

03/2020

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF M'SILA
Faculté des Sciences
Département de Biochimie et Microbiologie
1^{ère} année Master : *Biochimie appliquée*

TP : Biochimie appliquée



TP : Extraction et dosage de polyphénols d'une plante médicinale

1. Matériels

1.1. Matériel biologique

Plante : le nom scientifique et vernaculaire, la date et la région de récolte, identification

1.2. Matériels chimiques

Méthanol, eau distillée, réactif de Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium, acide gallique.

1.3. Verrerie, appareillage et autres matériels

Erlenmeyer, barreau, entonnoir, coton, papier filtre, emboues, pipettes, tubes à essai.

Agitateur, étuve, vortex, spectrophotomètre.

2. Méthodes

2.1. Séchage : dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière.

2.2. Broyage : à l'aide d'un mortier ou d'un broyeur électrique.

2.3. Macération

- ✓ Peser 10 g de la matière sèche (en poudre) d'une plante médicinale.
- ✓ Mettre la (10 g de la matière sèche) dans un erlenmeyer.
- ✓ Ajouter 100 ml de méthanol pour dissoudre la matière sèche.
- ✓ Agiter le mélange puis laisser le pendant 24h.

2.4. Filtration : le mélange est par la suite filtré au travers du coton puis du papier filtre à l'aide d'un entonnoir.

2.5. Séchage : dans l'étuve à 40°C.

2.6. Calcul du Rendement : calculer le rendement d'extraction par rapport de 100 g de matière sèche

2.7. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux dans le différent extrait est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

Mode opératoire

Mettre 20 µl de chaque extrait de *R. alaternus* dans des tubes à essais ; ajouter 1.58 ml d'eau distillée et 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans H₂O distillée (v/v) dans chaque tube ; agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 300 µl de carbonate de sodium à 7.5%.

Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible (Spectronic 20 Genysis TM) à 760 nm.

Effectuer la même opération pour l'acide caféique à différentes concentrations en introduisant 20 µl de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs.

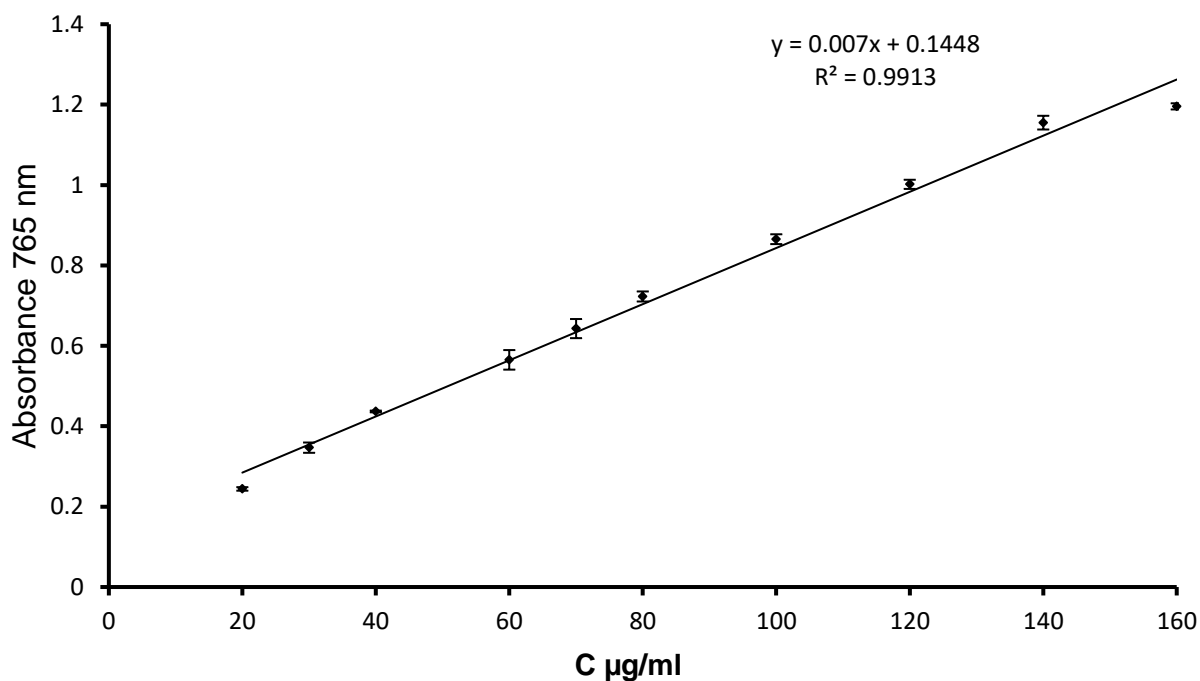
Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, de l'eau distillée et de carbonate de sodium.

Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de *R. alaternus* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide caféique comme standard.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide caféique/ g de matière fraîche.

Concentration (µg/ml)	20	30	40	60	70	80	100	120	140	160
Absorbance	0,244	0,346	0,436	0,565	0,642	0,722	0,865	1,001	1,155	1,195



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

TP1 Biochimie appliquée le 02/03/2020

Folin-Ciocalteu

L'acide gallique

Carbonate de sodium

H₂O distillée

Ethanol

25 Tubes à essai

Trois fioles jaugées de 50 ml

Trois béchers de 50 ml

Embouts

Vortex

Spectrophotomètre