

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Filière : Sciences

Alimentaires

Spécialité : Qualité

des Produits et

Sécurité Alimentaire.



Réf :

Mémoire de
Fin de Cycle
En vue de
l'obtention du
diplôme

MASTER

Thème

**Etude du contenu métabolique et de l'activité antioxydante des
fleurs de *Borago officinalis* L. (Bourrache)**

Réalisé par :

MOULOUA Sara & OUMAKHLOUF Thiziri.

Devant le jury composé de :

Mr Mokrani A.
Mme Guendouz N.
Mme Merzouk H.

Président
Promotrice
Examinatrice

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

*Nous remercions **ALLAH**, en premier lieu pour nous avoir accordé la chance et la force pour arriver jusque-là.*

*Nous remercions ensuite **Mr. MOKRANI Abderrahmane** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury et **Mme. MERZOUK Hafida** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions **Mme. GUENDOUZE-BOUCHEFA Naima** d'avoir accepté de nous encadrer et d'avoir été avec nous étape par étape.*

*Nous remercions **Mlle BRAHMI Fatiha** et **Mme HADDADI-GUEMGHAR Hayat** pour leur présence en cas de besoin et leur patience.*

*Nous remercions aussi tout le personnel des **laboratoires d'analyse instrumentale, de chimie** et de **3BS** pour leur aide.*

Nous n'oublions pas de remercier nos camarades pour leur compréhension et collaboration durant la durée de notre stage.

Et pour finir, nous remercions tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, au bon déroulement de notre travail et recherches.

De ce fait, nous disons

Merci.

Dédicace

Je commence par rendre grâce à Dieu

À mes chers parents Fatiha et Ali qui m'ont entouré, tout long de ma vie, de leur amour
et leurs sacrifices durant toute la période de mes études.

À mon cher mari Mohamed qui a toujours été à mes côtés et qui m'a soutenu pour
terminer mon travail.

À ma sœur Asma et mon frère Mustapha.

À ma grand-mère Ourida et mes grands-pères Abdelhamid et Abdelkader.

À la mémoire de ma grand-mère Mouni

À mon beau père et ma belle-mère Amer et Djaouida.

À mes oncles, tantes et leurs familles.

À mes chères amies.



Dédicace

Je dédie ce simple et modeste travail aux personnes qui font partie de mon petit monde
et qui donnent un sens à ma vie :

À **Papa**, ma lune, qui éclaire les obscurités qui se présentent sur mon chemin et qui
veille sur moi à tout moment,

À **Mama**, mon soleil, qui réchauffe mes journées et m'apporte tout l'amour dont j'ai
besoin pour continuer d'avancer,

À **Fella** et **Syphax**, mon eau et mon oxygène, malgré qu'ils changent avec le climat, ils
me sont indispensables pour ma vie.

À **Mama-Bida**, mon cours d'eau, qui combat la sécheresse de mon sol et je prie
ALLAH de lui accorder une longue vie ;

À **Jeddi Boualem**, **Jeddi Mokrane** et **Setti**, qui ne sont plus que des étoiles qui
éclaireront mon ciel à jamais ;

À mes certains cousins, mes plantes médicinales, surtout **Mouhammed** et **Tata Adila**
qui m'ont toujours aidé et guéri ;

À tous mes **oncles** et mes **tantes**, mes arbres, qui maintiennent mon sol contre toute
érosion ;

À mes amis, mes arcs en ciels, ma **Dalila**, **Hanane**, **Rahima**, **Lynda**, **Noura**, **Nawal**,
Loundja, **Kenza-Nesrine** et **Mouloud** qui ajoutent des couleurs à mon atmosphère.

À **Mme SABAHI** et tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de ma formation
universitaire.



ACAO	: <i>Association of Official Analytical Chemists</i>
APG	: <i>Angiosperm Phylogeny Group</i>
ALA	: <i>Alpha Linoleic Acid</i>
AlCl₃	: <i>TriChlorure d'Aluminium</i>
BSA	: <i>Sérum Albumine Bovine</i>
BHT	: <i>Hydroxy Toluène Butylé</i>
DPPH[°]	: <i>DiPhényl-PicrylHydrazyle (2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle)</i>
DCPIP	: <i>2,6-DiChloroPhénol IndoPhenol</i>
ED	: <i>Eau Distillée</i>
SAA	: <i>Spectrophotométrie d'Absorption Atomique</i>
SDA	: <i>SteariDonic Acid</i>
SDS	: <i>Soduim Dodecyl Sulfate</i>
GLA	: <i>Gamma Linoleic Acid</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HMF	: <i>Hydroxy-MéthylFurfural</i>
MF	: <i>Matière Fraiche</i>
MS	: <i>Matière Sèche</i>
PTT	: <i>PolyPhénols Totaux</i>
TEA	: <i>TriEthanolAmine</i>

Figure 1 : Photographie de la bourrache.....	4
Figure 2 : Structures chimiques des alcaloïdes pyrrolizidiniques des fleurs de bourrache.....	9
Figure 3 : Pasta à la bourrache	10
Figure 4 : Le pain de bourrache	10
Figure 5 : Structure des flavonoïdes et position des principaux substituants.....	12
Figure 6 : Structure d'un tanin hydrolysable (a) et d'un tanin condensé (b)	13
Figure 7 : Structure chimique de la lignine	13
Figure 8 : Structure chimique de quelques coumarines	14
Figure 9 : Déséquilibre de balance entre pro-oxydants et antioxydants	15
Figure 10 : Région de cueillette de l'échantillon (Village Imakhlef / Tala N Teghrast).....	16
Figure 11 : Étapes de traitement des fleurs de bourrache.	17
Figure 12 : Protocole de dosage des sucres totaux.....	19
Figure 13 : Protocole de dosage des polyphénols totaux	21
Figure 14 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	21
Figure 15 : Protocole de dosage des flavonols.....	22
Figure 16 : Protocole du dosage des tanins totaux	23
Figure 17 : Protocole de dosage des tanins condensés.....	24
Figure 18 : Les formes de structures prédominantes des anthocyanines selon le pH.....	24
Figure 19 : L'oxydation de l'acide ascorbique par le DCPIP	25
Figure 20 : Protocole de dosage de l'acide ascorbique.....	26
Figure 21 : Réduction du radical DPPH [•] en DPPH-H	27
Figure 22 : L'hydroxylation de l'acide salicylique par oxydation radicalaire	28
Figure 23 : Schéma du principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme	29
Figure 24 : Méthode de préparation des dilutions de la gamme d'étalonnage pour le test de la SAA.....	30
Figure 25 : Effet du type de solvant sur l'extraction des polyphénols totaux.....	31
Figure 26 : Effet du temps de l'extraction sur la teneur en polyphénols totaux	33
Figure 27 : Effet de la quantité de la poudre des fleurs de bourrache sur la teneur en polyphénols	34
Figure 28 : Pouvoir scavenger du radical DPPH [•] de l'extrait de la poudre des fleurs de bourrache.....	38
Figure 29 : Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait aqueux de la poudre des fleurs de bourrache et l'acide gallique.....	39

Tableau I : Noms vernaculaires de <i>Borago officinalis</i> L.	2
Tableau II : Classification systématique de <i>Borago officinalis</i> L. selon l'APG III	3
Tableau III : Composition chimique de la bourrache.....	5
Tableau IV : Composés chimiques des fleurs de bourrache (g/100g de poids frais).....	5
Tableau V : Teneur en caroténoïdes dans la fleur de bourrache (mg équivalent β -carotène/100 g poids frais)	6
Tableau VI : Composition des fleurs de bourrache en acides organiques (g/100 g de poids frais)	6
Tableau VII : Composition en sucres de la fleur de bourrache (g/100g de poids frais).....	7
Tableau VIII : Composition des fleurs de bourrache en acides gras (g/100g poids frais)	7
Tableau IX : Composition en vitamine E de la fleur de bourrache	8
Tableau X : Mode opératoire du test de DPPH'	27
Tableau XI : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de fleurs de bourrache.	35
Tableau XII : Résultats des teneurs en substances phytochimiques dans la poudre des fleurs de bourrache (mg/g de MS).....	36

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur la bourrache.....	2
I.1. Historique et répartition géographique	2
I.2. Noms vernaculaires.....	2
I.3. Classification taxonomique.....	3
I.4. Description botanique	3
I.5. Habitat.....	4
I.6. Composition chimique de la bourrache	4
I.7. Composition des fleurs de bourrache.....	5
I.8. Intérêt et utilisation de la bourrache.....	9
I.9. Activités biologiques des fleurs de bourrache	10
II. Généralités sur les composés phénoliques.....	11
II.1. Flavonoïdes.....	11
II.2. Tanins	12
II.3. Lignines	13
II.4. Coumarines	13
III. Généralités sur l'activité antioxydante.....	14
III.1. Définition d'un antioxydant	14
III.2. Radicaux libres.....	14
III.3. Espèces réactives de l'oxygène	14
III.4. Stress oxydant	14
III.5. Mécanisme de l'oxydation	15
III.6. Système antioxydant	15
Partie pratique	
I. Matériel et méthodes.....	16
I.1. Récolte de la matrice végétale	16

I.2. Séchage	16
I.3. Optimisation de l'extraction des composés phénoliques	17
I.4. Analyses physico-chimiques.....	18
I.5. Analyses phytochimiques	20
I.6. Évaluation de l'activité antioxydante.....	25
I.7. Dosage des minéraux	29
I.8. Analyse statistique	30
II. Résultats et discussion	31
II.1. Optimisation de l'extraction	31
II.2. Analyses physico-chimiques	34
II.3. Analyses phytochimiques	36
II.4. Évaluation de l'activité antioxydante	38
II.6. Dosage des minéraux.....	40
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	42
Annexes.....	53
Résumé	59
Mots clés: <i>Borago officinalis</i> ; Fleurs; Polyphénols; activité antioxydante.....	59
Abstract	59

Introduction

L'Homme utilise les plantes pour leur fonction nutritionnelle, ainsi que pour d'autres fonctions telles que le pouvoir de guérison (**Newman et Cragg, 2012**).

Les effets protecteurs des plantes médicinales et aromatiques contre diverses maladies ont été attribués à la présence de composés phytochimiques (**Parejo et al., 2003**). Parmi ces principes actifs, les composés phénoliques.

Les composés phénoliques suscitent depuis une dizaine d'années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (**Balasundram et al., 2006 ; Dontha, 2016**). Ces composés sont bénéfiques pour la santé car ils présentent d'excellentes propriétés biologiques telles que l'activité antioxydante, anticancérogène et antimicrobienne (**Park et al. 2020**).

L'utilisation des antioxydants d'origine végétale a pour but de faire face aux processus oxydatifs incontrôlables induits par les espèces réactives de l'oxygène. L'accumulation de ces molécules dans l'organisme déclenche un mécanisme réactionnel radicalaire qui dégrade les molécules biologiques, qui peut à long terme contribuer à l'apparition de diverses pathologies comme les cancers (**Ben Moussa et al. 2022**).

Parmi les plantes médicinales utilisées pour leur activité antioxydante la bourrache, ou *Borago officinalis* L. Cette espèce, appartenant à la famille des boraginacées, est une plante annuelle qui régule le métabolisme et le système hormonal. Elle est prescrite pour le rhume, la bronchite et les inflammations respiratoires (**Afif Chaouche 2014 ; El Haddad et al., 2018**).

Cette présente étude porte sur l'optimisation de l'extraction des polyphénols totaux des fleurs de la bourrache, le dosage de différents constituants de cette plante et l'évaluation de son pouvoir antioxydant.

Notre travail est scindé en de deux parties : une synthèse bibliographique des recherches antérieures, et une partie pratique dans laquelle sont exposés nos propres recherches et résultats faits au sein des laboratoires de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia sur les fleurs de *Borago officinalis* L. de la région d'El-Kseur.

Synthèse
bibliographique

I. Généralités sur la bourrache

I.1. Historique et répartition géographique

La bourrache ou *Borago officinalis* L. dérive de *Borago* du moyen âge, qui signifie en Latin « *Burra* », bure qui est une étoffe grossière en laine. Ce nom lui a été donné en référence à ses feuilles rêches comme la bure. Cette nomination peut être renvoyée à l'arabe « *Aba rach* » ou même « *Abû araq* » signifiant « Le père de la sueur », en se justifiant de ses propriétés sudorifiques connues depuis l'Antiquité. En outre, le terme « *Officinalis* » affirme son usage pharmacologique dans les temps anciens (Couplan, 2012 ; Vigean et al., 2009).

Des anciens documents montrent que la bourrache est native des régions méditerranéennes et a été intégrée en Espagne par les tribus nord-africaines, puis s'est répandue dans le reste de l'hémisphère-nord ainsi que certaines régions de l'hémisphère-sud (Asadi-Samani et al., 2014 ; Tamariz et al., 2018).

I.2. Noms vernaculaires

Les différents noms vernaculaires de *Borago officinalis* L. sont présentés dans le **tableau I**.

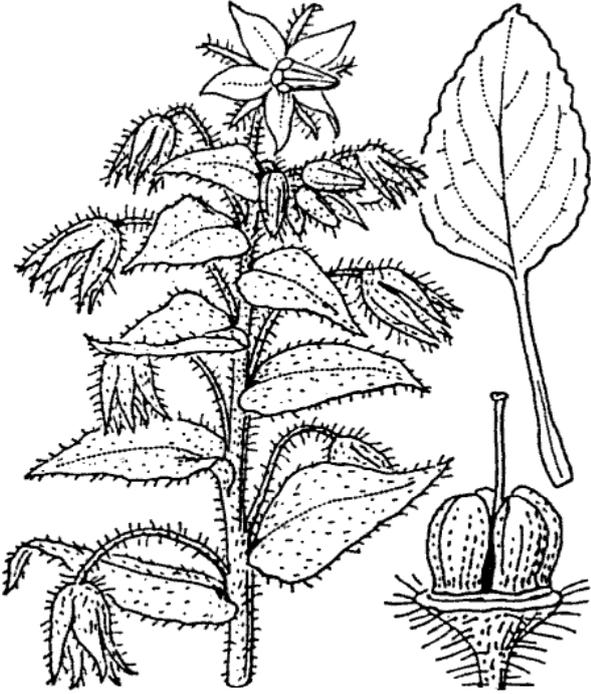
Tableau I : Noms vernaculaires de *Borago officinalis* L.

Langue	Nom	Source
Français	Bourrache, bourrage, bourse, pain des abeilles, herbe à la suée, bourse à berger, bourse, buglosse à larges feuilles	(Filière Des Plantes Médicinales Biologiques Du Québec, 2010; Myrtéa formations, 2015)
Anglais	Borage	
	Starflower	(Góral et Wojciechowski, 2020)
Arabe	<i>Lisan al-thawr</i> (Langue de bœuf)	/
Berbère	Chikh lebqul, Iles n tfunast	/

I.3. Classification taxonomique

Selon la troisième version du groupe de phylogénie des angiospermes (APG III), la classification systématique de la bourrache est donnée dans le **tableau II**.

Tableau II : Classification systématique de *Borago officinalis* L. selon l'APG III (Tela Botanica, 2011).

Rang	Nom Scientifique	Illustration
Cladus	Plantae	
Cladus	Plasmodesmophytes	
Cladus	Embryophytes	
Cladus	Stomatophytes	
Cladus	Hemitracheophytes	
Cladus	Tracheophytes	
Cladus	Euphyllophytes	
Cladus	Spermatophytes	
Cladus	Angiospermes	
Cladus	Monocotyledones	
Ordre	Asparagales	
Famille	Amaryllidaceae	
Genre	<i>Allium</i>	
Espèce	<i>Allium triquetrum</i>	

I.4. Description botanique

La bourrache est une plante herbacée annuelle de 30 à 80 cm de hauteur, à tige et feuilles hérissées de poils courts et rudes, émettant une odeur de concombre. Sa tige est creuse, épaisse et ramifiée. Ses feuilles basales sont pétiolées en forme ovale. Les plus hautes feuilles sont alternes, rudes et ridées tandis que celles caulinaires sont plus petites, embrassantes et sensibles (Myrtéa formations, 2015). Les fleurs de la bourrache se présentent en forme d'étoile avec cinq pétales de couleur bleu azur, devenant roses au déclin, au cœur blanchâtre où se rassemblent les étamines noires en cônes saillants. La floraison s'étale entre Mai et Juillet (Couplan, 2012; Myrtéa formations, 2015) (figure 1). Les

graines formées sont brunâtres et ne possèdent pas d'albumine (Asadi-Samani et al., 2014 ; Myrtéa formation, 2015).



Figure 1 : Photographie de la bourache (Cornara et al., 2018).

I.5. Habitat

La bourache pousse dans les régions sèches et ensoleillées ne dépassant pas 1800 mètres d'altitude. Elle est retrouvée dans les champs, les jardins et aux bords des chemins (Myrtéa formations, 2015). Cette plante tolère des pH de 4.5 jusqu'à 8.2 avec un optimum de 6.6 (Asadi-Samani et al., 2014).

I.6. Composition chimique de la bourache

De nombreux travaux ont montré que la bourache est une source de plusieurs éléments importants ayant un effet bénéfique sur la santé (**tableau III**).

Tableau III : Composition chimique de la bourrache.

Classe	Composé	Référence
Alcaloïdes	Pyrrolizidiniques : (+)-thesinine-4-O- β -D-glucoside	Tamariz et al. (2018)
Flavonoïdes	Flavonols : kaempféol et quercitrine	El Haddad et al. (2018)
	Anthocyanines : pétunidine-3,5-diglucoside et Delphinidine-3,5-diglucoside	Salem et al. (2013)
	Flavones : lutéoline et apigénine (vitexine)	Zemmouri et al. (2014)
Tanins	Catéchine	
Sucres	Arabinose, glucose et galactose	
Acides gras	Acides α -linoléique, stéaridonique, γ -linoléique et oléique	Asadi-Samani et al. (2014)
Sels minéraux	Potassium, calcium et nitrate de potassium	

I.7. Composition des fleurs de bourrache

I.7.1. Composés chimiques

Les fleurs de bourraches contiennent majoritairement de l'eau. Pour la matière sèche, elles renferment par ordre décroissant des fibres, protéines, cendres et lipides (**Fernandes et al., 2020**) (tableau IV).

Tableau IV : Composés chimique des fleurs de bourrache (g/100g de poids frais) (**Fernandes et al., 2020**).

	Humidité	Cendres	Protéines	Lipides	Fibres totales
Teneurs	86.6 \pm 1.8	2.05 \pm 0.11	3.04 \pm 0.10	0.66 \pm 0.15	4.75 \pm 0.10

I.7.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes présents dans les fleurs de bourrache sont la lutéine et le β -carotène (**Fernandes et al., 2020**) (tableau V).

Tableau V : Teneur en caroténoïdes dans la fleur de bourrache (mg équivalent β -carotène/100 g poids frais) (Fernandes et al., 2020).

	Caroténoïdes totaux	B-carotènes	Lutéine
Teneur	181.4 \pm 13.9	8.50 \pm 0.61	43.73 \pm 2.24

I.7.3. Acides organiques

Les fleurs de bourrache contiennent plusieurs acides organiques dont le principal est l'acide malique (Fernandes et al., 2020) (tableau VI).

Tableau VI : Composition des fleurs de bourrache en acides organiques (g/100 g de poids frais) (Fernandes et al., 2020).

Acide organique	Teneur (g/100 g)
Acide citrique	0.93 \pm 0.02
Acide lévulinique	1.17 \pm 0.07
Acide fumarique	0.87 \pm 0.01
Acide succinique	0.49 \pm 0.01
Acide malique	2.88 \pm 0.03
Acide salicylique	0.01 \pm 0.01
Acide hydroxy-cinnamique	0.22 \pm 0.01
Acide malonique	0.05 \pm 0.01
Totale	6.63

I.7.4. Sucres libres

Les fleurs de bourrache sont riches en sucres, dont le fructose, le glucose et le saccharose (Fernandes et al., 2020) (tableau VII).

Tableau VII : Composition en sucres de la fleur de bourrache (g/100g de poids frais)
(Fernandes et al., 2020).

Sucre	Saccharose	Glucose	Fructose	Total
Teneur	3.86 ± 0.75	5.96 ± 0.75	6.97 ± 0.38	16.8

I.7.5. Acides gras

Les acides gras majeurs trouvés dans les fleurs de bourrache sont les acides linoléique ($\omega 6$), palmitique, oléique ($\omega 9$) et α -linoléique ($\omega 3$). Les acides gras insaturés sont plus abondants que les acides gras saturés (**tableau VIII**) (Fernandes et al., 2020).

Tableau VIII : Composition des fleurs de bourrache en acides gras (g/100g poids frais)
(Fernandes et al., 2020).

Acides gras		Teneur (g/100 g)
Acides gras saturés (AGS)		
Acide laurique	C12:0	0.46 ± 0.07
Acide myristique	C14:0	0.67 ± 0.14
Acide pentadécylique	C15:0	0.25 ± 0.04
Acide palmitique	C16:0	17.11 ± 0.66
Acide margarique	C17:0	0.87 ± 0.15
Acide stéarique	C18:0	4.80 ± 0.36
Acide arachidique	C20:0	1.80 ± 0.23
Acide béhénique	C22:0	2.49 ± 0.38
Acide lignocérique	C24:0	2.58 ± 0.34
AGS totale		31
Acide gras mono-insaturés (AGMI)		
Acide palmitoléique	C16:1n7	0.19 ± 0.07
Acide oléique	C18:1n9	9.90 ± 8.77
Acide gadoléique	C20:1n9	0.32 ± 0.02
Acide érucique	C22:1n9	1.79 ± 0.19
Acide nervonique	C24:1n9	1.95 ± 0.26

AGMI totale		14
Acides gras poly-insaturés		
Acide linoléique	C18:2n6	21.23 ± 2.22
Acide γ -linoléique	C18:3n6	9.64 ± 1.37
Acide α -linoléique	C18:3n3	12.89 ± 1.48
Acide stéaridonique	C18:4n3	6.50 ± 0.79
Acide adrenique	C22:4n6	4.54 ± 0.64
Total AGPI		55
AGPI/AGS		1.77
ω6/ω3		1.80

I.7.6. Vitamine E

Les fleurs de bourrache ne sont pas une source importante de tocophérol car elles présentent une faible teneur en matière grasse. Par ailleurs, elles peuvent contribuer à l'apport journalier en vitamine E si elles sont consommées en très grande quantité (Fernandes et al., 2020) (tableau IX).

Tableau IX : Composition en vitamine E de la fleur de bourrache (Fernandes et al., 2020).

Composition	Teneur (mg/100 g poids frais)
α -tocophérol	2.21 ± 0.06
β -tocophérol	0.29 ± 0.01
γ -tocophérol	0.43 ± 0.01
δ -tocophérol	0.24 ± 0.01
Total tocophérols	3.17
β -tocotriénol	0.28 ± 0.01
γ -tocotriénol	0.19 ± 0.01
Total tocotriénols	0.48

I.7.7. Alcaloïdes pyrrolizidiniques

Les alcaloïdes sont des hétérocycles à nitrogène qui présentent un goût amer et une activité puissante à propriétés médicales et toxiques (Khan et al., 2020). Les deux alcaloïdes clés de la fleur de bourrache sont la berbérine et la sanguinarine qui se trouvent en très petites quantités estimées respectivement à 0.003534% et 0.01174%. Ces deux alcaloïdes sont utilisés en pharmacologie dans la fabrication des stéroïdes (Mohajer et al., 2016) (figure 2).

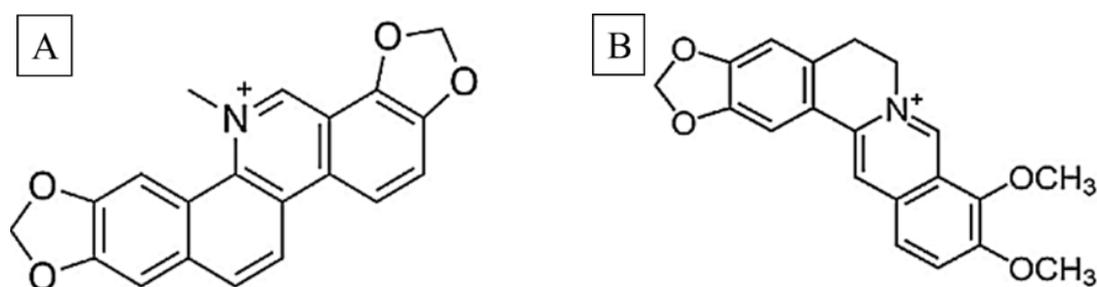


Figure 2 : Structures chimiques des alcaloïdes pyrrolizidiniques des fleurs de bourrache (A : Sanguinarine ; B : Berberine) (Mohajer et al., 2016).

I.8. Intérêt et utilisation de la bourrache

I.8.1. Pharmacologie

L'extrait des feuilles crues de bourrache a des effets soulageant les inflammations, les maladies cardiovasculaires, hépatiques et pulmonaires, réduit le stress et la pression artérielle, et augmente les excréctions urinaires. L'huile de ses graines représente un pouvoir contre les cancers et les maladies inflammatoires chroniques de la peau. Ses acides gras essentiels peuvent servir comme précurseurs de synthèse de composés physiologiques actifs tels que les prostaglandines (Asadi-Samani et al., 2014).

I.8.2. Cosmétique

L'huile des graines de bourrache est utilisée par les femmes en raison de ses bienfaits sur la peau grâce à sa richesse en acide γ -linoléique ($\omega 6$) (Vigean et al., 2009). Cette huile complète la formule végétale de certaines crèmes protectrices de visage, et est intégrée dans la gamme des soins bébé et peaux sensibles (Anonyme 1, 2014).

I.8.3. Alimentation

Plusieurs pays comme l'Espagne et le Portugal cultivent la bourrache pour la consommation de ses fleurs ou des pétioles basals de ses feuilles, avant la floraison et le développement complet (**Kumari et al., 2021 ; Medrano et al., 1992**).

Du côté culinaire, les feuilles fraîches, à l'arôme de concombre, et les fleurs, au goût iodé semblable à celui des huîtres, sont utilisées dans la préparation des boissons et des salades (**Asadi-Samani et al., 2014 ; Filière Des Plantes Médicinales Du Quebec, 2010**). Les fleurs sont non seulement utilisées pour donner de la saveur aux plats, mais aussi pour décorer des repas (**Kumari et al., 2021**) (**figures 3 et 4**). Elles ont aussi la possibilité d'être utilisées comme additif alimentaire pour leur richesse en lutéine (**Fernandes et al., 2020**).

L'huile de bourrache améliore la saveur des veloutés de légumes à base de pommes de terre et celle des poissons grâce à son goût iodé. Elle est un ingrédient essentiel dans la sauce verte chez les allemands (**Vigean et al., 2009**). De plus, sa richesse en acide γ -linoléique lui permet une utilisation comme supplément alimentaire pour combattre la carence en acides gras (**Asadi-Samani et al., 2014**).



Figure 3 : Pasta à la bourrache
(**Micela et al., 2014**).



Figure 4 : Pain de bourrache
(**Vigean et al., 2009**).

I.8.4. Agriculture

Il est bien connu que les limaces craignent la bourrache, ce qui la rend très appréciée par les jardiniers (**Vigean et al., 2009**).

I.9. Activités biologiques des fleurs de bourrache

I.9.1. Activité antioxydante

L'huile des fleurs de bourrache est riche en acides gras insaturés qui résistent au phénomène d'oxydation. Cette résistance est due à la présence des composés phénoliques et des tocophérols (Wettasinghe et Shahidi, 2002).

L'extrait de bourrache contient une quantité élevée de composés phénoliques dont les flavonoïdes, tanins, et anthocyanes, ainsi que la vitamine E, et peut être ajouté aux huiles dans le domaine industriel à la place des antioxydants de synthèse (Wettasinghe et Shahidi, 2002 ; Fernandes et al., 2020).

I.9.2. Activité antibactérienne

Les fleurs de bourrache peuvent servir d'agent antibactérien naturel capable de remplacer certaines substances chimiques au même effet, grâce à leur teneur élevée en acide malique efficace contre certaines bactéries pathogènes (Fernandes et al., 2020). Leur extrait aqueux a la capacité d'inhiber certaines bactéries dont : *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* spp. et *Salmonella enterica* (Miceli, 2015).

I.9.3. Activité neuroprotectrice

La fleur de la bourrache a un effet neuroprotecteur grâce à l' α -tocophérol qu'elle contient. Cette dernière joue un rôle important dans la prévention des maladies neurologiques (Rabah et al., 2020).

I.9.4. Effet antidiabétique

Parmi les utilisations de l'huile essentiel des fleurs de bourrache, le traitement des patients atteint de diabète de type II pour réduire la glycémie (Yue and al., 2021).

II. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont les métabolites secondaires les plus répandus dans le règne végétal. Ils sont utilisés en alimentation et présents dans tous les fruits et légumes (Waksmundzka-Hajnos et Shema, 2011). Cette classe est constituée de coumarines, flavonoïdes, lignines et tanins (Yajima, 2014).

II.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus abondants dans les végétaux. Ils sont connus pour leurs excellentes propriétés chimiques et biologiques (Yang et al., 2016). Ils tirent leur dénomination du mot latin *flavus* qui veut dire jaune (Richter, 1993). Ces composés constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux (Bruneton, 1999). Ils sont caractérisés par une structure de base commune en C₆-C₃-C₆ dans laquelle deux cycles aromatiques (cycles A et B) sont reliés par un hétérocycle oxygéné à trois carbones (cycle C). Ils ont une propriété antioxydante ou oxydante. Au sein des flavonoïdes, se trouvent plusieurs classes de composés comme les flavanols, les flavones et les anthocyanines (figure 5) (Stoclet et Schini-Kerth, 2011).

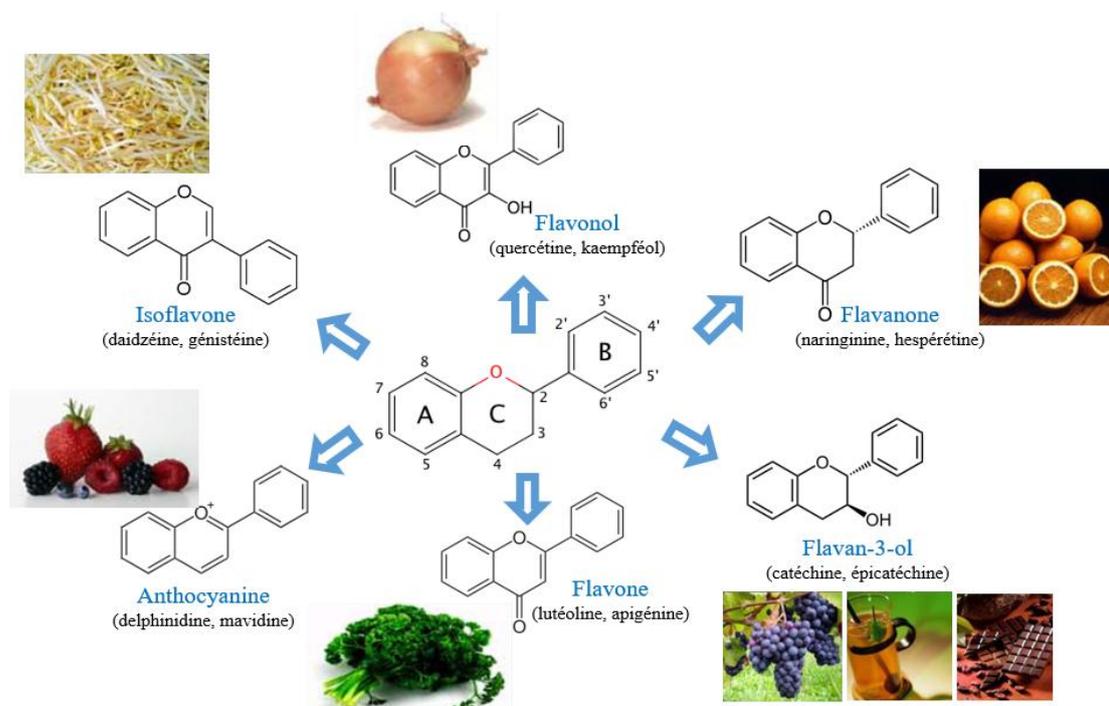


Figure 5 : Structure des flavonoïdes et position des principaux substituants (Stoclet et Schini-Kerth, 2011).

II.2. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques qui ont un poids moléculaire élevé et se divisent en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (proanthocyanidines ou condensés). Ces derniers sont des polymères de flavonoïdes (C₆-C₃-C₆)_n dont la catéchine (Santana-Gálvez et Jacobo-Velázquez, 2018) (figure 6).

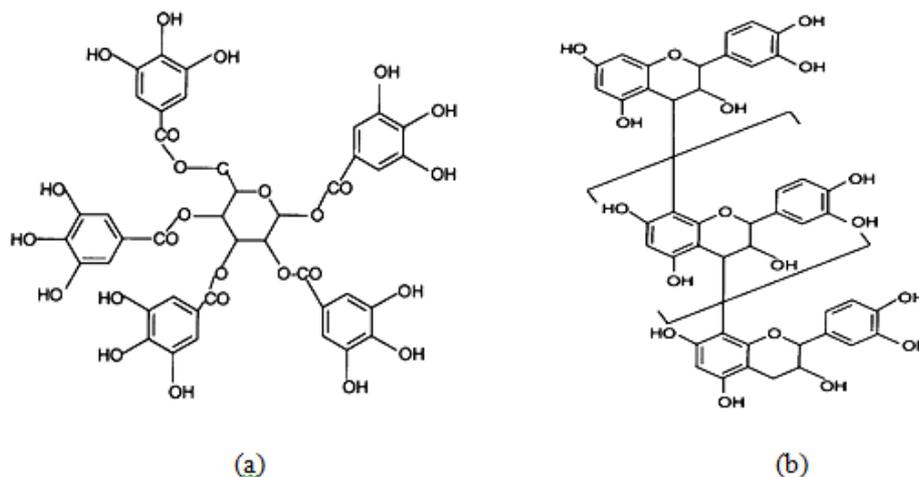


Figure 6 : Structure d'un tannin hydrolysable (a) et d'un tannin condensé (b) (Ribereau-Gayon, 1968).

II.3. Lignines

La lignine contient un groupe hydroxyle phénolique qui lui attribue son rôle d'antioxydant. Dans l'industrie agroalimentaire, la lignine empêche la détérioration de la qualité organoleptique et la perte nutritionnelle des aliments. La lignine oxydée contient des propriétés associées aux lignosulfonates et peut être utilisée dans de différentes applications industrielles, principalement en tant que dispersants (figure 7) (Mahmood, et al., 2018).

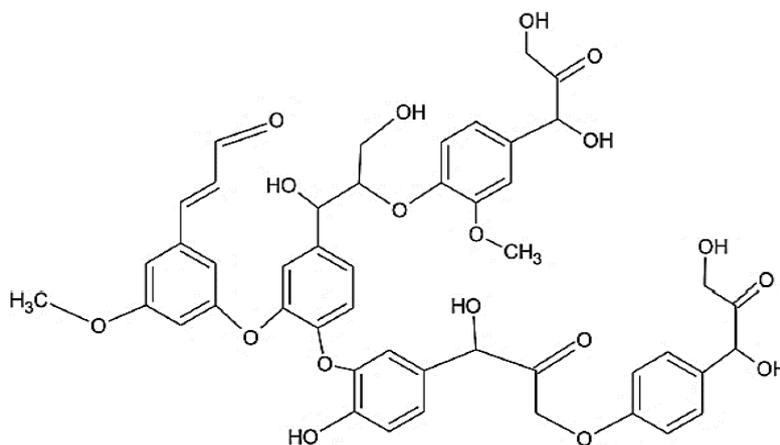


Figure 7 : Structure chimique de la lignine (Mahmood, et al., 2018).

II.4. Coumarines

Les coumarines furent isolées de la fève Tanka (*Coumaroma odorata*), à laquelle elles confèrent son odeur caractéristique (Wichtl et Anton, 2003). Ces composés possèdent

des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou engagés dans des liaisons hétérosides (**Richter, 1993**) (**figure 8**).

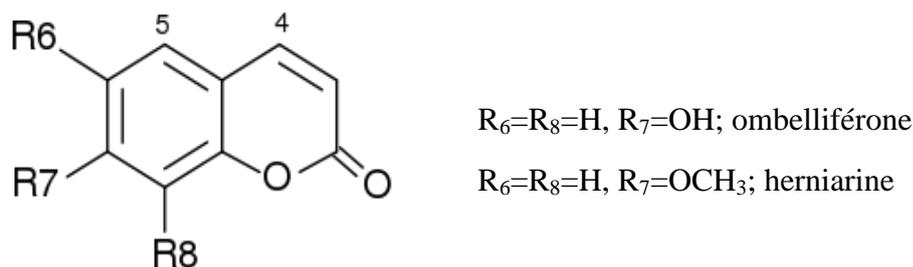


Figure 8 : Structure chimique de quelques coumarines (**Bruneton, 1999**).

III. Généralités sur l'activité antioxydante

III.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**Berger, 2006** ; **Tachakittirungrod et al., 2007**). Il agit comme un agent réducteur ayant le pouvoir de piéger les radicaux libres par deux mécanismes, soit par transfert d'électrons ou par transfert d'atomes d'hydrogène (**Menacer et al., 2017**).

III.2. Radicaux libres

Un radical libre est une molécule indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Cadenas et Packer, 2002**). Ces électrons offrent une très grande réactivité chimique aux radicaux libres (**Poortsman et Boisseau, 2003**). Ces espèces chimiques instables cherchent à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable (**Rolland, 2004**).

III.3. Espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres issus de la réduction monovalente de l'oxygène constituent les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières sont des molécules contenant de l'oxygène dont la réactivité est supérieure à celle de la molécule de dioxygène (O_2) (**Fontaine et al., 2002** ; **Morel et Barouki, 1999**). Les ERO comprennent des espèces radicalaires telles

que l'hydroxyle (OH[•]) et des espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Amarowicz *et al.*, 2004 ; Tachakittirungrod *et al.*, 2007).

A côté des ERO, il y a les espèces réactives de l'azote (ERN) qui génèrent un stress oxydatif qui peut endommager les structures cellulaires (Fu *et al.*, 2014).

III.4. Stress oxydant

Le stress oxydant peut être défini comme un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants au profit des premiers. Ceci implique la production d'espèces réactives de l'oxygène (Mathew et Abraham, 2006) (figure 9). Ce phénomène peut être à l'origine de l'oxydation de diverses biomolécules telles que les lipides, les protéines, l'acide ribonucléique (ARN) et l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ceci engendre une augmentation des risques pour le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, le diabète sucré et l'hypertension (Arabshahi-D *et al.*, 2007; Reddy *et al.*, 2005).

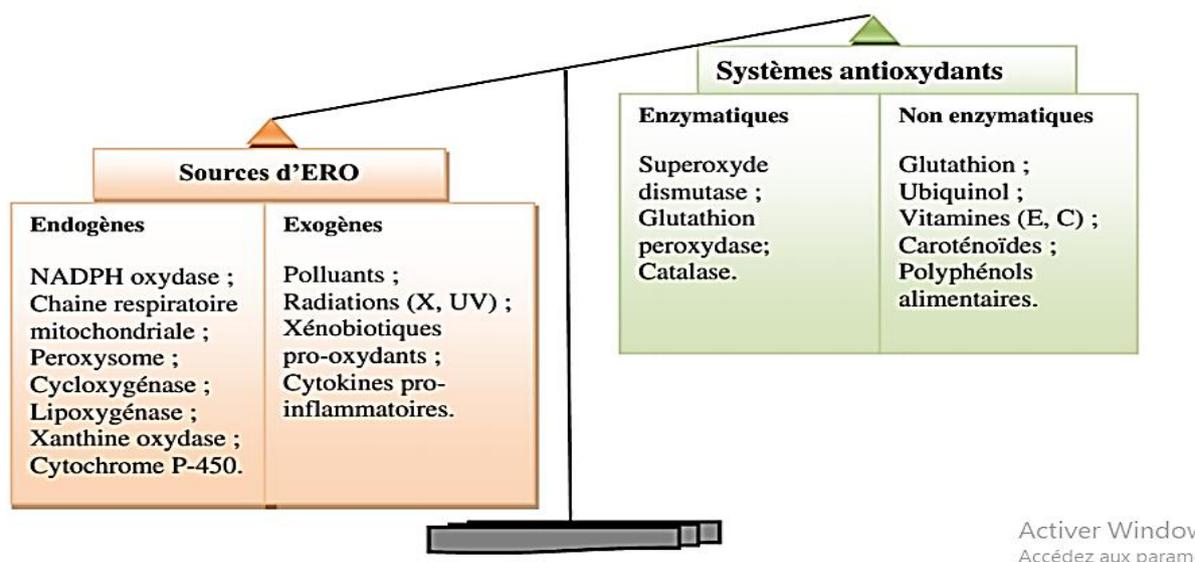


Figure 9 : Déséquilibre de balance entre les pro-oxydants et les antioxydants (Khokhar et Apenten, 2003).

III.5. Mécanisme de l'oxydation

L'oxydation est un phénomène complexe qui met en jeu des espèces moléculaires très réactives qui se traduit par le rancissement de graisses, la rouille des métaux et la flétrissure des fruits et légumes (Judde, 2004 ; Rolland, 2004). Elle est initiée par la lumière, la chaleur,

ou les traces de métaux lourds (Cu^{2+} et Fe^{3+}). Les réactions radicalaires sont d'autant plus destructrices qu'elles se propagent en chaîne : les molécules déstabilisées par un électron célibataire deviennent à leur tour des radicaux libres (**Manach et al., 2004**).

III.6. Système antioxydant

L'organisme humain est équipé de systèmes de défense antioxydants très complexes, enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, etc.) et non enzymatique (vitamines E et C, caroténoïdes, composés phénoliques, etc.) (**Amarowicz et al., 2004; Barizão et al., 2016; Ignea et al., 2013**).

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I.1. Récolte de la matrice végétale

Une quantité de 600 g de fleurs fraîches de bourrache a été cueillie à la main aléatoirement au mois d'Avril 2022 dans l'un des champs du village Imakhlef Oufella (Tala N Teghrast), située à deux kilomètres au nord-est de la ville d'El-Kseur et à 24 km au sud-est de la ville de Bejaia (**figure 10**).

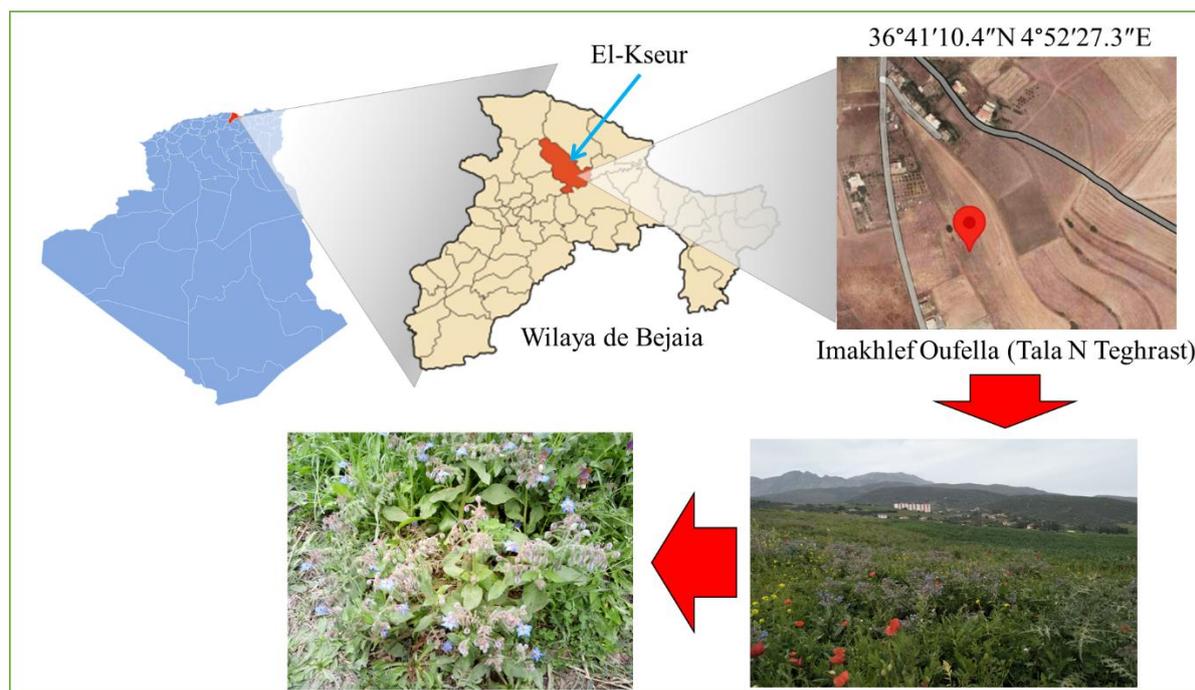


Figure 10 : Région de cueillette de l'échantillon (Village Imakhlef / Tala N Teghrast)
(La position géographique est selon Google maps).

I.2. Séchage

Deux rinçages ont été effectués pour les fleurs, le premier avec de l'eau de robinet et le deuxième avec de l'eau distillée. Les fleurs lavées ont ensuite été étalées et laissées sécher à l'air libre à l'abri du soleil.

Après le séchage, les fleurs de bourrache ont été broyées pour l'obtention d'une poudre (**figure 11**).

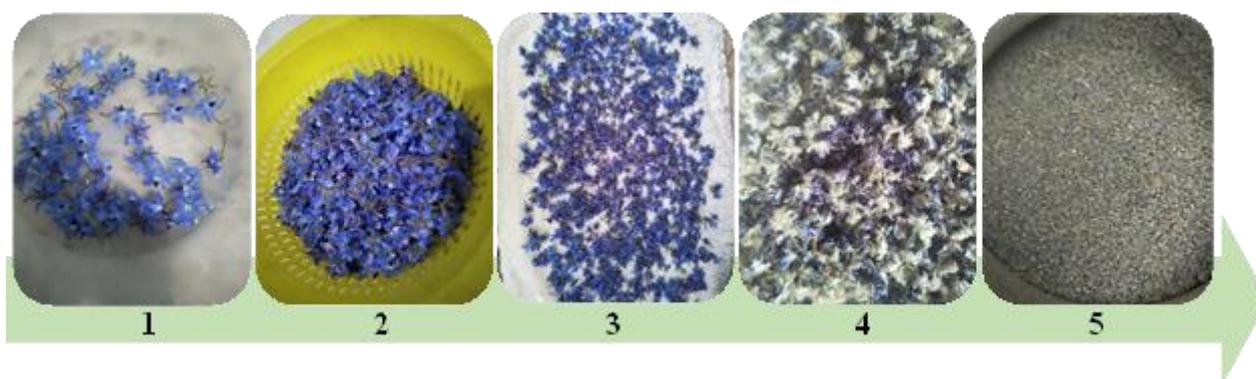


Figure 11 : Étapes de traitement des fleurs de bourrache.

I.3. Optimisation de l'extraction des composés phénoliques

L'extraction est une étape du processus de transformation de la matière première végétale en un extrait (**Richter, 1993**).

L'un des objectifs de ce travail est l'optimisation des paramètres d'extraction des polyphénols totaux des fleurs de la bourrache en faisant varier le solvant d'extraction, la durée de l'extraction et le ratio échantillon/solvant. La méthode utilisée consiste à faire macérer une quantité de poudre de plante dans un solvant sous agitation magnétique pendant une certaine durée. Après macération, les extraits obtenus sont filtrés, puis utilisés pour le dosage des polyphénols totaux.

I.3.1. Optimisation du solvant d'extraction

Le choix du solvant d'extraction est un facteur déterminant dans la procédure d'extraction.

Afin de déterminer le solvant adéquat pour une meilleure extraction, 5g de poudre de fleurs de bourrache ont été macérées dans 100 mL de solvant sous agitation magnétique pendant 30 minutes (**Soares et al., 2009**). 7 solvants de polarité différente ont été utilisés : l'eau distillée, l'éthanol, le méthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'éther de pétrole.

I.3.2. Optimisation du temps d'extraction

Le solvant qui a donné la meilleure teneur en composés phénoliques a été utilisé pour faire la deuxième extraction. Cette dernière repose sur la variation des durées de macération : 5, 15, 30, 60, 120, 210 et 300 minutes.

I.3.5. Optimisation du ratio solvant/échantillon

La durée d'extraction qui donne la teneur la plus élevée en polyphénols totaux sera fixée dans la troisième extraction. Cette dernière repose sur la variation des quantités de poudre de plantes utilisées. Ces quantités sont : 0,02, 0,04, 0,05, 0,1, 0,2 et 0,4 g. Chacune des quantités pesées ont été macérées dans 10 mL de solvant.

I.4. Analyses physico-chimiques

I.4.1. Taux d'extraction

Afin de déterminer le rendement d'extraction, l'extrait optimisé est séché à l'étuve à 40°C jusqu'à l'évaporation totale du solvant. Ensuite, l'extrait sec est pesé et le taux d'extraction est déterminé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction}(\%) = \frac{P_1 - P_0}{E} \times 100$$

Où,

P₀ : poids du bécher vide (g) ;

P₁ : poids du bécher après évaporation (bécher + extrait sec) (g) ;

E : poids de la matière sèche (g).

I.4.2. Test d'humidité

La détermination de la teneur en eau a pour principe d'éliminer l'eau contenue dans un échantillon donné en le chauffant dans une étuve ventilée à 105°C jusqu'à ce que son poids devienne constant (NF V 18-109, 1982).

La teneur en eau dans la poudre de bourrache a été déterminée comme suit : 1g de poudre a été pesé dans un bécher, puis mis à l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation du poids (NF V 18-109, 1982). La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(m_1 - m_2)}{P} \times 100$$

Avec :

H: Humidité (%) ; **m₁** : Masse du bécher plus celle de l'échantillon avant séchage (g) ; **m₂** : Masse du bécher additionnée à celle de l'échantillon après séchage (g) ; **P** : Masse de la prise d'essai (g).

I.4.3. Taux de cendres

La détermination du taux de cendres consiste à faire calciner l'échantillon dans un four à moufle à 900°C jusqu'à l'obtention d'une poudre blanche à grise (NF V05-113, 1972).

La méthode suivie dans ce travail est celle de l'AOAC (1995) qui est décrite comme suit : 3 g de poudre des fleurs de bourrache ont été pesés dans un creuset en porcelaine. Ce dernier est ensuite placé dans un four à moufle à 550°C pendant 4 heures. Le taux de cendres est calculé selon la formule suivante :

$$Cd\% = \frac{(m1 - m2)}{P} \times 100$$

Tels que :

Cd: Teneur en cendres (%) ; **m1** : Masse du creuset avec cendres (g) ; **m2** : Masse du creuset vide (g) ; **P** : Masse de la prise d'essai (g).

I.4.4. Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés d'après la méthode de Dubois et al. (1956). Le principe de cette méthode repose sur la déshydratation des oses en milieu acide et à chaud. Cette déshydratation est accompagnée par la formation d'un hydroxy-méthylfurfural (HMF) dans le cas d'hexoses et du furfural dans celui des pentoses. La condensation de ces composés avec le phénol engendre un complexe de couleur jaune-orangé dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des oses.

Le dosage des sucres totaux a été réalisé selon le protocole décrit dans la **figure 12**.

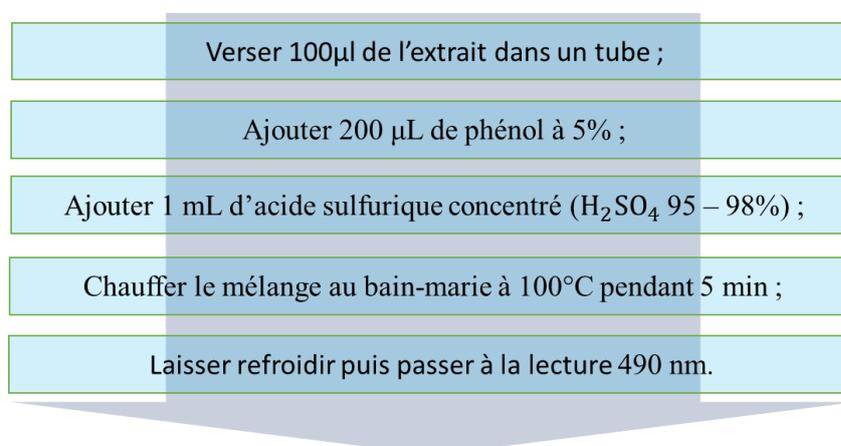


Figure 12 : Protocole de dosage des sucres totaux (Dubois et al., 1956).

La concentration en sucres totaux est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec le D-glucose (**Annexe IV**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent D-glucose par gramme de matière sèche.

I.5. Analyses phytochimiques

I.5.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait des fleurs de bourache a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode du Folin-Ciocalteu. Les constituants de ce dernier, l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PM_{12}O_{40}$), sont réduits en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_3) et de molybdène (MO_8O_3). La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin qui se traduit par une coloration bleu foncé (**Ribéreau-Gayon, 1968 ; Vuorela, 2005**). L'intensité du bleu produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Deux protocoles expérimentaux ont été utilisés : celui de **Singleton et Rossi (1965)** pour l'optimisation du solvant d'extraction, et celui de **Haddadi-Guemghar et al. (2014)** pour le reste des dosages.

D'après **Singleton et Rossi (1965)**, le protocole de dosage des polyphénols totaux est réalisé comme suit : un volume de 0,5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu a été additionné à 0,1 mL d'extrait. Après trois minutes, 1,5 mL du monocarbonate de sodium (20%) ont été ajoutés. Ensuite, le volume est complété à 10 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est incubé à l'obscurité. Après 2 heures d'incubation, la lecture des absorbances a été faite à 760 nm (**Singleton et Rossi, 1965**).

Selon **Haddadi-Guemghar et al. (2014)**, le protocole expérimental suivi pour la détermination de la teneur en polyphénols totaux est décrit dans la **figure 13**.

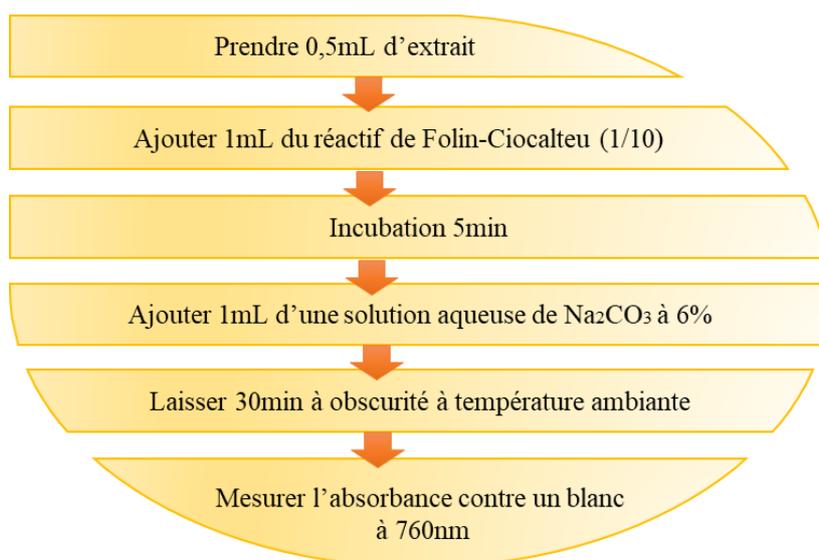


Figure 13 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Haddadi-Guemghar et al., 2014).

La concentration en polyphénols totaux est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**annexe I**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme de matière sèche.

I.5.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner, en présence du chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes contenu dans l'extrait et présente une absorbance à 430 nm (Ribereau-Gayon, 1968) (**figure 14**).

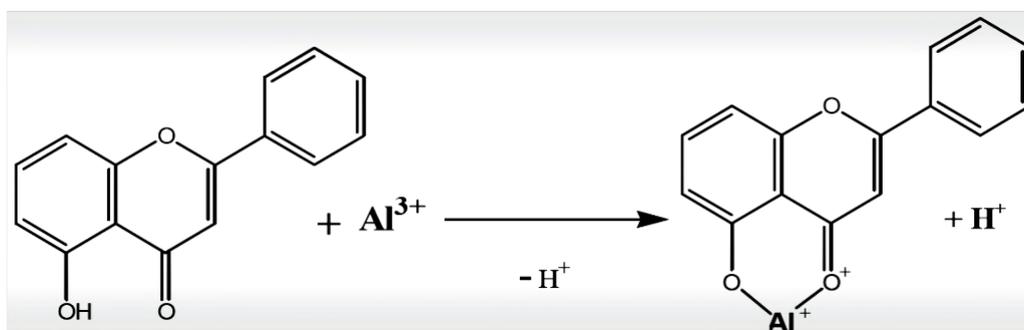


Figure 14 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

Pour la détermination de la teneur en flavonoïdes, la méthode suivie est celle de l' AlCl_3 de **Lamaison et Carnet (1990)** décrite comme suit : 1 mL de la solution de chlorure d'aluminium (2%) a été ajouté à 1 mL de l'extrait. Ce mélange est incubé à l'obscurité pendant 15 minutes, puis son absorbance est lue à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes de l'extrait a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**annexe III**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

I.5.3. Dosage des flavonols

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en flavonols est celle de **Kumaran et Karunakaran (2007)** (**figure 15**).

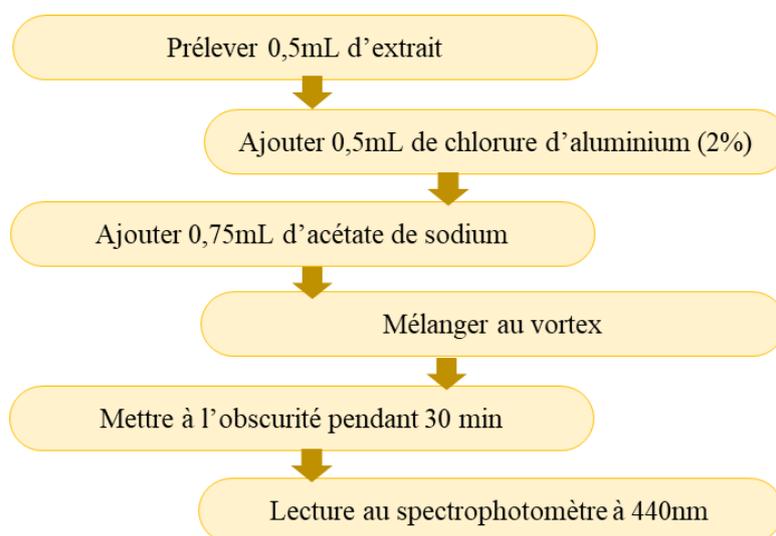


Figure 15 : Protocole de dosage des flavonols (**Kumaran et Karunakaran, 2007**).

Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) déterminés à partir d'une courbe d'étalonnage (**annexe II**).

I.5.4. Dosage des tanins totaux

La méthode de dosage des tanins totaux consiste à utiliser la protéine sérum albumine bovine (BSA) (1M) qui est, solubilisée à son pH isoélectrique, précipitée par les tanins de l'extrait à doser (**annexe X**). En utilisant les sels ferriques, les tanins donnent des colorations et des précipités bleu noir ou brun verdâtre (**Hagerman et Butler, 1978**) (**figure 16**).

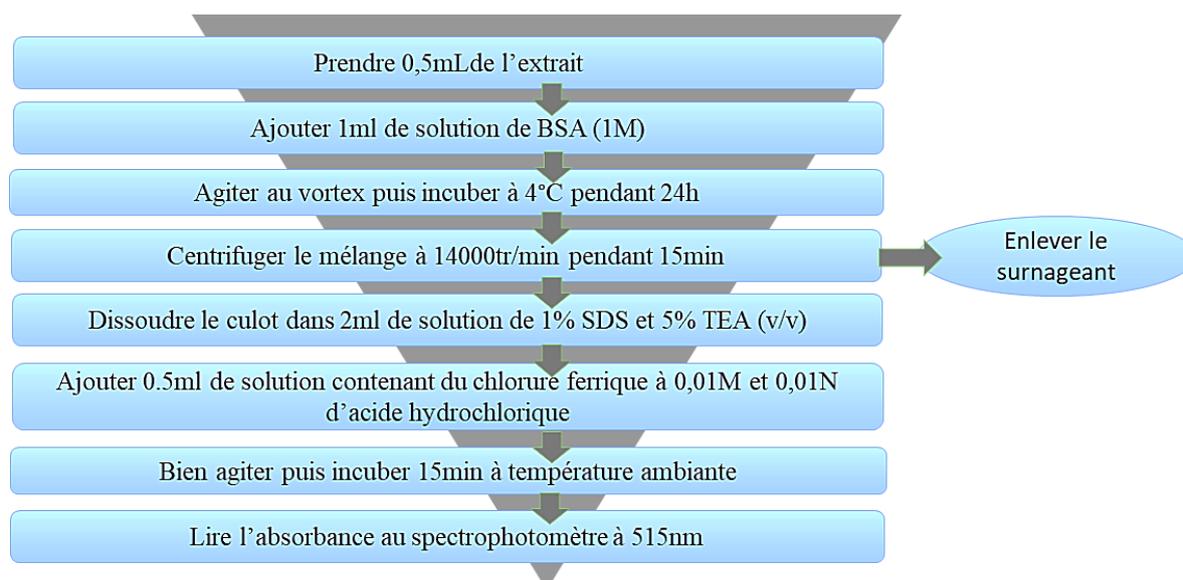


Figure 16 : Protocole du dosage des tanins totaux (Hagerman et Butler, 1978).

La teneur en tanins totaux est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide tannique (**annexe**). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent acide tannique par gramme de matière sèche (mg EAT/g MS).

I.5.5. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés aussi connus sous le nom de proanthocyanidines sont des polymères difficiles à caractériser. Leur dosage nécessite l'hydrolyse des échantillons en milieu acide et à chaud pour une dépolymérisation oxydative donnant des anthocyanidines colorées permettant de les quantifier par spectrophotométrie (**Wilfred et Nicholson, 2006**).

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide, basée sur la capacité de celle-ci à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 550 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (**Julkunen-Titto, 1985**).

Le protocole de dosage des tanins condensés est illustré dans la **figure 17**.

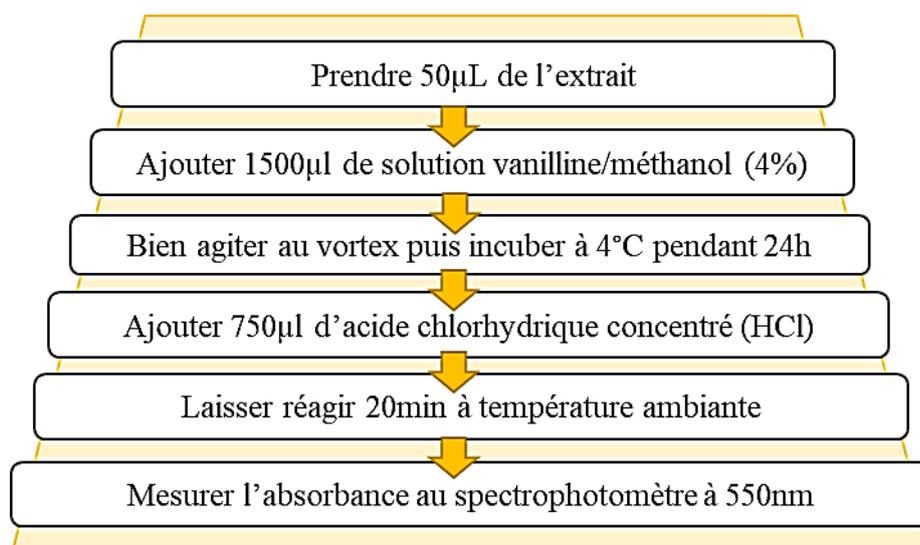


Figure 17 : Protocole de dosage des tanins condensés
(Julkunen-Titto, 1985).

La teneur en tanins condensés est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine (**annexe V**). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

I.5.6. Dosage des anthocyanines

Le dosage des anthocyanines a été mené selon la méthode du pH différentiel basée sur les réactions de transformations réversibles que subissent les pigments d'anthocyanes lors des changements de pH. Deux formes qui se manifestent par différents spectres sont distinguées : La forme oxonium colorée qui prédomine à pH 1.0 et la forme hémicétale qui prédomine à un pH 4.5 (**figure 18**). Cette méthode de quantification est efficace puisqu'elle reste précise et rapide même si des pigments dégradés et/ou d'autres composés interférents sont présents (**Giusti et Wrolstad, 2001**).

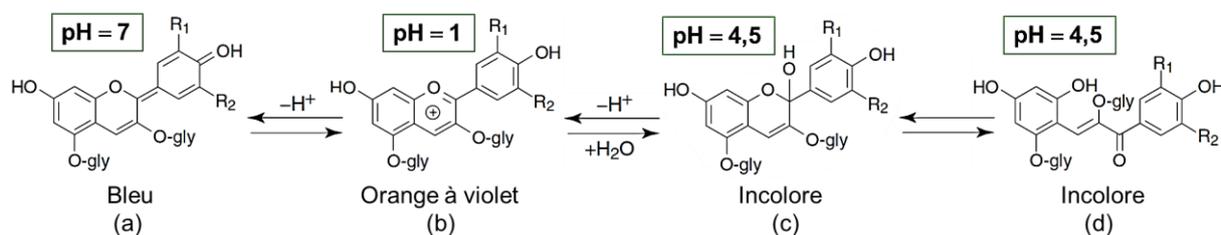


Figure 18 : Les formes de structures prédominantes des anthocyanines selon le pH (**a** : base quinonodale ; **b** : forme oxonium ; **c** : base hémicétalique ; **d** : chalcone)
(Giusti et Wrolstad, 2001).

Le protocole utilisé pour le dosage des anthocyanines est celui de **Giusti et Wrolstad (2001)** qui est décrit comme suit : un volume de 2.5mL du tampon chlorure de potassium (0.025 M, pH = 1) est ajouté à 0.5mL de l'extrait, ensuite son absorbance est lue au spectrophotomètre à 520 nm, puis à 700 nm. La même procédure est refaite avec le tampon acétate de sodium (0.025 M, pH = 4.5).

La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent cyanidine-3-glucoside par gramme de matière sèche.

L'absorbance des anthocyanines est calculée selon la loi suivante :

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH_1} - (A_{520} - A_{700})_{pH_{4.5}}$$

Le calcul de la concentration des anthocyanines monomériques se fait comme suit :

$$C(mg/ml) = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\epsilon \cdot l}$$

Avec, A : Absorbance des anthocyanines ; M : Poids moléculaire de la cyanidine-3-glucoside (449.2 g/mol) ; F : Facteur de dilution ; l : Longueur de la cuve (1cm) ; ϵ : Coefficient d'extinction molaire (26900 cm⁻¹.mol⁻¹.L).

I.5.7. Mise en évidence des saponines

La détection des saponines est révélée par la méthode de **Yadav et Agarwala (2011)**. Elle consiste à ajouter 3 mL d'eau distillée à 1mL de l'extrait. Ce mélange est ensuite agité au vortex pendant deux minutes. La présence de saponines est mise en évidence par la formation d'une mousse persistante.

I.5.8. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage de l'acide ascorbique est basé sur la réaction d'oxydation de la vitamine C par le 2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP) en milieu acide. L'indication de la présence de l'acide ascorbique se traduit par la décoloration du DCPIP (**Hughes, 1983**) (**figure 19**).

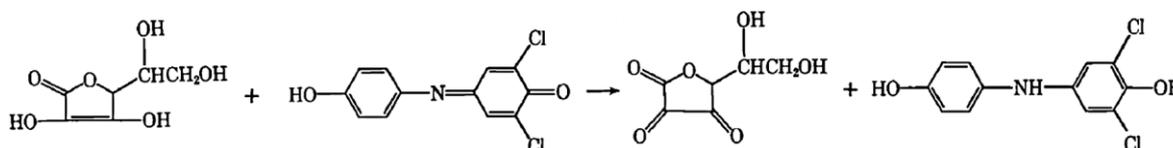


Figure 19 : L'oxydation de l'acide ascorbique par le DCPIP (**Hughes, 1983**).

Le dosage de l'acide ascorbique dans les fleurs de bourrache a été fait en suivant le protocole décrit par **Mau et al. (2005)** avec quelques modifications (**figure 20**).

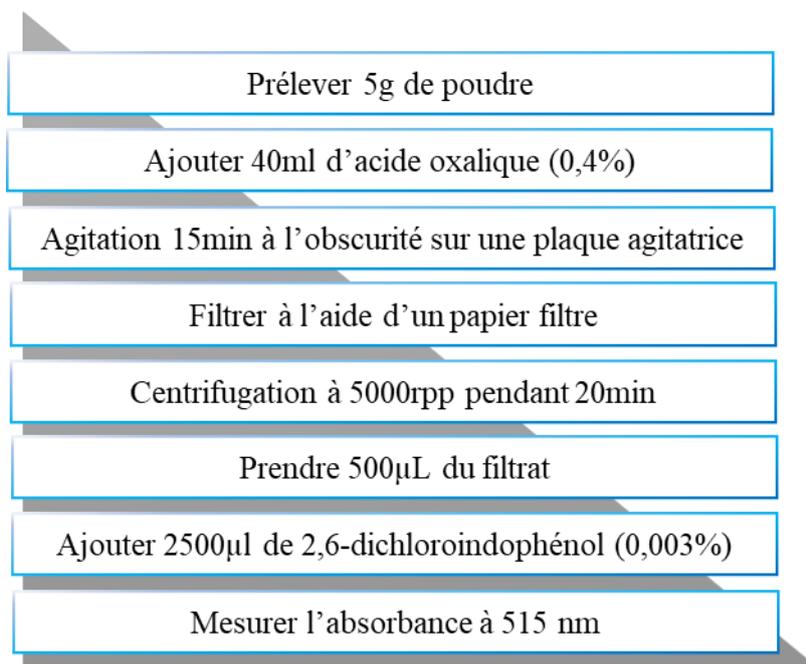


Figure 20 : Protocol de dosage de l'acide ascorbique (**Mau et al., 2005**).

La concentration en acide ascorbique est mesurée en référence à une courbe d'étalonnage et est exprimé en mg d'équivalent d'acide ascorbique par g de matière sèche.

I.6. Évaluation de l'activité antioxydante

Trois tests ont été réalisés afin d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de la poudre des fleurs de bourrache : Le test du pouvoir scavenger du radical DPPH[•], le pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium et le test du pouvoir scavenger du radical hydroxyle.

I.6.1. Test au radical DPPH[•]

Le piégeage du radical DPPH[•] est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Ce radical est de couleur violette foncée en solution dans le méthanol. En présence d'un antioxydant, cette couleur typique du DPPH[•] devient jaune pâle et son absorbance à 517 nm diminue lorsqu'il est réduit en son hydrazine (**figure 21**). Le degré de décoloration indique le potentiel de l'effet de piégeage de l'extrait. Le radical DPPH[•] entre en réaction avec des agents réducteurs donateurs d'atome d'hydrogène qui sont capables de le réduire (**Popovici et al., 2010**).

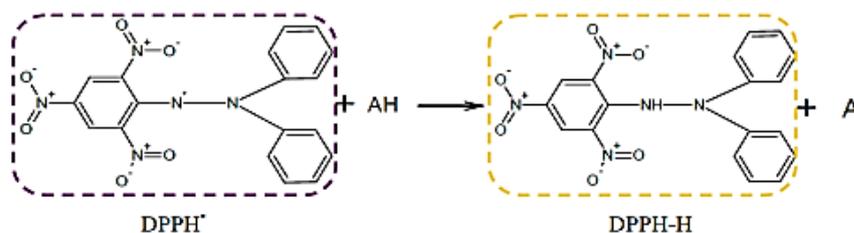


Figure 21 : Réduction du radical DPPH[•] en DPPH-H (Popovici et al., 2010).

L'activité scavenger du radical DPPH[•] a été réalisée selon la méthode de **Blois (1958)** expliquée dans le **tableau X**.

Tableau X : Mode opératoire du test de DPPH[•] (Blois, 1958).

Dilution	A	B	C	D	E
Extrait (μL)	200	400	600	800	1000
Eau (μL)	800	600	400	200	0
Méthanol (mL)	1	1	1	1	1
DPPH (mL)	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Volume total (mL)	2.15	2.15	2.15	2.15	2.15

I.6.2. Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

Le test du pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium est basé sur la réduction du molybdate sous la forme Mo⁶⁺ vers la forme Mo⁵⁺ par des substances antioxydantes présentes dans l'extrait de poudre des fleurs de bourrache qui sont antioxydantes. En milieu acide, le complexe phosphate-Mo⁵⁺ formé induit la formation d'une couleur verte à intensité proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Bougatef et al., 2009**).

La détermination du pouvoir réducteur de l'extrait aqueux des fleurs de la bourrache a été menée selon la méthode de **Silici et al. (2010)** qui est décrite comme suit : 2 mL d'un solvant réactif composé de phosphate de sodium (28mM), de phosphomolybdate d'ammonium (4mM) et d'acide sulfurique (0.6mM) ont été ajoutés à 0.2 mL d'extrait. Puis, ce mélange est agité et incubé dans un bain marie à 90°C pendant 90 minutes. La lecture des absorbances a été ensuite faite à 695 nm.

I.6.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle est formé à partir d'anions superoxyde et de peroxyde d'hydrogène quand les métaux de transition sont présents en forme réduite d'après la réaction de Fenton (Bao et Liu, 2004).



L'électron libre de OH^- peut réagir avec les lipides, les polypeptides, les protéines, et l'ADN grâce à son électron libre qui possède un grand potentiel de réduction (Siddhuraju et Becker, 2007).

La présence du salicylate en présence d'ions métalliques aboutit à la formation d'un complexe coloré **Salicylate-Fe** absorbant à 532, tandis que sa carboxylation provoque une décoloration. Une faible décoloration implique que le pouvoir scavenger du radical hydroxyle de l'extrait est important (Freinbichler et al., 2008) (figure 22).

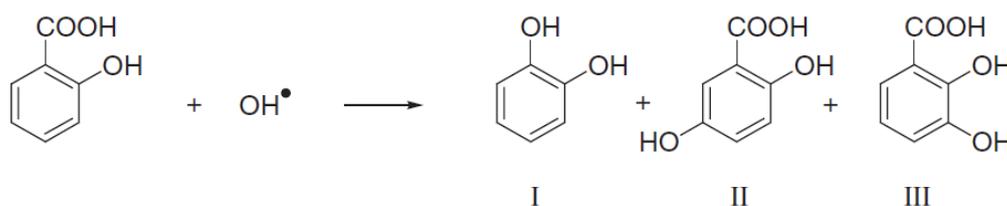


Figure 22 : L'hydroxylation de l'acide salicylique par oxydation radicalaire (I : Catéchol ; II : Acide 2,5-dihydroxybenzoïque ; III : Acide 2,3-dihydroxybenzoïque) (Freinbichler et al., 2008).

La détermination du pouvoir scavenger du radical hydroxyle de l'extrait de la poudre des fleurs de bourrache a été faite suivant le protocole de Gu et al. (2008).

Trois dilutions de l'extrait ont été préparées : 100 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ et 1000 $\mu\text{g/mL}$. 0.3 mL de la solution de $FeSO_4$ (8 mM) et 0.25 mL de H_2O_2 (20 mM) ont été ajoutées à 1 mL de chaque dilution. Ensuite, 1mL d'acide salicylique est ajouté à chaque mélange. Puis, les trois mélanges ont été incubés à 37°C pendant 30 minutes. Par la suite, le volume de chaque mélange est complété à 3mL avec de l'eau distillée. Ces derniers sont centrifugés à 2000tr/min pendant 10 minutes.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de piégeage du radical OH^\cdot et sont calculés en se basant sur la formule suivante :

$$OH_{\text{réduit}} (\%) = [(A_1 - A_0) - A_2 / A_1] * 100$$

Où : A_1 : l'absorbance de l'échantillon en présence de l'extrait ; A_0 : l'absorbance du blanc de l'échantillon sans salicylate ; A_1 : l'absorbance du contrôle négatif sans l'extrait.

I.7. Dosage des minéraux

Les atomes à l'état fondamentale absorbent une quantité de photons proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant ce qui permet la détermination des concentrations des éléments dosés. Un faisceau monochromatique d'intensité connue est appliqué sur les éléments à doser de leur même longueur d'onde caractéristique (Kouassi et al., 2013) (figure 23). Le nombre d'atomes absorbants présents dans la flamme est déduit en mesurant l'intensité transmise en appliquant la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot l \cdot C$$

Où : ϵ : constante qui dépend de l'atome absorbant ; l : longueur de la flamme ; C : concentration de la solution en élément absorbant ; $\log \frac{I_0}{I}$: l'absorbance ou la densité optique.

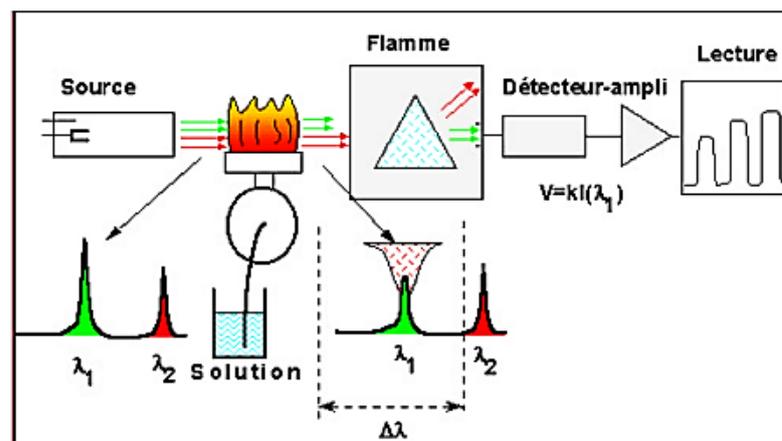


Figure 23 : Schéma du principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme (SAA) (Kouassi et al., 2013).

Préparation de l'échantillon : Cette étape est faite selon le protocole de l'AOAC (1990) avec quelques modifications comme suite : 37.5 mL d'acide nitrique (1M) sont ajoutés aux cendres obtenues dans le dosage du taux de cendres, puis mis à évaporation totale dans un bain de sable. Après évaporation totale, 5 mL d'acide chlorhydrique sont ajoutés, puis le tout est mis dans un four à moufle à 400°C et récupéré après 30min en rinçant deux fois avec 10 mL d'HCl. Ensuite, versé dans une fiole de 50 mL afin de compléter le volume avec du HCl jusqu'au trait de jauge.

Préparation de la gamme d'étalonnage : La préparation des dilutions d'étalonnage des trois minéraux (Fe, Zn et Mg) est expliquée dans la **figure 24**.

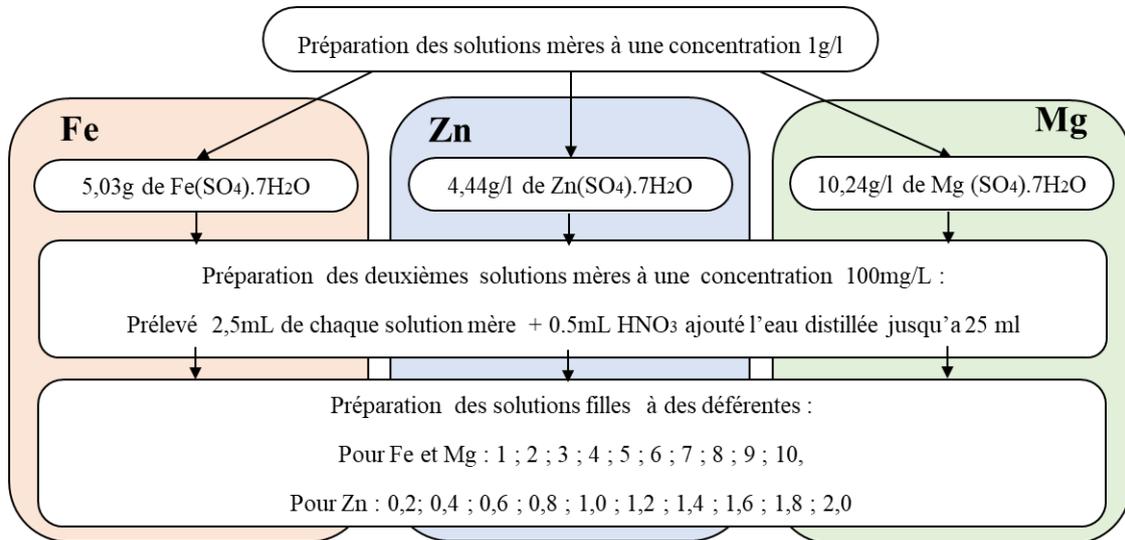


Figure 24 : Méthode de préparation des dilutions de la gamme d'étalonnage pour le test de la SAA.

Le dosage des trois minéraux a été fait par un spectrophotomètre d'absorption atomique de marque 'Thermo scientifique GFS Funace Autosampler iCE 3000 series' au niveau du laboratoire SAA-HPLC appartenant au département des génies des procédés de la faculté de technologie.

I.8. Analyse statistique

L'analyse statistique qui consiste en la détermination des moyennes et écarts types des tests est faite à l'aide de **Microsoft Excel 2010**. Tandis que l'analyse de la variance (ANOVA ; Test LSD) pour comparer les résultats de certaines analyses est effectuée grâce au logiciel **Statistica 7.1**.

II. Résultats et discussion

II.1. Optimisation de l'extraction

L'extraction utilisée dans le présent travail est de type solide-liquide, c'est-à-dire que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et le soluté sortira. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par diffusion (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Afin de déterminer les conditions adéquates à l'extraction des composés phénoliques, une étude sur l'optimisation du solvant d'extraction, le temps d'extraction et la quantité de la poudre de plante a été faite.

II.1.1. Optimisation du solvant d'extraction

Afin d'extraire les polyphénols totaux, 7 solvants de polarité différentes ont été utilisés à savoir : l'eau distillée, l'éthanol, l'hexane, l'acétone, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 25**.

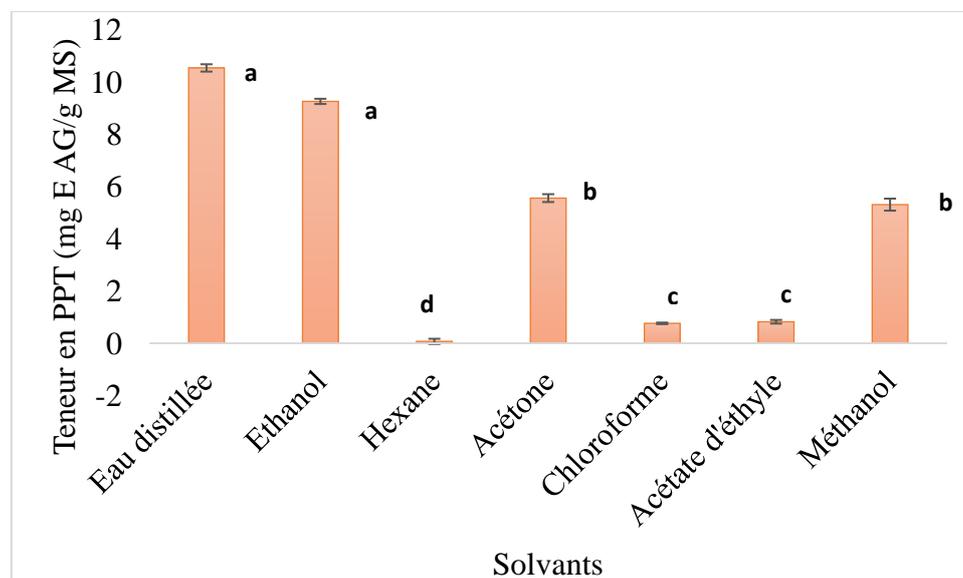


Figure 25 : Effet du type de solvant sur l'extraction des polyphénols totaux (les lettres a, b, c, et d montrent qu'il y a une différence significative entre les extraits $P < 0,05$).

Les résultats obtenus montrent que la teneur la plus élevée en composés phénoliques a été enregistrée pour l'extrait aqueux ($10,53 \pm 0,14$ mg EAG/g MS), alors que la teneur la plus faible a été notée pour l'extrait hexanique ($0,07 \pm 0,1$ mg EAG/g MS); sachant que l'eau distillée est un solvant polaire alors que l'hexane est un solvant apolaire.

Selon **Herrera-Pool et al. (2021)**, l'extraction des polyphénols dépend de la polarité du solvant d'extraction. En effet, les composés phénoliques sont généralement polaires et nécessitent une extraction par un solvant polaire.

Aichi-Yousfi et al. (2016) ont montré que l'eau est plus efficace dans l'extraction des polyphénols que l'éthanol malgré qu'ils soient tous les deux polaires.

D'après **Mohajir et al. (2016)**, le chloroforme est apolaire ce qui explique sa très faible capacité d'extraction. Dans leur étude sur la poudre des fleurs de bourrache, ces auteurs ont montré que le meilleur solvant d'extraction est l'acétone, suivi par l'eau, le méthanol, puis l'acétate d'éthyle.

Ces différences entre les résultats obtenus dans le présent travail et ceux de la littérature pourraient être dues aux conditions climatiques, la région et la période de la récolte, aux facteurs génétiques et à la nature du sol.

Selon **Aichi-Yousfi et al. (2016)**, la teneur en polyphénols totaux dépend également du stade de croissance et de développement de la plante, des pratiques agricoles, de l'exposition au stress biotique et abiotique, du prétraitement de la matière végétale, de la méthode et conditions d'extraction, ou même à la surestimation du Folin-Ciocalteu des polyphénols totaux en raison de présence de stérols et caroténoïdes.

Selon **Vercauteren et al. (1996)**, les composés phénoliques à extraire sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, lipides et chlorophylles). Par conséquent, un solvant ne sera pas nécessairement choisi en fonction de la plus grande solubilité du composé à extraire.

II.1.2. Optimisation du temps d'agitation

Pour extraire le maximum de polyphénols, différentes durées de macération ont été appliquées : 5, 15, 30 minutes, 1, 3,5 et 5 heures. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 26**.

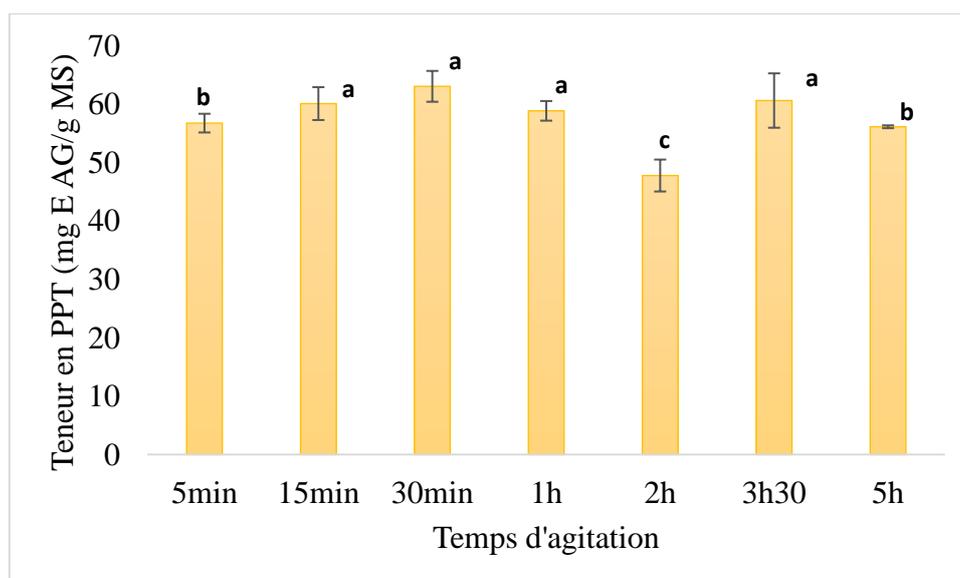


Figure 26 : Effet du temps de l'extraction sur la teneur en polyphénols totaux (les lettres a, b, et c montrent qu'il y a une différence significative entre les extraits $P < 0,05$).

La **figure 26** montre que c'est la durée d'extraction de 30 minutes qui donne la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ($62,97 \pm 2,64$ mg EAG/g MS). En revanche, l'analyse statistique indique qu'il n'y a pas de différences significatives entre les temps de macération 15 min, 30 min, 1h et 3,5h. La teneur la plus faible en polyphénols totaux est enregistrée pour le temps de macération de 2 heures ($47,72 \pm 2,73$ mg EAG/g MS).

Naczc et Shahidi (2006) ont noté que l'extraction des polyphénols à partir d'une matrice végétale est influencée par la durée d'extraction.

II.1.3. Optimisation du ratio solvant/échantillon

Afin d'extraire le maximum de polyphénols totaux, différentes quantités de poudre des fleurs de bourrache ont été utilisées : 10, 20, 25, 50, 100 et 200 mg. Les résultats obtenus sont illustrés dans la **figure 27**.

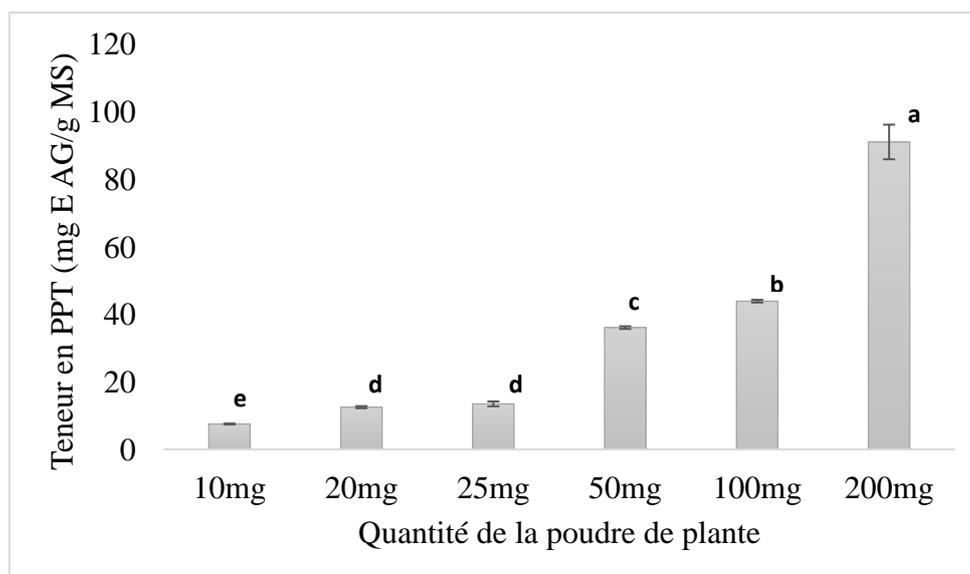


Figure 27 : Effet de la quantité de la poudre des fleurs de bourrache sur la teneur en polyphénols (les lettres a, b, c, d et e montrent qu'il y a une différence significative entre les extraits $P < 0,05$).

La **figure 27** montre que plus la quantité de poudre des fleurs de bourrache utilisée pour l'extraction augmente, plus la teneur en polyphénols totaux augmente. La teneur la plus élevée est enregistrée pour la quantité de poudre de 200 mg ($91,05 \pm 5,13$ mg EAG/g MS) et la plus faible pour la quantité de poudre de 10 mg ($7,56 \pm 0,16$ EAG/g MS).

Selon **Naczc et Shahidi (2006)**, le ratio solvant/échantillon, la taille des particules de l'échantillon et les conditions de préparation de ce dernier peuvent influencer l'extraction des polyphénols à partir du matériel végétal.

II.2. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques réalisées pour la poudre des fleurs de bourrache sont : le test d'humidité, le rendement d'extraction, la teneur en cendres et la teneur en sucres totaux. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le **tableau XI**.

Tableau XI : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de fleurs de bourrache.

<i>Test</i>	Rendement (%)	Humidité (%)	Cendres (%)	Sucres totaux (g D-glucose/g MS)	Zn (mg/L)	Fe (mg/L)
<i>Teneur</i>	10.0	86.19 ± 0.64	12.5 ± 0.3	0.92 ± 0.003	11,035	204,11

D'après le **tableau XI**, la teneur en eau dans les fleurs de bourrache est de $86.19 \pm 0.64\%$, très proche de la valeur trouvée par **Fernandes et al. (2020)** qui est de $86.6 \pm 1.8\%$ ce qui confirme que l'eau constitue la plus grande partie du poids des fleurs de bourrache.

Asadi-Samani et al. (2014) ont noté que la bourrache contient une grande partie d'eau et une très faible teneur en matière sèche, comportant des fibres, protéines et acides organiques.

Selon **Faiveley (2012)**, la teneur en eau d'une matrice végétale est directement liée à sa durée de conservation.

Le **tableau XI** montre également que la teneur en cendres dans notre échantillon est de $12.5 \pm 0.3\%$ qui est différente de celle trouvée par **Fernandes et al. (2020)** ($2.05 \text{ g}/100 \text{ g}$ poids frais). Cette différence pourrait être due à la région et la période de la récolte, la nature du sol et à la quantité des précipitations.

Il faut noter que notre échantillon a été récolté à l'état sauvage, alors que celui étudié par **Fernandes et al. (2020)** provient d'une serre (à l'institut polytechnique de Bragança au Portugal). Ajoutant à cela la manière de préparer l'échantillon, ces auteurs ont stocké leur échantillon après la cueillette au réfrigérateur, alors que le nôtre a été séché à l'air libre et conservé sous forme de poudre.

Les résultats du dosage des sucres totaux révèlent que notre échantillon est très riche en sucres totaux avec une teneur de $0,92 \pm 0,003 \text{ g/g}$ de MS. Cette valeur est supérieure à celle rapportée par **Fernandes et al. (2020)** qui ont travaillé sur les fleurs de bourrache de Bragança (Portugal) et qui est de $0,168 \text{ g/g}$ de MF. Cela peut être dû aux différences dans la méthode analytique utilisée et les conditions environnementales, ainsi que du stade de croissance des plantes de la bourrache (**Asadi-Samani et al. 2014 ; Zemmouri et al., 2019**).

Selon **Asadi-Samani et al. (2014)**, le taux de mucilage dans les fleurs de bourrache, ainsi que les autres parties est de 30%, hydrolysable en oses tels que l'arabinose, glucose et galactose.

Concernant le dosage par la SAA, trois séries de dilutions ont été préparés pour doser trois éléments minéraux dans l'extrait des fleurs de la bourrache qui sont le fer (Fe), le zinc (Zn) et le magnésium (Mg). Comme la courbe d'étalonnage du Mg n'est pas réussie, donc nous avons déterminé juste les concentrations de Fe et Zn dans l'extrait. Après les calculs (**Annexe VIII et IX**), nous avons trouvé 204,11 mg/L de fer et 11,035 mg/L de zinc.

D'après **Asadi-Samani et al. (2014)**, les principaux minéraux retrouvés chez *Borrigo officinalis* L. sont : le potassium, le calcium et le nitrate de potassium.

II.3. Analyses phytochimiques

Les teneurs des différents composants phytochimiques des fleurs de bourraches sont rassemblées dans le **tableau XII**.

Tableau XII : Résultats des teneurs en substances phytochimiques dans la poudre des fleurs de bourrache (mg/g de MS).

	<i>Tanins condensés</i>	<i>Anthocyanines</i>	<i>Flavonoïdes</i>	<i>Flavonols</i>	<i>Tanins totaux</i>
Teneur	130.16 ± 2.60 ^a	0.17 ^b	1.573 ± 0.083 ^c	7.75 ± 0.26 ^c	6.56 ± 0.08 ^d

a : mg EC/g MS ; **b** : mg E cyanidine-3-glucoside ; **c** : mg EQ/g MS ; **d** : mg EAT/g MS.

D'après le **tableau XII**, la teneur en flavonoïdes dans la poudre des fleurs de bourrache est de 1,573 ± 0.083 mg EQ/g de matière sèche. Cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Mohajer et al. (2016)** ayant travaillé sur les fleurs de bourrache d'Iran (2,390 mg/g de matière sèche).

Le **tableau XII** montre également que la teneur en flavonols dans la poudre des fleurs de bourrache est de 7.75 ± 0.26 mg EQ/g de matière sèche.

Kumari et al. (2021) ont noté que les flavonols se trouvent en quantités élevées dans les fleurs comestibles par rapport aux autres flavonoïdes.

La variation de la teneur en flavonoïdes est due au type de sols, au degré de maturation, à la quantité des précipitations, à l'exposition au soleil, au type d'agriculture pratiqué (**Franscini et Palma, 2018**), à l'organe étudié, la période et la région de la récolte des échantillons, ainsi que les conditions géographiques et climatiques (**Males et al., 2006 ; Xia et al. 2014**).

Le **tableau XII** indique aussi que la teneur en tanins totaux dans la poudre des fleurs de bourrache est de 6.56 ± 0.08 mg d'équivalent acide tannique/g de matière sèche et que celle des tanins condensés est de 130.16 ± 2.60 mg d'équivalent catéchine/g de matière sèche. Cette dernière est 10 fois plus grande que celle trouvée par **Mohajer et al. (2016)** (13.548 ± 0.98 mg équivalent catéchine/g de MS).

Selon **Hummer et Schreier (2008)**, le séchage au soleil conduit à une diminution du rendement de procyanidines. Au cours de leur isolement par extraction, la température élevée et l'air doivent être évités.

Les résultats obtenus (**tableau XII**) montrent que la quantité d'anthocyanines que renferme la poudre des fleurs de bourrache utilisée est de 0.17 mg équivalent cyanidine-3-glucoside/g de MS, tandis que la teneur des fleurs utilisées par **Mohajer et al. (2016)** est de $2,149 \pm 0.24$ mmol/g de MS.

Les anthocyanes sont les flavonoïdes qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge et pourpre (**Iserin, 2001**). Ces pigments végétaux sont solubles dans l'eau, et dont la couleur dépend du pH et du nombre de OH non méthylés (**Kumari et al., 2021**). Ces composés existent presque toujours sous forme O-glycoside (mono-, di-, tri-) et acylglycosides d'anthocyanidine (**Cheetangdee, 2019**). Parmi les caractéristiques les plus importantes, leur rôle antioxydant par le piégeage des radicaux libres (**Kumari et al., 2021**).

Les saponines sont composées d'aglycone appelée aussi génine hydrophobe (triterpène) et un ou deux groupes d'oligosides (glycone) hydrophiles lui offrant un rôle amphiphile (**Góral et Wojciechowski, 2020 ; Khan et al., 2020**). Après avoir mélangé l'eau distillée avec la poudre des fleurs de bourrache, suivi d'agitation au vortex, nous avons remarqué la formation d'une mousse persistante. Cela montre que les fleurs de bourrache contiennent des saponines. En revanche, **Asadi-Samani (2014)** a noté que la saponine est l'une des substances effectives principales de la bourrache, mais qui n'est pas retrouvée dans ses fleurs.

Le test de vitamine C a donné un résultat de 0.1 mg d'équivalent acide ascorbique/g MS qui est proche de la valeur trouvée par **Borowy et al. (2017)** qui est de 0.113 mg/g de MS. La vitamine C possède une fonction éne-diol qui par oxydation donne naissance à l'acide dehydroascorbique. Cependant, elle s'altère très rapidement au contact de l'oxygène. Cette oxydation est accélérée par la chaleur et la lumière (**Belitz et al., 2006**).

II.4. Évaluation de l'activité antioxydante

II.4.1. Test du pouvoir scavenger du radical DPPH[•]

Cette méthode fournit des informations sur l'aptitude des différents antioxydants qui se trouvent dans un extrait de plante à réduire le radical DPPH[•] (**Popovici et al., 2010**).

Les résultats du test au DPPH[•] peuvent être exprimés de différentes manières : par le pourcentage de réduction du radical DPPH[•] (**figure 28**) et par les IC₅₀.

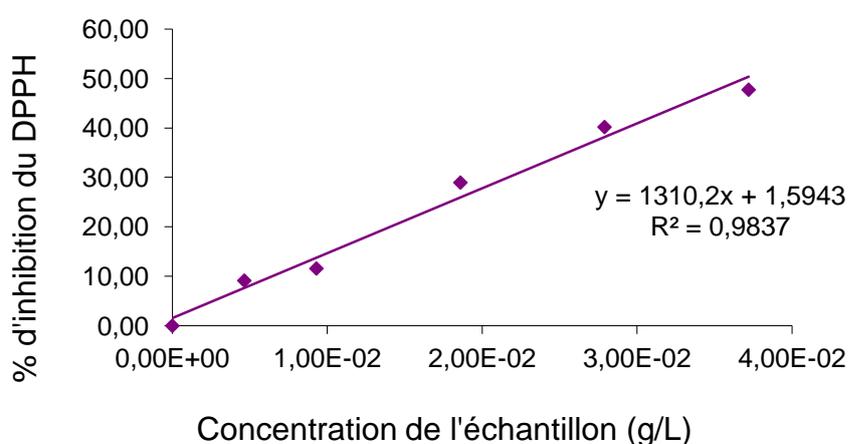


Figure 28 : Pouvoir scavenger du radical DPPH[•] de l'extrait de la poudre des fleurs de bourrache.

La **figure 28** montre que plus la concentration de l'extrait augmente, plus le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] augmente.

La valeur d'IC₅₀ trouvée pour l'extrait de la poudre des fleurs de bourrache est de 0.0362 ± 0.001 mg/mL, ce qui implique qu'elle possède un fort pouvoir antioxydant.

La concentration correspondant à 50% d'inhibition (IC_{50}) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydants requis pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Villano et al., 2007).

II.4.2. Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

Le test du pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium s'exprime par la réduction de l'ion Mo^{6+} en ion Mo^{5+} . Ce dernier se complexe avec le phosphate qui aboutit à une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de l'extrait (Prasad et al., 2009).

Les résultats du test du pouvoir réducteur des fleurs de bourrache sont présentés sur la figure 29.

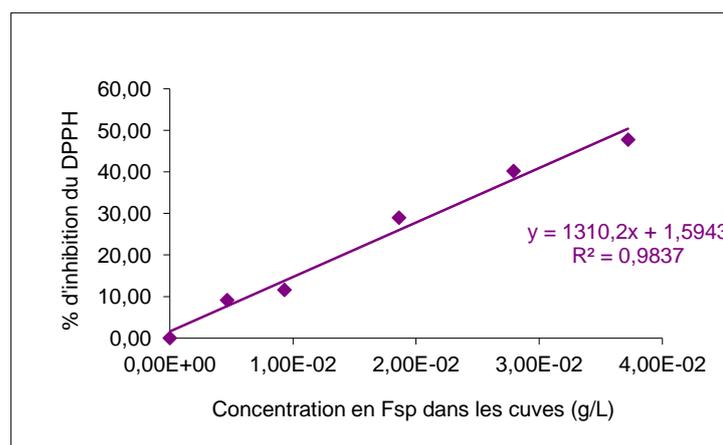


Figure 29 : Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait aqueux de la poudre des fleurs de bourrache et l'acide gallique.

La figure 29 montre que les absorbances de l'extrait aqueux de la poudre des fleurs de bourrache et de l'acide gallique augmentent avec l'augmentation de leurs concentrations.

Les résultats obtenus peuvent également être exprimés en termes d' IC_{50} qui représente la concentration de l'extrait qu'il faut pour réduire 50% des ions Mo^{6+} en ions Mo^{5+} . Selon nos résultats, l' IC_{50} de l'extrait est inférieure à celui de l'acide gallique avec les valeurs 0.0314 ± 0.0004 et 0.097 ± 0.002 mg/mL respectivement.

II.4.3. Pouvoir scavenger du radical hydroxyle

D'après les résultats obtenus, notre extrait a un taux important en termes de réduction du radical OH^\bullet avec $89.91 \pm 0.19\%$, ce qui prouve la richesse de l'extrait en différents antioxydants.

L'électron libre de OH^\bullet peut réagir avec les lipides, les polypeptides, les protéines, et l'ADN grâce à son électron libre qui possède un grand potentiel de réduction (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source infinie de substances naturelles bioactives dotée d'activités biologiques. En effet, ce travail rentre dans le cadre de la valorisation de l'utilisation des fleurs de *Borago officinalis* L. dans le domaine agroalimentaire, pharmacologique et cosmétique tant par leur caractérisation phytochimique, que par l'évaluation de leur activité antioxydante.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet de trois paramètres (la quantité de la poudre de plante, le temps de macération et le solvant d'extraction) qui influence l'extraction des polyphénols totaux. Le meilleur extrait est obtenu par l'utilisation de l'eau distillée comme solvant d'extraction et une macération pendant 30 minutes.

En second lieu, l'étude de la valeur nutritionnelle a montré que le rendement d'extraction est de 10%, l'humidité est de $86.19 \pm 1.8\%$, le taux de cendres étant de $12.495 \pm 0.28\%$, et un taux très élevé en sucres totaux renferme 0.92 ± 0.003 g/g de MS.

Par ailleurs, l'étude des composés phytochimiques indique la diversité et la richesse de ces fleurs en substances bioactives. Ainsi l'analyse quantitative montre que les fleurs de *Borago officinalis* L. sont riches en polyphénols totaux (10.53 ± 0.14 mg EAG/ g de MS), flavonoïdes (1.573 ± 0.083 mg EQ/g MS), flavonols (7.75 ± 0.26 mg EQ /g de MS), tanins totaux (6.56 ± 0.08 mg EAT/g MS), tanins condensés (130.16 ± 2.60 mg EC/g de MS) et une faible quantité d'anthocyanines (0.17 mg équivalent cyanidine-3-glucoside/g de MS)

L'activité antioxydante a été déterminée par trois tests. Les résultats du pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium et du pouvoir antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH' de l'extrait étudié ont révélé que l'extrait présente une forte activité antioxydante avec des IC₅₀ qui sont respectivement de 0.031 ± 0.0004 et 0.036 ± 0.001 mg/mL. Le troisième test a donné un pourcentage d'inhibition élevé du radical hydroxyle ($89.91 \pm 0.19\%$).

Il est souhaitable de compléter le présent travail par :

- L'étude d'autres activités biologiques telles que l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire ;
- L'évaluation des différentes activités biologiques *in vivo* ;
- Caractérisation de l'extrait des fleurs de bourrache par LC-MS, UPLC et la RMN.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Ahanger, M. A., Bhat, J. A., Siddiqui, M. H., Rinklebe, J., & Ahmad, P. (2020). Integration of silicon and secondary metabolites in plants: a significant association in stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 71(21), 6758-6774.
- Aichi-Yousfi H., Meddeb E., Rouissi W., Hamrouni L., Rouz S., Rejeb M. N., Ghrabi-Gammar Z. (2016). Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of six Tunisian species of genus *Capparis* – *Capparaceae*. *Industrial Crops and Products*, 92 (2016) 218–226.
- Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, B., Weil, J.A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry* 84, 551-562.
- Anonyme 1 (2014). Actualités produites. *Actualités pharmaceutiques*, 9.
- AOAC (1990). Official method of Analysis. Association of official Analytical chemists, food composition, Official Analytical Chemists, additives natural contaminant. Adrich RC (éd) Vol 2, 15e éd. Association des officiers chimistes analytiques, Inc USA.
- AOAC (1995). Official methods of analysis (16th ed.). Arlington, VA, USA: *Association of Official Analytical Chemists*.
- Arabshahi-D, S., Devi, D.V., Urooj, A. (2007). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry* 100, 1100–1105.
- Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, 22-28. [doi:10.1016/S1995-7645\(14\)60199-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60199-1)
- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018). Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants. In *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress* (p. 153- 167). Elsevier. Aharoni, A., Galili, G., 2011. Metabolic engineering of the plant primary–secondary

metabolism interface. *Curr. Opin. Biotechnol.* 22, 239–244.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.11.004>

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. , 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>

Belitz H.D., Grosch W. et Schieberie P. (2006). *Food Chemistry*. Ed. Springer, p1070.

Ben Moussa M. T., Cherif R. A., Lekhal S., Bounab A. et Hadeif Y. (2022). Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Brocchia cinerea* VIS de l'Algérie (Sud-Est). *Algerian Journal Of Pharmacy* 04, 49-59.

Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 20 (1), 48-53.

Boizot ,N., et Charpentier ,J .P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénolique d'un arbre forestier. Méthode et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques INRA.p79-82.

Borowy, A., Chwil, M., Kaplan, M. (2017). Biologically active compounds and antioxidant activity of borage (*Borago officinalis* L.) flowers and leaves. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 16(5), 169–180. DOI: [10.24326/asphc.2017.5.17](https://doi.org/10.24326/asphc.2017.5.17)

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114(4), 1198–1205. Doi :[10.1016/j.foodchem.2008.10.075](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075)

Bradford M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie et plantes médicinales*. 3^{ème} édition. Technique et Documentation, Paris. 1120 p.

- Cheetangdee, N. (2019).** Rice phenolics: Extraction, characterization, and utilization in foods. *Polyphenols in Plants Isolation, Purification and Extract Preparation*, 217-242. Récupéré sur <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00015-3>
- Cheyrier V., Tomas-Barberan F. A., Yoshida K. (2015).** Polyphenols : from plants to a variety of food and nonfood uses. *Journal of Agricultural Food Chemistry* ; 63(35) : 7589–94. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01173>
- Cornara L., Smerigliob A., Frigerioc J., Labrad M., E. Di Gristinae E., Denarob M., Moraa E., Trombetta D. (2018).** The problem of misidentification between edible and poisonous wild plants : Reports from the Mediterranean area. *Food and Chemical Toxicology*, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.066>
- Couplan, F. (2012).** Les plantes et leurs noms : Histoires insolites. Edition Quae. Récupéré sur https://books.google.dz/books/about/Les_plantes_et_leurs_noms.html?id=upZddPJu3l4C&printsec=frontcover&source=kp_read_button&hl=fr&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Dil E. A., Asfaram A., Goudarzi A., Zabih E., Javadian H., 2020.** Biocompatible chitosan-zinc oxide nanocomposite based dispersive micro-solid phase extraction coupled with HPLC-UV for the determination of rosmarinic acid in the extracts of medical plants and water sample. *International Journal of Biological Macromolecules* 154, 528–537.
- Dontha, S. (2016).** A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14-32.
- Doughari, J.H. (2012).** Phytochemicals : extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. In : Rao, V. (Ed.), *Phytochemicals—A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Robert P.A., Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356.
- El Haddad D., Bitam I., Bouchenak O., Toubal S. Yahiaoui K., Arab K., Boumaza S. (2018).** Acaricidal activity of flavonoids extract of *Borago officinalis* L.

(Boraginaceae) against brown dog tick, *Phipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Trop Biomed* 35 (2) : 383-391.

Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casalc, S. (2020). Borage, camellia, centaurea and pansies : Nutritional, fatty acids, free sugars, vitamin E, carotenoids and organic acids characterization. *Food Research International*, 132, 1-9.

Filière Des Plantes Médicinales Biologiques Du Québec. (2010). La bourrache. *Guide De Production Sous Régie Biologique*, 1-26.

Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel, C., Leverve, X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. Editions scientifiques et médicales, Grenoble. pp. 2-4.

Fu, R., Zhang, Y, Guo, Y., Chen, F. (2014). Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of the ethanol-insoluble fraction of water extract of *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. Leaves. *South African Journal of Botany* 93, 98–104.

Giusti M. M. & Wrolstad R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In : Wrolstad, R., Ed., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New York, F1.2.1-F1.2.13.

Góral I., Wojciechowski K. (2020). Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts. *Advances in Colloid and Interface Science* 279, 1-20.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102145>

Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*, 15-104.

Zemmouri H., Ammar S., Boumendjel A., Messarah M., Feki A.E., Bouaziz M. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria, *Arabian Journal of Chemistry*, doi :
<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.059>

Hagerman A.E. and Bulter I.G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agriculture and Food Chemistry*. 26 : 809-812.

- Herrera-Pool E., Ramos-Diaz A. L., Lizardi-Jimenez M. A., Pech-Cohuo S., Ayora-Talavera T., Cuevas-Bernardino J. C., García-Cruz U. & Pacheco N. (2021).** Effect of solvent polarity on the Ultrasound Assisted extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from habanero pepper leaves (*Capsicum chinense*) and its identification by UPLC-PDA-ESI-MS/MS. *Ultrasonics Sonochemistry* 76. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105658>
- Hughes D. E. (1983).** Titrimetric determination of ascorbic acid with 2,6-dichlorophenol indophenol in commercial liquid diets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2). 126-129.
- Hummer, W., Schreier, P. (2008).** Analysis of proanthocyanidins. *Molecular Nutrition and Food Research* 52, 1381-1398.
- Hussein, R. A., & El-Ansary, A. A. (2019).** Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal Medicine*, 1-13.
- Ignea, C., Dorobantu, C.M., Mintoff, C.P., Branza-Nichita, N., Lodomery, M.R., Kefalas, P., Chedea, V.S. (2013).** Modulation of the antioxidant/pro-oxidant balance, cytotoxicity and antiviral actions of grape seed extracts. *Food Chemistry* 141, 3967-3976.
- Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soin. 336.
- Jiang, N., Doseff, A. I., & Grotewold, E. (2006).** Flavones : From biosynthesis to health benefits. *Plants*, 1-25.
- Judde, A. (2004).** Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications? *Oléagineux Corps gras Lipides Journal* 11, 414-418.
- Julkunen-Titto R. (1985).** Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p213.

- Khan M. K., Chemat F., Sattar S. et Imran M. (2020).** Bioactive molecules : Conventional versus novel methods. *Bioactive Compounds from Plant origin extraction, applications, and potential health benefits*, 3-45.
- Kim M. J., Chiu Y. C., Kim N. K., Park H. M., Lee C. H., Juvik J. A. et Ku K. M. (2017).** Cultivar-Specific Changes in Primary and Secondary Metabolites in Pak Choi (Brassica Rapa, Chinensis Group) by Methyl Jasmonate. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1004; [doi:10.3390/ijms18051004](https://doi.org/10.3390/ijms18051004)
- Kouassi J. B., CISSE-CAMARA M., SESS D. E., TIAHOU G. G., MONDE A. A. et DJOHAN F. Y. (2013).** Détermination des teneurs en fer, en calcium, en cuivre et en zinc de deux variétés de gombo. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 82, p. 22–32.
- Kumaran, A. et Karunakaran, R.J. (2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 40, 344–352.
- Kumari, P., Ujala, & Bhargava, B. (2021).** Journal of Functional Foods. *Phytochemicals from edible flowers: Opening a new arena for healthy lifestyle*, 78, 1-18.
- Lamaison, J.L.C., Carnet, A. (1990).** Teneur en principaux flavonoïdes des fleurs de *Cratageus monogyna* Jacq et de *Cratageus laevigata* (Poiret D.C.) en fonction de la végétation. *Pharmaceutic Acta Helvetiae* 65, 315–320.
- Lammari, N., Louaer, O., Meniai, A. M., Fessi, H., & Elaissari, A. (2021).** Plant oils : From chemical composition to encapsulated form use. *International Journal of Pharmaceutics*, 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120538>
- Mahmood, Z., Yameen, M., Jahangeer, M., Riaz, M., Abdul Ghaffar, & Javid, I. (2018).** Lignin as Natural Antioxidant Capacity. *Lignin - Trends and Applications*, Chapitre 8, 181-206. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.73284>
- Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V.B., Zuntar, I. (2006).** Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (*Ericaceae*). *Acta Pharmacolgy* 56, 245–250.

- Manache, C., Scalbert, A., Moraud, C., Remesy, C., Jameney, L. (2004).** Polyphenols sources and biovariability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79, 727-747.
- Mathew, S., Abraham, T.E. (2006).** Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry* 94, 520–528.
- Mau J.L., Tsai S.Y., Tseng Y.H. and Huang S.J. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry* 93: 641-649.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.043>
- Mau J.L., Tsai S.Y., Tseng Y.H. and Huang S.J. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry* 93 : 641-649.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.043>
- Medrano, A., Masoud, T. A., & Martinez, M. C. (1992).** Mineral and proximate composition of borage. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 13-3.
- Mélo E.A., Lima V.L.A.G. and Maciel M.I.S. (2006).** Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Braz, Journal of Food Technology*, 9(2): 89-94.
- Menacer, A., Boukhatem, M. N., Benkhelal, A., & Saidi, F. (2017).** In Vitro Antioxydant Activity of Different Extracts of Algerian Allium Plant (*Allium triquetrum* L.). *Revue des BioRessources*, 80-91.
- Miceli A., Francescan N., Moschetti G., Settanni L. (2015).** The influence of addition of *Borago officinalis* with antibacterial activity on the sensory quality of fresh pasta. *International Journal of Gastronomy and Food Science*,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijgfs.2014.12.004>
- Morel, Y., Barouki, R. (1999).** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemistry* 342 (3), 481-496.
- Myrtéa formations (2015).** Monographie Plante : *Borago officinalis* L. *L'aromateque*, 1-9.

- Ohmiya, A. (2013).** Qualitative and quantitative control of carotenoid accumulation in flower petals. *Scientia Horticulturae*, 163, 10–19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.018>
- Park C. H., Park S. Y., Park Y. j., Kim J.K. et Park S. U. (2020).** Metabolite Profiling and Comparative Analysis of Secondary Metabolites in Chinese Cabbage, Radish, and Hybrid *xBrassicoraphanus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68, 13711–13719.
- Park C. H., Park S. Y., Park Y. j., Kim J.K. et Park S. U. (2020).** Metabolite Profiling and Comparative Analysis of Secondary Metabolites in Chinese Cabbage, Radish, and Hybrid *xBrassicoraphanus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68, 13711–13719.
- Poortsman, J.R., Boisseau, N. (2003).** *Biochimie des activités physiques. 2ème édition.* De Boeck Supérieur. Bruxelles. 638 pages.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Genie Industrielle.* (4): 25-39.
- Prasad E. F., Shirish S. P., Raghunath D. P. & Samir S. S. (2007).** *In Vivo* Anti-Fertility and Anti-Implantation Activity of Anacardic Acid Methyl Ester in Rats. *Pharmacologyonline* 3: 485-490.
- Rabah, S., Kouachi, K., Ramos, P., & Gomes, A. T. (2020).** Unveiling the bioactivity potential of *Allium triquetrum* L. lipophilic fraction : chemical characterization and in vitro antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food & Function*, 1-10. doi:[10.1039/D0FO00769B](https://doi.org/10.1039/D0FO00769B).
- Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les tannins, les composés phénoliques des végétaux. Paris. Ed Dunod.173-201.
- Richter, G. (1993).** Composés phénoliques. Métabolismes des végétaux : physiologie et biochimie. Edition. Press polytechnique et Universitaire, Rommand. 321 p.
- Rolland, Y., 2004.** Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux Corps gras Lipides Journal 11 (6), 419-424.

- Salem N., Msaada K., Hammami M., Limam F., Vasapollo G. & Marzouk B. 2013 :** Variation in anthocyanin and essential oil composition and their antioxidant potentialities during flower development of Borage (*Borago officinalis* L.), Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, DOI:10.1080/11263504.2013.778349. To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/11263504.2013.778349>
- Santana-Gálvez, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2018).** Classification of phenolic compounds. Phenolic Compounds in Foods, 3-17.
- Silici S., Sagdic O. & Ekici L. (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. Food Chemistry 121. 238–243. doi:[10.1016/j.foodchem.2009.11.078](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.078)
- Soares, A.A., Marques de Souza, C.G., Daniel, F.M., Ferrari, G.P., Gomes da Costa, S. M., Peralta, R.M. (2009).** Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. Food Chemistry 112 (4), 775–781.
- Stoclet, J. C., & Schini-Kerth, V. (2011).** Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. Annales Pharmaceutiques Françaises, 69, 78-90.
- Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., Chowwanapoonpohn, S. (2007).** Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry 103, 381–388.
- Tamariz, J., Burgueño-Tapia, E., Vázquez, M. A., & Delgado, F. (2018).** Pyrrolizidine alkaloids. The Alkaloids, 1099-4831. <https://doi.org/10.1016/bs.alkal.2018.03.001>
- Tela Botanica (2011).** *Borago officinalis* L. <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-9966-synthese>
- The Scientific Association of Dedicated to Analytical Excellence (2006).** Official methods of Analysis of AOAC international. Gaithersburg. Maryland, 31, 931.04, 972.15.

- Vercauteren, J., Chèze, C., Triaud, J. (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Edition. INRA, Paris. pp 31-43.
- Vermerius W and Nicholson R. (2006).** Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht, ISBN:101- 4020-5163-8.
- Vigean, E., Hervier, D., & Denis, B. (2009).** Huiles et saveurs : amande, argan, bourrache... Bordeaux : Féret.
- Villano D., Fernandes-Pachon M. S., Moya M. L., Traoncoso A. M. & Garciaparrilla M. C. (2007).** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71. 230-235. [doi:10.1016/j.talanta.2006.03.050](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050)
- Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (2011).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis (Vol. 102). Boca Raton : 1st Edition.
- Wettasinghe, M., & Shahidi, F. (2002).** Iron (II) chelation activity of extracts of borage and evening primrose meals. *Food Research International*, 35, 65-71.
- Wichtl, M., Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^{ème} édition. Paris. 692p.
- Wilfred .V et Ralph .N. (2006).** Phenolic compound biochemistry Ed Springer. USA. 24p.
- Xia, X., Cao, J., Zheng, Y., Wang, Q., Xiao, J. (2014).** Flavonoid concentrations and bioactivity of flavonoid extracts from 19 species of ferns from China. *Industrial Crops and Product* 58, 91–98.
- Yadav R., Agarwala M. (2011).** Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3 (12):10-14.
- Yajima, H. (2014).** Prevention of Diet-Induced Obesity by Dietary Polyphenols Derived from *Nelumbo nucifera* and black tea. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 1, 135-142.
- Yang, J., Wang, A.Q., Li, X.J., Fan, X., Yin, S.S., Lan, K. (2016).** A chemical profiling strategy of semi-quantitative analysis of flavonoids in Ginkgo extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 123, 147-154.

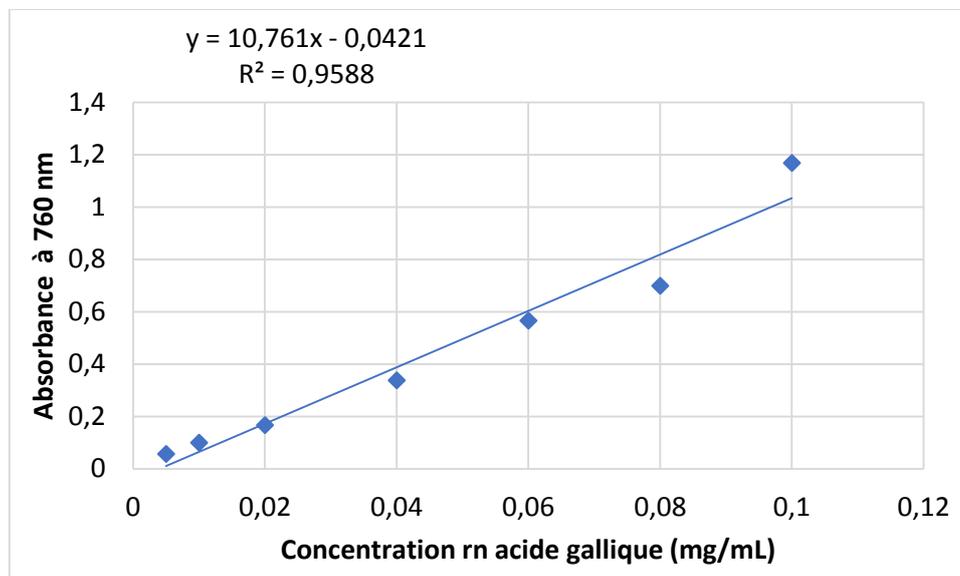
Yue Y. Jin F. et Yue X. (2021). The effect of *Borago officinalis* on the signaling pathway of the NLRP3 inflammasome complex, TLR4 and some inflammatory cytokines in type II diabetic patients with acute respiratory distress syndrome. *Cellular and Molecular Biology*. 178-183. <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2021.67.3.28>

Zhao L., Fan H., Zhang M. Chitrakar B., Bhandari B. & Wang B. (2019). Edible flowers : Review of flower processing and extraction of bioactive compounds by novel technologies. *Food Research International*. 1-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108660>

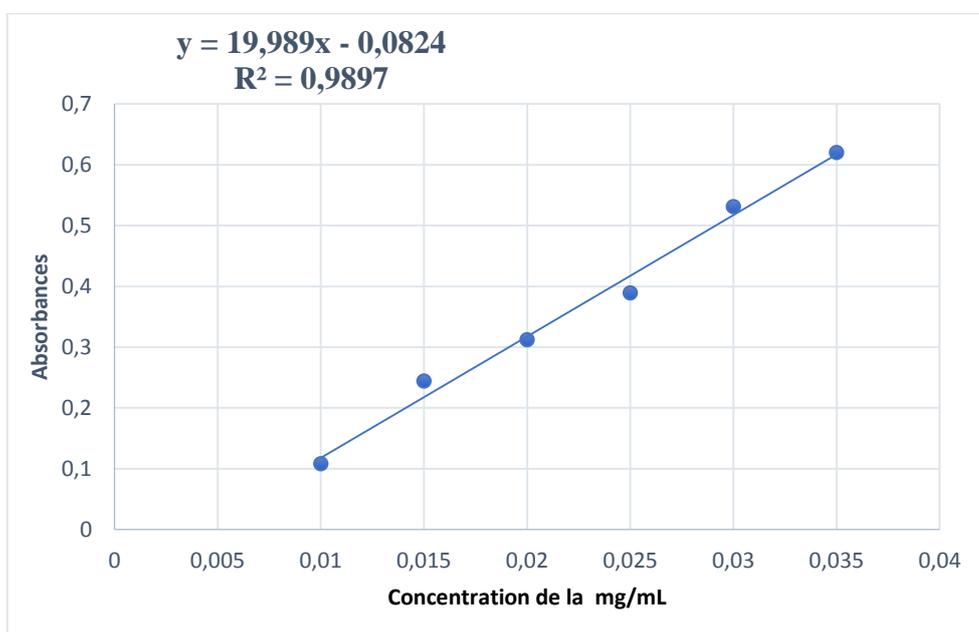
Annexes

Annexes

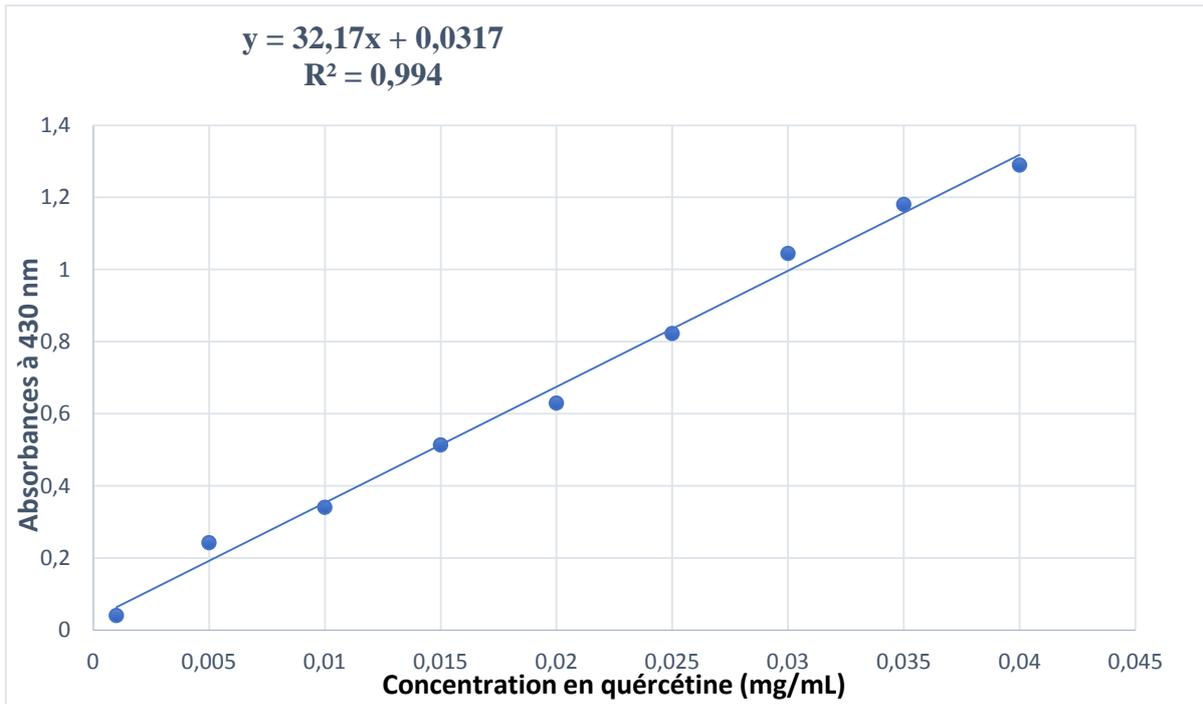
Courbes d'étalonnages élaborées pour les différents tests



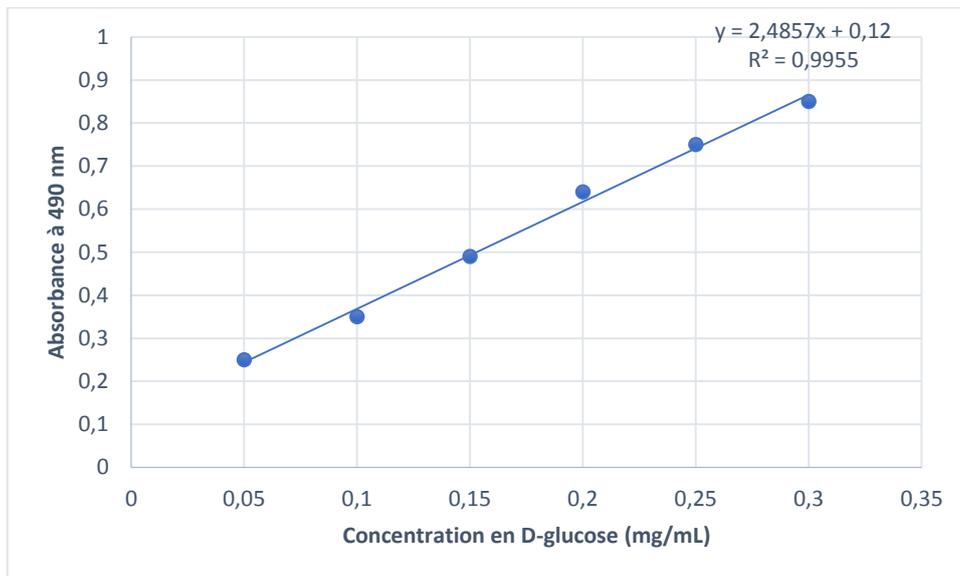
Annexe I : Courbe d'étalonnage des phénols totaux



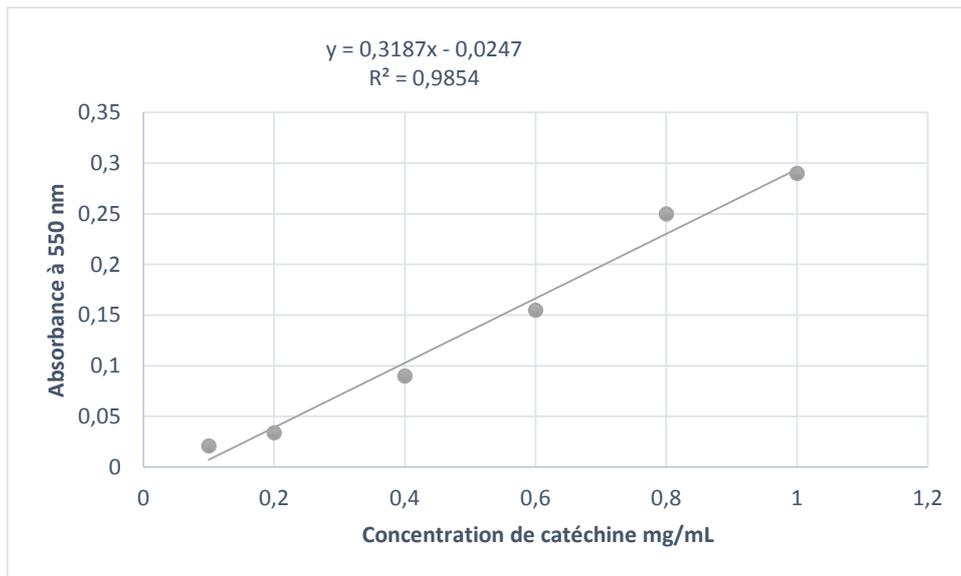
Annexe II : Courbes d'étalonnages des flavonols



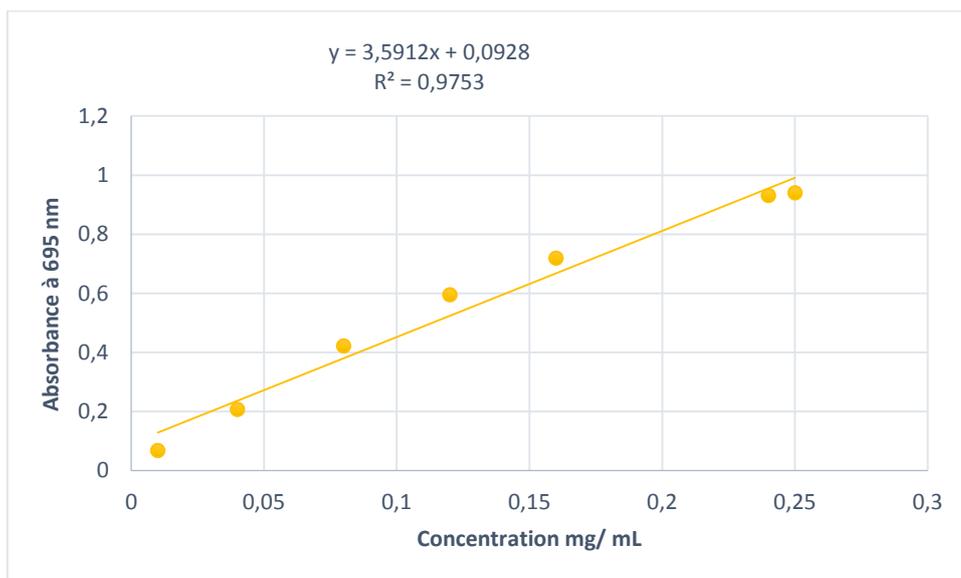
Annexe III : Courbes d'étalonnages des flavonoïdes



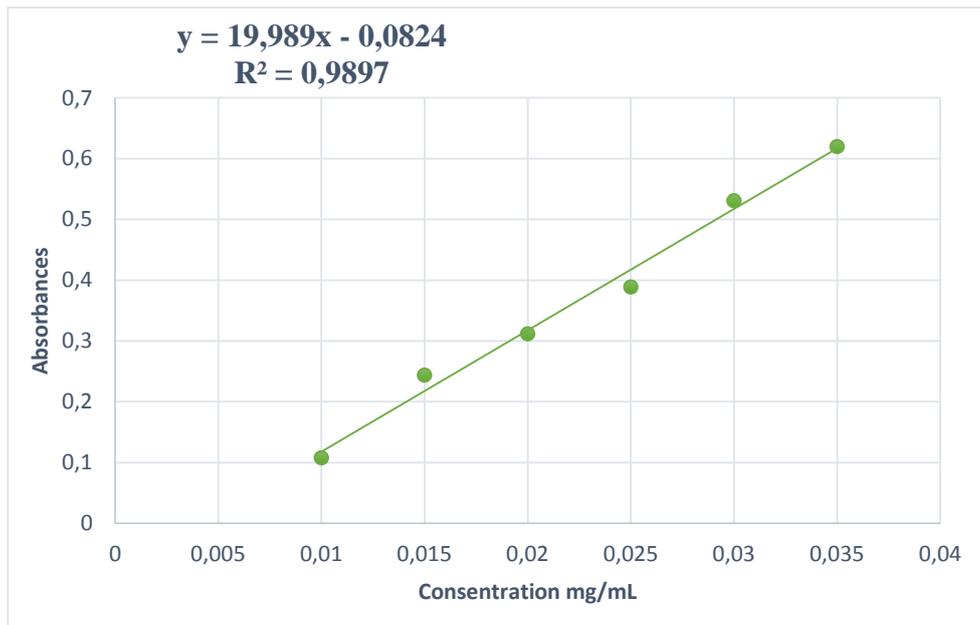
Annexe IV : Courbes d'étalonnages des sucres totaux



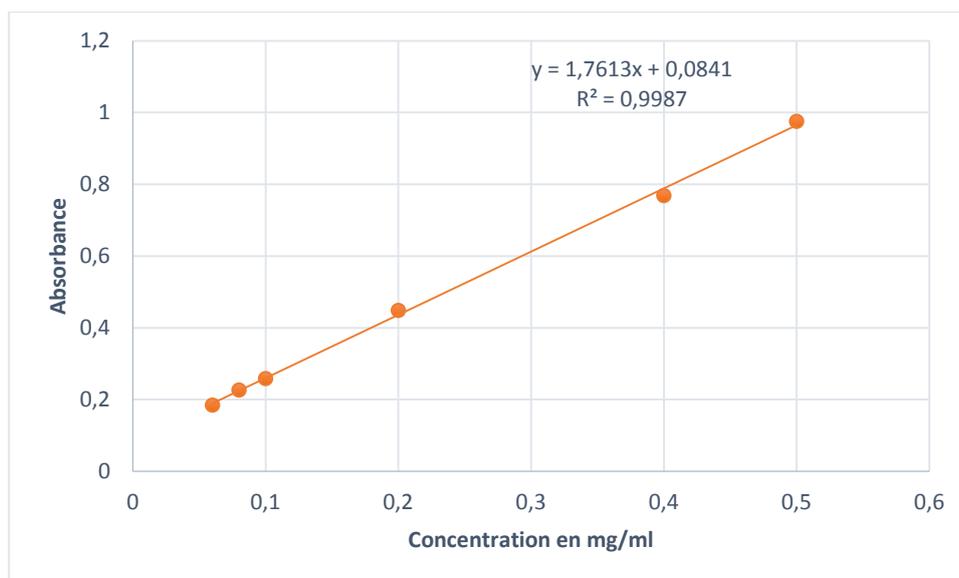
Annexe V : Courbes d'étalonnages des tanins condensés



Annexe VI : Courbes d'étalonnages de phospholybdate d'ammonium



Annexe VII : Courbe d'étalonnage du dosage de flavonoles



Annexe VIII : Courbe d'étalonnage du phosphomolybdate d'ammonium

INFORMATI	NOM	OPERATEUR	HEURE			
	Analyse 94	DELL	10:31:06			
PARAMETRES	Mode Instru	Flamme	Passeur :			
	Dilution:	Aucune	Utiliser Injection Flux Segmenté:			
RESUME TEST	ACTION QC	RESULTAT RESUME QC				
	Utilisateur E	solutions 2 of 14				
RESULTATS P	Fe					
	ID ECHANTIL	TYPE RESULT	SIGNAL	CONC.	HEURE	DATE
			Abs	mg/L		
	Blanc	Moyenne	-8,33E-05	0	10:32:20	30/06/2022
	Etalon 1	Moyenne	0,0458583	1	10:32:39	30/06/2022
	Etalon 2	Moyenne	0,090617	2	10:33:00	30/06/2022
	Etalon 3	Moyenne	0,1318809	3	10:33:18	30/06/2022
	Etalon 4	Moyenne	0,1745851	4	10:33:47	30/06/2022
	Etalon 5	Moyenne	0,2073265	5	10:34:08	30/06/2022
	Etalon 6	Moyenne	0,2498125	6	10:34:32	30/06/2022
	Etalon 7	Moyenne	0,2865319	7	10:34:49	30/06/2022
	Etalon 8	Moyenne	0,3633229	8	10:35:16	30/06/2022
	Etalon 9	Moyenne	0,3686213	9	10:35:31	30/06/2022
	Etalon 10	Moyenne	0,4046816	10	10:35:50	30/06/2022
	Etalon 9	Moyenne	0,3318826	9	10:36:18	30/06/2022
	Blanc	Moyenne	-0,0002511	0	10:36:36	30/06/2022
	Echantillon :	Moyenne	0,3365143	8,2086506	10:37:01	30/06/2022
	R2=0,9986					
	y=0,04018x+0,0088					

Annexe VIII : Résultats de la SAA du fer

INFORMATI	NOM	OPERATEUR	HEURE			
	Analyse 96	DELL	11:15:56			
PARAMETRE	Mode Instru	Flamme	Passeur :			
	Dilution:	Aucune	Utiliser Injection Flux Segmenté:			
RESUME TES	ACTION QC	RESULTAT RESUME QC				
	Utilisateur	solutions 4 of 20				
	Hors/En de	solutions 1 of 20				
RESULTATS	Zn					
	ID ECHANTI	TYPE RESULT	SIGNAL	CONC.	HEURE	DATE
			Abs	mg/L		
	Blanc	Moyenne	0,0242063	0	11:17:10	30/06/2022
	Etalon 1	Moyenne	0,0505208	0,2	11:17:28	30/06/2022
	Etalon 2	Moyenne	0,0962149	0,4	11:17:47	30/06/2022
	Etalon 3	Moyenne	0,1351875	0,6	11:18:04	30/06/2022
	Etalon 4	Moyenne	0,194366	0,8	11:18:17	30/06/2022
	Etalon 5	Moyenne	0,6426771	1	11:18:32	30/06/2022
	Etalon 6	Moyenne	0,7327107	1,2000001	11:18:48	30/06/2022
	Etalon 7	Moyenne	0,7746979	1,4	11:19:02	30/06/2022
	Etalon 8	Moyenne	0,3152375	1,6	11:19:15	30/06/2022
	Etalon 9	Moyenne	0,3586808	1,8	11:19:32	30/06/2022
	Etalon 10	Moyenne	0,3856688	2	11:19:47	30/06/2022
	Blanc	Moyenne	0,0246776	0	11:20:07	30/06/2022
	ech 1	Moyenne	0,4010979	2,0567112	11:23:26	30/06/2022
	R=0,9991					
	y=0,18452x+0,0211					

Annexe IX : Résultat de SAA du zinc

Annexe X : Préparation des solution et réactifs utilisés sans le dosage des tannins totaux

Solution/réactif	Préparation
Tampon Acétate	Ajouter 0.56mL d'acide acétique glaciale à 40mL d'eau distillée puis, ajouter 0.496g de NaCl. Ensuite, ajuster le pH à 4.9 à l'aide de NaOH de 4N pour enfin ajuster à 50mL avec de l'eau distillée.
Solution protéique	Faire dissoudre 25mg de BSA dans 25mL de tampon acétate
Solution chlorure ferrique	Prendre 0.415mL d'HCl et ajuster à 500mL avec de l'eau distillée à laquelle est ajoutée 0.81mg de FeCl ₃ . Filtrer et laisser reposer.
Solution SDS/TEA	Mettre dans une fiole 1g de SDS et 5mL de TEA puis ajuster à 100mL avec de l'eau distillée.

Résumé

L'objectif de cette étude porte sur l'optimisation des conditions d'extraction des polyphénols totaux des fleurs de la bourrache, le dosage de différents constituants de cette plante et l'évaluation de son pouvoir antioxydant. Les résultats de l'optimisation des conditions d'extraction montrent que le meilleur extrait est celui préparé avec de l'eau distillée pendant un temps de macération de 30 minutes. Les analyses physico-chimiques montrent les valeurs suivantes: les cendres ($12.5 \pm 0,3\%$), l'humidité ($86.19 \pm 1.8\%$) et les sucres totaux (0.92 ± 0.003 g E D-glucose/g de MS). Tandis que les tests phytochimiques indiquent ce qui suit : les polyphénols totaux (10.53 ± 0.14 mg EAG/ g de MS), les flavonoïdes (1.573 ± 0.083 mg EQ/g MS), les flavonols (7.75 ± 0.26 mg EQ /g de MS), les anthocyanines (0.17 mg équivalent cyanidine-3-glucoside/g de MS), les tanins condensés (130.16 ± 2.60 mg EC/g de MS) et les tanins totaux (6.56 ± 0.08 mg EAT/g MS). Les saponines ont été mises en évidence. L'activité antioxydante a été évaluée par trois tests : le test au radical DPPH^{*} ($IC_{50} = 0.036 \pm 0.001$ mg/mL), le pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium ($IC_{50} = 0.031 \pm 0.0004$ mg /mL) et le pouvoir scavenger du radical hydroxyle (% OH réduit = $89.91 \pm 0.19\%$) des fleurs de bourrache. Ceci implique que les fleurs de bourrache possèdent un pouvoir antioxydant important.

Mots clés: *Borago officinalis*; Fleurs; Polyphénols; Minéraux ; Activité antioxydante.

Absract

The objective of this study concerns the optimization of extraction conditions of total polyphenols from borage flowers, the quantification of different constituents of this plant and the evaluation of its antioxidant power. The results of the optimization of the extraction conditions show that the best extract is the one prepared with distilled water for a maceration time of 30 minutes. Physico-chemical analyzes show the following values: ash ($12.5 \pm 0.3\%$), humidity ($86.19 \pm 1.8\%$) and total sugars (0.92 ± 0.003 g D-glucose E/g MD). While phytochemical tests indicate the following results: total polyphenols (10.53 ± 0.14 mg GAE/g MD), flavonoids (1.573 ± 0.083 mg QE/g MD), flavonols (7.75 ± 0.26 mg QE/g MD), anthocyanins (0.17 mg cyanidin-3-glucoside equivalent/g MD), condensed tannins (130.16 ± 2.60 mg CE/g DM) and total tannins (6.56 ± 0.08 mg TAE/g DM). Saponins have been highlighted. The antioxidant activity was evaluated by three tests: the DPPH^{*} radical test ($IC_{50} = 0.036 \pm 0.001$ mg/mL), the reducing power with ammonium phosphomolybdate ($IC_{50} = 0.031 \pm 0.0004$ mg/mL) and the scavenger power of the hydroxyl radical (% OH reduced = $89.91 \pm 0.19\%$) of borage flowers. This implies that borage flowers have significant antioxidant power.

Keywords: *Borago officinalis*; Flowers; Polyphenols; Minerals; Antioxidant activity.