

## TP N° 02 : Extraction des composés phénoliques du thé par macération, infusion et décoction

### 1. Introduction

Les composés phénoliques, présents dans de nombreuses plantes, sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. L'extraction des composés phénoliques à partir du thé peut être réalisée par différentes méthodes, chacune ayant des avantages et des limitations en termes de rendement, de durée et de qualité des extraits obtenus. Parmi ces méthodes, la **macération**, l'**infusion** et la **décoction** sont des techniques simples et largement utilisées dans les processus d'extraction de molécules à intérêt fonctionnel à partir de plantes.

#### Objectifs :

- Déterminer la teneur en composés phénoliques totaux ;
- Déterminer la teneur en flavonoïdes totaux ;
- Etudier l'effet de la température sur l'extraction des composés phénoliques ;
- Analyser statistiquement les résultats obtenus.

### 2. Matériel et Méthodes

Les feuilles du thé vert sont séchées au préalable et vont servir comme matière végétale sèche contenant des composés phénoliques.

#### 2.1. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

##### Macération :

- ☒ Peser 250 mg du matériel végétal dans un bécher ;
- ☒ Verser 100 ml de l'eau distillée.

##### Infusion :

- ☒ Peser 250 mg du matériel végétal dans un bécher ;
- ☒ Verser 100 ml de l'eau bouillante.

##### Décoction :

- ☒ Peser 250 mg du matériel végétal dans un bécher ;
- ☒ Verser 100 ml de l'eau bouillante tout en maintenant la température à 100°C.
- ✓ Laisser le mélange sous l'agitation pendant 15 min ;
- ✓ Laisser refroidir le mélange ;
- ✓ Filtrer à l'aide d'une passoire, puis par un papier filtre ;
- ✓ Conserver les extraits à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation ;

- ✓ Diluer l'extrait à 1/10<sup>ème</sup>.

## 2.2. Détermination des Composés Phénoliques Totaux

Pour quantifier les composés phénoliques une méthode colorimétrique sera utilisée pour mesurer la concentration en polyphénols dans les extraits du thé.

### ☒ Principe de la méthode

La teneur en composés phénoliques totaux est déterminée selon la méthode de *Singleton et Rossi (1965)* en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est constitué d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Ces acides peuvent être réduits par les composés phénoliques, en milieu alcalin, en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la teneur en composés phénoliques.

### ➤ Dosage des composés phénoliques

- ☒ Ajouter **500 µL d'extrait** dans un tube à essai ;
- ☒ Ajouter **1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu** ;
- ☒ Laisser le mélange réactionnel pendant 3 min ;
- ☒ Ajouter **800 µL du carbonate de sodium (7,5%)** ;
- ☒ Fermer et agiter bien les tubes à essai ;
- ☒ Incuber le mélange réactionnel pendant 15 min ;
- ☒ Mesurer l'absorbance à 765 nm.

### a. Détermination des Flavonoïdes Totaux

#### ☒ Principe de la méthode

La teneur en flavonoïdes totaux (FT) est déterminée selon la méthode décrite par *QuettierDeleu et al. (2000)*. Les ions  $Al^{3+}$  du chlorure d'aluminium se fixent sur les atomes d'oxygène présents sur les atomes de carbone 4 et 5 d'un flavonoïde. Le complexe jaunâtre formé absorbe à 430 nm. L'intensité de la couleur de ce complexe est proportionnelle à la teneur en flavonoïdes.

### ➤ Dosage des flavonoïdes totaux

- ☒ Mettre **1 mL d'extrait** dans un tube à essai ;
- ☒ Ajouter **1 mL de chlorure d'aluminium (2%)** ;
- ☒ Fermer et agiter bien les tubes à essai ;
- ☒ Incuber le mélange réactionnel pendant 10 min ;
- ☒ Mesurer l'absorbance à 430 nm.

### 3. Résultats et discussion

1. Calculez la concentration en composés phénoliques en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une solution standard d'**acide gallique** (TP1) (la teneur en composés phénoliques exprimée en g équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche (g EAG/100 g MS) (Compléter le tableau 1).

**Tableau 1.** Teneurs en composés phénoliques totaux du thé extraits par trois méthodes d'extraction

	Abs test 1	Abs test 2	Abs test 3	CP test 1	CP test 2	CP test 3	Moyenne	Ecartype
<b>M</b>								
<b>I</b>								
<b>D</b>								

2. Calculez la concentration en flavonoïdes totaux en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une solution standard de quercétine (TP1) (La teneur en flavonoïdes totaux exprimée en g équivalent de quercétine par 100 g de matière sèche (g Q/100g MS) (Compléter le tableau 2).

**Tableau 2.** Teneurs en flavonoïdes totaux du thé extraits par trois méthodes d'extraction

	Abs test 1	Abs test 2	Abs test 3	FT test 1	FT test 2	FT test 3	Moyenne	Ecartype
<b>M</b>								
<b>I</b>								
<b>D</b>								

3. Représenter vos résultats sous forme d'histogrammes en mettant les barres d'erreurs (écartypes) et les représentations statistiques (a, b, c).
4. Comparer entre les trois méthodes d'extraction.
5. Qu'en concluez-vous ?