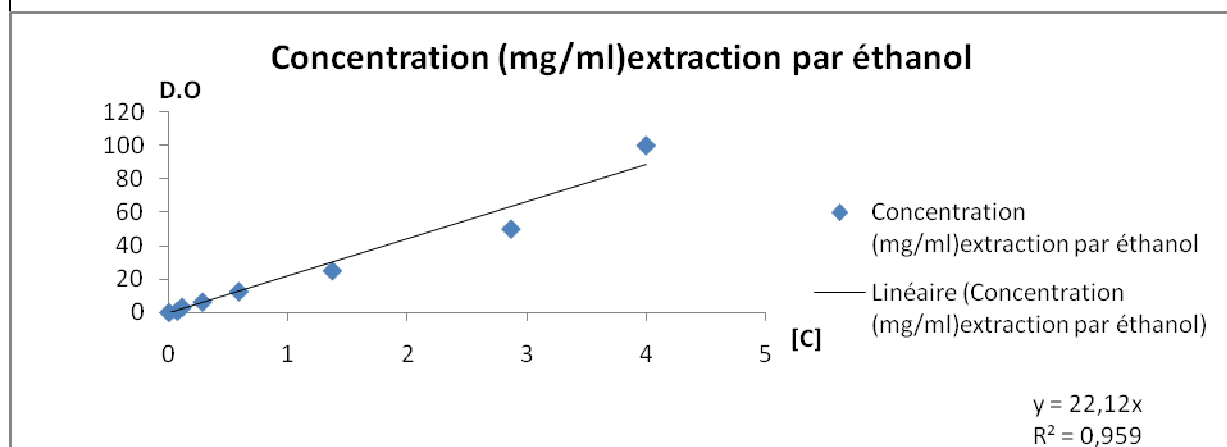


Figure 7 : Gamme d'étalonnage de l'acide gallique dans l'éthanol »

La réalisation d'une gamme d'étalonnage est indispensable lors d'un dosage colorimétrique. Cette gamme permet de déterminer une absorbance à une longueur d'onde donnée en s'appuyant sur la loi de Beer-Lambert. Ce qui consiste à établir une proportionnalité entre la concentration des composés phénoliques et leur absorbance ; 760nm est la longueur d'onde qui correspond à une absorbance maximale.

En comparant les deux figures 7 et 8 représentant la courbe d'étalonnage, on constate que la corrélation est plus importante lors de l'utilisation du méthanol « $R^2=0,987$ » en comparaison avec l'éthanol « $R^2= 0,959$ ». Ceci confirme belle et bien les résultats obtenues dans la partie d'extraction des composés phénoliques.

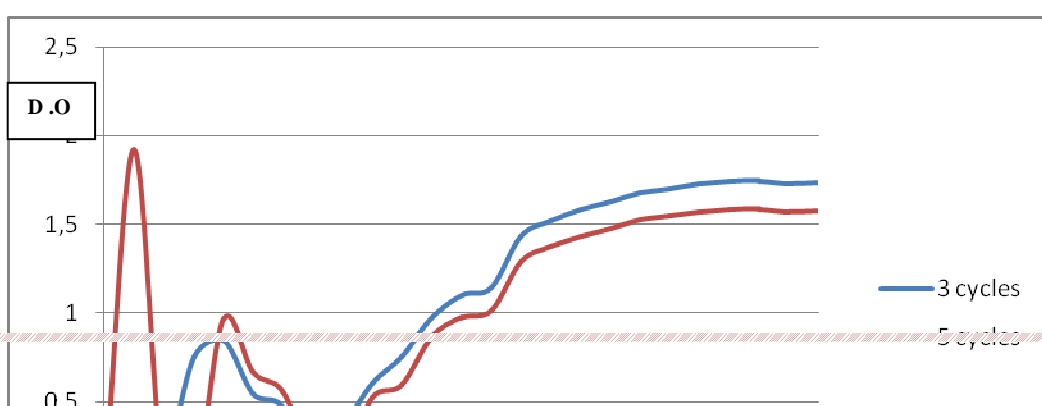
Tableau 3: dosage par la méthode Cio-calteau des composés phénoliques extraits du câpre en fonction de la nature des solvants et le nombre des cycles d'extraction

Solvant d'extraction	Méthanol	Ethanol
3 cycles d'extraction	1,004g	0,813g
5 cycles d'extraction	1,4g	0.949g

La confrontation des résultats du tableau 2 présentant les composés phénoliques dosés par une méthode chimique (cio-calteau) et de la figure 6 représentant les composés phénoliques obtenus par pesage, nous constatons qu'il existe une surestimation entre les deux méthodes. Cette confrontation des résultats constitue un point critique de contrôle dans le procédé d'extraction des composés phénoliques de la câpre utilisé.

II-2. Analyse spectrale des composés phénoliques

Les composés phénoliques extraits par les deux solvants ont subi une analyse spectrale allant de 200 nm à 800nm. Les résultats sont groupés dans les figures 9, 10 et 11.



λ

Figure 8 : Absorbance des composés phénoliques extraits par le méthanol

D'après la figure 9, on note une concordance d'absorbance dans les deux cycles adopté par l'extraction. L'absorbance atteint son maximum dans le domaine visible qui se situe entre des longueurs d'onde 600-800 nm. Au niveau de l'UV nous avons un maximum d'absorbance à un pic qui culmine à 300nm pour les composés phénoliques extraits. Mais après 5cycle d'extraction on note l'apparition d'un pic qui culmine à 250nm .

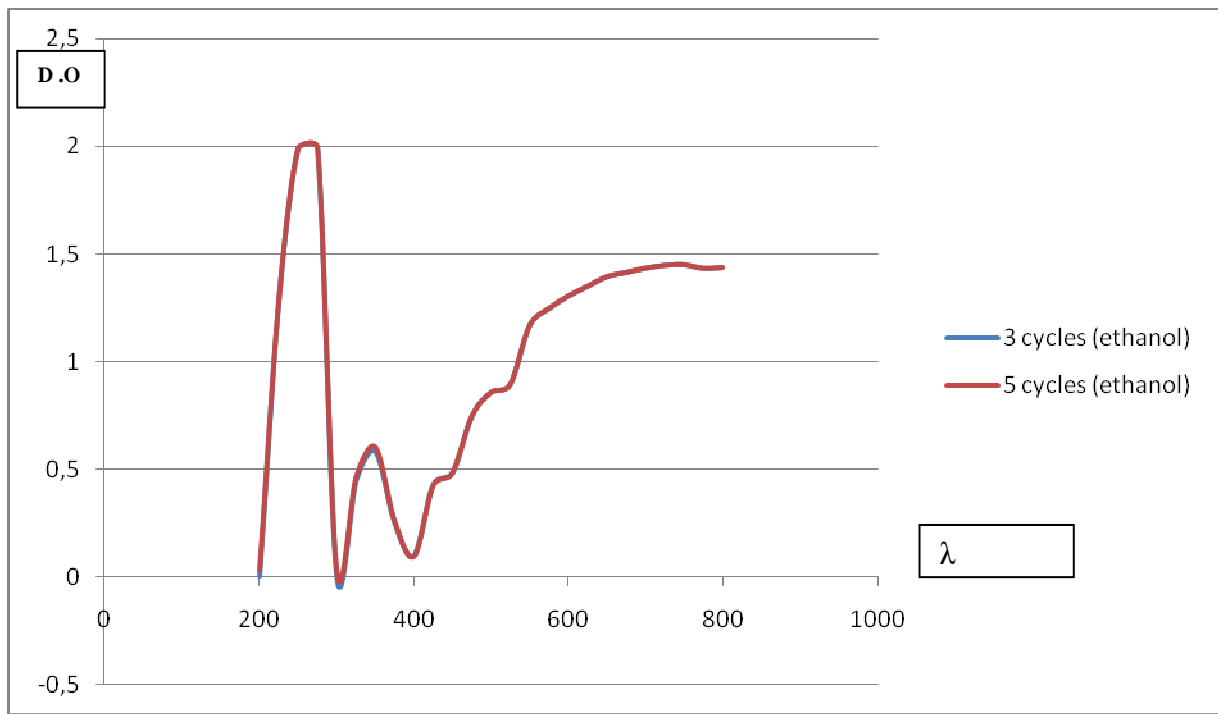


Figure 9 : L'absorbance des composés phénoliques extraits par l'éthanol

La figure 10 représente l'absorbance des composés phénoliques dans différents longueurs après une extraction par l'éthanol. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une superposition des spectres pour les ceux cycles utilisés que ce soit 3 cycles ou 5 cycles. Ces résultats ne sont pas similaire à ceux trouvées lors de l'utilisation du méthanol comme solvant d'extraction, ce ci confirme bel et bien que dans ce cas les composés phénoliques sont beaucoup plus extrait et absorbés.

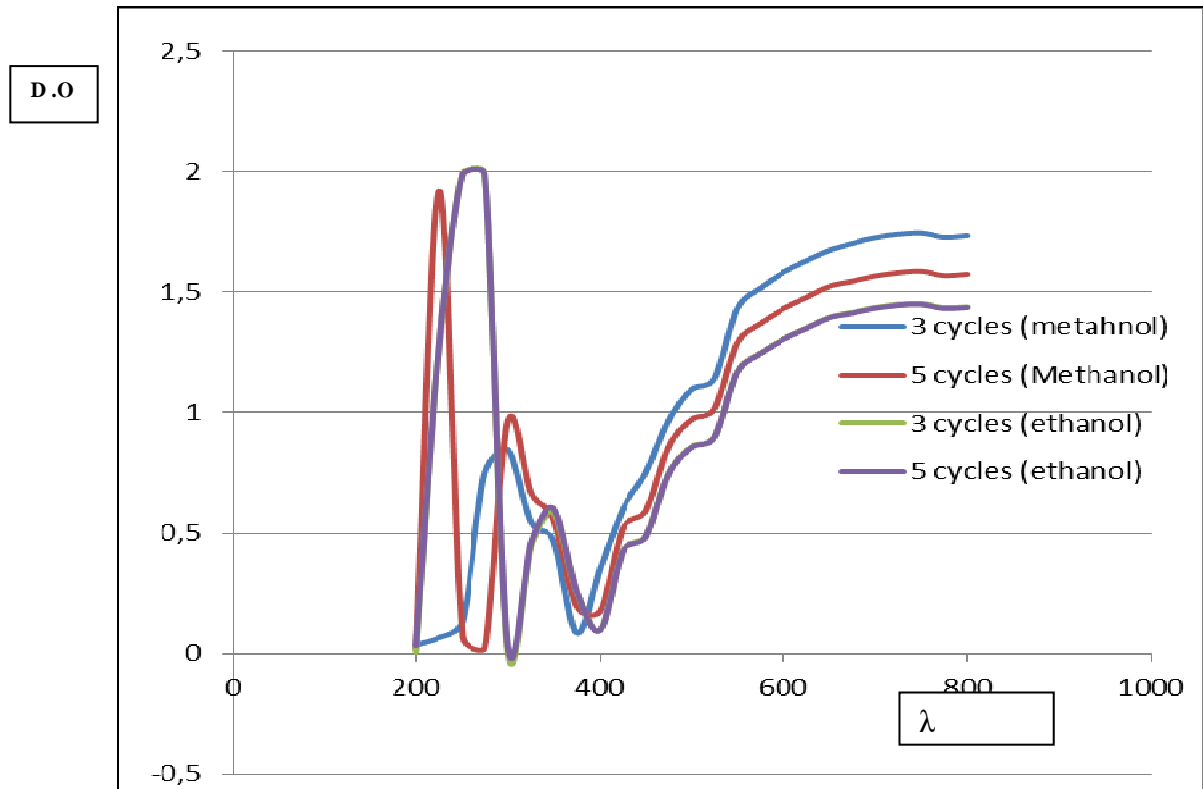


Figure 10 : L'absorbance des composés phénoliques extraits par le méthanol et l'éthanol

La comparaison des spectres d'absorption des composés phénoliques extraits par les deux solvants d'extraction (figure 11) montre l'intérêt de cette méthode spectral dans l'analyse des composés phénoliques, leurs caractérisations et leurs identifications.

III Conclusions

Le méthanol semble être le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques du câpre ces résultats sont comparable à ceux obtenus par plusieurs auteurs (Chirinos et al., 2007 ; Spicno et al., 2007).

Par ailleurs, il semble que le câpre contient plus de composés phénoliques d'un point de vue quantitatif (140mg/g) par comparaison à d'autres plantes *Teucrium polium*, par exemple, qui ne contient que 89,05mg/g (9).

Cependant, il semble que le procédé d'extraction a trouvé ses limites dans la mesure où compte tenu des résultats obtenus par la méthode chimique (Cio-calteu). Il reste donc à optimiser ces résultats en changeant notamment la méthode d'extraction (soxhlet) mais en gardant le solvant (méthanol).

REFERENCES :

- (1) **Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A .2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- (2) **Herbert, R.B. 1989.** The Biosynthesis of secondary metabolites. 2^{ème} édition Chapman and Halle p 2, 1-115.
- (3) **Maarouf A .2000.** Dictionnaire botanique Pp 129.
- (4) **Mlle yahiaoui Nouara.** étude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyalate et charbon actif, mémoire de magister, université mouloud mammeri tizi ouzou.
- (5) **Josée Losier 1999.** Développement d'une méthode d'extraction par micro-ondes pour la détermination de polluants organiques dans le compost, Faculté des sciences Département de chimie et de biochimie Université de Moncton.

- (6) **Lkrimi M ; (1997).** Bulletin de Transfer de Technologie en Agriculture n°37 (Octobre 1997), direction de la production végétale, MAEE, RABAT.
- (7) **Fatin A.A. Mustafa 2012.** invitro evaluation of capparid spines against lumbricus terrestris (annelid), university of basrah , Iraq.
- (8) **Prof. Giuseppe Barbera 1991.** programme de recherche agrimed *le câprier (capparis spp.)*, Commission des Communautés européennes.
- (9) **HAMMOUDI R., HADJ MAHAMMED M., RAMDANE F. ET KHODIR A. A.2012.** activite antibacterienne des extraits phénoliques de la plante *Teucrium polium geyrii*, Université Kasdi Merbah-Ouargla, laboratoire de biogéochimie des milieux désertiques 30000 Ouargla, Algérie