



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie
Moléculaire et Cellulaire

قسم : البيوكيمياء و البيولوجيا
الجزئية و الخلوية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation des activités biologiques des graines de *Lupinus albus*

Présenté par : BAHCHACHI Rayenne

Le : 13 /06/2024

Harati Hasna

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. GUENDOUZE A.

MCB Université Constantine 1 Frères Mentouri.

Encadrante : Dr. KASSA LAOUAR M.

MCB Université Constantine 1 Frères Mentouri

Examinatrice : Dr. KLIBET F.

MCB Université Constantine 1 Frères Mentouri

Année universitaire
2023 –2024

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à Dieu pour nous avoir accordé la force, la sagesse et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce mémoire de fin d'études. Sans Ses bénédictions et Sa guidance constante, cette réalisation n'aurait pas été possible.

Je souhaite exprimer ma plus profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Sans leur soutien, leurs conseils et leur encouragement, ce travail n'aurait pas été possible

*Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de mémoire, Mme **KASSA LAOUAR M.**, pour son encadrement bienveillant, ses précieux conseils et sa disponibilité constante. Ses suggestions et critiques constructives ont été essentielles à l'élaboration et à l'amélioration de ce travail.*

*Je remercie également **Mr BOUDERSSA** Net les responsables de laboratoire de Biochimie et je remercie aussi **Mr BENSOUICI** Cet l'ensemble des professeurs et des membres du jury pour leurs enseignements et leurs remarques pertinentes qui ont enrichi ce mémoire.*

Enfin, je souhaite exprimer ma reconnaissance à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, que ce soit par leurs encouragements, leur aide technique, ou leurs conseils avisés

Dédicace

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont soutenue et inspirée tout au long de ce parcours académique.

À mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs encouragements sans faille. Vous m'avez toujours poussée à donner le meilleur de moi-même et à ne jamais abandonner merci d'avoir toujours été à mes côtés de m'avoir donné les moyens pour réaliser pour mes projets et d'avoir éclairé mon chemin vers la réussite.

*À mon frère **Tarek** et ma sœur **Amira** et mon beau-frère **Mohamed** et mon neveu **Yaniss** et ma nièce **Yasmine**, pour leur soutien moral et leurs mots d'encouragement qui ont été une source de motivation continue.*

À mes amis, pour leur camaraderie, leur soutien et leurs conseils précieux. Vos encouragements et votre patience ont été indispensables pour surmonter les moments difficiles.

*A mon binôme et mon amie **HARATI Hassna** qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.*

BAHCAHCHI Rayenne

Dédicace

*Je dédie ce travail à ce que j'ai de plus précieux, mes chers parents
: ma mère **Naïma** et mon père **Hassan**.*

*À mes sœurs, mon soutien dans la vie, ma jumelle **Rouaïda** et ma
grande sœur **Malak**.*

*À ma binôme et amie intime, celle qui a partagé avec moi les
moments de joie et de difficulté pendant ce travail, **Rayanne**
BAHCACHI.*

*À mes chères amies de l'université : **Rania, Halima, Rouane,**
Racha, Boutheïna et ma bien-aimée **Imane**.*

*À tous ceux qui me sont chers et qui m'ont soutenu, ne serait-ce
que par une prière sincère. À tous ceux qui ont contribué à la quête du
savoir*

HARATI Hassna

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre 1: Synthèse bibliographique	
1. Médecine traditionnelle.....	3
2. Plantes médicinales	3
3. Phytothérapie	4
4. <i>Lupinus albus</i>	4
4.1 Historique	4
4.2 Définition	4
4.3 Classification	5
4.4 Nomenclature	6
4.5 Description morphologique de <i>Lupinus albus</i>	6
4.6 Répartition géographique du <i>lupin blanc</i>	7
4.7 Composition chimique et propriétés	8
5. Huiles essentielles	8
5.1 Historiques.....	8
5.2 Définition	9
5.3 Identification des huiles essentielles	9
5.4 Fonction biologiques des huiles essentielles	9
5.5 Activité biologique des huiles essentielles	10
5.6 Extraction des huiles essentielles.....	10
6. Métabolites des plantes médicinales	10
6.1 Métabolites primaires.....	10
6.2 Métabolites secondaires.....	11
6.2.1. Composés phénoliques	12
6.2.1.1 Acides phénoliques simples (C6-C1 ou C6-C3)	14
6.2.1.2 Flavonoïdes	16
6.2.1.3. Tanins.....	17
6.2.2. Terpénoïdes.....	18
6.2.2.1 Saponosides	18

6.2.3 Alcaloïdes	19
------------------------	----

Chapitre 2: Matériel et méthodes

1. Objectif du travail	21
2. Echantillonnage	21
3. Lavage	21
4. Séchage	21
5. Broyage	22
6. Préparation de l'extrait et détermination du rendement	22
7. Mise en évidence des métabolites secondaires	24
7.1. Mise en évidence des alcaloïdes	24
7.1.1 Préparation de l'extrait	24
7.1.2 Procédure	24
7.2. Mise en évidence des tanins	25
7.3. Mise en évidence des tanins condensés	25
7.4. Mise en évidence des polyphénols	25
7.5. Mise en évidence des flavonoïdes	25
7.6. Mise en évidence des saponosides	25
8. Dosage des polyphénols	26
8.1. Principe de dosage	26
8.2. Mode opératoire	26
9. Dosage des flavonoïdes	26
9.1 Principe de dosage	26
9.2. Mode opératoire	27
10. Dosage des protéines	27
10.1 Principe de dosage	27
10.2 Mode opératoire	27
11. Evaluation de l'activité antioxydante	27
11.1. Activité anti radicalaire du radical DPPH	28
11.1.1 Principe	28
11.1.2 Procédure	28
11.2. Activité anti-radicalaire du radical ABTS	29
11.2.1 Principe	29
11.2.2 Procédure	29
11.3. Test de phénanthroline	29
11.3.1 Principe	29
11.3.2 Procédure	30

11.4. Pouvoir réducteur	30
11.4.1 Principe	30
11.4.2 Procédure	30
12. Activité Anti-inflammatoire	30
13 . Activité antimicrobienne	
13.1. Principe	31
13.2. Procédure	31
<u>Chapitre 3: Résultats et discussion</u>	
1. Rendement de l'extraction	32
2. Criblage des métabolites secondaire	32
2.1 Mise en évidence des alcaloïdes	33
2.2. Mise en évidence des tanins catéchiques	35
2.3. Mise en évidence des tanins condensés	35
2.3. Mise en évidence des polyphénols	36
2.4. Mise en évidence des flavonoïdes	37
2.5. Mise en évidence des saponosides	38
3. Teneur en polyphénols	39
3.1 Teneur en polyphénols totaux	39
3.2 Teneur en flavonoïdes	40
4. Teneur en protéines	41
5. Évaluation de l'activité antioxydante	41
6. Activité anti-inflammatoire	43
7. Activité antibactérienne	43
Conclusion générale	44
Références	44
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1.	Principaux métabolites secondaires	12
2.	Principales classes de composés phénoliques	14
3.	Résultats du criblage des métabolites secondaires.	33
4.	Mise en évidence des alcaloïdes dans les graines de <i>Lupinus albus</i> .	34
5.	Mise en évidence des tanins catéchiques dans les graines des <i>Lupinus albus</i>	35
6.	Mise en évidence des tanins condensés dans les graines de <i>Lupinus albus</i>	36
7.	Mise en évidence des polyphénols dans les graines de <i>Lupinus albus</i>	37
8.	Mise en évidence des flavonoïdes dans les graines de <i>Lupinus albus</i>	37
9.	Mise en évidence des saponosides dans les graines de <i>Lupinus albus</i>	38
10.	Teneur totale en composés phénoliques et flavonoïdes	39
11.	Teneur en protéines dans le lupin blanc	41
12.	Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des graines de <i>Lupinus albus</i>	42

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1.	<i>Lupinus albus</i> Les feuilles, les fleurs et la graine	5
2.	Feuilles, tige, et fleur de <i>Lupinus albus</i>	6
3.	Graine de <i>Lupinus albus</i>	7
4.	Carte de répartition géographique	8
5.	Acide phénol simple	15
6.	Structure de base des acides hydroxybenzoïques	19
7.	Structure de base des acides hydroxycinnamiques	19
8.	Structure de base des flavonoïdes	15
9.	Classification et structure des différents flavonoïdes	15
10.	Structure des tanins hydrolysables et des tanins condensés	16
11.	Structure d'une saponine typique (de soja)	17
12.	Structure de base des alcaloïdes	18
13.	Schéma générale des différentes étapes de la procédure expérimentale	23
14.	Zone d'inhibition d'extrait de <i>lupinus albus</i> contre <i>bacillus sp</i>	44

Liste des abréviations

FCR : Folin-Ciocalteu

OMS : Organisation mondiale de la santé

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DPPH : (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)

BSA : Albumin du sérum bovin

TCA : Acide trichloracétique

ABTS : (azino-bis (3 éthylbenzothiazoline -6-sulfonique Acide)

BHT : butylhydroxytoluène

BHA : butylhydroxyanisole

(Na₂CO₃) : Carbonate de sodium

(H₂SO₄) : Acide sulfurique

(FeCl₃) : Chlorure ferrique

(AlCl₃): Chlorure d'aluminium

(CH₃COOK): Potassium Acétate

(H₃PMo₁₂O₄₀) : Acide phosphomolybdique

(H₃PW₁₂O₄₀) : Acide phosphotungstique

(Cu Cl₂, 2H₂O): Acétate d'ammonium

(Al (NO₃)₃, 9H₂O): nitrate d'aluminium

(NaOH) : hydroxyde de sodium

(Fe³⁺(CN⁻)₆) : ferricyanure de potassium

(Fe²⁺(CN⁻)₆) : fer ferreux

Fe³⁺ : (fer ferrique)

K₃Fe (CN)₆ : ferricyanure de potassium

K₂S₂O₈ : persulfate de potassium

MH : Gélose Mueller-Hinton

GN : Gélose nutritive

R : Rendement

PE : poids de l'extrait

PV : poids de matière végétale

IC₅₀ : constatation inhibitrice 50 %



Introduction

Avant même l'aube de l'histoire, les humains ont indubitablement tiré des avantages vitaux en découvrant les plantes médicinales et aromatiques, servant à la fois d'aliments et de remèdes. La médecine traditionnelle est devenue donc une composante essentielle de chaque civilisation. Récemment, une grande variété d'herbes et d'épices sont utilisées dans le monde entier, continuant ainsi à promouvoir la santé (Inoue *et al.*, 2018)

Les graines de *Lupinus albus*, ou le lupin blanc, sont depuis longtemps reconnues pour leurs valeurs nutritionnelles et leurs bienfaits potentiels pour la santé. Ces graines sont reconnues pour leur teneur élevée en protéines, en fibres alimentaires et en composés bioactifs, tout en ayant une faible teneur en matières grasses. Ces caractéristiques les rendent attrayantes non seulement pour la nutrition humaine, mais aussi comme complément alimentaire pour les animaux (Pereira *et al.*, 2022).

L'évaluation des activités biologiques des graines de lupin blanc permet de révéler leur potentiel en tant que superaliment. Les études récentes indiquent que la consommation de ces graines peut aider à prévenir des maladies telles que l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et les troubles métaboliques, grâce à leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Spina *et al.*, 2022).

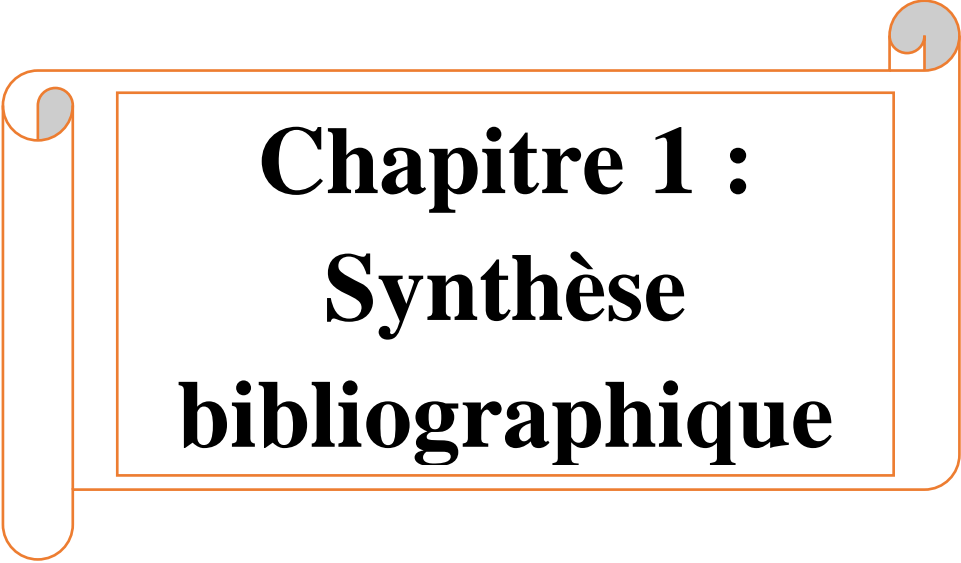
Cependant, malgré ces découvertes prometteuses, il subsiste des lacunes dans la compréhension complète des mécanismes sous-jacents aux activités biologiques des graines de lupin blanc. Notamment, les études sur les effets des différents composés bioactifs présents dans les graines de lupin et leur interaction avec le métabolisme humain qui restent limitées.

Pour cela, la présente étude se propose donc de combler ces lacunes en évaluant les activités biologiques spécifiques des graines de lupin blanc, en mettant l'accent sur leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. En effet, nous avons effectué des tests de la mise en évidence des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tanins..., qui contribuent aux propriétés nutritionnelles et thérapeutiques de cette légumineuse. Cette analyse a permis également de quantifier quelques composés bioactifs, tels que les flavonoïdes et les polyphénols.

Le manuscrit est structuré en trois chapitres. Le premier chapitre synthétise les données bibliographiques sur les plantes médicinales, la description de *Lupinus albus*, les huiles essentielles et les métabolites des plantes médicinales. Le deuxième est consacré à la

Introduction Générale

caractérisation du matériel biologique utilisé ainsi que la description des méthodes suivies. Le troisième présente les résultats obtenus et leur interprétation. Enfin, le travail se termine par une conclusion et des perspectives.



Chapitre 1 :
Synthèse
bibliographique

1. Médecine traditionnelle

De nombreux pays utilisent régulièrement des formes de médecine traditionnelle. En Afrique, les plantes médicinales représentent des ressources essentielles pour la majorité des populations rurales, où plus de 80 % les utilisent pour assurer leurs soins de santé en l'absence d'un système médical moderne (Jiofack *et al.*, 2010).

La médecine traditionnelle tire ses origines de différentes cultures. Elle joue un rôle important dans la découverte de traitements efficaces. D'ailleurs, environ 40% des médicaments actuels sont basés sur des produits naturels utilisés dans la médecine traditionnelle, incluant des exemples emblématiques comme l'aspirine, la pilule contraceptive et les traitements contre le cancer (OMS, 2023).

En 2022, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a répondu à l'intérêt croissant en matière de médecine traditionnelle, en créant un centre mondial d'OMS pour la médecine traditionnelle, avec le soutien du gouvernement indien. Ce centre vise à promouvoir la médecine traditionnelle, qui est fondée sur des données probantes pour répondre aux besoins de santé mondiaux, et contribuera à l'élaboration d'une nouvelle stratégie pour la médecine traditionnelle pour la période 2025-2034 (OMS, 2023).

Au 9^{ème} siècle, les premiers écrits concernant les plantes médicinales en Algérie et dans la région du Maghreb sont attribués à Ishâ-Ben-Amran, un médecin du prince de Kairouan (Tunisie), qui a rédigé divers traités de la médecine traditionnelle (Baba Aïssa, 2000).

Malgré le colonialisme français, les botanistes ont réussi à répertorier en Algérie un grand nombre d'espèces ayant des propriétés médicinales. En 1942, Fourmevnt et Roques ont publié un ouvrage sur les plantes médicinales et aromatiques et décrivent 200 espèces étudiées principalement dans le Nord Algérien et six dans le Sahara. Aujourd'hui, en Algérie, la phytothérapie est largement pratiquée pour traiter diverses affections telles que le diabète, les rhumatismes, la perte de poids, et même des maladies réputées incurables (Belkhodja, 2016).

2. Plantes médicinales

Selon la X^{ième} édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont définies comme des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. En outre, ces plantes peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Chabrier, 2010).

Récemment, la Pharmacopée française a défini avec précision les plantes médicinales comme des drogues végétales, c'est est une plante ou une partie de la plante ayant des propriétés médicinales (Cardenas, 2019).

3. Phytothérapie

Le mot phytothérapie est étymologiquement composé de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia*, qui signifie plante et guérison, respectivement (Chabrier, 2010). La phytothérapie peut donc être définie comme une discipline allopathique, visant la prévention et le traitement de certaines pathologies et/ou états fonctionnels en utilisant des plantes, des parties de plantes ou des préparations à base de plantes, prises ou appliquées à l'extérieur (Chabrier, 2010).

Dans les années 80, le ministère de la Santé français a officiellement défini la phytothérapie comme une forme de médecine à part entière. Les médicaments utilisés en phytothérapie sont dosés en principe actifs, ils contiennent une concentration plus ou moins importante, mais toujours connue. La phytothérapie implique l'utilisation de plantes sous diverses formes galéniques : tisanes, décoctions, infusions ou extraits chaud ou froid de la plante ou d'une partie spécifique de celle-ci, comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les graines et l'écorce (Charline, 2021).

4. *Lupinus albus*

4.1 Historique

Le lupin blanc (*Lupinus albus* L.) est une légumineuse originaire de la région méditerranéenne et de l'Afrique du Nord (Kass et Wink, 1999), il est cultivé depuis l'antiquité et a été exploité pour divers usages, incluant le fourrage, la production d'engrais, ainsi que la consommation des graines (Pereira *et al.*, 2022). Les graines du lupin blanc, également appelées haricots sont connues sous différents noms selon les régions : lupins ou lupinos en Amérique latine, altramuza en Espagne, tremçoço au Portugal et au Brésil, et lupins dans les pays anglophones. Actuellement, le lupin suscite un vif intérêt en raison de sa valeur nutritionnelle remarquable (Spina *et al.*, 2022).

4.2 Définition

Le *Lupinus albus* L. (lupin) est une légumineuse dont les graines suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés nutritionnelles remarquables. Elles sont reconnues pour leur haute teneur en protéines et en fibres alimentaires, ainsi que leur faible teneur en matières

grasses (Pereira *et al.*,2022) Les graines de lupin blanc, lisses et comprimées, sont les plus populaires pour la consommation (**Fig1**), car elles sont dépourvues de substances toxiques et ne demandent pas une préparation laborieuse (Sbabou, 2009).



Figure 1 : *Lupinus albus*. Les feuilles, les fleurs et la graine.

<https://www.semencesdupuy.com/lupinus-alba/983-lupinus-alba.html>

4.3 Classification

Les lupins sont classés dans l'embranchement des spermaphytes, plus spécifiquement dans le sous-embranchement des angiospermes, le *Lupinus albus* L appartient à (Sbabou, 2009) :

Règne : Plantae

Classe : Magnoliopsidae

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fables

Famille : Fabaceae

Sous-famille : Papilionacées

Tribu : Genistées

Genre : *Lupinus*

Espèce : *Lupinus albus*. L (Ainouche *et al.*, 2004)

4.4 Nomenclature

Le nom scientifique de cette plante est *Lupinus albus* L. Elle est également connue sous plusieurs autres noms vernaculaires tels que termis (EGY) (Sbabou, 2009), termoceiro, termoceirobranco, termoceiro de Beira, termoço (Po) (Brink *et al.*, 2006). En langue française, elle est souvent appelée lupin blanc, lupin d'Égypte, lupin. En anglais, elle est principalement désignée sous le nom de white lupin, white lupine. Son nom en Espagnole et Italie est, Altramuz, Altramuz blanco, Altramuz blanco amargo, Chocho, Lupino. Lupinobianco(Léger, 2007).

4.5 Description morphologique de *Lupinus albus*

Le *Lupinus albus* est une plante herbacée annuelle. Il se présente généralement sous la forme d'une tige dressée, cylindrique et simple, mesurant entre 20 et 40 cm de hauteur (Fig.2.). La surface de la tige ainsi que celle des feuilles est recouverte de poils doux et blanchâtres. Les feuilles sont alternées le long de la tige. Elles sont portées par de longs pétioles et se composent de cinq à sept folioles ovales, pointues et douces au toucher. Les folioles sont caractérisées par leur forme obovale-oblongue, leur face supérieure lisse et leur face inférieure poilue.



Figure 2. Feuilles, tige, et fleur de *Lupinus albus* (https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Lupinus_albus).

Les fleurs du *Lupinus albus* sont blanches, parfois teintées de bleu à leur sommet et apparaissent en grappes courtes le long des tiges et des rameaux (**Fig.2.**). Elles sont disposées de manière alternée et les pédicelles sont plus courts que le calice. Les fleurs sont de type papilionacé, avec un calice velu à deux lèvres, dont la lèvre supérieure est entière et presque aussi longue que la lèvre inférieure, qui est à peine tridentée.

Les gousses de cette plante sont velues, largement linéaires et apiculées, présentant une suture supérieure droite. Elles renferment généralement de 2 à 4 grosses graines lenticulaires lisses et blanches, qui ne sont pas marbrées (**Fig.3.**). En termes de caractéristiques sensorielles, le *Lupinus albus* est dépourvu d'odeur et présente une saveur légèrement amère, notamment dans ses graines, appelées lupins, qui sont utilisées en médecine. (Gautier, 1822 ; Richard, 1831 ; Milcent, 2011).



Figure 3. Grains de *Lupinus albus*(<https://www.quatreminoiaux.be/2020/09/legume-le-lupin-comestible-doux-dieta.html>)(<https://www.alamyimages.fr/plantes-en-fleurs-de-lupinus-albus-le-lupin-blanc-image247114737.html>).

4.6 Répartition géographique du *lupin blanc*

Lupinus albus s'étend des champs et des chemins de la Provence et du Roussillon jusqu'à la Corse, où il pousse spontanément dans le Midi et est également cultivé comme plante fourragère et d'engrais (Sbabou, 2009).

Originaire du sud-est de l'Europe et de l'Asie occidentale (**Fig.4.**), le lupin blanc a des variétés sauvages, présentes dans ces régions. Son histoire de culture remonte à l'Antiquité, où il était cultivé en Grèce, en Italie, en Égypte et à Chypre. Bien que son importance ait fluctué au fil du temps, il a quasiment disparu d'Europe centrale de nos jours ; tandis qu'il est de plus en plus cultivé en Amérique. Actuellement, il est largement répandu comme un légume sec

traditionnel secondaire, cultivé dans les régions méditerranéennes, autour de la mer Noire, dans la vallée du Nil, jusqu'au Soudan et en Éthiopie, et parfois même dans d'autres régions telles que le Kenya, la Tanzanie, le Zimbabwe, l'Afrique du Sud, l'île Maurice, les États-Unis et l'Amérique du Sud, principalement au Brésil et au Chili (Brink *et al.*,2006).



Figure 4 : Carte de répartition géographique de *Lupinus albus* dans le monde (Omnia M Arief, 2019)

4.7 Composition chimique et propriétés

La graine de lupin contient environ 10% d'eau, 40% de glucides, 38 à 39% de protéines et le reste est principalement constitué des lipides. Elle est pourvue de minéraux tels que le sélénium, sodium, cuivre, magnésium, fer, calcium, phosphore, potassium, et le zinc. La graine est également riche en vitamines A et C et toutes les vitamines du groupe B. Les principaux acides aminés présentés dans la graine sont la tyrosine, la valine, la tryptophane, l'acide aspartique, l'arginine, l'alanine, la lysine, la cystéine, l'isoleucine et l'acide glutamique (Poiret, 2014). Les graines de lupin ont une valeur énergétique élevée, avec une concentration de lipides généralement comprise entre 10 et 15 % (Guillaume, 1987).

5. Huiles essentielles

5.1 Historique

Au cours des récentes années, l'intérêt pour l'utilisation de substances naturelles a considérablement augmenté, tandis que des préoccupations concernant la sûreté des composés synthétiques ont stimulé des recherches approfondies sur les ressources végétales. Les huiles essentielles, des produits aromatiques et volatils issus du métabolisme secondaire des plantes,

sont largement employées dans la médecine traditionnelle, l'aromatisation et la préservation des aliments, ainsi que dans l'industrie des parfums. Leurs propriétés antimicrobiennes sont connues depuis des siècles. Entre 1987 et 2001, un grand nombre d'études ont été menées sur les huiles essentielles et leurs composants pour évaluer leurs activités antimicrobiennes contre diverses bactéries et champignons (Kalemba et kunicka , 2003).

5.2 Définition

Les huiles essentielles sont constituées d'un mélange complexe de composés organiques volatils qui dégagent des arômes distincts (Saika *et al.*, 2019), Ces substances sont stockées dans des cellules ou des regroupements de cellules spécifiques, souvent présents dans diverses parties des plantes telles que les feuilles, les tiges, ou les fruits. Elles ont tendance à être concentrées dans des zones particulières comme les feuilles, l'écorce ou les fruits. Lorsqu'elles se trouvent dans différents organes de la même plante, elles peuvent présenter des compositions chimiques distincts (Oussalahet *al*, 2003).

5.3 Identification des huiles essentielles

L'analyse chimique des huiles essentielles est essentielle pour identifier et quantifier leurs composants. Les avancées dans les méthodes analytiques ont rendu possible l'identification rapide d'un grand nombre de composés. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode de référence utilisée à cette fin. Elle permet l'analyse de mélanges complexes, souvent caractérisés par une volatilité très variée. Cette technique est particulièrement adaptée à l'étude des huiles essentielles en raison de leur nature volatile (Bouras, 2018).

5.4 Fonction biologiques des huiles essentielles

Les experts estiment que les huiles essentielles servent de messenger chimique permettant aux plantes de réguler leur environnement. Par exemple, ces huiles jouent un rôle protecteur contre les champignons et autres microorganismes, tout en étant attractives pour les insectes pollinisateurs. Un feuillage contenant une concentration élevée d'huiles essentielles, comme le laurier, protège la plante contre les herbivores. De plus, les huiles essentielles présentes dans les racines, l'écorce et le bois confèrent à la plante des propriétés antiseptiques contre les parasites du sol (Richter,1993).

5.5 Activité biologique des huiles essentielles

En 1977, il a été rapporté que 60% des dérivés d'huiles essentielles examinés jusqu'en 1999 avaient des propriétés inhibitrices sur les champignons, tandis que 30% étaient efficaces contre les bactéries. Parmi les terpénoïdes, l'acide bétulinique, un triterpénoïde, est l'un des composés ayant montré une activité inhibitrice contre le VIH. Le mécanisme d'action des terpènes n'est pas complètement compris, mais il est supposé qu'il implique la perturbation de la membrane cellulaire due à la nature lipophile de ce composé (Belkhiri, 2015).

5.6 Extraction des huiles essentielles

La distillation, étant la méthode la plus ancienne et largement employée pour extraire les huiles essentielles. Elle a été accompagnée par le développement de techniques plus modernes visant à optimiser différents aspects de l'extraction. Ces méthodes récentes cherchent à améliorer le rendement et la qualité des huiles obtenues, à réduire le temps d'extraction, à diminuer la quantité de solvant utilisé, et à accélérer le processus d'extraction (Besmobes, 2008) Parmi les techniques d'extraction des huiles essentielles :

- La distillation à la vapeur d'eau : il s'agit de la méthode la plus courante et elle convient à la plupart des plantes.
- La pression à froid : cette méthode est spécialement utilisée pour les agrumes, où l'huile essentielle est principalement présente dans l'écorce.

L'extraction par solvant : cette technique est employée pour les fleurs qui contiennent peu d'huiles essentielles, permettant une extraction plus efficace des composés volatils (Louis-Jeune et jerry ,2020).

6. Métabolites des plantes médicinales

On distingue deux classes : les métabolites primaires et les métabolites secondaires :

6.1 Métabolites primaires

Le terme "métabolite primaire" désigne l'ensemble des glucides, des protéines, des lipides, et des lipides. Ils sont essentiels à la survie de la cellule ou de l'organisme. Ils sont les éléments de base pour la construction des membranes cellulaires (Badiaga, 2011). Ces composés jouent un rôle crucial dans plusieurs processus métaboliques, notamment la production d'énergie sous forme d'ATP *via* des voies telles que la glycolyse, la voie des

pentoses-phosphates, le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire (phosphorylation oxydative). Ils contribuent également à la formation d'intermédiaires de biosynthèse tels que les acides aminés et les acides nucléiques nécessaires à la synthèse de polymères tels que les protéines (Mergheme, 2009).

6.2 Métabolites secondaires

Une caractéristique distinctive des plantes est leur capacité à produire une grande variété de composés secondaires dont les fonctions précises demeurent encore largement méconnues. La diversité de ces composés, qui ne se retrouvent pas systématiquement chez toutes les espèces, indique qu'ils ne sont pas essentiels aux processus métaboliques de base de la plante. Ces derniers ne participent pas directement aux activités vitales de la plante (Mergheme, 2009). Ils sont essentiels pour l'adaptation des plantes à leur environnement, en les aidant à résister aux défis tant biotiques (phytopathogènes, insectes, herbivores, etc.) qu'abiotiques (température, lumière, rayons UV, etc.).

Les métabolites secondaires des végétaux, se divisent en trois principales catégories : les terpènes (ou isoprénoïdes), les composés phénoliques (phénylpropanoïdes et flavonoïdes) et les composés azotés (alcaloïdes, glucosinolates et glycosides cyanogènes) (Naser, 2018)(**Tab .1.**).

Tableau 1. Principaux métabolites secondaires (Mergheme, 2009).

Classes	Nombre de structure	Distribution
Composés azotés		
Alcaloïdes	5500	Angiospermes, feuille, fruit, racine
Alcaloïdes	100	Angiospermes, fleurs
Amines	400	Graines
Glucosides cyanogéniques	30	Fruit et feuilles
Glucosinolates	75	Crucifères
Trapénoïdes		
Monoterpènes	1000	Huiles essentielles
Sesquiterpènes	600	Composées, angiospermes
Diterpènes	1000	Latex, résines
Saponines	500	Feuilles, fleur, fruit
Caroténoïdes	500	Apoginacées
Composés phénoliques		
Phénols simples	200	Feuilles et tissus
Flavonoïdes	1000	Angiospermes
Pro anthocyanidines	/	Gymnospermes
Quinones	500	Rhamnacées

6.2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques présentent une large gamme de structures (**Tab .2.**), allant des simples molécules aux polymères complexes. Ces polyphénols comprennent diverses classes de composés tels que les flavonoïdes simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes

complexes et les anthocyanes colorés (Lin *et al.*, 2016). Ce qui caractérise un composé phénolique est la présence d'au moins un noyau phénolique, qui est une molécule cyclique à 6 atomes de carbone appelée cycle benzénique (ou aromatique), lié à au moins un groupe hydroxyle (-OH) (Labrani, 2022).

Les composés phénoliques possèdent diverses activités biologiques. Ils agissent en tant qu'inhibiteurs d'enzymes, comme la lipase pour le traitement de l'obésité (Hispidin, Quercétine), l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase pour le traitement du diabète (Lutéoline, Sinensétine), l'acétylcholinestérase et la butyrylcholin estérase pour le traitement de l'Alzheimer (Calycoptérine, 3-méthoxyquercétine, Quercitrine, Quercétine), et la xanthine oxydase pour le traitement de la goutte (Quercétine, Kaempférol). Ils agissent également en tant qu'antioxydants. Certains ont des propriétés anti-cancéreuses, comme le Quercétine-3-O-lactopyranoside. D'autres ont des effets anti-inflammatoires, tels que le Sideritoflavone et le Cirsiliol. Enfin, certains composés phénoliques ont des activités antivirales comme l'Hispidin (Benarous, 2022).

Tableau 02 : Principales classes de composés phénoliques (Bouteldja, 2020).

Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Plante alimentaire (Exemple)
6	C6	Phénols simples	Catéchol	
7	C6-C1	A.Hydroxybenzoïques	P-Hydroxybenzopique	Epices, fraise
9	C6-C3	A.Hydroxycinnamiques	Acide Caféique	Pomme, P. de terre Citrus
10	C6-C4	Coumarines Naphthoquinones	Scopoline Juglone	Noix
13	C6-C1-C6	Xanthonnes	Mangiférine	Mangue
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Quercétol, cyanidol	Fruits, légumes Soja, Pois.
n	(C6-C3) n	Isoflavonoïdes Lignines	Daidzéine	Fruits à noyau
n	(C15) n	Tanins		Raisin rouge, Kaki

6.2.1.1 Acides phénoliques simples (C6-C1 ou C6-C3)

Les phénols simples sont des dérivés benzéniques avec des substitutions (Benarous, 2022) (**Fig.5**). Les acides phénoliques se divisent en deux principaux groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Lamarti, 1994).

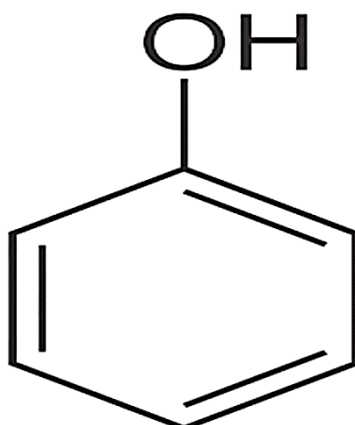


Figure 5. Acide phénol simple (Dosemeci *et al.*, 1991).

a. Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

Les acides hydroxybenzoïques se trouvent soit sous forme libre, soit liés à d'autres composés tels que les esters ou les hétérosides. Parmi les plus courants, on trouve l'acide salicylique et l'acide gallique. Ils sont libérés lors de l'hydrolyse alcaline de certaines molécules, notamment la lignine et certains tanins (Macheix *et al.*, 2005) (**Fig .6.**).

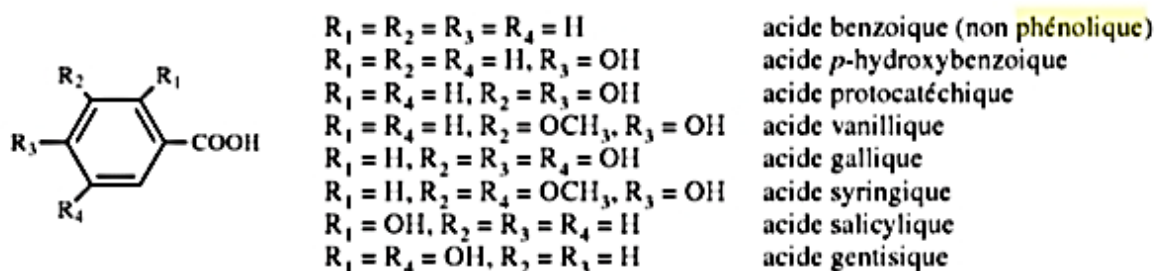


Figure 6. Structure de base des acides hydroxybenzoïques (Macheix *et al.*, 2005).

b. Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques, dérivés de l'acide cinnamique, appartiennent à la classe des phénylpropanoïdes (C6-C3). La réactivité de ces acides dépend du degré d'hydroxylation du cycle benzénique et peut être modifiée par des réactions secondaires de manière aléatoire. Les exemples les plus communs sont l'acide caféique et l'acide férulique (Macheix *et al.*, 2005) (**Fig.7.**).

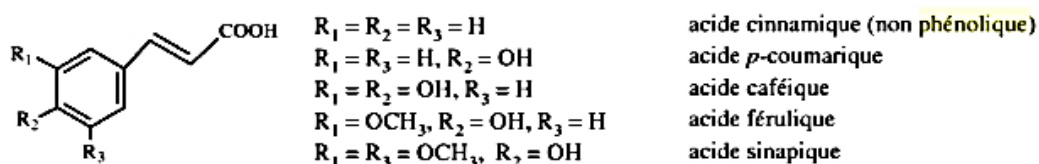


Figure 7. Structure de base des acides hydroxycinnamiques (Macheix *et al.*, 2005).

6.2.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont constitués de 15 atomes de carbone (C15). Ils présentent tous la structure C6-C3-C6, où deux cycles benzène sont liés par un groupe de trois carbones (**Fig.8**). Ces métabolites secondaires sont synthétisés par la voie des phénylpropanoïdes chez les végétaux. Ils englobent plus de 9 000 composés distincts (Dong et Song,2020).

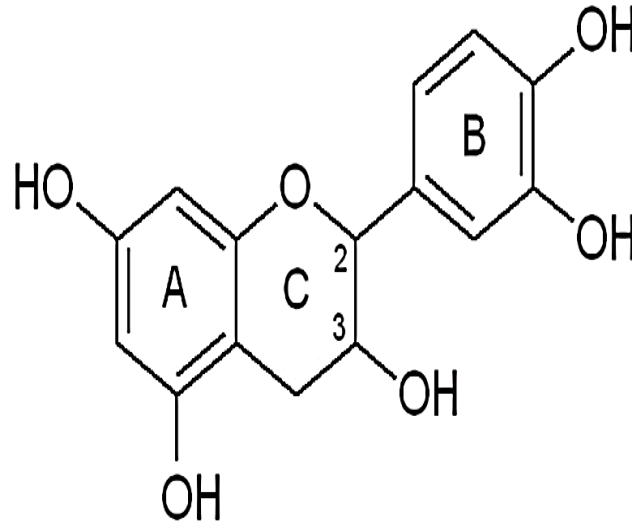


Figure 8. Structure de base des flavonoïdes (Coste E,*et al* 2015).

Selon Martens *et al.* (2006), la classification des flavonoïdes repose sur le degré d'oxydation du noyau pyrane central (cycle C), elle comprend plusieurs groupes distincts (**Fig.9**) :

- Les phényl-2-chromones, qui regroupent les flavones, les flavonols et les flavanones.
- Les phényl-2-chromanes ou flavanes, incluant les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols, qui présentent des variations dans leur arrangement moléculaire.
- Les flavyliums comprennent les pigments naturels tels que les anthocyanes, qui confèrent des couleurs vives aux plantes.
- Les chalcones sont des formes isomères ouvertes des flavanones, qui se distinguent par leur structure linéaire.
- Les aures sont des homologues des flavones possédant des hétérocycles pentagonaux, offrant ainsi une diversité structurale et fonctionnelle.
- Les phényl-3 chromones, représentés par les isoflavones (Rhouma-Martin, 2013).

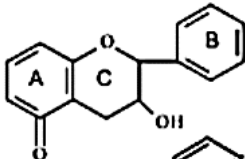
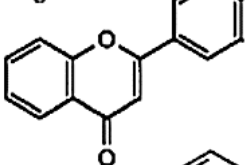
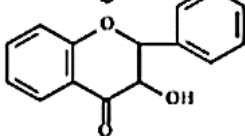
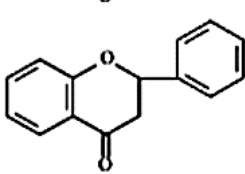
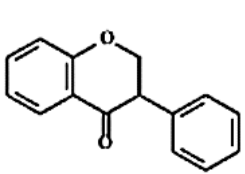
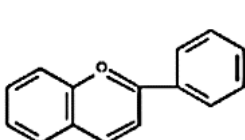
Classe	Structure générale	Flavonoïde
Flavanol		(+)-catéchine (+)-épicatéchine épigallocatechine gallat
Flavone		chrysrine apigénine rutine lutéoline lutéoline glucosides
Flavonol		kaempferol quercétine
Flavanone		myricétine tamarixétine naringine taxifoline hesperidine
Isoflavone		génistine génistéine
Anthocyanidine		apigénidine cyanidine

Figure 9. Classification et structure des différents flavonoïdes (Ngangmou, 2012).

6.2.1.3. Tanins

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 kDa, à saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau (Harrar, 2012).

Les tanins sont classés comme le quatrième groupe des composés les plus répandus dans les tissus des végétaux vasculaires après la cellulose, les hémicelluloses et la lignine (Watrelet, Nroton., 2020). Ils se divisent souvent en deux principaux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Les tanins hydrolysables comprennent les gallotanins et les ellagitanins, formés respectivement d'esters d'acide gallique ou d'acide hexahydroxydiphénique liés à un fragment de sucre. Les tanins condensés, comme les proanthocyanidines, sont des polymères de flavanols à trois cycles reliés par des liaisons C–C12 (Adamczyk *et al.*, 2017) (**Fig.10.**).

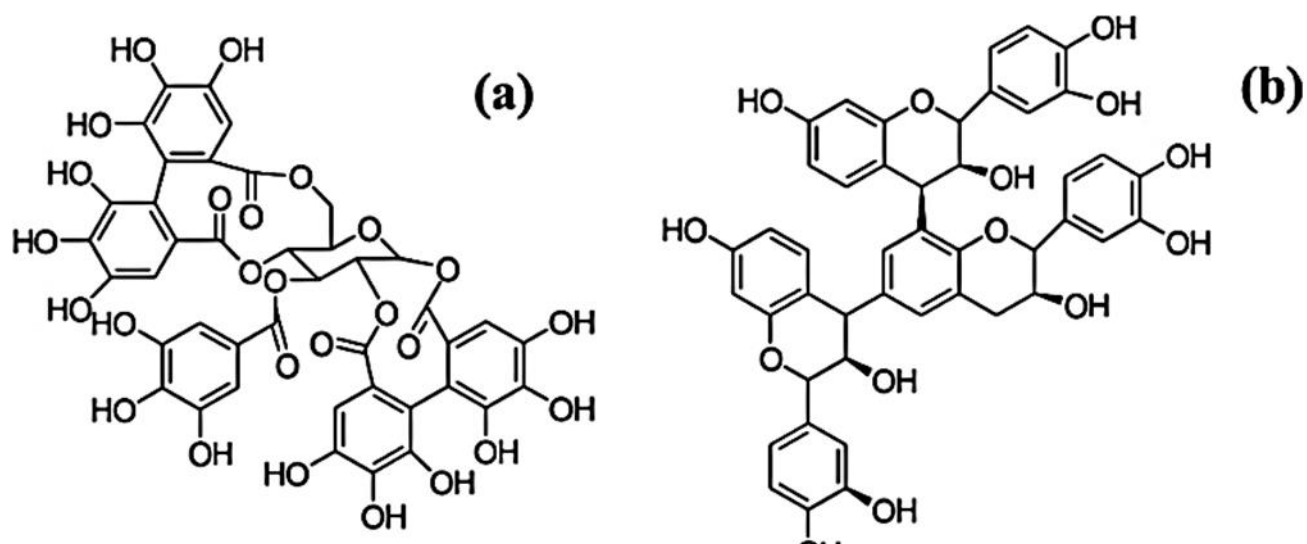


Figure 10. Structure des tanins hydrolysables (a) et des tanins condensés(b) (Bayart, 2019).

6.2.2. Terpénoïdes

Les terpénoïdes, tout comme les polyphénols, sont classées parmi les composés secondaires du métabolisme végétal. Ces substances dérivent de l'isoprène, ce qui leur vaut parfois le nom d'isoprénoïdes. Ils se distinguent selon le nombre d'unités isopréniques qui les composent, avec les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30), les tétraterpènes (C40) et les polyterpènes (C4000). Les stéroïdes font partie des terpénoïdes tandis que les caroténoïdes sont classés comme des tétraterpènes (Mergheme, 2009).

6.2.2.1 Saponosides

Les saponosides, quant à eux, sont des hétérosides composés d'une chaîne glucidique hydrophile associée à une structure de stéroïde ou de triterpénique lipophile (**Fig.11.**). Elles suscitent un intérêt croissant en raison de leurs multiples activités biologiques et de leur potentiel thérapeutique (Maxim, 2022 ; Sefriouiet *al.*, 2021). Elles sont utilisées dans l'alimentation animale pour réduire les émissions d'ammoniac et de méthane, ainsi que pour limiter la propagation de la coccidiose et d'autres agents pathogènes (Maxim, 2022).

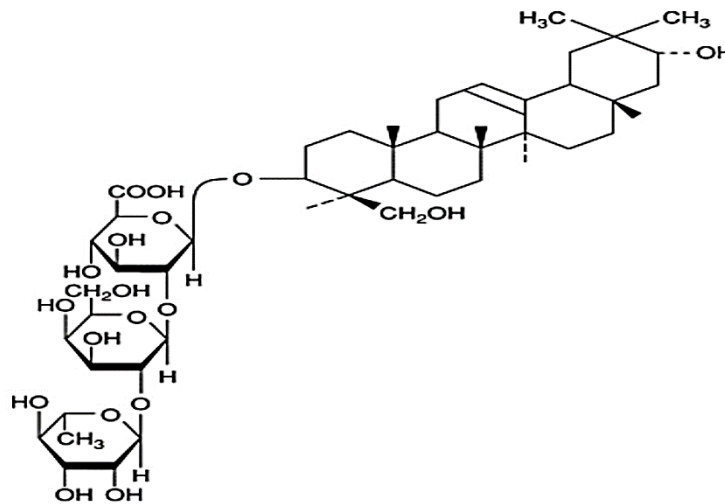


Figure 11. Structure d'une saponine typique (de soja)(savage, 2003).

6.2.3 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés composés d'amines (**Fig.12.**). Les plus connus sont l'indole, la purine, la quinoléine, etc. (Dey et al., 2020). Les alcaloïdes sont sujets à une oxydation facile lorsqu'ils sont exposés à l'air, ce qui les rend instables. Pour préserver leur intégrité, ils sont souvent conservés sous forme de sels cristallisés comme les tartrates, citrates, sulfates ou chlorhydrates, bien que certains, tels que la nicotine et la coniine demeurent liquides (Benarous, 2022).

Certains alcaloïdes, malgré leur toxicité notable (comme la strychnine ou l'aconitine), sont utilisés en médecine. La morphine et la codéine, par exemple, sont connues pour leurs effets analgésiques, tandis que l'atropine est utilisée dans des protocoles de sédation et d'anesthésie. D'autres alcaloïdes comme la quinine et la chloroquine sont employés comme agents antipaludéens, et certains, tels que le taxol, la vinblastine et la vincristine sont utilisés dans le traitement du cancer (Muanda, 2010).

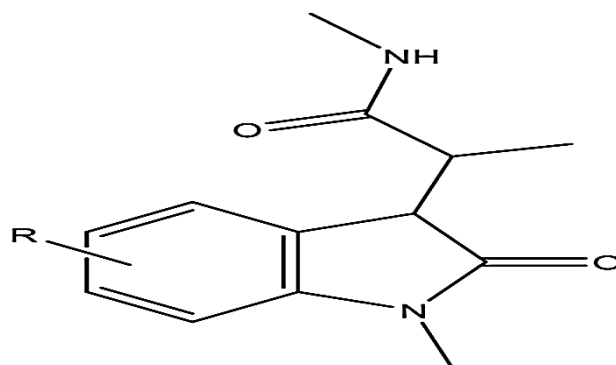


Figure 12. Structure de base des alcaloïdes (vàsquez-Ocmin, 2018).



Chapitre 2 :
Matériel et Mèthodes

1. Objectif du travail

Ce mémoire vise à examiner les propriétés antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires d'un extrait des graines de *Lupinus albus*. Les expériences sont menées conjointement au laboratoire de Biochimie et laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1(UMC1), ainsi qu'au laboratoire de Biochimie du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine(CRBt).

Pour cela, les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes, saponines, tanin, alcaloïdes sont mis en évidence dans un extrait alcoolique des graine de *Lupinus albus*, puis la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en protéines sont mesurés. De plus, le potentiel antioxydant est évalué en utilisant le test anti-radicalair vis-à-vis le radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et le radical ABTS, le teste du pouvoir rèdeucteur et le test phénanthroline. En outre, l'activité antibactérienne est testée contre une gamme de microorganismes (bactéries et champignons) et l'activité antiinflamatoire est effectuée en utilisant l'albumin du sérum bovin (BSA) comme indicateur.

2. Echantillonnage

Les graines de *Lupinus albus* (le lupin) sont achetées chez un herboriste constantinois. Le lupin choisi dans cette étude était le lupin amer.

3. Lavage

Les échantillons sont nettoyés et rincés à l'eau distillée pour éliminer toute les poussière et impuretés.

4. Séchage

Une fois, les échantillons sont nettoyés, ils sont séchés à température ambiante, dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière. Cela permet de sécher les graines tout en préservant ses propriétés et ses composants, d'obtenir un meilleur broyage et de standardiser le taux d'humidité résiduelle.

5. Broyage

Après séchage, les graines sont broyées au moyen d'un broyeur électrique afin de les réduire en poudre. La poudre ainsi obtenue est transférée dans un récipient hermétique et opaque pour la protéger de la lumière et de l'humidité et éviter la photooxydation des substances bioactives.

6. Préparation de l'extrait et détermination du rendement

L'extraction des substances bioactives à partir des graines est effectuée par une macération à froid, de la poudre de lupin blanc amer, selon le protocole décrit par Anwar *et al.* (2010) avec quelques modifications. Dans une fiole conique, 35g de la poudre sont versés puis mélangés avec 200 ml de méthanol (80 : 20) (méthanol: eau) (v : v).

Le mélange est laissé pour une macération pendant 24 heures sous agitation. L'extrait obtenu est ensuite filtré sur du papier filtre. Après l'extraction, le méthanol est évaporé sous vide à l'aide d'un Rotavapor à 42°C. L'extrait est récupéré dans une boîte de Pétri en verre, puis conservé à l'obscurité dans une étuve à 40°C jusqu'à son utilisation (**Fig.13.**).

Le rendement de l'extraction est calculé en utilisant la formule suivante :

$$R\%=(PE/PV) \times 100$$

- R% : représente le rendement de l'extraction, exprimé en pourcentage.
- PE : représente le poids de l'extrait après évaporation des solvants, exprimé en grammes (g).
- PV : représente le poids de la matière végétale utilisée pour l'extraction, exprimé en grammes (g).

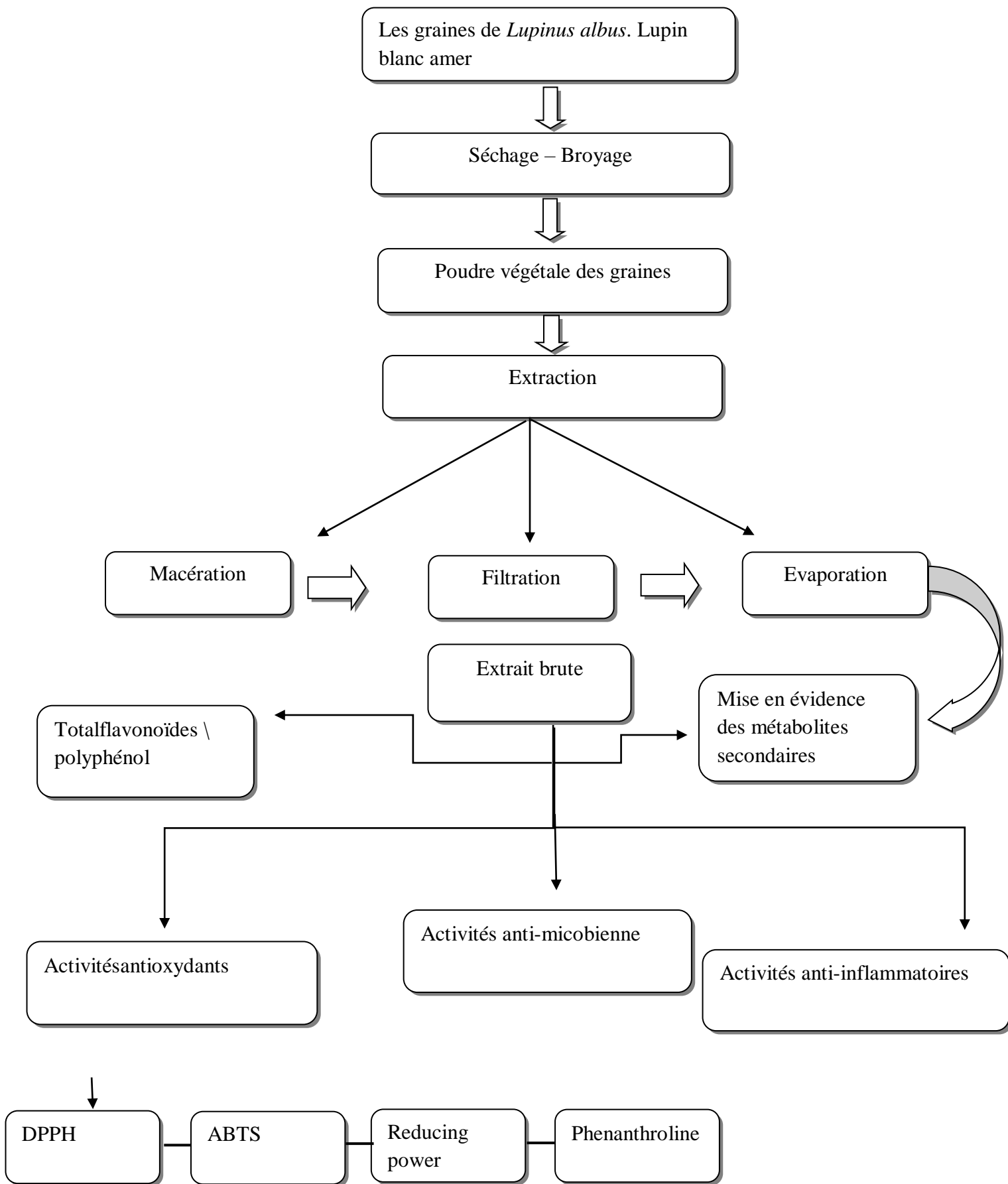


Figure .13. Schéma générale des différentes étapes de la procédure expérimentale.

7. Mise en évidence des métabolites secondaires

7.1. Mise en évidence des alcaloïdes

7.1.1. Préparation de l'extrait

Dans un Erlenmeyer, 5 g de la poudre fine sont introduits, auxquels sont ajoutés 25 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) dilué au 1/10^{ème}. Le mélange est laissé 24 h sous agitation à température ambiante pour la macération. L'extrait obtenu est ensuite filtré sur du papier filtre, puis lavé à l'eau de manière à obtenir 25 ml de filtrat (Pierre, 2008).

7.1.2 Procédure

Dans cinq tubes à essais, 1 ml du filtrat est introduit puis 5 gouttes de chacun des réactifs sont ajoutées séparément :

- **Réactif de Mayer:** Ce réactif contient 1,36 g de chlorure de mercure et 5 g d'iodure de potassium dissolvent dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Wagner:** Ce réactif est constitué de 1,27 g d'iode et 2 g d'iodure de potassium, dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Hager:** Ce réactif contient 1,5 g d'acide picrique dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Dragendorff :** Il s'agit d'un mélange (v/v) de deux solutions A et B : la solution A contient 1,7 g de nitrate de bismuth, 20 g d'acide tartrique concentré dissolvent dans 100 ml d'eau distillée. La solution B est constituée de 10 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

La formation d'un précipité dans chacun de ces tubes indique la présence des alcaloïdes. Avec le réactif de Mayer le précipité est blanc-jaunâtre, en présence du réactif Wagner, le précipité est de couleur rouge brique foncé. Le réactif d'Hager donne un précipité jaune en présence des alcaloïdes, et avec le réactif de Dragendorff donne un précipité rouge-orangé (Bramki et Nekia, 2016).

7.2. Mise en évidence des tanins

Une quantité de 1,5 g de la poudre sèche est placée dans 10 ml de méthanol (80%), agitée durant 15 mn puis filtrée. Quelques gouttes du chlorure ferrique (Fe Cl_3)(1%) sont ajoutées à cet extrait méthanolique. En présence de tanins galliques et ellagiques, une coloration bleue noire est observée, alors qu'en présence de tanins catéchiques cette coloration est brune verdâtre (Alilou *et al.*, 2014).

7.3. Mise en évidence des tanins condensés

La mise en évidence des tanins condensés est effectuée en utilisant le réactif de Stiasny (10 ml de formaldéhyde et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré). À 10 ml de l'extrait méthanolique des graines de *L. albus*, 5 ml du réactif de Stiasny sont ajoutés. L'apparition d'un précipité rouge confirme la présence des tanins condensés (Bramki et Nekia, 2016).

7.4. Mise en évidence des polyphénols

0,5 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1 %) est ajouté à 2,5 ml de l'extrait des graines de *L. albus*. La présence de composé phénolique provoque la formation de couleur noirâtre (Bramki et Nekia, 2016).

7.5. Mise en évidence des flavonoïdes

La présence de flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune, après l'addition de quelques gouttes d' AlCl_3 (1%) à 5 ml d'extrait de la plante étudiée (Haioun et Hamoudi., 2015).

7.6. Mise en évidence des saponosides

Dans un bécher, 100 ml d'eau distillée sont ajoutés à 2 g de la poudre sèche. Le mélange est porté à l'ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, la solution est filtrée, et ajustée aux 100 ml avec de l'eau distillée. Une série de dilutions décimales est préparée. Les tubes sont agités d'une façon violente et horizontale pendant 15 secondes. Après 15 mn de repos, la hauteur de la mousse résiduelle (exprimée en cm) est mesurée dans chaque tube. La présence des saponines est indiquée par un indice de mousse qui est supérieur à 100, en utilisant

Saponaria officinalis comme témoin positif (Alilou *et al.*, 2014). Cet indice est calculé selon l'équation suivante:

$$I = \text{La hauteur de la mousse dans le 9 ème tube} \times 10/0,09 .$$

8. Dosage des polyphénols

8.1. Principe de dosage

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait est réalisé selon la méthode de Folin-Ciocalteu, qui repose sur l'oxydation des phénols (Singleton et Rossi, 1965). La méthode de dosage est adaptée pour une analyse sur microplaque décrite par Muller *et al.* (2010). Cette méthode utilise l'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), qui réagissent avec les phénols pour former une coloration bleue proportionnelle à la quantité de phénols présents, et qui possède une absorption maximale aux environs de 750-765nm (Muller, 2010).

8.2. Mode opératoire

Pour effectuer le dosage, 1 mg de l'échantillon est dissous dans 1 ml méthanol. Ensuite, 100 μl d'une solution diluée de Folin-Ciocalteu ($1/10^{\text{ème}}$) et 75 μl du bicarbonate de sodium (7,5 %) sont ajoutés à 20 μl de la solution précédemment préparée. Après incubation pendant 2 heures à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorption est effectuée à 765nm. L'acide gallique est utilisé comme standard, et le blanc est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol (Annexe 1a).

9. Dosage des flavonoïdes

9.1 Principe de dosage

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la formation d'un complexe entre Al^{3+} et les flavonoïdes, en utilisant la méthode de Topçu *et al.* (2007) avec quelques modifications pour une analyse sur microplaque 96 puits.

9.2. Mode opératoire

Une masse de 1mg de l'échantillon est dissoute dans 1ml de méthanol. Ensuite, 50 µl de la solution sont mélangés avec 130 µl de méthanol, 10 µl de solution d'acétate de potassium (CH₃COOK) et 10 µl d'une solution de nitrate d'aluminium (Al (NO₃)₃, 9H₂O) à 10 %. L'absorbance est mesurée à 415 nm après une incubation de 40 minutes, en utilisant la quercétine comme étalon (Annexe1b).

10. Dosage des protéines

10.1 Principe de dosage

En milieu alcalin (NaOH) et à froid, les ions cuivriques (Cu²⁺) forment un complexe de coordination rose avec les liaisons peptidiques. Ce complexe, en combinaison avec la couleur bleue du réactif de Biuret, produit une coloration pourpre (bleu-violet). La réaction est positive dès que la molécule contient 3 à 4 liaisons peptidiques, ce qui la rend adaptée pour détecter les protéines et les polypeptides. L'absorbance est mesurée à 540 nm après 30 minutes de développement de la coloration.

10.2 Mode opératoire

Le dosage des protéines des graines de *Lupinus albus*, est effectué en utilisant la méthode de Biuret. 100 µl d'extrait de *lupinus albus* sont mis avec 100 µl de réactif de Biuret. La mesure de l'absorbance se fait à 540 nm après avoir laissé la coloration se développer 30 min dans l'obscurité et en utilisant la BSA comme standard pour établir une courbe d'étalonnage (Annexe1c).

11. Evaluation de l'activité antioxydante

Le test du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), le test ABTS (acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), le test de la phénanthroline et le test du pouvoir réducteur sont les méthodes employées pour évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydante des graines du lupin blanc.

11.1. Activité anti radicalaire du radical DPPH

11.1.1 Principe

Le diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante, dont l'effet des antioxydants sur le piégeage de ce radical est dû à leur pouvoir à céder un hydrogène (Haioun et Hamoudi., 2015).



11.1.2 Procédure

Le test est réalisé selon le protocole décrit par Blois (1958). 40 µl l'extrait méthanolique sont ajoutés à 160 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,6 %). Après incubation de 30 min à 30 °C et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm en utilisant la solution méthanolique comme blanc. Le BHT (butylhydroxytoluène) et le BHA (butylhydroxyanisol), le Trolox et l'acide ascorbique sont pris comme standards antioxydants, et qui sont préparés dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition DPPH (\%)} = ((\text{AC} - \text{AE}) / \text{AC}) \times 100. \quad (1)$$

AC : Absorbance du standard.

AE : Absorbance de l'extrait.

La concentration inhibitrice 50 % (CI50) est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est déterminée graphiquement par la régression linéaire (Dangles *et al.*, 1999), selon l'équation suivante :

$$\text{IC50} = \text{Y-b} / \text{a} * 100 \text{ }\mu\text{g/mL}.$$

IC50 : La concentration inhibitrice 50 %

Y : Pente du témoin

B : Pente du test

A : pente du témoin

Où, le témoin est le signal témoin obtenu avec la xanthine oxydase ; et le test est le signal test, obtenu en présence de l'antioxydant. Les mesures sont effectuées en trois répliques.

11.2. Activité anti-radicalaire du radical ABTS

11.2.1 Principe

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re *et al.* (1999). Le radical cationique ABTS réagit avec la plupart des antioxydants, notamment les phénols, les thiols et la vitamine C. Au cours de ces réactions, il retrouve son état neutre et perd sa couleur bleue. Ces réactions peuvent être suivies par spectrophotométrie. La capacité antioxydante est mesurée comme la capacité de l'extrait test à diminuer l'intensité de la coloration obtenue à partir de l'ABTS à 734 nm.

11.2.2 Procédure

Pour former la solution aqueuse d'ABTS, le persulfate de potassium est ajouté comme agent oxydant à l'ABTS dans le méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 12 à 16 h. L'absorbance de la solution ABTS ainsi obtenue est ajustée par l'éthanol à 0.700 ± 0.020 à 734 nm. Ensuite, 40 μ l de l'échantillon sont ajoutés à 160 μ l de la solution d'ABTS. L'absorbance est lue après 10 min à 734 nm. L'activité ABTS⁺ est exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$\text{Effet de piégeage de l'ABTS}^+ (\%) = (A \text{ Contrôle} - A \text{ Echantillon} / A \text{ Contrôle}) * 100.$$

11.3. Test de phénanthroline

11.3.1 Principe

Le test de phénanthroline repose sur la conversion du Fe³⁺ en Fe²⁺ par un agent antioxydant. Le Fe²⁺ ainsi produit réagit avec la phénanthroline pour former un complexe rouge-orange (Bakhouch,2021). La concentration de ce complexe est mesurée à 510 nm, où une couleur intense indique un fort pouvoir réducteur.

11.3.2 Procédure

La réduction des ions fer a été évaluée en dosant la phénanthroline selon la méthode décrite par Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008). L'échantillon est mélangé avec de la phénanthroline, du méthanol et du FeCl_3 , puis l'absorbance est mesurée à 510 nm après une incubation à 30 °C pendant 20 minutes. Les standards utilisés sont le BHA, le BHT, le Trolox et l'acide ascorbique, et les valeurs $A_{0,5}$ calculées à partir des courbes de régression

11.4. Pouvoir réducteur

11.4.1 Principe

Le pouvoir réducteur est évalué selon la méthode d'Oyaizu (1986) avec quelques ajustements. Cette méthode repose sur la conversion de l'ion Fe^{3+} (fer ferrique) du ferricyanure de potassium ($\text{Fe}^{3+}(\text{CN}^-)_6$) en fer ferreux ($\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6$). Le produit ainsi obtenu est détecté grâce à l'addition d'ions Fe^{3+} provenant du FeCl_3 , formant ainsi le complexe $\text{Fe}^{3+}_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6]_3$ de couleur bleue, dont l'intensité est mesurée à 700 nm (Bakhouché, 2021).

11.4.2 Procédure

Le protocole implique de mélanger 20 μl de l'extrait avec 40 μl du tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 40 μl de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). Ce mélange est ensuite incubé à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 40 μl d'acide trichloracétique (TCA) (10 %), 20 μl de chlorure de fer (FeCl_3) (0,1 %), et 40 μl d'eau distillée sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Le BHA, le BHT, le Trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme étalons.

12. Activité Anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire est testé en utilisant la dénaturation de la BSA (albumine de sérum bovin) par la chaleur, selon la méthode décrite par Kandikattu *et al.* (2013), avec quelques modifications pour une analyse dans les microplaques 96 puis. 100 μl d'extrait sont mélangés avec 100 μl de BSA préparée dans le tampon TRIS-HCl (0,05M, pH 6,6). Le mélange est chauffé à 37°C pendant 15 min, puis à 72 °C pendant 5 min. L'absorbance est mesurée à 660 nm après refroidissement. Le Diclofénac de sodium est utilisé comme

référence. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA. L'activité anti inflammatoire est exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante.

$$\text{Inhibition BSA (\%)} = ((AC - AE) / AC) \times 100.$$

13 .Activité antimicrobienne

13.1. Principe

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Lupinus albus* est effectuée par la méthode de diffusion sur disque, vis-à-vis des bactéries et des champignon de références. Il s'agit de deux bactérie à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) , deux bactéries à Gram positif (*Bacillus sp.* et *Staphylococcus aureus*), une levure (*Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus niger*). Ces souches de référence sont fournies par le Laboratoire de l'Institut Passeur de Constantine.

13.2. Procédure

50 µl d'une préculture de chaque souche (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, sont ensemencés en spirale sur de la gélosé nutritive et la gélose Mueller-Hinton (Annexe 2). Pour la souche *Aspergillus niger*, un fragment du mycélium est ensemencé au centre d'une boîte de Pétri contenant la gélose de Sabouraud (Annexe 2). Dans chaque boîte, trois disques stériles sont ajoutés puis imbibés par l'extrait brut et dilué à ½ et ¼. Chaque culture est réalisée en trois répliques. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après incubation à 37 °C, pour les bactéries, et 30 °C pour les champignons pendant 24 h.



Chapitre 3 : Résultats et discussion

Ce travail est réalisé dans le cadre d'un projet de fin d'études. Il est visé la mise en évidence des métabolites secondaires (les alcaloïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines et lestanins), et l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et protéines dans extrait des graines de *Lupinus Albus*.

Le potentiel antioxydant de cet extrait est estimé en effectuant le test de piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), le test du pouvoir réducteur et le test phénanthroline. De plus, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du même extrait est étudiée en utilisant la méthode de la BSA dégradée. Enfin, l'examen du pouvoir antimicrobien est testé contre quelques souches microbiennes référencées fournies par l'institut Pasteur (annexe de Constantine).

1. Rendement de l'extraction

Après avoir calculé le rendement d'extraction de *Lupinus albus*, il ressort que l'utilisation du méthanol (80%), lors de la macération à froid, a donné un faible rendement d'une valeur de 9,09 %.

Selon la bibliographie, le rendement de l'extraction à l'aide de solvants organiques varie en fonction de la méthode d'extraction utilisée et sa durée, de la nature du solvant et de sa concentration. Par exemple, l'éthanol, le méthanol ou l'acétone peuvent efficacement extraire les lipides et d'autres composés bioactifs (Hossain *et al.*, 2012). En outre, Chemat *et al.* (2020) ont montré que le traitement à haute pression combiné à l'éthanol améliorerait considérablement les rendements d'extraction des composés bioactifs par rapport aux méthodes conventionnelles.

Il est important de signaler que la méthode d'extraction et le choix des solvants, ainsi les conditions d'extraction, à chaud ou à froid, influencent considérablement le contenu total en métabolites secondaires et leurs activités biologiques. En effet, les conditions de l'extraction définissent l'efficacité et la nature des composés bioactifs extraits, et leur utilisation dans plusieurs domaines biologiques et pharmaceutiques (Lee *et al.*, 2003).

2. Criblage des métabolites secondaire

Le criblage phytochimique vise à détecter la présence de divers types de métabolites secondaires dans les graines de *Lupinus albus*. Il est réalisé par des méthodes standards qui

reposent sur des réactions qualitatives spécifiques de précipitation ou de coloration en solution. Les résultats des tests phytochimiques pour les différents groupes chimiques recherchés sont résumés dans le tableau .3.

Tableau .3. Résultats du criblage des métabolites secondaires.





Composés phytochimiques	Résultats
Alcaloïdes	(+++)
Flavonoïdes	(++)
Polyphénols	(++)
Tanins condensés	(--)
Tanins catéchiques	(+++)
Saponosides	(+++)

+ : Présence, - : Absence

2.1 Mise en évidence des alcaloïdes

Les résultats des tests de caractérisation des alcaloïdes, avec les réactifs de Mayer, Wagner, Hager, et Dragendorff, sont consignés dans le tableau 4. Ils indiquent une forte concentration d'alcaloïdes dans les graines de lupin blanc, dont la présence de ces composés est confirmée par la formation de précipités caractéristiques dans chaque test respectivement.

Tableau .4. Mise en évidence des alcaloïdes dans les graines de *Lupinus albus*.

Test	Photos des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Réactif de Mayer		précipité est blanc-jaunâtre	(+++)
Réactif de Wagner		précipité est rouge brique foncé	(+++)
Réactif de Hager		précipité jaune	(+++)
Réactif de Dragendorff		précipité rouge-orangé	(+++)


Lors de l'ajout du réactif de Mayer (iodure de mercure-potassium) à l'extrait des graines de lupin blanc, un précipité blanc crémeux s'est formé, car le réactif de Mayer réagit avec les alcaloïdes pour former un complexe insoluble. De même, l'iodure de potassium du réactif de

Wagner réagit avec les alcaloïdes pour former un précipité brun. Alors que le picrate de sodium contenant dans le réactif d'Hager et le bismuth-potassium iodure du réactif de Dragendorff réagissent avec les alcaloïdes pour donner un sel de picrate insoluble de couleur jaune et un complexe insoluble de bismuth de couleur orange, respectivement. Ces résultats indiquent la présence d'une quantité importante des alcaloïdes dans l'extrait des graines de *Lupinus albus*.

2.2. Mise en évidence des tanins catéchiques

Le résultat de la mise en évidence des tanins catéchiques dans les graines de lupin en utilisant le FeCl_3 (1%) est présenté dans le tableau 5. Lors de cette réaction, le FeCl_3 réagit avec les groupes phénoliques des tanins, conduisant à la formation d'un complexe de couleur brune verdâtre. L'intensité de cette coloration confirme la présence d'une forte concentration de tanins catéchiques.

Tableau .5. Mise en évidence des tanins catéchiques dans les graines de *Lupinus albus*.


Test	Photos des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Extrait (méthanol 80%)+ Quelques gouttes (FeCl_3) 1%		brune verdâtre	(+++)

2.3. Mise en évidence des tanins condensés

Le tableau 6 présente le résultat du test de la mise en évidence des tanins condensés en utilisant le réactif de Stiasny. C'est un test colorométrique, qui donne une coloration rouge en présence de ces composées. Les résultats obtenus montrent qu'aucun changement de couleur

rouge n'a été observé ; ce qui suggère l'absence des tanins condensés dans l'extrait des graines de *Lupinus albus*.


Tableau .6. Mise en évidence des tanins condensés dans les graines de *Lupinus albus*

Test	Photos des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Réactif de Stiasny		Précipité rouge	(--)

2.3. Mise en évidence des polyphénols

Le résultat de caractérisation des polyphénols avec le test de chlorure ferrique, est présenté dans le tableau 7. Il montre que les graines de *Lupinus albus* sont riches en polyphénols, ce résultat est justifié par l'apparition d'un complexe de couleur noirâtre, suite à la réaction du chlorure ferrique avec les polyphénols.


Tableau .7. Mise en évidence des polyphénols dans les graines de *Lupinus albus*

Test	Photos des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Test au chlorure Ferrique		Noirâtre	(++)

2.4. Mise en évidence des flavonoïdes

Le résultat de la caractérisation des flavonoïdes en présence d' AlCl_3 (1%) est présenté dans le tableau 8. Cette réaction a donné une coloration jaune relativement dense. Ce qui indique la présence d'une quantité modérée ce type de polyphénols dans les graines de *Lupinus albus*.


Tableau .8. Mise en évidence des flavonoïdes dans les graines de *Lupinus albus*

Test	Photo des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Test au AlCl_3 (1%)		couleur jaune	(++)

2.5. Mise en évidence des saponosides

Le résultat du test de la mise en évidence des saponosides dans l'extrait des graines de *Lupinus albus* est résumé dans le tableau 9. Il montre la formation d'une mousse tensioactive, de 1 cm de hauteur, caractéristique des saponines, résultant de la réduction de la tension superficielle de l'eau.

Tableau .9. Mise en évidence des saponosides dans les graines de *Lupinus albus*.

Test	Photos des résultats	Coloration	Précipité /Intensité de la coloration
Extrait + 100 ml de l'eau distillée		Une mousse de 1 cm	(+++)

Les résultats de la mise en évidence des métabolites secondaires révèlent que l'extrait méthanolique des graines de lupin blanc est riche en métabolites secondaires notamment les alcaloïdes, les taninscatéchiques et les saponosides, ainsi qu'une quantité relativement modérée en polyphénols et en flavonoïdes.

L'étude de Sibul *et al.* (2015) a également confirmé la richesse de l'extrait méthanolique de ces graines en métabolites secondaires, ce qui suggère une forte activité biologique. D'autre part, une recherche ultérieure menée par Ibrahim *et al.* (2019) a révélé que l'extrait éthanolique des graines de *Lupinus albus* renferme des quantités importantes des alcaloïdes, glycosides, saponines et terpènes, avec une absence totale des tanins et des flavonoïdes dans le même échantillon.

Ces variations peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, dont la méthode d'extraction utilisée et le choix des solvants d'extraction qui affectent la solubilité des composants contenus dans les graines de *Lupinus albus* (Lee *et al.*, 2003). De plus, la grande diversité

génétique de l'espèce *Lupinus albus*, amers et doux, la localisation géographique, les conditions climatiques ainsi que la période de récolte jouent un rôle crucial dans la richesse en composés phénoliques et leur activité biologique (Kumar et al., 2017). Les conditions expérimentales telles que la température, le temps et la méthode d'extraction, ainsi que la nature et le pourcentage du solvant utilisé, sont également des facteurs déterminants (Lee et al., 2003 ; Hammoudi et al., 2017).

3. Teneur en polyphénols

L'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour leur valorisation et évaluer l'efficacité de leur activité biologique. Le tableau ci-dessous résume les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Tableau.10. Teneur totale en composés phénoliques et flavonoïdes dans les graines de *Lupinus albus*

Extrait	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g QE/ml}$)	Teneur en polyphénols ($\mu\text{g QE/ml}$)
	24,58 \pm 1,47	20,76 \pm 0,77

Les valeurs ont été exprimées sous forme de moyennes \pm SD (n=3).

Les composés phénoliques totaux ont été exprimés en μg d'équivalent acide gallique /ml ($\mu\text{g GAE/ml}$)

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en μg équivalent à la quercétine /ml ($\mu\text{g QE/ml}$)

3.1 Teneur en polyphénols totaux

La quantité des polyphénols totaux, dans l'extrait de *Lupinus albus*, est déterminée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, où l'acide gallique est considéré comme standard. Les résultats répertoriés dans le tableau 8 montrent que la quantité des composés phénoliques contenus dans les graines de lupin blanc est de 20,76 \pm 0,77 $\mu\text{g GAE/ml}$ (**Tab. 10**).

La teneur de ces composés dans les extraits est généralement liée à leur solubilité ainsi du type du solvant utilisé, et même de leur degré de polymérisation (Naczki et Shahidi, 2004). En outre, les composés phénoliques sont le plus souvent combinés aux polysaccharides, aux protéines, aux lipides à la chlorophylle et autres (Mompon et al., 1998).

Les résultats obtenus sont en contradiction notable avec ceux des travaux de Cmmilleri et al. (2023), qui ont examiné la teneur de 14 polyphénols dans des échantillons de *Lupinus*

albus L. cultivés dans le sud de l'Italie. Dans cette étude, l'acide ellagique a été identifié comme le polyphénol prédominant, avec une concentration moyenne de $16271,86 \pm 19798,53$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, suivi par l'apigénine à $2749,51 \pm 889,95$ $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Par ailleurs, Vollmannova *et al.* (2021) a comparé la teneur en polyphénols totaux de 11 variétés de lupin blanc provenant de 9 pays différents, cultivées dans des conditions climatiques uniformes. Il a constaté que les extraits de méthanol à 80 % ont montré des valeurs statistiquement plus élevées dans les variétés Alban, Satmarien, Weibit et WTD ; tandis que le cultivar Nelly a présenté une teneur en polyphénols totaux, significativement, inférieure par rapport aux autres cultivars.

De leur côté, Khan *et al.* (2015) ont réaffirmé que *Lupinus* est une plante riche en composés phénoliques. Leur étude, menée sur différentes parties de la plante, a révélé des variations significatives de concentration selon la partie analysée.

Les résultats divergents peuvent s'expliquer par une diversité de conditions, qu'elles soient liées à la plante elle-même ou aux variables expérimentales. Les fluctuations climatiques et les techniques d'extraction, semblent jouer un rôle prépondérant dans la variation des taux de polyphénols observée entre différentes études.

3.2 Teneur en flavonoïdes

Les taux de flavonoïdes dans l'extrait de *Lupinus albus* sont mesurés en utilisant la méthode au trichlorure d'ammonium, où la quercitrine est considérée comme étalon. Les résultats illustrés dans le tableau 10 montrent que le taux en flavonoïdes des graines de lupin blanc est de $24,58 \pm 1,47$ $\mu\text{g GAE}/\text{ml}$ (**Tab. 10**)..

Les résultats obtenus sont en contradiction avec ceux trouvés dans l'étude d'Arnoldi *et al.* (2015), qui ont montré que les principaux flavonoïdes identifiés dans le lupin blanc sont C-glucosides de l'apigénine. Plus précisément, il s'agit de l'apigénine-6,8-di-C- β -glucopyranoside H et de l'apigénine 7-O- β -apiofuranosyl-6,8-di-C- β -glucopyranoside I. Ces deux flavonoïdes sont significatifs en raison de leurs propriétés antioxydants et de leurs potentiels effets bénéfiques pour la santé.

La variation de la quantité des composés phénoliques dans les extraits les graines étudiées peut s'expliquer principalement par leur solubilité dans les solvants utilisés, tels que

le méthanol et l'eau distillée, ainsi que par la polarité de ces solvants (Naczki et Shahidi, 2004). Les composés phénoliques présents dans les plantes ont une gamme de polarité variable. Certains sont plus solubles dans des solvants polaires comme l'eau, tandis que d'autres sont mieux extraits par des solvants apolaires comme le méthanol ou l'éthanol.

Les résultats divergents peuvent s'expliquer par la variabilité génétique, les techniques d'extraction et aussi, la teneur en flavonoïdes peut varier selon le stade de maturité de la plante et la partie de la plante étudiée (feuilles, fleurs, graine).

4. Teneur en protéines

La quantité des protéines de l'extrait de *Lupinus albus* est déterminée en utilisant la méthode de Biuret. Cette estimation est basée sur une courbe d'étalonnage en utilisant la BSA comme standard. Le résultat exprimé dans le tableau 11 présente la quantité de protéines contenues dans les graines de lupin blanc, qui est de 440 µg/mL.

Tableau.11. Teneur en protéines dans les graines de *Lupinus albus*

Extrait	Teneur en protéines (µg/mL)
	440 µg/mL

La teneur en protéines peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment la variété de lupin, les conditions de culture et les méthodes de traitement. L'étude de Pereira *et al* (2022) a montré que les graines de lupin blanc sont remarquables pour leur teneur élevée en protéines et en fibres, surpassant souvent d'autres légumineuses.

De plus, Sujak *et al.* (2006) ont confirmé la présence d'une teneur élevée en protéines dans les graines de lupin blanc. Ces protéines se caractérisent par un indice d'acides aminés essentiels (EAAI) et un score chimique (CS) d'acides aminés restrictifs plus élevés. De même, l'étude Abdallah *et al.* (2017) a révélé la présence de certains composés primaires nutritionnels tels que les protéines

5. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des graines de lupin est examinée par quatre méthodes : DPPH, ABTS, FRAP et phénanthroline, en mesurant l'IC₅₀ (concentration

inhibitrice à 50%). Sachant que l'IC₅₀ est déterminée pour l'extrait et les standards utilisés (BHT, BHA, Trolox et acide ascorbique). Les IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet de piégeage (*scavenge*) des radicaux libres, dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (Khoudali *et al.*, 2014). Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 9.

Tableau .12. Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait des graines de *Lupinus albus*

Test antioxydant	Résultats
DPPH	Aucune activité détectée
Phènathroline	Aucune réaction observée
Pouvoirerèducteur	Absence de capacité de réduction
ABTS	Aucune activité détectée

Les résultats portés dans le tableau ci-dessus l'extrait des graines de lupin n'a montré aucune activité antioxydante en utilisant les tests antioxydants suivant : DPPH, ABTS, phénanthroline et FRAP. Ces résultats se contrastent avec ceux de l'étude menée par Vollmannova *et al.* (2021), où des activités antioxydantes sont mises en évidence dans 11 variétés de lupin blanc, par les méthodes de DPPH^{*}, ABTS^{**} et FRAP.

Pokorná *et al.* (2015) ont rapporté que de nombreux antioxydants réagissant rapidement avec les radicaux peroxydes, et peuvent réagir lentement ou être inertes vis-à-vis du DPPH[•]. De plus, Rufino *et al.* (2010) ont confirmé que les composés phénoliques présentant une activité antioxydante élevée avec une méthode donnée, peuvent montrer une faible activité avec une autre méthode. Selon ces auteurs, la variabilité observée est principalement due à la méthode utilisée, ce qui rend difficile la comparaison des valeurs d'activité antioxydante obtenues par différentes techniques.

En outre, la qualité de l'extraction est influencée par plusieurs paramètres, notamment la polarité des solvants utilisés. Les solvants organiques sont généralement plus efficaces que l'eau, en raison de leur capacité à extraire les polyphénols, connus pour leur rôle majeur dans l'activité antioxydante (Lafka *et al.*, 2007 ; Sepahpour *et al.*, 2018). De nombreuses études ont montré que l'extrait éthanolique à 80% est plus efficace que l'extrait méthanolique à 80% et

aqueux, grâce à sa polarité qui favorise une extraction accrue des composés phénoliques et des flavonoïdes (Koffi *et al.*, 2010 ; Anwar et Przybylski, 2012 ; Grujic *et al.*, 2012).

6. Activité antiinflammatoire

La dénaturation des protéines est la cause la plus étudiée lors d'une inflammation, dont les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent en inhibant ce processus. Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des graines de lupin blanc, la méthode du BSA dénaturée est utilisée (Bakhouché, 2021).

Les résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait de graines de lupin indiquent l'absence totale de l'activité anti-inflammatoire. Cette constatation est en accord avec celle de Sibul *et al.* (2015). Ces auteurs ont exploré le potentiel anti-inflammatoire des parties aériennes du lupin blanc ; ils ont montré la présence d'une activité anti-inflammatoire modérée.

Par ailleurs, une étude menée par Walsh *et al.* (2014) a révélé que les protéines de lupin possèdent des propriétés inflammatoires bénéfiques, influençant positivement le métabolisme, l'absorption des nutriments et l'immunité.

7. Activité antibactérienne

L'effet antimicrobien de l'extrait de *Lupinus albus*, avant et après dilution, est examiné par la méthode de diffusion sur disques. Pour cela, une gamme, de bactéries de Gram positif et négatif ainsi que des champignons, est utilisée. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 24h d'incubation à 37°C pour les bactéries et 30°C pour les champignons.

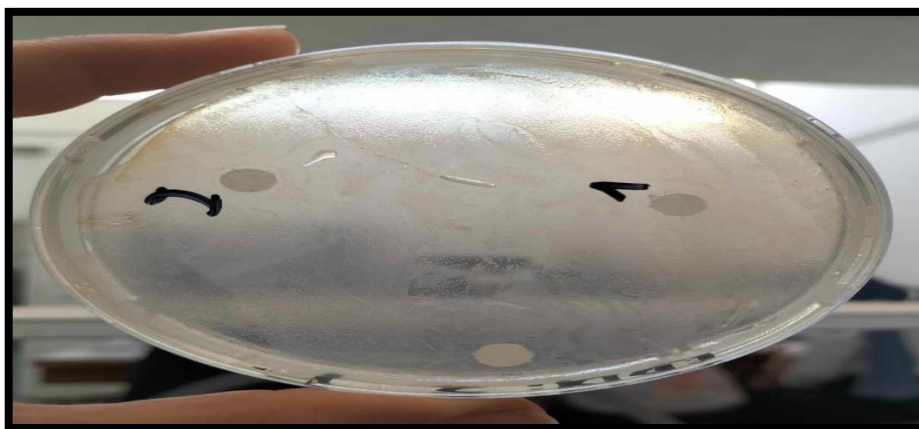



Figure .14. Zone d'inhibition d'extrait de *Lupinus albus* contre *Bacillus sp.*

Pour chaque dilution de l'extrait, les moyennes des diamètres des zones d'inhibition (mm) sont mesurées. Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut possède une faible activité anti microbienne contre la souche *Bacillus* sur la gélose nutritive, avec une zone d'inhibition de 8 mm de diamètre (figure 14). Par contre, et les deux dilutions du même extrait (1/2 et 1/4), sont dépourvus de toute activité antimicrobienne contre toute la gamme des microorganisme choisis.

Ces résultats se concordent avec ceux Abdallah *et al.*(2017) où l'extrait méthanolique de *Lupinus albus* n'a montré aucune activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées. Cependant, Hanania *et al.* (2017) ont trouvé des résultats contradictoires, ils ont rapporté que l'extrait des graines de la même plante est doté d'une activité antimicrobienne significative contre les bactéries Gram positif, en particulier *Staphylococcus aureus*. Alors que cette activité est limitée ou absente contre les bactéries Gram négatif, telles qu'*Escherichia colis*. Lampart-Szczapa *et al.* (2003) ont suggéré dans leurs recherches que cette activité antibactérienne des extraits de lupin est corrélée à leur contenu en composés phénoliques.

A decorative scroll frame with an orange border and grey circular accents at the corners, containing the text.

Conclusion générale

Conclusion Générale

La phytothérapie tire son importance des composés bioactifs des plantes médicinales. Ces derniers offrent des propriétés thérapeutiques variées avec moins d'effets secondaires, par rapport aux médicaments chimiques. Cette approche holistique traite les causes sous-jacentes des maladies, améliorant ainsi la santé globale. La recherche scientifique, de plus en plus, est focalisée sur l'extraction de ces composés actifs, et vise à réduire les risques associés aux substances chimiques utilisées dans les médicaments.

De ce fait, le présent travail a porté sur l'évaluation de l'extrait méthanolique des graines de *Lupinus albus* en composés phénoliques, flavonoïdes et protéines. De plus, l'évaluation de ses effets biologiques est effectuée *in vitro*, en examinant l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne.

Le criblage des métabolites secondaires a révélé que l'extrait méthanolique de *Lupinus albus* est riche en alcaloïdes, des tanins catéchiques, des saponosides, et une quantité modérée de flavonoïdes et de polyphénols. La quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des protéines dans l'extrait des graines de cette plante a révélé des teneurs relativement faibles en polyphénols ($20,76 \pm 0,77 \mu\text{g EAG/ml}$), en flavonoïdes ($24,58 \pm 1,47 \mu\text{g EQ/ml}$) et en protéines ($440 \mu\text{g/ml}$).

En revanche, les résultats des tests de l'activité antioxydante sur quatre essais différents n'ont révélé aucune activité pour l'extrait de graines de lupin. De même, aucune activité anti-inflammatoire n'a été observée, comme en témoignant la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA). Parallèlement, l'activité antimicrobienne évaluée par la méthode de diffusion, contre des bactéries de référence à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et à Gram positif (*Bacillus sp.* Et *Staphylococcus aureus*), une levure (*Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus niger*) a montré que l'extrait présente une activité antibactérienne uniquement contre *Bacillus sp.*

Ces résultats révèlent que *Lupinus albus* renferme des molécules bioactives, susceptibles d'être exploitées dans divers domaines tels que : la pharmacie, l'alimentation, la cosmétique, agriculture, biotechnologie et médical ...

Pour compléter ce travail, les perspectives suivantes sont proposées :

- Tester d'autres solvants pour améliorer l'extraction.
- Etudier les autres parties de la plante, comme les feuilles, la tige et les fleurs.

Conclusion Générale

- Évaluer l'activité antioxydante des différentes parties de la plante *in vitro* et *in vivo*.
- Étudier l'activité anti-inflammatoire *in vivo*.
- Tester *in vitro* l'activité enzymatique, alpha-amylase, acétylcholinestérase, etc., des extraits.
- Détecter la présence des quinones, flavonols, flavanols, stérols et polyterpènes.
- Déterminer le profil physicochimique, pH, taux d'humidité..., des extraits.
- Identifier les principes actifs de cette espèce par des méthodes chromatographiques (HPLC, CPG) et par spectrométrie de masse.
- Évaluer les activités biologiques des huiles essentielles de cette plante.

En suivant ces perspectives, nous espérons approfondir notre compréhension des propriétés biologiques de *Lupinus albus* et maximiser son potentiel d'application dans divers domaines industriels.

A decorative graphic of a scroll with an orange outline and grey circular accents at the top corners. The word "Références" is centered within a white rectangular box inside the scroll.

Références

- 1) Alilou H., Beb. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*asteriscus graeolenssub sp.* Odorus. Afrique Science, P :318- 320.
- 2) Adamczyk B., Simon J., Kitunen V., Adamczyk S., Smolander A. (2017). Tannins and Their Complex Interaction with Different Organic Nitrogen Compounds and Enzymes: Old Paradigms versus Recent Advances. Chemistry Open. 16;6(5) P:610-614. doi: 10.1002/open.201700113. PMID: 29046854; PMCID: PMC5641916.
- 3) Ainouche A., Br T. (2004). Google scholar. Récupéré sur Spronger link..
- 4) Ana P, F. R. (2022). Google scholar. Récupéré sur MDPI.
- 5) Anwar F., Przybylski R. (2012). Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed *Linum usitatissimum L.* Acta Sci Pol Technol Aliment. 11(3) P:293-301.
- 6) Anwar F., Qayyum H. M. A., Hussain A. I., Iqbal S. (2010). Antioxidant activity of 100 % and 80 % methanol extracts from barley seeds *Hordeum vulgareL.*: stabilization of sunflower oil. Grasas Y Aceites, 61(3) P: 237-243. <https://doi.org/10.3989/gya.087409>.
- 7) Arnoldi A., Boschin G., Zanoni C. (2015). The health benefits of sweet lupin seed flours and isolated proteins. Journal Of Functional Foods, 18, P:550-563. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.08.012>
- 8) Bramki M., nekia A. (2016). Recherche des métabolites secondaires du champignon algérien *pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master. Université Constantine 1. P : 35,38
- 9) Baba aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles. P : 2-3.
- 10) Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Nauclea latifolia smith*, une plante médicinale récoltée au mali. Université blaise pascal - Clermont -Ferrand II,2011.
- 11) Bayart M. (2019). Élaboration et caractérisation de bio composites à base d'acide polyactique et de fibres de lin : comptabilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base de époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin. Thèse doctorat. VL -ER. P : 2-28
- 12) Belkhiri F. (2015). Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* Mémoire de master. Université Mohamed Khider – Biskra. P : 5.
- 13) Belkhodja H. (2016). Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité

Références

biologique. Thèse de Doctorat lmd 3^{ème} Cycle En Sciences Biologiques. Université de Mustapha Stambouli –mascara. P : 27-39.

14) Besombes C. (2008) : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Thèse de Doctorat Université de La Rochelle. France. P :5.

14) Bouteldja R. (2020). Effets biologiques des extraits des plantes *Slvia offivinalis L*, *Aristolochia Longa L.*, et *Lupinus albus L*. Thèse de doctorat université Iben Khaldoun Tiaret : Departement des scinces de la nature et de la vie. P: 8.

15) Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free Radical. Nature, 4617(181) :1119-1200.

16) Bot M. I. (2022). Analyse des propriétés et des activités biologiques des saponines. Récupéré sur Norfees : <https://www.norfeed.net>

17) Bouras M. (2018). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques mémoire de master. Université Badji Mokhtar-Annaba. P :5.

17) Benarous K. (2022). Compose phenoliques et alcaloides. Université Amar Telidji, Lghouat. P : 3, 38, 40.

18) Brink M., Belay G. (2006). Céréale et légumes secs, ressources végétales de l'Afrique tropicale 1. Céréale et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas, P :108.

18) Bakhouch I. (2021). Étude phytochimique et évaluation des propriétés biologiques d'une plante spontanée algérienne : *limonium delicatulum*. Thèse de doctorat université Mohamed el bachir- Bordj Bou arrèridj, des sciences biologiques, Algérie. P : 40-41.

19) Walsh C. M., Guinane P., O'Toole W, and Cotter P.D. (2014) Beneficial modulation of the gut microbiota, FEBS Letters, Vol. 588, no. 22. P: 4120–4130.

20) Cammilleri G., Calabrese V., Pantano L., Brunone M., Galluzzo FG., Pulvirenti A., Fritsch T., Bongiorno C., Macaluso A., Ferrantelli V. (2023). Polyphenols of white lupin (*Lupinus albus L.*) seeds cultivated in Southern Italy by a LC-HRMS method. Nat Prod Res. Sep 7:1-5. doi: 10.1080/14786419.2023.2245535. Epub ahead of print. PMID: 37674402.

21) Cardenas J. (2019). Qu'Est-ce qu'une plante médicinale. Récupéré sur Doctissimo : <https://www.doctissimo.fr/html/dossiers/phytotherapie/articles/16260-plante-medicinale.htm>

22) Chabrier J.Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de docteur d'Etat en pharmacie. Université H.P. Nancy1 France. P :173.

24) Cheers M., Benham P., Warrlich G., Freeman M., Choudhary P., Saika P., Tyagi A., Zhang I., Ahmed K. and Al-Rabah A. A. (2019). Field Outcrop Analogue Studies - A Vital

Références

- Resource for Heavy Oil Reservoir Development in North Kuwait. *One Petro.*
<https://doi.org/10.2118/197993-ms>
- 25) Chemat F., Vian M. A., Fabiano-Tixier A., Nutrizio M., Jambrak A. R., Munekata P. E. S., Lorenzo J. M., Barba F. J., Binello A. and Cravotto G. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chemistry*, 22(8), 2325-2353. <https://doi.org/10.1039/c9gc03878g>
- 26) Coste E. F. f. (2015). Trente-sept plantes chinoises (magnoliidae, ranunculidae, étude pharmacologique etintèret thèrapeutique \thirty-seven chinese herbs (*magnoliidae, ranunculidae, asteridae*) botanical characteristics, pharmacological invertigation and therapeutical proper.
- 28) Dangles O., Fargeix G., Dufour C. (1999). One-electron oxidation of quercetin and quercetin derivatives in protic and non protic media. *Journal of the Chemical SocietyPerkin Transactions 2*: 1387-1395.
- 29) Dey P., Kundu A., Kumar A., Gupta M., Lee B. M., Bhakta T., Dash S., and Kim H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). Dans Elsevier eBooks <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816455-6.00015-9> .P: 505-567.
- 30) Dong W., Song Y. (2020). The Significance of Flavonoids in the Process of Biological Nitrogen Fixation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5926. <https://doi.org/10.3390/ijms21165926>.
- 31) Dosemeci M., Blair A., Stewart P.A., Chanderler J. et Trush M.A. (1991), Mortality among industrial workers exposed to phenol, *Epidemiology*, 2, 188-193.
- 32) Emad Mohamed Abdallah K. A. (2017). google scholar. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical.
- 33) Gautier A. (1822). Manuel des plantes médicinales ou description, usage et culture des végétaux indigènes employés en médecine. Éditeur : Audot, Paris, 1106 pages.
- 34) Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vladic J., Sudji J. (2012). Effects of Different Extraction Methods and Conditions on the Phenolic Composition of Mate Tea Extracts. *Molecules*, 17 : 2518-2528. doi :10.3390/molecules17032518.
- 35)Guillaume B., D J. (1987). Google scholar. Récupéré sur ELSEVIER.
- 36)Haioun A., hamoudi F. (2015). Activité antioxydant et antiinflammatoire de la plante médicinale algérienne *anethium graveolens* et leur effet cardioprotecteur contre la toxicité. Mémoire présente en vue de l'obtention du diplôme master. Université Constantine 1. P :57,60.

Références

- 36) Hammoudi R., Khenfer S., Medjouel M., Tlili M. L., Mahammed M. H. (2017). Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from *salvia chudaei*. *Lebanese Science Journal*, 18(2) P: 234-243. [Http://dx. Doi. org/10.22453/LSJ-018.2.234-243](http://dx.doi.org/10.22453/LSJ-018.2.234-243).
- 37) Hanania M., Radwan S., and Karimi E. (2018). Extraction Method and Evaluation of Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity and Minerals of Bitter *Lupinus albus* in Palestine. *Journal Of Biologically Active Products from Nature*, 8(2), P: 137-143. <https://doi.org/10.1080/22311866.2018.1465355>
- 38) Harrar A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbes-Sétif. P :8_31.
- 39) Hossain M. B., Brunton N. P., Patras A., Tiwari B., O'Donnell C., Martin-Diana A. B., and Barry-Ryan C. (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram *Origanum majorana L.* using response surface methodology *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), P:582-590. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.11.001>
- 40) Ibrahim R. A., Elawad A. A., Hamad A. M. (2019). Checklist of Plants Used as Blood Glucose Level Regulators and Phytochemical Screening of Five Selected Leguminous Species. *Agricultural Extension Journal*, 3(1) P :38-57.
- 42) Inoue M., Hayashi S., and Craker, L. E. (2019). Role of Medicinal and Aromatic Plants: Past, Present, and Future. *Dans Intech Open eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82497>.
- 43) Jee Pokorn'á P. R., Venskutonis V., Kraujalis et al. (2015). Comparison of different methods of antioxidant activity evaluation of green and roast *C. Arabica* and *C. Robusta* coffee beans, *Acta Alimentaria*, vol. 44, no. 3, P: 454–460.
- 43) Jiofack T.R., C F. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *medicine and medical sciences*, P: 60-100.
- 44) Kalemba D., K. A. (2003). Google scholar. Récupéré sur med chem.
- 45) Kandikattu K., Kumar P.B.R., Priya V. R., Kumar K. S., Singh R.B.R. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 1(5), P: 729-730.
- 46) Kass E., Wink M. (1999). google scholar. Récupéré sur CABI digital library.
- 48) Khan M. K., Karnpanit W, Nasar-Abbas S. M., Huma Zill-e, Jayasena V. (2015). Phytochemical composition and bioactivities of lupin: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 2004–2012. Doi :10. 1111 /ijfs. 12796.

Références

- 49) Khoudali S., left D. B., Essaqui A., Zertoubi M., Azzi M., Benaissa M. (2014). Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain *Chamaerops humilis L.* du Maroc Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves *Chamaerops humilis L.* from Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (3) :P: 887-898.
- 50) Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. (2010). Effet du type de solvant sur l'extraction des polyphénols de vingt-trois usines ivoiriennes. *Journal of Animal and Plant Sciences*, (5). P:550–558.
- 51) Kumar S., Yadav A., Yadav M., Yadav Jaya P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.). *BMC Research Notes*, 10(60) : 1-12. Dio : 10.1186/s13104-017-2385-3.
- 52) Labbani. (2022). Les composés phénoliques. *Biochimie végétale*, Algerie. P: 1-6.
- 53) Lafka T.I., Sinanoglou V., Lazos E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104: 1206–1214. Doi: 10 .1 0 16/j.foodchem.2007.01.068.
- 54) Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J.-P. (1994). Biogénèse des monoterpènes. II - la chaîne isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* (1994), 133, 79–99.
- 55) Lampart-Szczapa E., Siger A., Trojanowska K., Nogala-Kalucka M., Malecka M., and Pacholek B. (2003). Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts. *Nahrung*, 47(5), 286-290. <https://doi.org/10.1002/food.200390068>
- 57) Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee Ch. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:7292-7295. doi: 10.1021/jf0344385.
- 59) Léger J.F. (2007). *Lupinus albus*. Récupéré sur Tela Botanica: <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75230-synthese>.
- 60) Lin D., Xiao M., Zhao J., Li Z., Xing B., Li X., Kong M., Li L., Zhang Q., Liu Y., Chen H., Qin W., Wu H., and Chen S. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules/MoleculesOnline/MoleculesAnnual*,21(10),1374. <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>.
- 61) Louis-Jeune J. (2020). Google. Récupéré sur nido essential oil.
- 61) Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, (43) P: 992–999.

Références

- 62) Mds M., Rufino R. E., Alves E. S., de Brito J., P´erez-Jim´enez F., Saura-Calixto and Mancini-Filho J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil,” Food Chemistry, vol. 121, no. 4, P: 996–1002, 2010.
- 63) Macheix J., Fleuriet A. and Jay–Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses poly technologiques et universitaires romandes, Collection Biologie, Lausanne. P : 4-5, 192
- 65) Mergheme R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Bahddine. Algérie.
- 66) Milcent, J.P. (2011). *Lupinus albus*. Récupéré sur Tela Botanica: <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75230-synthese>.
- 67) Mompon B., Lemaire P., Mengal Et M. Surbled. 1998. Extraction des polyphénols : du laboratoire a la production industrielle. Polyphenols. Ed. INRA, Paris. P :289.
- 68) Mounia Oussalah S. C. (2003). google scholar. Récupéré sur pub med.
- 69) MUANDA F. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz. P :169.
- 70) Naczk M., Shahidi F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41:1523–1542. Doi: 10.1016/j.jpba.2006.04.002.
- 72) Naser O. A. (2018). Effet des conditions environnementales sur les caractéristiques morpho-physiologiques et la teneur en métabolites secondaires chez *Inula Montana*. Thèse de doctorat Université D"avignon : Faculté de pharmacie. P :26.
- 73) Ngangmou T. N. (2012). Influence de fermentation par lactobacillus plantarum A6 sur la composition chimique et la qualité nutritionnelle des poudres de feuilles de *moringa oleifera lam*. university of Bamenda: Departement of Food thechnology.
- 74) Omnia M., Arief M. E.S. (2019). Review Article: an overview on Biology and ecology of *lupinus albus L*. AUCES, 22, 38. Organique. Université de bamaco Mali. P:183.
- 76) Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition 44, P :307–315.
- 77) Pereira A., Ramos F. and Silva A. S. (2022). Lupin (*Lupinus albus L.*) Seeds : BalancingtheGoodandtheBadandAddressingFutureChallenges.Molecules/MoleculesOnline/MoleculesAnnual,27(23),8557. <https://doi.org/10.3390/molecules27238557>.
- 79) Pierre L. (2008). Etude Chimique de l'espèce *Jacobinia carnea*. Université de Lubumbashi- Recherche en phytothérapie 2008.
- 80) Poiret D. (2014). Google. Récupéré sur mr plantes.com.

Références

- 82) Re R., Pellegrini, N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, P: 1231–1237.
- 83) Rhouma-Martin G. B. (2013). Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés. Thèse de doctorat Université de lorraine. P :5-8.
- 84) Richard A. (1831). *Éléments d'histoire naturelle médicale*. Volume 2. Éditeur : Felix Locquin, Paris, P :478.
- 85) Richter G. (1993). *Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie*. Pub Lausanne (Switzerland) Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. P :322-323. <https://doi.org/10.3390/molecules27248771>.
- 86) savage G. (2003). Chemical and physical properties of saponins. Science directe.
- 87) Sbabou L, (2009). Thèse de doctorat. Diversité génétique du lupin au Maroc et étude du développement racinaire du *lupin blanc* sous stress abiotique par des approches de génomique fonctionnelle abiotique par des approches de génomique fonctionnelle, Université Mohamed v - AGDAL, faculté des sciences, Rabat. P1,5,8.
- 88) Sbabou L. (2009). Étude de développement racinaire du lupin blanc sous stress abiotique par des approches de génomique fonctionnelle. Rabat, Thèse de doctorat. Département des sciences, Maroc.
- 89) Sefrioui M. R., Othmani I. S. E., Filali H., Derfoufi S., Derraji, S., Benmoussa A. and Said, A. A. H. (2021). Evaluation of spermicidal activity of saponosides from *Saponaria officinalis* / *Caryophyllaceae*, *Glycyrrhizia glabra* / *Fabaceae* and *Herniaria glabra* / *Caryophyllaceae*. *Medicine And Pharmacy Reports*. <https://doi.org/10.15386/mpr-1879>
- 90) Sepahpour S., Selamat J., Manap Mohd Y.A., Khatib A., Razis A. F. A. (2018). Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. *Molecules*, 23(402) :1-17. doi :10.3390/molecules23020402.
- 92) Sibul F., Orcic D., Nadjpal J., Mrkonjic Z., Franciskovic M., Majkic T. and Bekvalac K. (2015). Anti-inflammatory and antioxidant activity of white lupin (*Lupinus albus*) aerial parts. *Planta Medica*, 81(16). <https://doi.org/10.1055/s-0035-1565703>.
- 93) Singleton V., Rossi J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- 94) Spina A., Saletti R., Fabroni S., Natalello A., Cunsolo V., Scarangella M., Rapisarda P., Canale M. and Muccilli V. (2022). Multielemental, Nutritional, and Proteomic

Références

- Characterization of Different *Lupinus spp.* Genotypes: A Source of Nutrients for Dietary Use. *Molecules/MoleculesOnline/MoleculesAnnual*,27(24), 8771. <https://doi.org/10.3390/molecules27248771>.
- 95) Sujak, A., Kotlarz, A., & Strobel, W. (2006). Compositional and nutritional evaluation of several lupins eds. *Food Chemistry*, 98(4), P:711-719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.036>
- 97) Szydłowska-Czerniaka A., Dianoczki C., Recseg K., karlovits G., Szlyk E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric – ion spectrophotometric methods, *Talanta* 2008;76. P: 899-905.
- 99) Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103. P: 816–822.
- 100) Vázquez-Ocmin P. (2018). Recherche des molécules antiparasitaires à l'interface de l'ethnopharmacologie, des sciences analytiques et de la biologie. département of pharmacology , centre de recherche pierre fabre .
- 101) Vollmannova A., Lidikova J., Musilova,J., Snirc M., Bojnanska T., Urminska D., Tirdilova I .and Zetochova E. (2021). White Lupin as a Promising Source of Antioxidant Phenolics for Functional Food Production. *Journal Of Food Quality*, 2021, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2021/5512236>.
- 102) Watrelot A., Norton E. L. (2020). Chemistry and Reactivity of Tannins in *Vitis spp.*: A Review. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 25(9), 2110. <https://doi.org/10.3390/molecules25092110>.

Sites internet

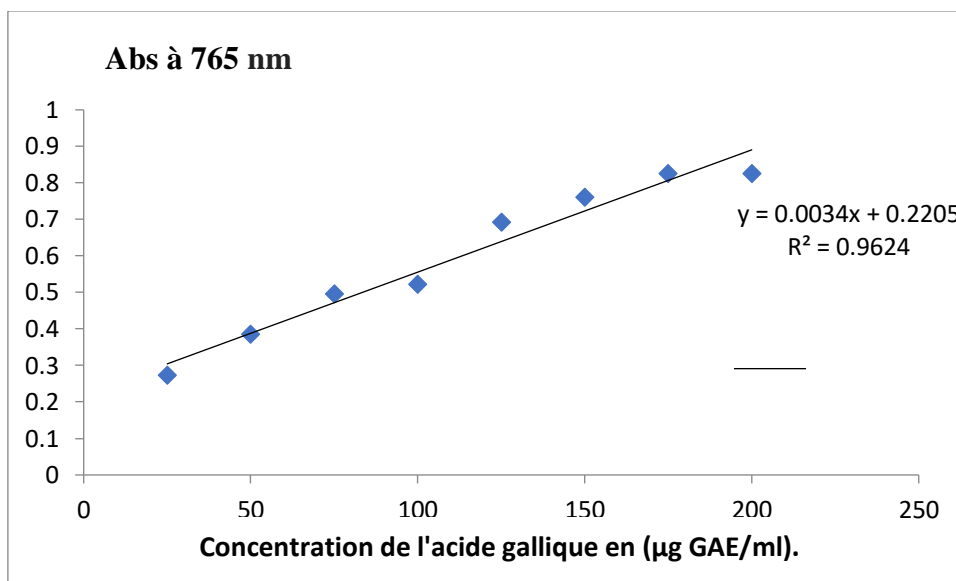
- 1) <https://www.who.int/fr/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>.
<https://www.quatrevoineaux.be/2020/09/legume-le-lupin-comestible-doux-dieta.html>
- 2) <https://www.alamyimages.fr/plantes-en-fleurs-de-lupinus-albus-le-lupin-blancimage247114737.html>.
- 3) https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Lupinus_albus.
- 4) <https://www.semencesdupuy.com/lupinus-alba/983-lupinus-alba.html>.



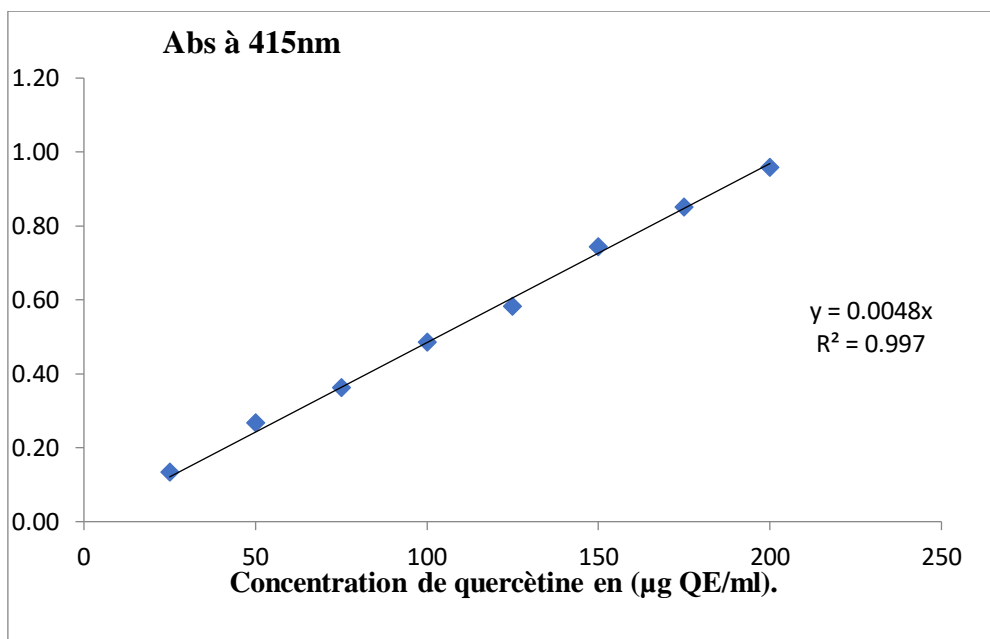
Annexes

Annexe 1

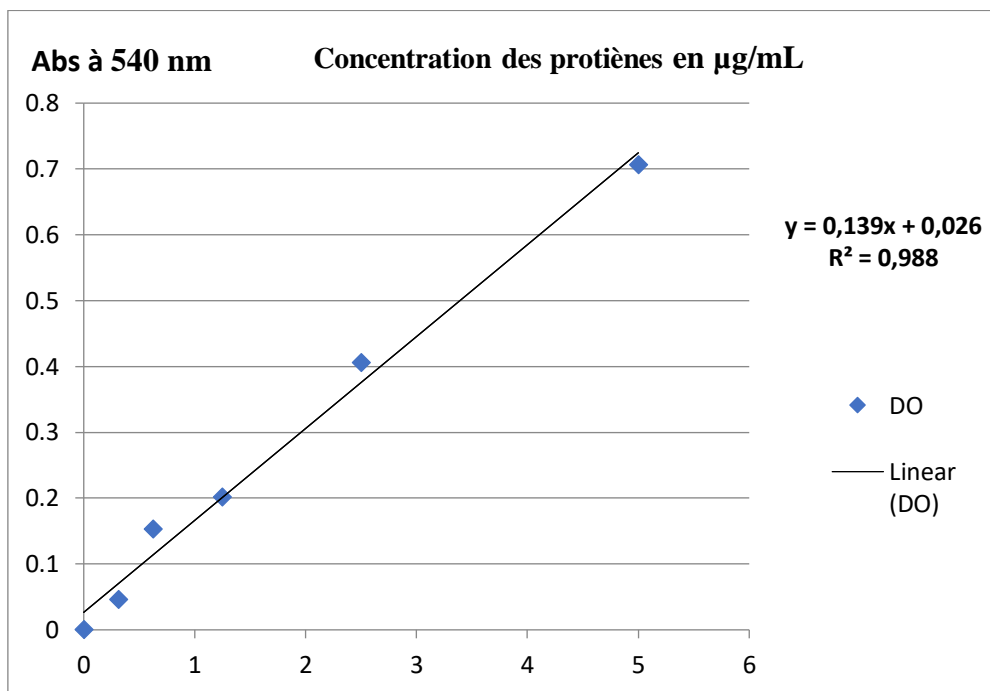
Courbes d'étalonnage



1a. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



1b. Courbe d'étalonnage de quercétine



1c Courbe d'étalonnage de BSA.

Annexe 2

Composition des milieux de cultures

Formule exprimée dans un litre d'eau distillée

Nutrient Agar (GN)

Extrait de levure	2g
Extrait de viande.....	1g
Peptone.....	5g
NaCl	5g
Agar.....	15g
pH.....	pH 7,0

Mueller-Hinton

Infusion de viande de Bœuf.....	300,0 ml
Peptone de Caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar.....	17,0 g
pH	7,4

Sabouraud

Peptone	10 g
Glucose massé	20 g
Agar-agar	15 g
Eau distillée (qsp).....	1000 ml
Vitamines et facteur de croissance	
pH.....	6,0



Résumés

Résumé

Le Lupin blanc (*Lupinus albus*) est largement utilisé en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques. Pour cela, le présent travail se focalise sur la détection des composés phytochimiques de l'extrait méthanolique des graines de cette plante et l'étude de ses propriétés antioxydantes, antiinflammatoire et antimicrobien. Les résultats de l'analyse phytochimique confirment que l'extrait méthanolique des graines de *Lupinus albus* est riche en composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les tanins catéchiques, les saponosides et relativement riche en flavonoïdes et polyphénols. En effet, le dosage de quelques composants secondaires a montré que la teneur en polyphénols est de $20,76 \pm 0,77 \mu\text{g GAE/ml}$ et en flavonoïdes est de $24,58 \pm 1,47 \mu\text{g GAE/ml}$. Le dosage des protéines a montré que cet extrait contient environ $440 \mu\text{g/ml}$. L'étude du pouvoir antioxydant évalué par le test DPPH, le test ABTS, le pouvoir réducteur et le test de la phénanthroline, n'a dévoilé aucune activité antioxydante de cet extrait. De même, ce dernier n'a montré aucune efficacité dans la dégradation de la structure du BSA. Cependant, le test de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des graines de *Lupinus albus* vis-à-vis une gamme de microorganismes (bactéries et champignons), a révélé que cet extrait est capable d'inhiber la croissance de *Bacillus sp.* Les résultats obtenus montrent que *Lupinus albus*, riche en métabolites secondaires, peut être utilisé dans le domaine pharmaceutique. De plus, ces composés renforcent son potentiel en tant qu'ingrédient clé pour le développement de nouveaux médicaments et traitements.

Mots clés : *Lupinus albus*, métabolites secondaires, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne, polyphénols, flavonoïdes, teneur en protéines.

Summary

White Lupin (*Lupinus albus*) is widely used in traditional medicine for its biological properties. Therefore, the present work focuses on the detection of phytochemical compounds in the methanolic extract of the seeds of this plant and the study of its antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. The results of the phytochemical analysis confirm that the methanolic extract of *Lupinus albus* seeds is rich in active compounds such as alkaloids, catechin tannins, saponins, and relatively rich in flavonoids and polyphenols. Indeed, the quantification of some secondary components showed that the content of polyphenols is 20.76 ± 0.77 $\mu\text{g GAE/ml}$ and that of flavonoids is 24.58 ± 1.47 $\mu\text{g GAE/ml}$. The protein content was found to be approximately 440 $\mu\text{g/ml}$. The study of the antioxidant power evaluated by the DPPH test, the ABTS test, the reducing power, and the phenanthroline test revealed no antioxidant activity of this extract. Similarly, it showed no efficacy in degrading the structure of BSA. However, the antimicrobial activity test of the methanolic extract of *Lupinus albus* seeds against a range of microorganisms (bacteria and fungi) revealed that this extract is capable of inhibiting the growth of *Bacillus* sp. The results obtained indicate that *Lupinus albus*, rich in secondary metabolites, can be used in the pharmaceutical field. Moreover, these phenolic compounds enhance its potential as a key ingredient for the development of new drugs and treatments.

Keywords: *Lupinus albus*, secondary metabolites, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, polyphenols, flavonoids, protein content.

الملخص

يستخدم الترمس الأبيض (*Lupinus albus*) على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه البيولوجية. لذلك، يركز هذا العمل على الكشف عن المركبات النباتية في المستخلص الميثانولي لبذور هذه النبات ودراسة خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة للميكروبات. تؤكد نتائج التحليل النباتي أن المستخلص الميثانولي لبذور الترمس الأبيض غني بالمركبات النشطة مثل القلويدات، العفص الكاتيوني، السابونين، وغني نسبياً بالفلافونويدات والبولىفينولات. في الواقع، أظهر تحديد بعض المكونات الثانوية أن محتوى البولىفينولات هو 0.77 ± 20.76 ميكروغرام/GAE/مل، ومحتوى الفلافونويدات هو 1.47 ± 24.58 ميكروغرام/GAE/مل. وقد أظهر قياس البروتينات أن هذا المستخلص يحتوي على حوالي 440 ميكروغرام/مل. لم تكشف دراسة القدرة المضادة للأكسدة التي تم تقييمها بواسطة اختبار DPPH، واختبار ABTS، والقدرة الاختزالية، واختبار الفينانثرولين عن أي نشاط مضاد للأكسدة لهذا المستخلص. وبالمثل، لم يظهر أي فعالية في تحلل بنية BSA. ومع ذلك، فقد كشف اختبار النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص الميثانولي لبذور الترمس الأبيض ضد مجموعة من الكائنات الدقيقة (البكتيريا والفطريات) أن هذا المستخلص قادر على تثبيط نمو *Bacillus sp*. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن الترمس الأبيض، الغني بالمواد الثانوية، يمكن استخدامه في المجال الصيدلاني. علاوة على ذلك، تعزز هذه المركبات الفينولية إمكاناته كمكون رئيسي لتطوير أدوية وعلاجات جديدة.

الكلمات المفتاحية: المركبات الثانوية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط مضاد للميكروبات، بولىفينولات، فلافونويدات، محتوى البروتين.