

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE

BOBO-DIOULASSO

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN

SCIENCES ET TECHNIQUES

GENIE BIOLOGIQUE



RAPPORT DE FIN DE CYCLE

Pour obtenir la

LICENCE PROFESSIONNELLE DE GENIE BIOLOGIQUE

Spécialité: Industrie Agroalimentaire

Présentée par

SANOU Pascal

Sur le thème :

**Polyphénols totaux et activité antiradicalaire des extraits
éthanoliques de *Solanum lycopersicum* (var Roma)**

Sous la direction de :

Maitre de stage : Dr. Lassina OUATTARA

Directeur de rapport : Dr. N. T. Roland MEDA

Année universitaire : 2014-2015

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

- mes très chers parents, SANOU Ardiouma et SANOU Téné, qui ont veillés à mon éducation et qui n'ont ménagés aucun effort pour me soutenir dans mes études ;
- mon cousin SANOU Sitlè Hypolite pour son soutien et ses encouragements indéfectibles à mon égard ;
- mon défunt oncle SANOU Soungalo Daniel et son épouse ;
- mes frères et sœurs ;
- mes oncles et tantes ;
- mes amis et connaissances.

REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit des efforts conjugués de plusieurs personnes à qui nous exprimons notre reconnaissance et notre profonde gratitude. Ainsi, nous adressons tous nos sincères remerciements:

- à la direction de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Technique (UFR/ST) particulièrement le **Professeur Sado TRAORE**, Directeur de l'UFR/ST pour son dévouement en faveur de la formation des étudiants ;
- au **Docteur Lassina OUATTARA**, notre maître de stage, Directeur Adjoint de l'UFR/ST pour sa rigueur, sa patience et sa compréhension dans le suivi du travail et aussi pour ses soutiens nobles, multiples et inoubliables ;
- au **Docteur N. T. Roland MEDA**, responsable de la filière Génie Biologique, notre Directeur de rapport, pour son encadrement, sa rigueur, sa patience, ses conseils et son soutien dans le suivi du travail ;
- à l'ensemble du corps professoral pour la formation de qualité reçue;
- à mes amis et promotionnaires de la Filière Génie Biologique en particulier **DA Nassonne Géoffroy**, pour leur soutien et bonne collaboration ;
- à tous ceux qui d'une manière ou d'une autre ont contribué à la rédaction de ce document, puissent-ils trouver dans ce présent rapport l'expression de notre profonde gratitude.

RESUME

Ce travail est une contribution à une meilleure connaissance de la composition de la variété de tomate Roma cultivée dans la région des Hauts-Bassins à travers la quantification des polyphénols totaux et la détermination de l'activité antioxydante. Les polyphénols totaux des extraits ont été quantifiés par le test de Folin-Ciocalteu et l'activité antioxydante a été déterminée par la méthode du DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Les résultats obtenus ont montré que les extraits éthanoliques contenaient les polyphénols totaux de l'ordre de $22,38 \pm 0,18$ mg EAG/100 g d'extrait. L'analyse de leur activité antiradicalaire a donné une CI_{50} (concentration inhibitrice à 50 % des radicaux libres) de $0,13 \pm 0,04$ mg/ml. Il ressort de ces résultats que la tomate pourrait être exploitée comme antioxydant dans la stabilisation des aliments.

Mots clés : tomate Roma, polyphénols totaux, Folin-Ciocalteu, DPPH, activité antiradicalaire.

ABSTRACT

This work is a contribution to a better knowledge of the composition of the tomato variety cultivated Roma in the region of High Basin through the quantification of the total phenolic content and the determination of antioxydant activity. The total polyphénols of the excerpts has been quantified by the test of Folin-Ciocalteu and the antioxydant activity has been determined by the method of the DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyle). The gotten results showed that the ethanolics excerpts contained the total phenolics compounds of the order of $22,38 \pm 0,18$ mg EAG/100 g of excerpt. The analysis of their antiradicalary activity gave an IC_{50} (inhibitory concentration to 50% of the free radicals) of $0,13 \pm 0,04$ mg/ml. It is evident from these results that the tomato could be exploited like antioxydant in the stabilization of foods.

Keywords: Roma tomato, total phenolic content, Folin-Ciocalteu, DPPH, antiradicalary activity.

LISTE DES ABREVIATIONS

APEX : Agence pour la promotion des exportations au Burkina Faso.

CEDEAO : Communauté économique des Etats de l'Afrique de l'Ouest.

CEFCOD : Centre d'étude, de formation et de conseil en développement.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 % des radicaux libres.

DO : Densité optique.

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent en acide gallique.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'agriculture et l'alimentation.

INSD : Institut national de la statistique et de la démographie.

MAH : Ministère de l'agriculture et de l'hydraulique.

MF : Matière fraîche.

PIB : Produit intérieur brut.

PPT : Polyphénols totaux.

SOD : Superoxyde dismutase.

UV: Ultraviolet.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	II
RESUME.....	III
ABSTRACT.....	IV
Liste des abréviations.....	V
TABLE DES MATIÈRES	VI
Liste des figures.....	VIII
Liste des photos.....	VIII
Liste des tableaux.....	VIII
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES.....	1
I.1. GENERALITES SUR LA TOMATE.....	2
I.1.1. Importance économique et production mondiale.....	2
I.1.2. Importance économique et production nationale.....	3
I.1.3. Description botanique.....	4
I.1.4. Composition du fruit de la tomate.....	7
I.2. GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Rôles des polyphénols.....	7
I.3. GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS.....	8
I.3.1. Définition.....	8
I.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants sur les radicaux libres.....	8
I.3.3. Rôles des antioxydants.....	9
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.....	7
II.1. MATERIEL.....	10
II.1.1. Matériel végétal.....	10
II.1.2. Solvants et réactifs.....	10
II.1.3. Appareillage.....	10

II.2. METHODES	10
II.2.1. Extraction des composés phénoliques.....	10
II.2.2. Dosage des polyphénols totaux.....	11
II.2.3. Evaluation de l'activité anti-radicalaire	13
III. RESULTATS ET DISCUSSION.....	14
III.1. Rendement de l'extraction des composés phénoliques.....	14
III.2. Dosage des polyphénols totaux	14
III.3. Activité anti-radicalaire des extraits éthanoliques	16
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	21
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	22
ANNEXES	22
ANNEXE 1	IX
ANNEXE 2:.....	IX

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Production mondiale de la tomate (FAO, 2014).....	3
Figure 2: Les formes de tomates: (1) aplati, (2) légèrement aplati, (3) ronde, (4) ovale, (5) cordiforme, (6) cylindrique, (7) pyriforme, (8) obovoïde.....	5
Figure 3: (A) différentes couleurs de tomates; (B) coupe longitudinale du fruit de la tomate.....	6
Figure 4: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	15
Figure 5: Teneur en polyphénols totaux.....	16
Figure 6: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	17
Figure 7: Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des différentes fractions éthanoliques.....	18
Figure 8: Variation moyenne du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des fractions éthanoliques de tomate Roma.....	19

LISTE DES PHOTOS

Photo 1: Feuilles et fleurs de tomate (SANOU, 2016).....	5
Photo 2: (A) réactif de Folin-Ciocalteu ; (B) DPPH (SANOU, 2016).....	IX
Photo 3: Spectrophotomètre JENWAY GENOVA RS 232 (SANOU, 2016).....	X
Photo 4: La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage (SANOU, 2016).....	X

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les fractions éthanoliques des échantillons de tomate.....	14
Tableau 2: CI ₅₀ des extraits éthanoliques.....	199
Tableau 3: Activité antioxydante des extraits éthanoliques.....	IX

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Au cours de la dernière décennie, une réelle prise de conscience de l'importance d'une alimentation riche en fruits et légumes est apparue, en particulier dans le cadre de la prévention de maladies métaboliques telles que les pathologies cardiovasculaires, l'obésité, le diabète, les maladies neurodégénératives, le cancer (Dai *et al.*, 2010). De multiples métabolites secondaires de ces aliments joueraient potentiellement un rôle dans cet effet protecteur. En effet, une consommation élevée de fruits et légumes a pu être associée à la diminution du risque de ces maladies (Garcia *et al.*, 2003). Dans ce contexte, de nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols, ont abouti à leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Pietta *et al.*, 2000 ; Kebbab, 2014). Leurs effets positifs qu'ils exercent sur l'organisme humain en leur qualité d'antioxydants ont commencé à être reconnus, notamment dans le domaine de la médecine préventive (Boss, 2002). Ils peuvent également participer à la bonne conservation de certains aliments transformés. Une étude menée en Algérie par Kebbab (2014) a montré que les polyphénols des margines limitaient l'oxydation des lipides contenus dans l'huile d'olive. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à évaluer la teneur en ces composés dans la tomate, *Solanum lycopersicum L.*, un légume-fruit très largement consommé en Afrique et dans le monde. Ainsi, nous nous sommes fixés pour objectif général de doser les polyphénols totaux et d'évaluer leur activité antiradicalaire. Pour atteindre cet objectif, nous avons d'abord extrait les composés phénoliques dans nos extraits, ensuite nous avons dosé les polyphénols totaux et enfin nous avons évalué leur activité antiradicalaire. Le plan de notre travail s'articule comme suit :

La première partie est une revue bibliographique. La deuxième partie porte sur la méthodologie utilisée et la troisième partie présente les résultats obtenus suivis de leur discussion.

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1. GENERALITES SUR LA TOMATE

La tomate (*Solanum lycopersicum*) est originaire des vallées fertiles du Mexique. Elle a d'abord été cultivée et améliorée par les Indiens du Mexique, sous le nom aztèque « tomatl », avant d'être ramenée en Europe par les conquistadores (De Broglie et Guérout, 2005). Après son introduction en Espagne au 16^{ème} siècle, cette espèce a été diffusée en Afrique où elle s'est très rapidement répandue.

La tomate se consomme comme un légume-fruit, crue ou cuite. Elle tient une place importante dans l'alimentation humaine : elle s'utilise crue en salade et en jus, ou transformée, sous forme de purée, de concentré, de condiment et de sauce notamment de « ketchup ». Ainsi, elle est devenue un élément essentiel de la gastronomie dans de nombreux pays et tout particulièrement au Burkina Faso.

L'espèce compte quelques variétés botaniques dont celles cultivées au Burkina Faso sont principalement : F1 Mongal, Buffalo, Savana F1, Cobra 26, Rodéo 14, Roma.

La plante de la tomate Roma est vigoureuse et productive. La plante produit des tomates allongées et ovales de couleur rouge de 60 à 70 g en moyenne. Leur chair ferme, douce et contenant peu d'eau est de bonne qualité. L'atout majeur de la tomate Roma est sa résistance aux maladies comme le mildiou, mais aussi au *Verticilium* et au *Fusarium*. Sa croissance est déterminée, ce qui signifie que la plante peut se cultiver sans taille et sans tuteurage. Dans ce cas, elle se développe au ras du sol et stoppe spontanément sa croissance dès qu'elle atteint une longueur de 1 m à 1,50 m (5 à 6 grappes florales). Dotées de cinq pétales, les fleurs sont jaunes ; les feuilles sont découpées et poilues. La tomate est riche en vitamines C, provitamines A et oligoéléments. Elle est cultivée d'avril à fin Juillet et récoltée d'août à fin Octobre. (NANKOSEM, 2016).

I.1.1. Importance économique et production mondiale

La tomate est la troisième espèce cultivée au monde après la pomme de terre et la patate douce, et le deuxième légume le plus consommé (De Broglie et Guérault, 2005). Ce légume (fruit) représente donc un enjeu économique et est soumis à une concurrence importante. Cent soixante-dix (170) millions de tonnes de tomates sont produites annuellement dans le monde ; cette production se répartit sur tous les continents : 60 % en Asie, 16 % en Amérique, 13 % en Europe, 11 % en Afrique (FAO, 2014).

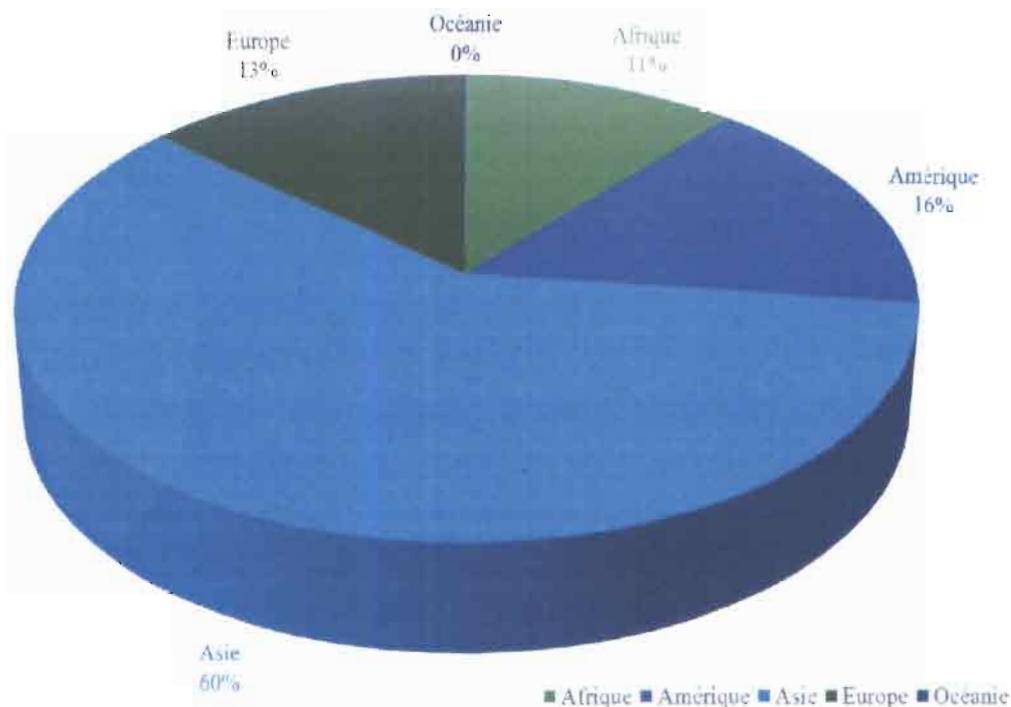


Figure 1: Production mondiale de la tomate (FAO, 2014)

1.1.2. Importance économique et production nationale

Au Burkina Faso, l'agriculture est la principale source de revenu pour les populations les plus pauvres et le pilier de la sécurité alimentaire du pays. Elle occupe plus de 80 % de la population et contribue pour environ 33 % au PIB (INSD, 2011 ; CEF COD, 2013). Au Burkina Faso, le maraîchage est pratiqué surtout en saison sèche. Il est pratiqué dans toutes les régions du pays sur 27 661 ha dont 9 529,23 ha soit 34,45 % de la superficie totale de

maraîchage est occupée par la culture de tomate (CEFCOD, 2013). Cette superficie est inégalement répartie dans les treize (13) régions du pays (MAH, 2011).

La production nationale de la tomate est de 179 217 tonnes soit 21 % de la production maraîchère totale. Cette production est destinée à la consommation locale et à l'exportation. En ce qui concerne la tomate fraîche, elle est surtout exportée vers le Ghana, le Togo, le Bénin, la Guinée Equatoriale et la Côte d'Ivoire (CEFCOD, 2013). Les exportations de la tomate uniquement en zone CEDEAO sont passées de 5 501,15 tonnes en 2008 à 18 185,708 tonnes en 2011 avec une recette d'exportation de 596 millions à 795 millions durant ces mêmes années. La valeur totale des ventes de la tomate était estimée à 17 469 073 587 FCFA soit 21 % du chiffre d'affaires du maraîchage (MAH, 2011). Ainsi, la production de tomate est une source de revenus monétaires pour les producteurs et le Burkina Faso en général.

I.1.3. Description botanique

Classification selon Linné, 1753

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Solanales*

Famille : *Solanaceae*

Genre : *Solanum*

Espèce: *Solanum lycopersicum L.*, 1753

Les feuilles de tomate sont alternes et sans stipule. Elles sont composées, pennées, à sept, neuf ou onze segments ovales, incisés ou dentelés grossièrement et alternant avec des segments plus petits. Les fleurs sont actinomorphes, autogames, de couleur jaune et réunies en inflorescences pentamères (Photo 1), sauf le gynécée qui possède entre 2 et 5 carpelles (Abbeyes *et al*, 1963 ; Bénard, 2009).



Photo 1: Feuilles et fleurs de tomate (SANOU, 2016)

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, de forme variable (figure 2), et de couleurs variées selon les variétés (figure 3) (Renaud, 2003). Les graines sont réparties dans des loges remplies de gel. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta constitue la partie centrale du fruit (figure 3). Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés (Grassly *et al*, 2000).

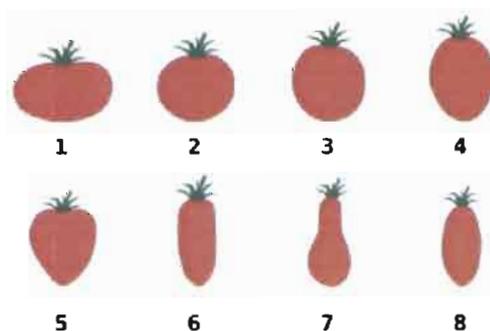


Figure 2: Les formes de tomates: (1) aplati, (2) légèrement aplati, (3) ronde, (4) ovale, (5) cordiforme, (6) cylindrique, (7) pyriforme, (8) obovoïde.

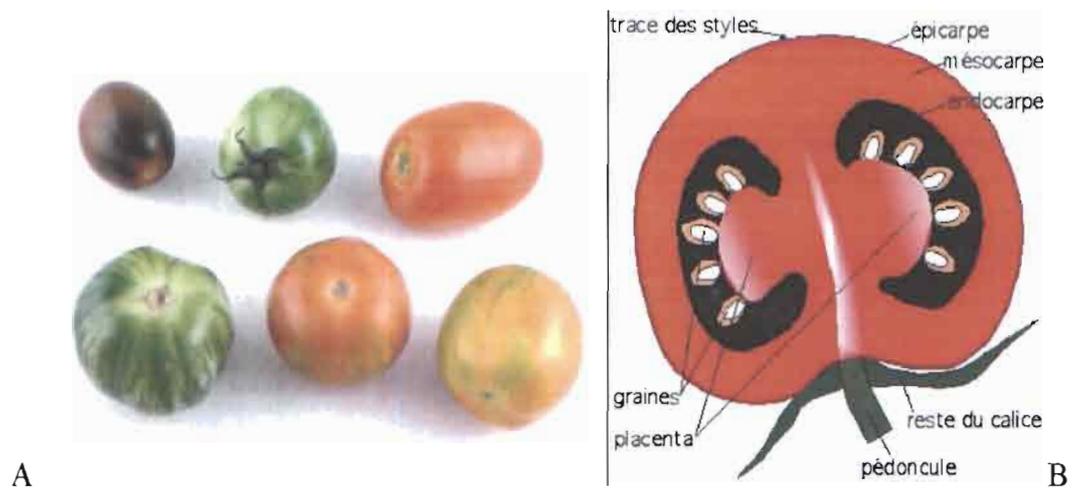


Figure 3: (A) différentes couleurs de tomates; (B) coupe longitudinale du fruit de la tomate.

I.1.4. Composition du fruit de la tomate

Les fruits de tomate sont majoritairement composés d'eau, environ 95 %, et possèdent peu de lipides et protides, ce qui en fait un aliment peu calorique, 15 à 20 calories pour 100g. Les tomates possèdent également de nombreuses vitamines : A, B₁, E et C, ainsi que des fibres (1,8 g pour 100 g MF), des acides aminés essentiels, des sels minéraux (potassium, chlore, magnésium, phosphore) et des oligoéléments (fer, zinc, cuivre, cobalt, bore, nickel, iode), ce qui en fait un aliment particulièrement recommandé par les diététiciens (De Broglie et Guérault, 2005). L'intérêt nutritionnel de la tomate réside également dans le fait que ce fruit contient de nombreux métabolites secondaires qui ont un pouvoir antioxydant. En effet, la tomate contient des polyphénols, des flavonoïdes comme la rutine et des dérivés d'acides hydroxycinnamiques comme l'acide chlorogénique (Moco *et al*, 2006). Le fruit de tomate contient également des caroténoïdes, comme le lycopène et le bêta-carotène, responsables de la couleur rouge et jaune respectivement de la tomate (Kozukue *et al*, 2004 ; Hireche, 2013).

I.2. GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS

I.2.1. Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées, allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai *et al.*, 2010).

I.2.2. Rôles des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique

et physique. Ils peuvent en effet intervenir dans la fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine; (Macheix *et al.*, 2005).

Les polyphénols contribuent également à la qualité nutritionnelle et organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Boubekri, 2014). Ce qui oriente les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation; (Macheix *et al.*, 2005).

I.3. GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS

I.3.1. Définition

Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E, β -carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique) (Hedhili, 2006). Selon Laroche *et al.* (2004), un antioxydant est « toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ».

En tant qu'additif alimentaire, un antioxydant est une molécule qui protège les aliments contre les réactions d'oxydations qui accélèrent leur vieillissement (Hedhili, 2006). Ceci est dû essentiellement à l'oxygène de l'air, la lumière, les traces de métaux et éventuellement certaines enzymes.

I.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants sur les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (« libre») en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (Boss, 2002). Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte

énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent (Boss, 2002).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006 ; Manallah, 2012).

I.3.3. Rôles des antioxydants

Dans la plante, les antioxydants jouent plusieurs rôles. En effet, les caroténoïdes participent à la phase claire de la photosynthèse par capture de l'énergie solaire à des longueurs d'onde différentes des chlorophylles et transmettent cette énergie aux molécules de chlorophylle (Hedhili, 2006). Ils Protègent la chlorophylle contre la photo-oxydation. Ils jouent aussi un rôle dans l'attraction des animaux par coloration des fleurs et des fruits en vue de la pollinisation et de la dispersion des graines (Hedhili, 2006).

Chez l'Homme des études épidémiologiques mettent en avant les effets bénéfiques de la consommation de fruits et légumes riches en antioxydants pour lutter contre des maladies dégénératives comme les cancers ou les maladies neurodégénératives, mais aussi pour prévenir les maladies cardiovasculaires, l'obésité ou le diabète (Tomas-Barberan et Gil, 2008 ; Hireche, 2013).

Les produits agroalimentaires sont riches en fractions lipidiques susceptibles de subir des transformations chimiques et des dégradations sous l'influence de facteurs extérieurs tel que la chaleur, la lumière, la présence d'oxygène. Cela peut conduire non seulement à la perte des propriétés odoriférante, organoleptique ou nutritionnelle mais aussi parfois à l'apparition de problèmes d'irritation ou allergie dus aux produits formés. Les dégradations résultent le plus souvent d'un processus oxydatif impliquant des radicaux. Les antioxydants jouent un rôle dans la chélation de ces radicaux libres (Hedhili, 2006).

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel végétal

La variété (Roma) de tomate étudiée provient de la région des Hauts-Bassins durant le mois d'août. La tomate est récoltée à pleine maturité, nettoyée et emballée dans des sachets alimentaires pendant toute la durée des essais. Pour la fiabilité de nos résultats, nous avons prélevé trois (3) échantillons sur le site de récolte.

II.1.2. Solvants et réactifs

Les solvants et réactifs utilisés dans cette étude sont de grades analytiques et ils sont les suivants: méthanol, Folin-Ciocalteu, bicarbonate de sodium, DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle), acide gallique, éthanol 70°, Quercétine.

II.1.3. Appareillage

Les différents appareils utilisés pour nos analyses sont: balance analytique de précision de paillasse (CP 124 S), broyeur (Retsch GM 200), spectrophotomètre (JENWAY GENOVA RS 232), évaporateur rotatif (BÜCHI R-200).

Consommables : cuves, cônes, micropipettes, filtres wattman, béchers, Tubes NUNC.

II.2. METHODES

II.2.1. Extraction des composés phénoliques

L'objectif de cette extraction est de libérer les composés phénoliques présents dans des structures vacuolaires par rupture de la membrane cellulaire et vacuolaire et par diffusion.

Ces composés ont été extraits en utilisant l'éthanol comme solvant.

II.2.1.1. Préparation des échantillons

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. Les tomates entières ont été lavées à l'eau simple puis rincées avec l'eau distillée avant d'être découpées en lamelles à l'aide d'un couteau pour faciliter le broyage.

II.2.1.2. Broyage

Les lamelles de tomate ont été réduites en pattes à l'aide d'un broyeur électrique (Retsch GM 200) réglé à 8000 tours pendant 30 secondes.

II.2.1.3. Extraction

Le broyat (200g) a été macéré avec 300 ml d'éthanol 70° dans une fiole jaugée, à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 48 heures sous agitation mécanique. L'opération est répétée sur les deux (2) autres échantillons. Les mélanges ont été ensuite filtrés une première fois sur du coton hydrophile et une deuxième fois sur du papier Wattman. Les filtrats obtenus ont été évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (BÜCHI R-200) à une température de 79 - 80 °C. Les extraits secs obtenus ont été conservés au réfrigérateur à 3°C jusqu'à leur utilisation.

Les rendements des extractions des différentes fractions éthanoliques des échantillons de tomates sont calculés suivant la formule ci-dessous:

$$R (\%) = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{échantillon}}} \times 100$$

R : rendement (en pourcentage)

M_{extrait} : masse de l'extrait en gramme

M_{échantillon} : masse du broyat en gramme

II.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la procédure décrite par Singleton et *al.* (2008). Elle repose sur la grande oxydabilité des composés phénoliques. Le réactif

utilisé est un mélange de phosphomolybdate et de tungstate de sodium, qui est réduit lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin en un mélange de bleus de tungstène et de molybdène. Le réactif de Folin-Ciocalteu voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction –OH des phénols.

Pour le dosage des polyphénols totaux, chaque extrait hydroalcoolique a été préparé à 1mg/mL (solution mère). La solution pure de Folin-Ciocalteu est diluée au 1/10 et la solution de Na₂CO₃ est préparée à 75 g/L. Par contre, pour établir la courbe étalon, une gamme de solution d'acide gallique de 0 à 100 µg/mL d'acide gallique a été préparée. Les polyphénols totaux ont été dosés dans des cuves. Pour les cuves test, nous avons introduit 500 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 100 µl d'extrait, tandis que pour l'établissement de la courbe étalon, 500 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 100 µl d'acide gallique ont été mis en cuves. Les cuves ont été ensuite incubées à la température ambiante dans l'obscurité. Après 15 minutes d'incubation nous avons ajouté dans chaque cuve 400 µl de Na₂CO₃. Le blanc est constitué de tous les réactifs et 100 µl de méthanol (il ne contient ni extraits de *Solanum lycopersicum* ni acide gallique). La lecture des densités optiques (DO) a été faite à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY GENOVA RS 232). La densité optique réelle de chaque échantillon est donnée par la formule suivante :

$$DO_r = DO_{théorique} - DO_{blanc}$$

DO_r : densité optique réelle; *DO_{théorique}* : densité optique lue; *DO_{blanc}* : densité optique du blanc.

La proportion en composés polyphénoliques totaux est obtenue en reportant les DO réelles des échantillons dans l'équation de régression de la courbe étalon établi avec des concentrations précises d'acide gallique comme standard, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Cette expérience a été répétée trois fois et les résultats sont exprimés en grammes d'Equivalent Acide Gallique (EAG) dans 100 g d'extrait sec.

II.2.3. Evaluation de l'activité anti-radicalaire

L'activité antiradicalaire a été évaluée en utilisant le test de DPPH. Le composé chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible (Wu, 2007 ; Boubékri, 2014).

L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de cette coloration violette due à la recombinaison des radicaux DPPH', mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002 ; Manallah, 2012).

La technique utilisée est décrite comme suit : dans un premier temps, une solution de DPPH a été préparée à 20 mg/L dans du méthanol. Les solutions mères des extraits ont été préparées à 2 mg/mL dans du méthanol. La solution de quercétine utilisée comme antioxydant de référence a été préparée à 400 µg/mL (solution mère).

Les solutions d'extraits et de quercétine ont été chacune mélangées à la solution de DPPH dans des cuves à des proportions de 2V/V. Les concentrations finales d'extraits ont été rangées entre 3,9 µg/mL et 500 µg/mL et celles de la quercétine entre 0 et 50 µg/mL. La solution de DPPH dans du méthanol a été utilisée comme blanc. Chaque cuve test ou blanc a été rempli en triplicata. Les cuves ont été incubées à la température ambiante à l'obscurité pendant 15 minutes. Après incubation, les densités optiques des solutions de chaque cuve ont été lues par spectrophotométrie (JENWAY GENOVA RS 232) à 517 nm. La capacité de chaque extrait à piéger les radicaux libres de DPPH a été déterminée selon la méthode de Montalleb *et al.*, 2005) telle que donnée par la formule suivante :

$$\% I = [(DO_{\text{blanc}} - DO_{\text{échantillon}}) / DO_{\text{blanc}}] \times 100$$

% I : pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH ; *DO_{blanc}* : densité optique du DPPH dans le méthanol ; *DO_{échantillon}* : densité optique lue pour chaque échantillon.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendement de l'extraction des composés phénoliques

Le rendement désigne le rapport de la masse de l'extrait sur la masse du broyat, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du broyat soumis à l'extraction.

Le tableau 1 donne la valeur moyenne des rendements d'extraction.

Tableau 1: Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les fractions éthanoliques des échantillons de tomate

Echantillons	Poids de l'extrait sec (g)	Rendement (%)
E1	11,14	5,57
E2	11,54	5,77
E3	11,77	5,89
Moyenne	11,48 ± 0,32	5,74 ± 0,15

Les résultats de l'extraction des composés phénoliques (tableau 1) montrent un rendement moyen d'extraction de $5,74 \pm 0,15$ %.

Le rendement d'extraction en polyphénols augmente avec le temps de contact et le type du solvant d'extraction (méthanol, éthanol, eau distillée, etc.) (Lapornik *et al.*, 2004). En effet, ceux-ci agissent sur la quantité de polyphénols extraite. Les extraits obtenus ont été utilisés pour la quantification des polyphénols totaux.

III.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur des composés phénoliques contenus dans les extraits hydroalcooliques.

Avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques totaux, nous avons établi une courbe d'étalonnage (**Figure 4**) en utilisant l'acide gallique comme composé de référence. La courbe étalon nous a permis d'obtenir une équation de

régression ($y = 0,0188x + 0,0334$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,996$. Les teneurs en composés phénoliques totaux (**Figure 5**) ont été obtenues en rapportant les densités optiques mesurées sur cette équation de régression.

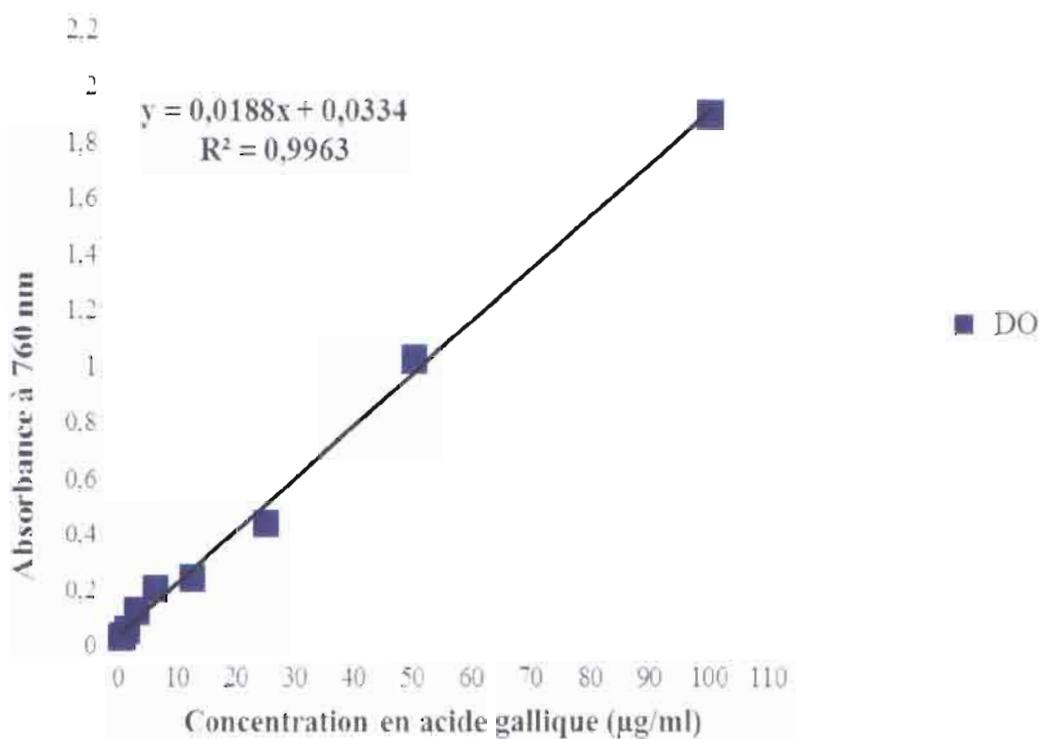


Figure 4: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

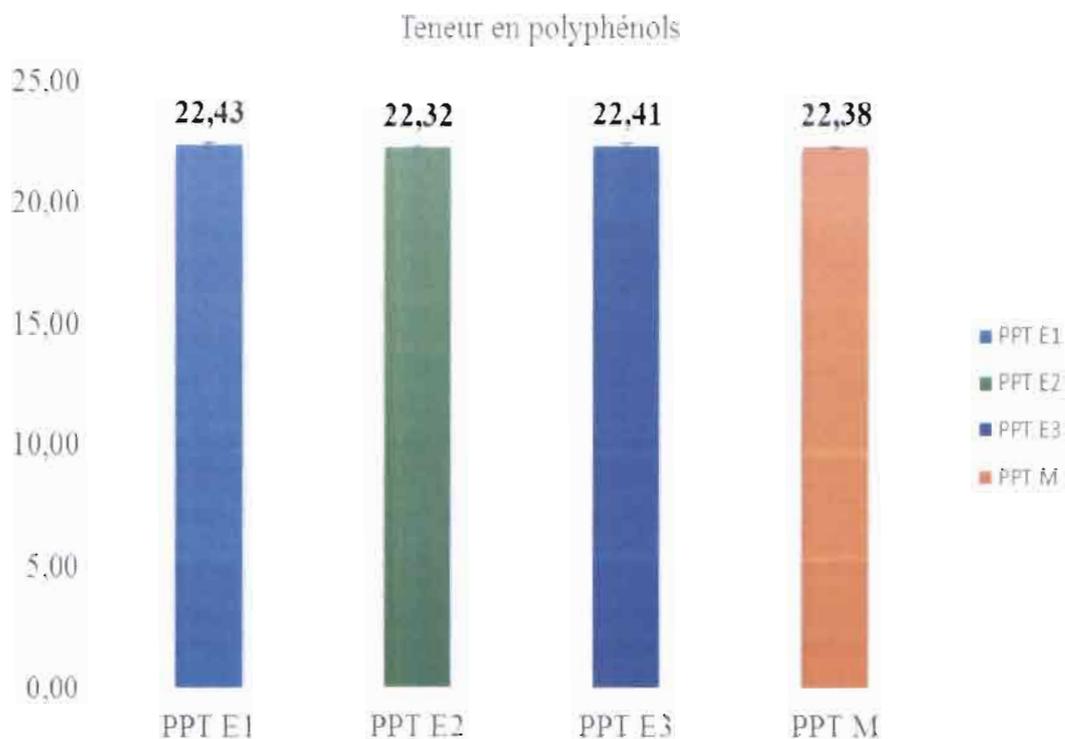


Figure 5: Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits hydroalcooliques sont respectivement $22,43 \pm 0,10$ mg EAG/100 g d'extrait, $22,32 \pm 0,11$ mg EAG/100 g d'extrait et $22,43 \pm 0,12$ mg EAG/100 g d'extrait ; ce qui nous permet d'avoir une moyenne de $22,38 \pm 0,18$ mg EAG/100 g d'extrait.

L'étude menée par Ramandeep *et al* en 2005 sur la teneur en polyphénols de la tomate cerise a noté des valeurs de 29,1 mg EAG/100 g dans la pelure, 12,7 mg EAG/100 g dans la purée et 22,0 mg EAG/100 g dans les graines. Cette différence serait due à plusieurs facteurs comme la situation géographique, la variété, les conditions climatiques, la période de récolte et le mode d'extraction (Kebbab, 2014).

III.3. Activité anti-radicalaire des extraits éthanoliques

Avant de procéder à la détermination de l'activité antiradicalaire, nous avons établi une courbe d'étalonnage (**Figure 6**) en utilisant la quercétine comme composé de référence.

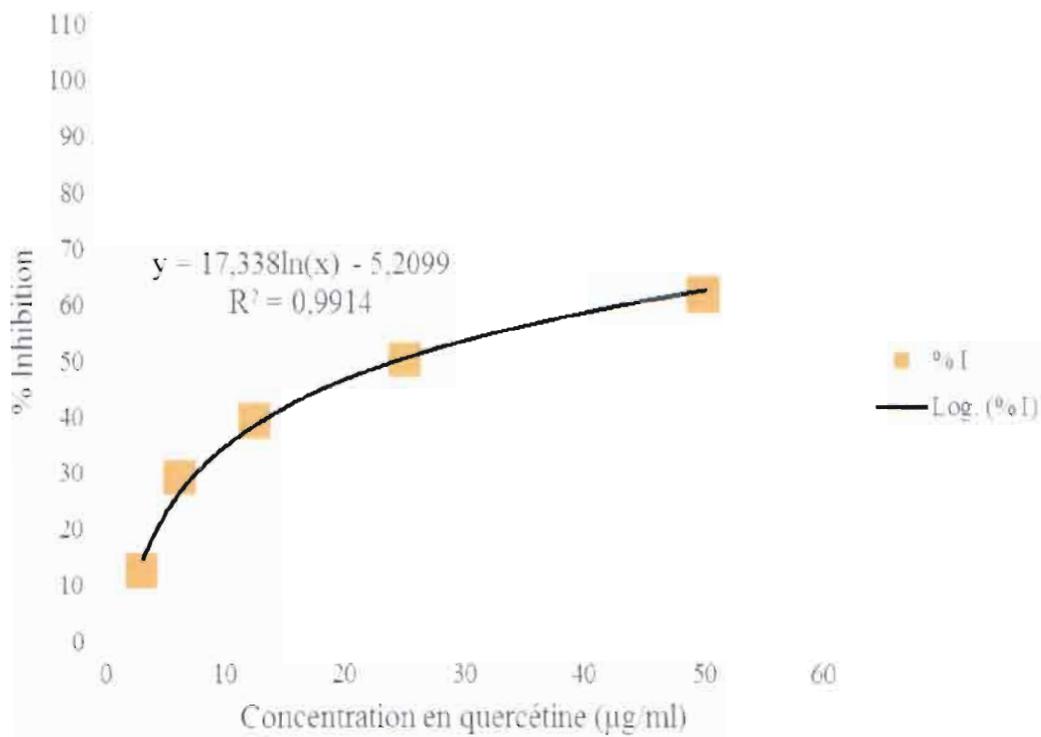


Figure 6: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les variations du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des différentes fractions éthanoliques des trois (03) échantillons sont représentées par la **figure 7**.

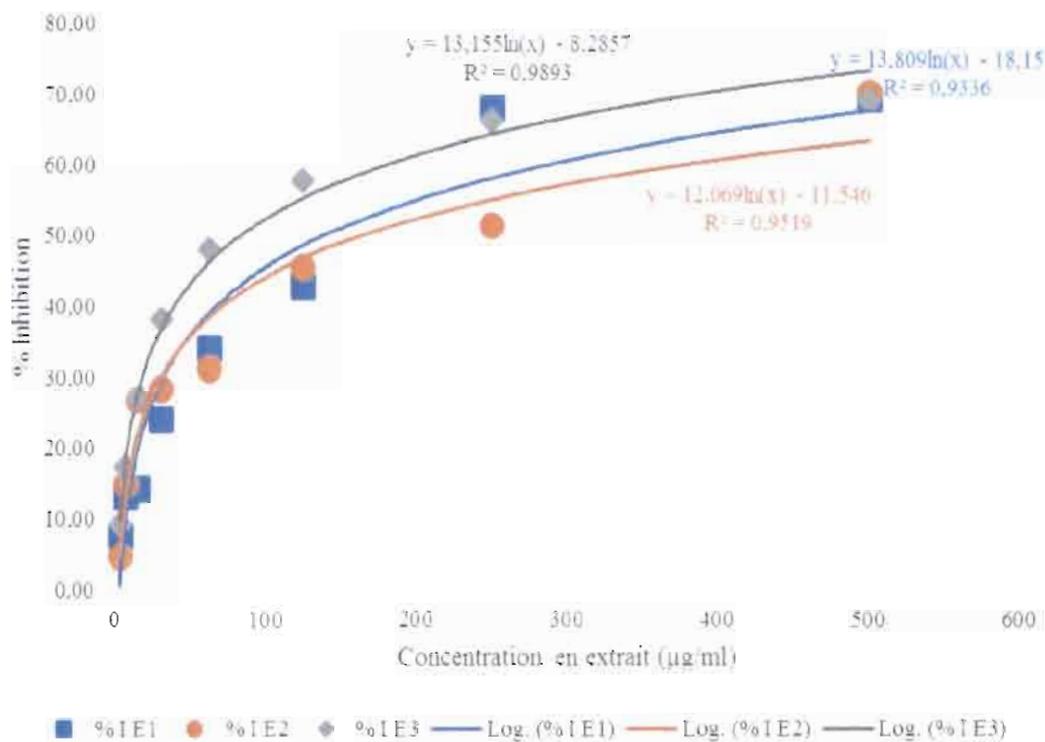


Figure 7: Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des différentes fractions éthanoliqes.

Les différents pouvoirs d'inhibition de nos trois (03) échantillons nous ont permis d'avoir le pouvoir d'inhibition moyen de l'échantillon de tomate Roma utilisée pour nos analyses. Ce pouvoir d'inhibition moyen est représenté par la **figure 8**.

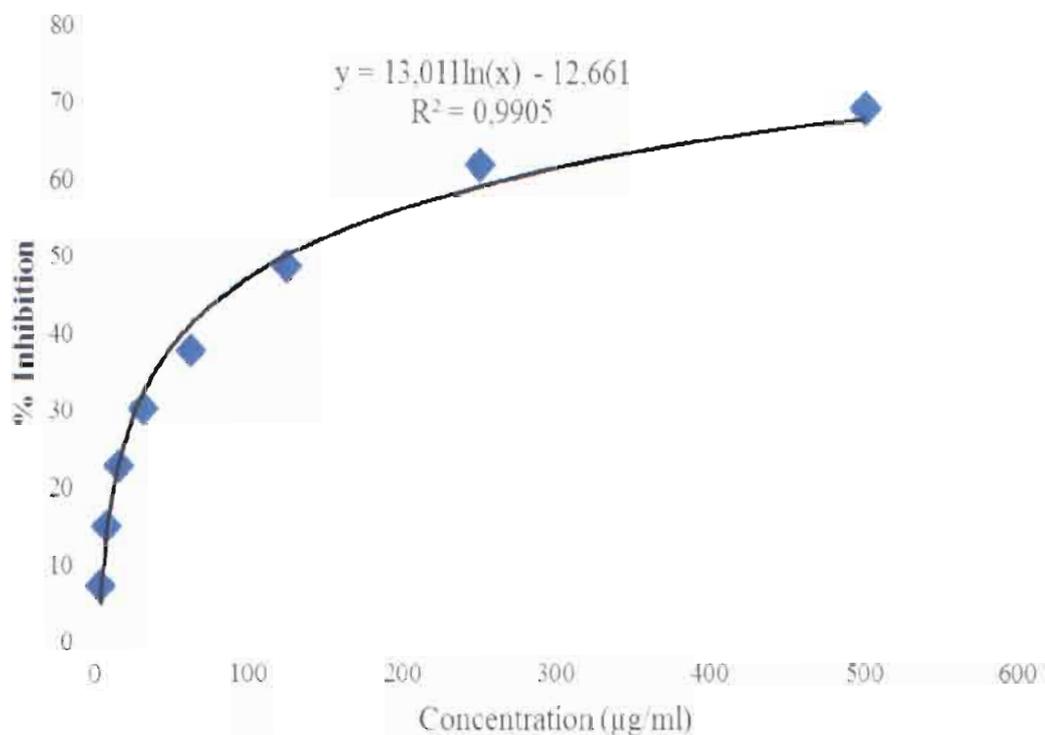


Figure 8: Variation moyenne du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des fractions éthanoliques de tomate Roma.

La CI_{50} est la concentration de l'extrait qui permet de réduire 50 % des radicaux libres. Pour calculer la CI_{50} , on détermine l'équation de la droite de régression pour chaque courbe et on calcule pour une inhibition de 50 % la concentration correspondante. Les valeurs des CI_{50} des différents échantillons sont consignées dans le tableau 2. Ces valeurs sont exprimées en mg/ml

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)
E1	0,08
E2	0,16
E3	0,14
Moyenne	$0,13 \pm 0,04$

Tableau 2: CI_{50} des extraits éthanoliques

Les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants par leur capacité de piégeage des radicaux libres. L'évaluation de l'activité antiradicalaire nous a donné une CI_{50} pour chaque échantillon analysé (tableau 2); ce qui signifie que toutes les fractions

éthanoliques des échantillons étudiées possédaient une activité antioxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH. La valeur de la CI_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé ; elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50 % de la concentration du radical libre. Le tableau 4 montre les valeurs moyennes des CI_{50} des différents extraits. Plus la CI_{50} est faible plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Harrar, 2012). Ainsi E2 (0,16 mg/ml) présente l'activité antioxydante la plus faible et est suivi d'E3 (0,14 mg/ml). E1 présente donc l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une CI_{50} de 0,08 mg/ml. Ce qui nous donne une moyenne de CI_{50} de $0,13 \pm 0,04$ mg/ml. Ces variations peuvent être dues à la composition des extraits en molécules anti-oxydantes (Kebbab, 2014). Ce résultat est confirmé dans la publication de Ramandeep *et al.* (2005) qui ont montré que les flavonoïdes et les anthocyanes sont les composés majeurs des baies et ils présentent une activité antioxydante élevée. Nous pouvons donc dire que les extraits éthanoliques de la variété de tomate Roma analysés présentaient en général une activité antiradicalaire intéressante. Ces résultats confirment les données de la littérature, qui ont classé la tomate dans la catégorie des antioxydants naturels (Messaouda, 2012). Ces résultats montrent que l'utilisation des tomates ou des produits de tomate qui sont riches en antioxydants permettrait mieux de protéger nos aliments contre l'oxydation due aux radicaux libres responsables des maladies cardiovasculaires et certains cancers.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La famille des polyphénols renferme de nombreux composés d'intérêt nutritionnel et valorisables dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés réductrices (antioxydant). La tomate, fruit largement consommé frais mais aussi sous forme transformée, est reconnue pour ses qualités nutritionnelles étant riche en métabolites secondaires, tels les caroténoïdes (lycopène en particulier), les composés phénoliques et la vitamine C. La quantification de ces métabolites secondaires à savoir les polyphénols totaux, dans cette étude a été réalisée par le test de Folin-Ciocalteu. L'évaluation de leur activité antiradicalaire a été réalisée par le test de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que la tomate Roma contient des composés polyphénoliques totaux de l'ordre de $22,38 \pm 0,18$ mg EAG/100 g d'extrait et possède une activité antioxydante intéressante ; la CI_{50} étant de $0,13 \pm 0,04$ mg/ml.

À la lumière de nos résultats, nos suggestions et recommandations sont les suivantes afin d'élaborer des interventions nutritionnelles et des recherches futures visant à prévenir ou à ralentir le déclin cognitif:

- Utiliser les extraits éthanoliques de la tomate Roma comme antioxydants naturels dans la stabilisation des aliments ;
- augmenter la consommation de fruits et produits de fruits notamment de la tomate ;
- valoriser les sous-produits de tomates au niveau du marché local ;
- inciter les agriculteurs à s'intéresser plus à la culture de la tomate afin d'augmenter leur consommation et leur commercialisation sur tout le territoire Burkinabè.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Bénard C.**, 2009. *Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate*. Thèse de Doctorat : Université de NANCY-Faculté agronomie et environnement. 261 pages.
- **Boss I.P.L.**, 2002. *Etudes des activités biologiques fagara xanthoxyloides LAM (Rutaceae)*. Thèse de Pharmacie, Bamako. 133 pages.
- **Boubékri C.**, 2014. *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*. Thèse de Doctorat : Université Mohamed Khider – Biskra- Faculté des Sciences exactes, des sciences de la nature et de la vie. 210 pages.
- **CEFCOD**, 2013. *Situation de référence des principales filières agricoles au Burkina Faso*. 208 pages.
- **Cheyrier V.Sarni-Manchado P.**, 2006. *Structures phénoliques et goût : Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier. 398 pages.
- **Dai, J. & Mumper R. J.**, 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. *Molecules* 15(10), 7313-52.
- **De Broglie L. A. Guérault D.**, 2005. *Tomates d'hier et d'aujourd'hui*. Lavoisier, 20 pages.
- **HARRAR A. E. N.**, 2012. *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L.* Mémoire de Magister : Université Ferhat Abbas-Sétif. 95 pages.
- **Hedhili L.**, 2006. *Les antioxydants dans les aliments*. Cours de licence : Université du 7 Novembre à Carthage. 49 pages.
- **Hireche M.**, 2013. *Dosage des polyphénols de la tomate « Agora » et étude de leur pouvoir antioxydant*. Mémoire de Master 2 : Université de Hassiba Ben Bouali–Chleff. 85 pages.
- **Kebbab R.**, 2014. *Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des*

margines d'olives de la variété Chamlal : évaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mémoire de Magister : Université Mouloud Mammeri de Tzi-Ouzou. 171 pages.

- **Lapornik B., Prosek M., Wondra A.L., 2004.** Comparison of extracts prepared from plant by products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* Article in press.
- **Laroche M., Anton PM, Garcia R., 2003,** *Protective effect of dietary nitrate on experimental gastritis in rats.* Br J Nutr, 89: 777-86.
- **Macheix J.-J., Fleuriet, F. & Jay-Allemand C., 2005.** *Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* PPUR presses polytechniques. 134 pages.
- **MAH, 2011.** *Rapport général du module maraîchage.* 318 pages
- **Manallah A., 2012.** *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L.* Mémoire de Magister : Université Ferhat Abbas-Sétif-Faculté des sciences de la nature et de la vie. 132 pages.
- **Moco S., Bino R. J., Vorst O., Verhoeven H. A., De Groot J., Van Beek T. A., Vervoort J., De Vos C. H. R., 2006.** *A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato.* Plant Physiology. 141 pages.
- **NANKOSEM, 2016,** *Fiche technique de production de la tomate,* 1 page.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V., 2006.** *Les polyphénols en agroalimentaire.* Lavoisier, Ed. Tec & Doc. 398 pages.
- **Pietta P. G., 2000.** *Flavonoids as antioxydants.* *Journal of Natural Products.* 63: 1035-1042.
- **Renaud V., 2003.** *Tous les légumes courants, rares ou méconnus cultivables sous nos climats.* Eugen Ulmer, Paris. 164 pages.

Site web consulté :

www.faostat.org, consulté le 28 janvier 2017.

ANNEXES

ANNEXE 1

Concentrations	Echantillons			
	% I E1	% I E2	% I E3	% I M
500µg/ml	69,48	70,45	68,99	69,64 ± 0,74
250µg/ml	68,06	51,56	66,18	61,93 ± 9,03
125µg/ml	42,81	45,52	57,78	48,70 ± 7,97
62,5µg/ml	34,06	31,11	47,92	37,70 ± 8,97
31,25µg/ml	23,99	28,37	38,19	30,19 ± 7,27
15,63µg/ml	14,31	26,94	27,01	22,75 ± 7,32
7,81µg/ml	13,06	14,76	17,22	15,01 ± 2,09
3,9µg/ml	7,53	4,69	9,10	7,11 ± 2,24

Tableau 3: Activité antioxydante des extraits éthanoliques

ANNEXE 2:

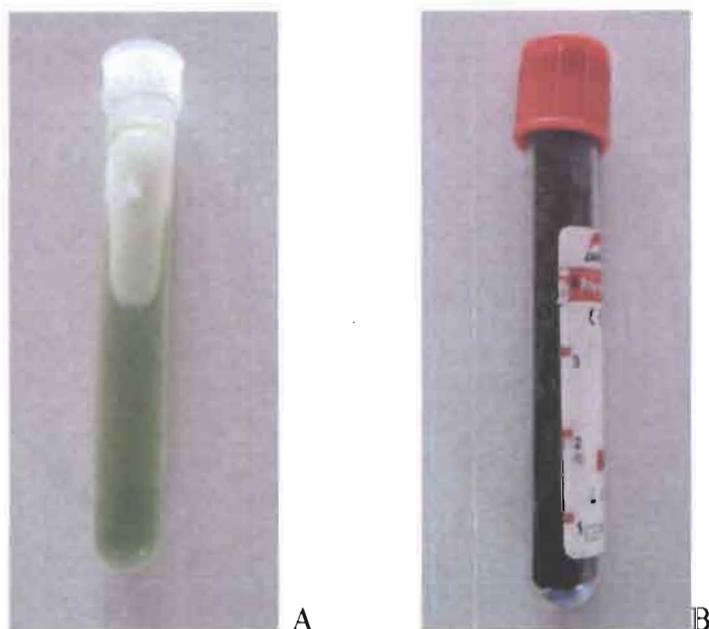


Photo 2: (A) réactif de Folin-Ciocalteu ; (B) DPPH (SANOU, 2016)



Photo 3: Spectrophotomètre JENWAY GENOVA RS 232 (SANOU, 2016)



Photo 4: La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage (SANOU, 2016)