

TP de PHARMACOGNOSIE

Dosage des polyphénols totaux

Introduction

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins.

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (Singleton et Rossi). Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines les plus diverses.

Dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu

Principe

Le réactif est 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 (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Mise en œuvre du dosage

L'extrait sec est dilué dans de l'eau pour obtenir une absorbance finale comprise entre 0,5 et 1. On réalise une gamme étalon en milieu aqueux (8 points de concentrations de 0 à 200 $\mu g.mL^{-1}$) avec un polyphénol témoin, en général de l'acide gallique.

Pour réaliser le dosage, 500 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau ultra pure) sont ajoutés à 100 μ L d'extrait dilué ou de point de gamme. On ajoute ensuite après 3 min 400 μ L de Na₂CO₃ (75g.L⁻¹).

Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénol est réalisé comme le point 0 μ g.ml⁻¹ de la gamme. Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités et incubés 5 min à 40°C.

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g de matière sèche.