



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la
vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
MESSAST Abdallah

Le : dimanche 4 juillet 2021

Étude systématique critique des techniques de dosage des flavonoïdes (méthodes de trichlorure d'aluminium)

Jury :

Dr.	Sara RADHOUANE SALAH	MCA	Université de Biskra	Président
Dr.	Hayat TRABSA	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Yacine DERRADJI	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 - 2021

Remerciements

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la volonté et la patience pour accomplir ce travail.

Je tiens à remercier tout d'abord mon enseignante Dr. TRABSA, pour avoir bien voulu m'encadrer, pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance.

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

A tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Merci à vous tous

Dédicace

A la mémoire de mon défunt père.

Ma chère mère, DIF FATIHA

*Décédée il y a peu et qui serait contente d'apprendre que son fils a enfin tenu la
promesse et terminé ses études*

À ma femme, HANA qui a toujours été à mes côtés

À ma chère fille MAYAR

À mes beaux-parents

À mon ami intime SOLTANE SEIFEDDINE

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ...

Table des matières

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des Abréviations.....	III
Introduction générale.....	1

Partie 1: Synthèse bibliographique

Chapitre 1: Composés phénoliques

1.1. Polyphénols	2
1.1.1. Généralités sur les polyphénols	2
1.1.2. Rôle et intérêt des polyphénols.....	2
1.1.3. Classification des polyphénols	2
1.2. Composés non-flavonoïdiques.....	3
1.2.1. Acides phénoliques.....	3
1.2.2. Stilbènes	3
1.2.3. Lignanes	3
1.2.4. Coumarines.....	3
1.2.5. Tanins	3
1.3. Composés flavonoïdiques.....	4
1.3.1. Flavonols	5
1.3.2. Flavones.....	5
1.3.3. Flavan-3-ols.....	6
1.3.4. Anthocyanidines	6
1.3.5. Flavanones.....	6
1.3.6. Isoflavones.....	7
1.4. Propriétés des flavonoïdes	7
1.4.1. Propriété physico-chimique des flavonoïdes	7
1.4.2. Propriétés biologiques des flavonoïdes	7
1.5. Relations structure-activités des flavonoïdes.....	8

Partie 2: Partie expérimentale

Chapitre 2: Matériel et méthodes

2.1. Matériel et méthodes	9
2.1.1. Présentation de la méthodologie.....	9
2.1.2. Stratégie de la recherche.....	9

2.2. Démarche méthodologique	10
2.2.1. Sélection des études.....	10
2.2.1.1 Critères d'inclusion	10
2.2.1.2. Critères d'exclusion.....	10
2.2.2. Analyse des données	17
2.2.3. Analyse statistique.....	19
Chapitre 3: Résultats et Discussion	
3.1. Taux d'utilisation de la technique de dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃	21
3.2. Années des publications étudiées au fil du temps.....	22
3.3. Axes de recherche exigeants un dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃	23
3.4. Pays de recherche	25
3.5. Habitats naturels et régions des échantillons étudiés.....	26
3.6. Ressources naturelles étudiées	27
3.6.1. Nature des échantillons étudiés.....	28
3.6.2. Moyens d'obtention.....	29
3.6.3. Régions de collecte.....	29
3.6.4. Saisons de récolte	30
3.6.5. Parties les plus utilisées	31
3.7. Extractions des échantillons	33
3.7.1. Types d'extractions réalisées pour le dosage des flavonoïdes	33
3.7.2. Appareillage utilisé pour l'extraction des flavonoïdes	34
3.7.3. Techniques d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes	34
3.7.4. Nature des extraits utilisés lors du dosage des flavonoïdes.....	35
3.7.5. Nombre des extraits utilisés pour le dosage	36
3.8. Dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃.....	37
3.8.1 Complexité des protocoles suivis pour le dosage des flavonoïdes par l'AlCl ₃	37
3.8.2. Réactifs utilisés lors de dosages des flavonoïdes	38
3.8.3. Additifs utilisés pour les protocoles de dosage des flavonoïdes par l'AlCl ₃	39
3.8.3.1. Types d'additifs.....	39
3.8.3.2. Concentration des additifs	39
3.8.4. Standards utilisés pour le dosage des flavonoïdes.....	40
3.8.5. Marques les plus populaires des produits utilisés.....	41
3.9. Mode opératoire	41
3.9.1. Volumes réactionnel final.....	41
3.9.2. Incubations	44

3.9.3. Ordre de mélange réactionnel.....	46
3.9.4. Spectrophotométrie et longueurs d'ondes	47
3.9.5. Intervalle concentration standards	48
3.10. Traitement des résultats de dosage.....	49
3.10.1. Absorbance des standards.....	49
3.10.2. Linéarité des courbes d'étalonnage	50
3.10.3. Expression des résultats obtenus	51
3.10.4. Concentrations des flavonoïdes.....	51
3.10.5. Impact de quelques facteurs sur la concentration des flavonoïdes	53
Conclusion.....	56
Bibliographie.....	57

Liste des Tableaux

Tableau 1. Structure et classification de quelques flavonoïdes.....	5
Tableau 2. Tableau indiquant le nombre de résultats obtenu par mot clé utilisé.....	9
Tableau 3. Articles sélectionnés après le tri PRISMA	12
Tableau 4. Critères d'inclusion dans SPSS pour la réalisation de la revue systématique.	18
Tableau 5. Différentes techniques de dosage non-basées sur l'AlCl ₃	21
Tableau 6. Valorisation des espèces et ressources d'origine étrangère.....	27
Tableau 7. Nature des matériaux biologiques étudiés.	28
Tableau 8. Types d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes.	33
Tableau 9. Appareils et montages utilisés dans l'extraction des flavonoïdes.	34
Tableau 10. Techniques d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes.	35
Tableau 11. Différentes concentrations d'AlCl ₃ utilisés lors du dosage.	38
Tableau 12. Concentration des additifs les plus utilisés pour chaque type de protocole.	40
Tableau 13. Différents volumes d'AlCl ₃ utilisés lors du dosage.	42
Tableau 14. Volumes d'additifs rajoutés au mélange réactionnel lors du dosage.	44
Tableau 15. Ordre réactionnel suivi par les protocoles complexes à deux additifs.	46
Tableau 16. Intervalle de concentration totale des flavonoïdes.	52
Tableau 17. Etude de linéarité entre quelques facteurs.....	53
Tableau 18. Concentration totale des flavonoïdes vis à vis les paramètres étudiés.	54

Liste des Figures

Figure 1. Structure générale des flavonoïdes.....	4
Figure 2. Différents spectres d'absorption spectroscopique du noyau flavane	7
Figure 3. Eléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante	8
Figure 4. Diagramme de flux (PRISMA) pour le processus de sélection des études.	11
Figure 5. Diagramme circulaire montrant la sélection des articles selon la méthode de PRISMA.	12
Figure 6. Graphe montrant le pourcentage d'articles utilisant l' $AlCl_3$ pour le dosage des flavonoïdes.	21
Figure 7. Histogramme montrant le nombre d'études incluses.	22
Figure 8. Histogramme montrant les activités biologiques les plus ciblées par les recherches sur les flavonoïdes.	24
Figure 9. Distribution géographique des pays ayant réalisé le plus de recherches scientifiques sur le dosage des flavonoïdes.	25
Figure 10. Distribution géographique du matériel biologique utilisé dans les études.	26
Figure 11. Diagramme qui montre le pourcentage que représentent les différents moyens d'obtentions des spécimens d'intérêt.	29
Figure 12. Histogramme de la distribution de la collecte des échantillons en fonction du nombre des régions.	30
Figure 13. Distribution des périodes de récolte des échantillons sur les saisons de l'année	31
Figure 14. Histogramme du nombre des parties utilisées.	31
Figure 15. Histogramme montrant les parties les plus utilisées pour l'extraction des flavonoïdes.....	32
Figure 16. Diagramme la nature des extraits utilisés lors pour le dosage des flavonoïdes.....	35
Figure 17. Histogramme présenté en pourcentage du nombre des extraits utilisés	36
Figure 18. Utilités et pourcentage des fractionnements réalisées.....	36
Figure 19. Diagramme montrant le degré de complexité des protocoles suivis lors du dosage des flavonoïdes par l' $AlCl_3$	37
Figure 20. Diagramme montrant le degré de complexité des protocoles suivis lors du dosage des flavonoïdes par l' $AlCl_3$	38
Figure 21. Histogramme des additifs les plus utilisés selon la complexité du protocole.	39
Figure 22. Diagramme des standards utilisés lors de dosage des flavonoïdes.	40
Figure 23. Histogramme des volumes finaux utilisés lors de dosage des flavonoïdes.	42
Figure 24. Histogramme du Nombre d'incubations effectuées lors du dosage des flavonoïdes.	45
Figure 25. Histogramme des durées globales d'incubations effectuées lors du dosage des flavonoïdes.	45
Figure 26. Histogramme des longueurs d'ondes les plus utilisées lors du dosage des flavonoïdes.	47
Figure 27. Histogramme des longueurs d'ondes les plus utilisées selon les types de protocoles.....	48
Figure 28. Histogramme montrant l'intervalle des concentrations des standards.	49
Figure 29. Histogramme montrant l'intervalle d'absorbance du standard utilisé pour le dosage.	50
Figure 30. Histogramme montrant les coefficients de corrélation obtenu.....	50
Figure 31. Histogramme montrant les unités utilisées pour l'expression des résultats.	51

Liste des Abréviations

AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
NaNO₂	Nitrite de sodium
NaNO₃	Nitrate de sodium
NaOH	Hydroxide de sodium
χ^2	Test khi-deux
Sig	La valeur de signification
MAE	Extraction assistée par micro-ondes
MMP	Métalloprotéinase matricielle
MPO	Myeloperoxydase
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
nm	Nanomètre
Da	Dalton
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
M	Molaire

Introduction générale

Une revitalisation sans précédent a eu lieu dans l'intérêt pour les produits naturels, et la chimie des produits naturels avec leur impact sur divers domaines : médicale, pharmaceutique, et même dans le domaine des sciences physiques. Ce qui représente un atout majeur face aux risques posés par les produits synthétiques. Il est estimé qu'au moins 25 % de tous les médicaments modernes sont dérivés, directement ou indirectement, à partir des plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux connaissances traditionnelles (Fatima *et al.*, 2015).

Plusieurs techniques ont été mises en place dans le but d'obtenir ces composés actifs d'origine naturelle, ceux-ci pouvant provenir aussi bien de plantes que de champignons ou de bactéries et même d'insectes. Parmi les classes les plus étudiées, on trouve celle des flavonoïdes qui sont très connus pour leurs activités biologiques intéressantes. Les articles qui s'intéressent à étudier les activités biologiques de cette classe de molécules suivent un protocole bien déterminé. La première étape consiste à l'extraction de ces molécules d'un matériel biologique donné. Une étape de fractionnement facultative ou non selon le but de la recherche réalisée, entre l'extraction et le test d'une activité donnée, on passe par une étape intermédiaire mais essentielle, qui est le dosage (Mariod *et al.*, 2015 ; Villagómez-Rodríguez *et al.*, 2019).

Les techniques de dosage sont souvent spectrophotométriques basées sur une interaction chimiquement encore mal connue, et les recherches traitant ces types d'interactions se font de plus en plus rare. Plusieurs méthodes sont utilisées pour le dosage des flavonoïdes, parmi lesquelles la technique de trichlorure d'aluminium est la plus utilisée. Ces techniques suivent des protocoles bien déterminés, utilisant généralement un standard, qui réagit avec le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), puis établissement d'une courbe d'étalonnage qui sert à projeter les absorbances des échantillons étudiés (Karimi *et al.*, 2016 ; Yildirim *et al.*, 2017).

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette étude est d'élucider le rôle d' AlCl_3 , les différents protocoles utilisés et la variabilité des résultats. En raison du confinement imposé par le covid, et la fermeture des laboratoires de recherches pédagogiques, on a pensé à réaliser ce mémoire systématique pour évaluer l'avancement de cette technique vis-à-vis les recherches dans le domaine des activités biologiques. Ce travail est structuré d'abord d'analyser les articles, suivre l'avancement chronologique des recherches, collecter toutes les informations sur les échantillons étudiés, les solvants ayant servi à la préparation d'extractions, les protocoles suivis, les additifs choisis, les standards, longueurs d'ondes, jusqu'aux marques les plus courantes, pour confronter les hypothèses par la suite à l'aide des tests statistiques.

Partie 1

Synthèse

bibliographique

Chapitre 1

Composés phénoliques

1.1. Polyphénols

1.1.1. Généralités sur les polyphénols

Ce sont les métabolites secondaires les plus largement distribués, et universellement présents dans le règne végétal. Plus de 8 000 composés phénoliques différents ont été identifiés (Nollet et Gutierrez-Urbe, 2018), et ils sont présents dans toutes les parties des végétaux : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois (Middleton *et al.*, 2000), et dans diverses substances naturelles comme les fruits, l'huile d'olives, les carottes, le raisin...etc (Watson, 2018).

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Herbert, 1981) caractérisée par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés directement à un ou plusieurs cycles benzéniques. (Vermerris Wilfred et Nicholson, 2006). Les polyphénols sont synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide shikimique conduisant après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (Herbert, 1981 ; Amor, 2018).

1.1.2. Rôle et intérêt des polyphénols

Les polyphénols sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), dans les mécanismes de défenses de la plante (interactions biotiques et abiotiques) ou encore dans la coloration des fleurs (Thomas, 2011) .

Un intérêt croissant a été porté sur l'étude de ces composés grâce à leurs propriétés biologiques remarquables, parmi lesquelles des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antiprolifératives, gastro protectives ...etc. (Watson, 2018).

Plusieurs études ont été réalisées sur l'impact de la consommation des végétaux riches en polyphénols sur la santé. La plupart d'entre elles ont mis en évidence une baisse du facteur de risque pour de nombreuses affections telles que l'infarctus du myocarde (Achat, 2013).

1.1.3. Classification des polyphénols

Harborne et Simmonds (1964) ont classé ces composés en fonction du nombre de carbones dans la molécule (Vermerris Wilfred et Nicholson, 2006), selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Annexe 1). Ces molécules sont généralement trouvés conjugués aux sucres et les acides organiques (Crozier *et al.*, 2006).

Les polyphénols peuvent être classés en deux groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Crozier *et al.*, 2006).

1.2. Composés non-flavonoïdiques

Cette classe contient plusieurs composés chimiques, parmi lesquels : les acides phénoliques, les stilbènes hydroxylés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones.

1.2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) sont des dérivés des acides benzoïques et cinnamiques tels que, l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide férulique et l'acide gallique (Ould Kaddour, 2019).

1.2.2. Stilbènes

Les stilbènes (C6-C2-C6) caractérisés par une structure ayant un noyau 1,2-diphényléthylène avec des groupements hydroxyles substitués sur les cycles aromatiques et existent sous forme de monomères ou d'oligomères. Exemple : le trans-resvératrol (Ould Kaddour, 2019).

1.2.3. Lignanes

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles (Bouchouka, 2016).

1.2.4. Coumarines

Ces composés phénoliques, à structures variables sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone (O'Kennedy et Thornes, 1997) et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle.

1.2.5. Tanins

Les tannins ou tanins (C15) n sont des composés phénoliques complexes hydrosolubles avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da et se caractérisent par leur facilité de former des complexes réversibles et irréversibles avec les protéines (principalement), les polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectine, etc.), les alcaloïdes, les acides nucléiques et les minéraux, etc (Frutos *et al.*, 2004) .

1.3. Composés flavonoïdiques

Les flavonoïdes partagent un squelette carboné commun de diphenylpropanes (Figure 1), deux cycles benzéniques (cycle A et B) reliés par une chaîne linéaire à trois carbones. La chaîne centrale à trois carbones peut former un cycle pyranne fermé (cycle C) avec l'un des cycles benzéniques.

Les flavonoïdes sont eux-mêmes divisés en 6 sous-classes, selon l'état d'oxydation du cycle pyranne central : flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, anthocyanidines et flavanols (Vermerris Wilfred et Nicholson, 2006).

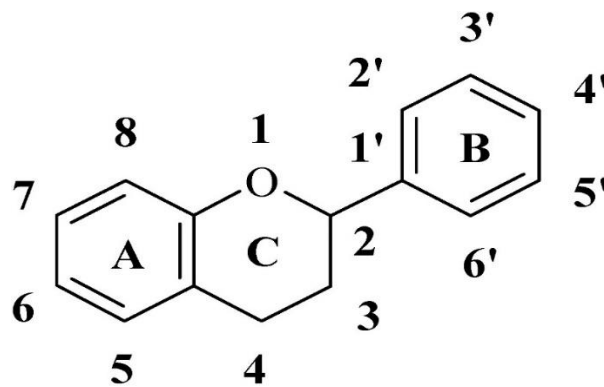
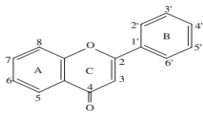
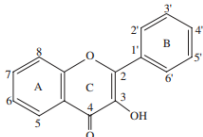
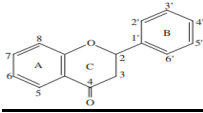
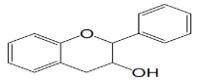
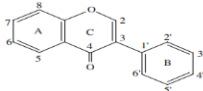
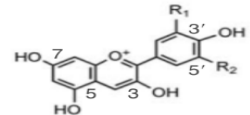


Figure 1. Structure générale des flavonoïdes (Farkas *et al.*, 2004).

Le grand nombre de flavonoïdes identifiés (plus de 4000) est dû à l'apparition de nombreux schémas de substitution (Tableau 1), dans lesquels les substituants primaires (comme le groupe hydroxyle, méthyle...etc.) peuvent eux-mêmes être substitués (c'est-à-dire être en plus glycosylés ou acylés), ce qui donne parfois des structures très complexes (D'Archivio *et al.*, 2007).

Tableau 1. Structure et classification de quelques flavonoïdes (Cai *et al.*, 2006 ; Crozier *et al.*, 2006 ; Tapas *et al.*, 2008).

Structure	Exemple	Substitution						
		3	5	6	7	2'	3'	4'
Flavone 	Lutéoline	H	OH	H	OH	H	OH	OH
	Apigénine	H	OH	H	OH	H	H	OH
	Chrysin	H	OH	H	OH	H	H	H
Flavonol 	Quercétine	OH	OH	H	OH	H	OH	OH
	Kaempférol	OH	OH	H	OH	H	H	OH
	Morine	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
Flavanone 	Naringénine	H	OH	H	OH	H	H	OH
	Naringine	H	OH	H	O-R	H	H	OH
	Hespérétine	H	OH	H	O-R	H	OH	OCH ₃
Flavan-3-o 	(+)-Catéchine	OH	OH	H	OH	H	OH	OH
	(-)-Epicatéchine	OH	OH	H	OH	H	OH	OH
Isoflavone 	Gènistéine	-	OH	H	OH	H	H	OH
	Gènistine	-	OH	H	O-G	H	H	OH
Anthocyanidine 	Cyanidine	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
	Pelargonidine	OH	OH	H	OH	OH	H	OH

R : Rutinose, **G** : Glucose

1.3.1. Flavonols

Les flavonols sont les constituants flavoniques les plus omniprésents dans les aliments. Ce sont des flavones qui se caractérisent par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) en position 3 de l'hétérocycle central C tels que le kaempférol, la quercétine et la rutine (Ould Kaddour, 2019).

1.3.2. Flavones

Les flavones ont une structure proche de celle des flavonols. Bien que les flavones, comme la lutéoline et l'apigénine, présentent des substitutions sur les cycles A et C, elles ne présentent pas d'oxygénation en C3. Un large éventail de substitutions est également

possible avec les flavones, notamment l'hydroxylation, la méthylation, la O- et C-alkylation et la glycosylation (Crozier *et al.*, 2006).

1.3.3. Flavan-3-ols

Les composés flavan-3-ol, contenant le groupe fonctionnel diorthohydroxyl (catéchol) à l'anneau B, sont parmi les flavonoïdes les plus communs à ce jour (Amor, 2018). Les deux centres chiraux en C2 et C3 des flavan-3-ols produisent quatre isomères pour chaque niveau d'hydroxylation du cycle B, dont deux, la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine, sont répandus dans la nature, tandis que la (-)-catéchine et la (+)-épicatéchine sont comparativement rares (Crozier *et al.*, 2006).

1.3.4. Anthocyanidines

Ce sont des pigments naturels, basés sur la structure de l'ion flavylium (2-phényl benzopyrilium). Les anthocyanidines ne se trouvent généralement pas sous forme d'aglycones libres, à l'exception des composés colorés, largement répandus suivants : Pelargonidine (rouge-orange), cyanidine (rouge), peonidine (rouge-rose), delphinidine (bleu-violet), petunidine (bleu-violet), et malvidine (violet). Ces composés sont présents dans les vacuoles des tissus végétaux colorés tels que les feuilles ou les pétales de fleurs. La couleur du pigment dépend du pH, les ions métalliques présents, et la combinaison de sucres et d'acylesters substitués. Des couleurs différentes peuvent également résulter de la présence de combinaisons de plusieurs anthocyanidines (Vermerris Wilfred et Nicholson, 2006).

1.3.5. Flavanones

Les flavanones, également appelées dihydroflavones, ont le cycle C saturé, contrairement aux flavones, la double liaison entre les positions 2 et 3 est saturée et c'est la seule différence structurelle entre les deux sous-groupes de flavonoïdes (Panche *et al.*, 2016).

Les flavanones sont des composants alimentaires qui sont présents dans des concentrations particulièrement élevées dans les agrumes. Le glycoside de flavanone le plus courant est l'hespérétine-7-O-rutinoside (hespéridine) que l'on trouve dans le zeste des agrumes (Crozier *et al.*, 2006).

1.3.6. Isoflavones

Les isoflavones sont caractérisées par le fait que le cycle B est fixé en position C₃ plutôt qu'en position C₂ (Crozier *et al.*, 2006). Ce sont des composés à 15 atomes de carbones comme les flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2- diphénylpropane (Ould Kaddour, 2019).

1.4. Propriétés des flavonoïdes

1.4.1. Propriété physico-chimique des flavonoïdes

Comme la plupart des constituants végétaux, les flavonoïdes peuvent exister à la fois comme aglycones libres et comme conjugués glycosidiques. La glycosylation rend le flavonoïde moins réactif, plus polaire et donc plus soluble dans l'eau (Corradini *et al.*, 2011).

Chez certains types de plantes, les flavonoïdes sont impliqués dans la filtration des UV, la fixation symbiotique de l'azote et la pigmentation florale. Différentes études sur les flavonoïdes par analyse spectroscopique ont révélé que la plupart d'entre eux présentent deux bandes d'absorption majeures dans la région ultraviolette/visible (Figure 2). La bande I (320-385) nm représente l'absorption du cycle B (système cinnamoyle, bande I), tandis que la bande II (240-285) nm correspond à l'absorption du cycle A (système benzoyle, bande II) (Souza et De Giovanni, 2005; Kumar et Pandey, 2013; Karak, 2019).

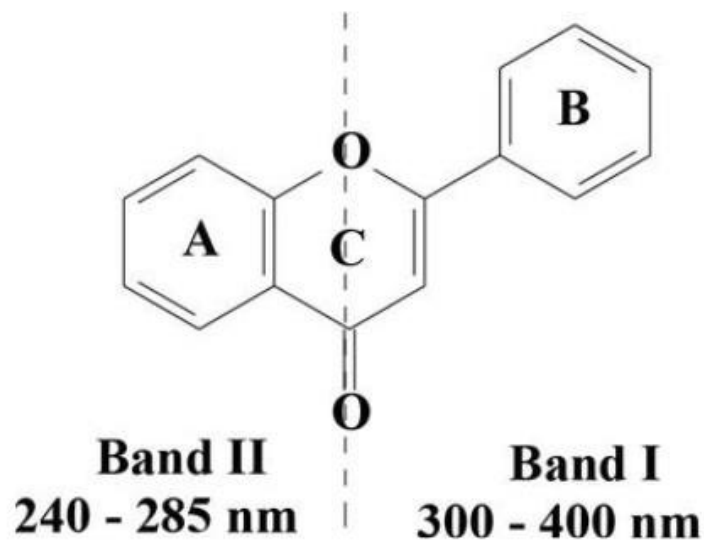


Figure 2. Différents spectres d'absorption spectroscopique du noyau flavane (Souza et De Giovanni, 2005).

1.4.2. Propriétés biologiques des flavonoïdes

Pharmacologiquement, les aglycones sont particulièrement efficaces. Certains ont des activités hépato-protectrices, vasodilatatrices, antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, anti-ulcérogène, antidiabétiques, inhibitrices de l'aldolase réductase et de la

phospholipase A2. La majorité des activités biologiques des flavonoïdes est due à leur pouvoir antioxydant et chélateur. En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (Ghedira, 2005).

Plusieurs études ont montré qu'un régime alimentaire riche en flavonoïdes peut avoir des effets bénéfiques sur la santé. La consommation de catéchine, présent dans le thé, par exemple, réduit la mortalité par maladies cardiaques (Arts *et al.*, 2001). D'autres effets cardioprotecteurs des flavonoïdes ont été prouvé grâce à leurs capacités à inhiber l'oxydation des LDL (Hooper *et al.*, 2008; Lotito et Frei, 2006). Et par à leurs activité vitaminique « P », ils aident à maintenir une perméabilité vasculaire normale (Ghedira, 2005).

1.5. Relations structure-activités des flavonoïdes

De nombreuses études ont mis en évidence l'existence de relations structure-activités (RSA) dans le cas des flavonoïdes. Ainsi, il a été montré que les activités des flavonoïdes et de leurs métabolites dépendent essentiellement du nombre et de la position de leurs groupements fonctionnels (Figure 3). Les éléments structuraux nécessaires par exemple à l'obtention d'une activité antioxydante optimale, sont : la présence d'une fonction catéchol sur le cycle B, la présence d'un groupement hydroxyle en position 3, la présence d'un motif énone au niveau du cycle C, la O-méthylation et sont présentés dans les figures (Hadj Salem, 2009).

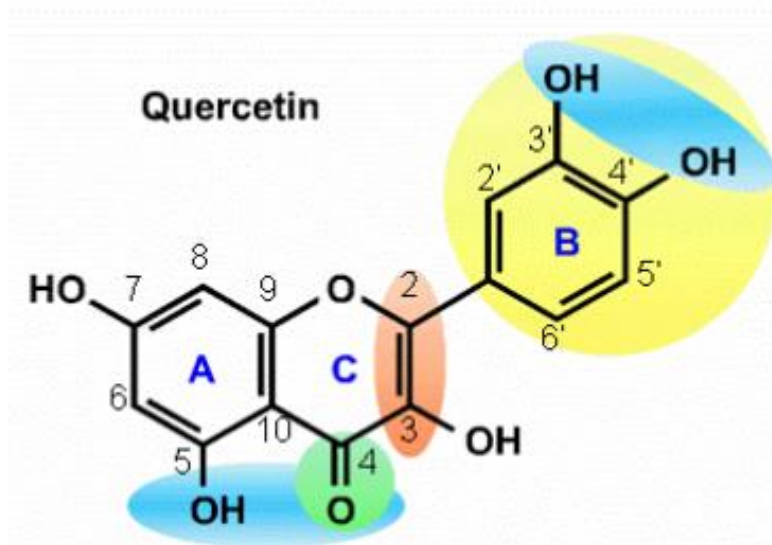


Figure 3. Eléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante (Hadj Salem, 2009)

Partie 2

Partie expérimentale

Chapitre 2

Matériel et méthodes

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Présentation de la méthodologie

Ce travail est systématique, et qui suit une méthodologie bien structurée. Dans un premier temps, une recherche sur une base de données (PubMed) a été effectuée pour l'obtention des articles qui constituent le matériel utilisé, et ensuite l'analyse des données d'articles pour discuter le sujet abordé de façon systématique.

La revue systématique a été réalisée conformément aux directives PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis)

PRISMA est un ensemble minimal d'éléments fondés sur des données probantes pour le compte rendu des revues systématiques et des méta-analyses. Elle est utilisée par les auteurs pour les aider à améliorer le compte rendu des méta-analyses, peut également être utile pour les rédacteurs de revues pour mieux évaluer des revues systématiques publiées (anonyme 1).

2.1.2. Stratégie de la recherche

Le recueil des données a été réalisé à l'aide de la base de données PubMed, du mois d'avril 2021 au mois de mai 2021. La recherche qui a été réalisée sur PubMed utilisait les différentes combinaisons de mots clés suivants : ("Flavonoids content", "AlCl₃", "AlCl₃" AND "Flavonoids " (Tableau 2).

Une lecture de tous les résumés a été effectuée afin d'identifier les articles nécessitant une lecture complète pour décider de leur inclusion ou non dans l'analyse. Les articles ne mentionnant pas le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃, et ceux parlant de la toxicité induite par le trichlorure d'aluminium n'ont pas été inclus.

Tableau 2. Tableau indiquant le nombre de résultats obtenu par mot clé utilisé.

Mot clés utilisés	Nombre de résultats
Flavonoids Content	21.102
AlCl ₃	5143
AlCl ₃ AND Flavonoids	274

Le matériel et méthodes utilisés et les résultats ont été extraits de chaque article. Tous les articles sont initialement triés en appliquant les critères d'inclusion et d'exclusion pour identifier dans un premier temps les articles examinant le dosage des flavonoïdes, les techniques de dosage des flavonoïdes, et puis en ciblant plus spécifiquement le dosage des flavonoïdes par la technique du trichlorure d'aluminium.

2.2. Démarche méthodologique

2.2.1. Sélection des études

Après avoir réalisé une première sélection sur les titres et résumés de chaque article, une lecture complète des articles inclus a été effectuée dont certains ont été exclus pour défaut de pertinence par rapport au sujet du travail, et toutes les données ont été organisées dans un tableau.

Au total, 389 articles ont été obtenus par la recherche sur la base de données PubMed. Après l'exclusion des articles en se basant sur le titre et les résumés, 115 étaient hors sujet et ont été éliminés, 111 articles ont été éliminés parce qu'ils parlaient de la toxicité induite par le trichlorure d'aluminium, en suite 8 articles ont été exclus en raison de l'emploi des techniques de dosage autre que par l' AlCl_3 (par le 2,4-Dinitrophénylhydrazine, le Nitrate d'aluminium). La lecture de l'intégralité du texte des 155 articles restants nous a permis d'éliminer ceux qui ne décrivaient pas la méthode de dosage en détails et ceux qui se contentaient uniquement de mentionner la référence 66/155. A cause du temps limité que nous a été accordé pour réaliser ce modeste travail systématique, 81/89 ont été choisis (Tableau 3). Donc au total 81 articles répondaient aux critères d'inclusion (Figure 4).

2.2.1.1 Critères d'inclusion

- Langue de publication : Anglais ou Français
- Les articles doivent être des articles de recherche scientifique (forme IMRAD)
- Les articles qui ont parlé du dosage des flavonoïdes.
- Les articles qui ont ciblés plus spécifiquement, le dosage des flavonoïdes par AlCl_3 .

2.2.1.2. Critères d'exclusion

- Les articles Reviews
- Article rédigé dans une langue autre que l'Anglais ou le Français (la langue chinoise)
- Les articles qui parlaient de la toxicité induite par l' AlCl_3 .
- Les articles qui ont été intéressés par le dosage des flavonoïdes par d'autres techniques.
- Les articles qui ne décrivaient pas la méthode de dosage en détails et/ou se contentaient uniquement de mentionner la référence.

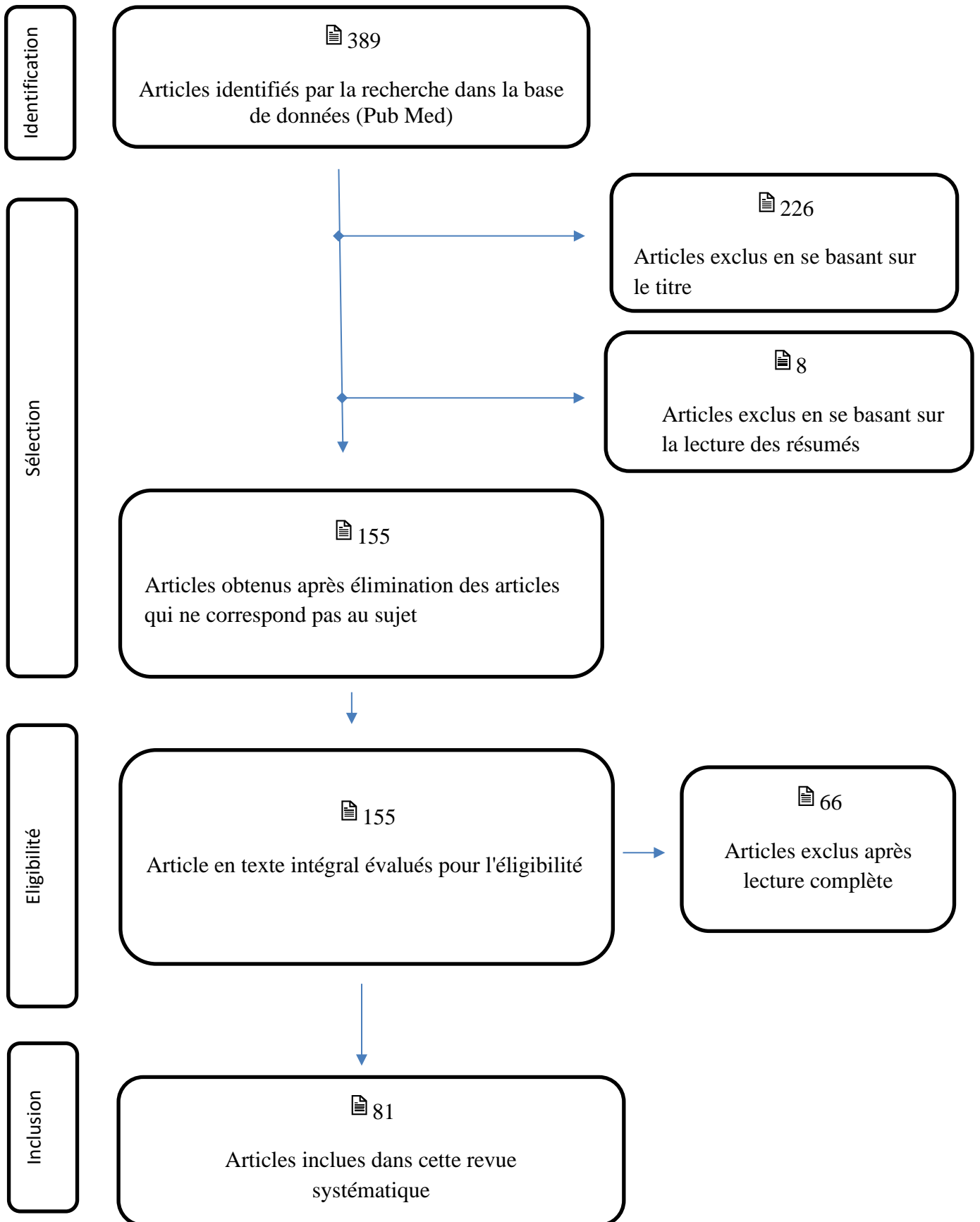


Figure 4. Diagramme de flux (PRISMA) pour le processus de sélection des études.

Par ailleurs, la figure 5 présente le pourcentage des articles identifiés pour ce travail, dans laquelle les articles exclus représentent le pourcentage élevé par 59 % alors que le faible pourcentage est enregistré par les articles exclus par résumés (2 %). Les articles traités représentent 21 % de la totalité des articles.

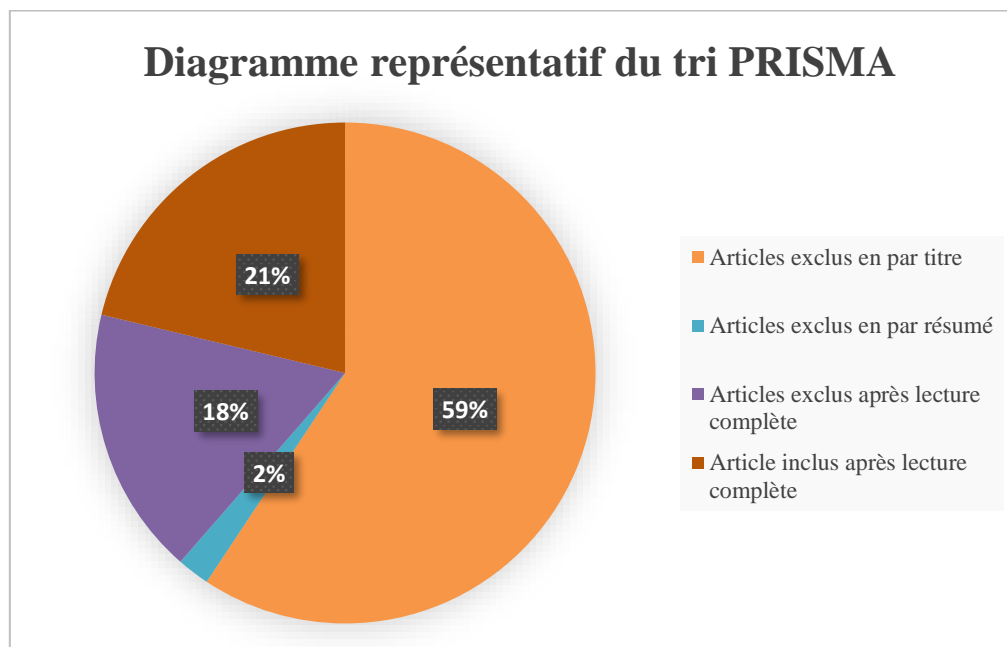


Figure 5. Diagramme circulaire montrant la sélection des articles selon la méthode de PRISMA.

Le tableau 3 regroupe les articles sélectionnés lors du tri PRISMA

Tableau 3. Articles sélectionnés après le tri PRISMA

N°	Journal	Premier auteur	Année	Titre de l'article
1	<i>BMC Research Notes</i>	B. Al-Dabbagh	2019	Antioxidant and anticancer activities of chamomile (<i>Matricaria recutita L.</i>)
2	<i>Pharmaceutical Biology</i>	R. Aarlanda	2016	Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of <i>Echinacea purpurea</i> and <i>Echinacea angustifolia</i> extracts
3	<i>Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy</i>	D. Marinova	2005	Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables
4	<i>Journal of Food and Drug Analysis</i>	C. chang	2002	Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods
5	<i>Hindawi</i>	N. Phuyal	2020	Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Fruit, Seed, and Bark Extracts of <i>Zanthoxylum armatum</i> DC
6	<i>Molecules</i>	H. Chung	2017	Enhanced Agronomic Traits and Medicinal Constituents of Autotetraploids in <i>Anoectochilus</i>

				formosanus Hayata, a Top-Grade Medicinal Orchid
7	<i>BMC complementary and alternative medicine</i>	M. Zilani	2017	Chemical composition and pharmacological activities of <i>Pisum sativum</i>
8	<i>Journal of Apicultural Research</i>	R. G Woisky	1998	Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control
9	<i>Pharmacognosy research</i>	Z. Kefayati	2017	Antioxidant Activity and Phenolic and Flavonoid Contents of the Extract and Subfractions of <i>Euphorbia splendida</i> Mobayen
10	<i>Molecules</i>	G. Tang	2018	Potential of Grape Wastes as a Natural Source of Bioactive Compounds
11	<i>BioImpacts : BI</i>	L. Khodaie	2012	Antioxidant, total phenol and flavonoid contents of two pedicularis L. Species from eastern azerbaijan, iran
12	<i>Pharmacologyonline</i>	Nabavi S. M.	2008	Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoid content of <i>Parrotia Persica Mey</i>
13	<i>Turk J Biol</i>	M. Ebrahimzadeh	2007	Antioxidant Activities of Iranian Corn Silk
14	<i>Acta scientiarum polonorum</i>	Abdalbasit Mariod	2015	Phenolic compounds of three unconventional Sudanese oils
15	<i>Antioxidants</i>	T. Elufioye	2019	Antioxidant and Anticholinesterase Activities of <i>Macrosphyra Longistyla</i> (DC) Hiern Relevant in the Management of Alzheimer's Disease
16	<i>BMC complementary and alternative medicine</i>	A.Villagómez-Rodríguez	2019	Anti-inflammatory activity of <i>Jefea gnaphalioides</i> (a. gray), Astereaceae
17	<i>World journal of gastroenterology</i>	X. Meng	2020	Antioxidant activity and hepatoprotective effect of 10 medicinal herbs on CCl ₄ -induced liver injury in mice
18	<i>PeerJ</i>	H. Al-Jaber	2020	HPLC profiling of selected phenolic acids and flavonoids in <i>Salvia eigii</i> , <i>Salvia hierosolymitana</i> and <i>Salvia viridis</i> growing wild in Jordan and their in vitro antioxidant activity
19	<i>Iranian journal of pharmaceutical research</i>	M. Hetta	2017	In-vitro and In-vivo Hypolipidemic Activity of Spinach Roots and Flowers
20	<i>Saudi journal of biological sciences</i>	P. Takuli	2020	Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial efficacy of a native Himalayan Fern: <i>Woodwardia unigemmata</i> (Makino) Nakai
21	<i>Saudi pharmaceutical journal</i>	C. Kahraman	2019	Phytochemical screening and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of <i>Ferula caspica</i> M. Bieb. Extracts
22	<i>Heliyon</i>	M. Al-Farsi	2018	Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey
23	<i>Heliyon</i>	J. Hayat	2020	Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of <i>Marrubium vulgare</i> L. from 2 different localities of Northeast of Morocco

24	<i>Food Chemistry</i>	S. Kumazawa		Antioxidant activity of propolis of various geographic origins
25	<i>Food and chemical toxicology</i>	A. Brezoiu	2019	Polyphenols extract from grape pomace. Characterization and valorisation through encapsulation into mesoporous silica-type matrices
26	<i>Journal of medicinal food</i>	I.Erdogan-Orhan	2010	Radical quenching activity, ferric-reducing antioxidant power, and ferrous ion-chelating capacity of 16 Ballota species and their total phenol and flavonoid contents
27	<i>Phytochemical analysis</i>	N.Gholizadeh-Moghadam	2019	Classification of barberry genotypes by multivariate analysis of biochemical constituents and HPLC profiles
28	<i>Journal of integrative medicine</i>	M. Hebi	2017	Hypolipidemic activity of <i>Tamarix articulata</i> Vahl. in diabetic rats
29	<i>Indian journal of pharmaceutical sciences</i>	M. Amudha	2016	Evaluation of In Vitro Antioxidant Potential of <i>Cordia retusa</i>
30	<i>Medicinal chemistry</i>	M. G Curcic	2012	Biological effects, total phenolic content and flavonoid concentrations of fragrant yellow onion (<i>Allium flavum</i> L.)
31	<i>Journal of AOAC International</i>	S. Shameh	2018	Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Petals of Six Rosa Species from Iran
32	<i>OncoTargets and therapy</i>	H. Rahman	2018	Phytochemical analysis and antioxidant and anticancer activities of mastic gum resin from <i>Pistacia atlantica</i> subspecies kurdica
33	<i>World journal of gastroenterology</i>	X. Meng	2020	Hepatoprotective effects of <i>Hovenia dulcis</i> seeds against alcoholic liver injury and related mechanisms investigated via network pharmacology
34	<i>Journal of traditional Chinese medicine</i>	B. Riffat	2019	Rumex dentatus could be a potent alternative to treatment of microbial infections and of breast cancer
35	<i>Pharmacognosy research</i>	N. Amran	2016	Antioxidant and Cytotoxic Effect of <i>Barringtonia racemosa</i> and <i>Hibiscus sabdariffa</i> Fruit Extracts in MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line
36	<i>Food & function</i>	N. Mara de Menezes Epifanio	2020	Chemical characterization and in vivo antioxidant activity of parsley (<i>Petroselinum crispum</i>) aqueous extract
37	<i>Journal of ethnopharmacology</i>	T. Lima	2020	Evidence for the involvement of IL-1 β and TNF- α in anti-inflammatory effect and antioxidative stress profile of the standardized dried extract from <i>Miconia albicans</i> Sw. (Triana) Leaves (Melastomataceae)
38	<i>Journal of materials science</i>	L. Moradkhannejhad	2018	Electrospinning of zein/propolis nanofibers; antimicrobial properties and morphology investigation
39	<i>European review for medical and pharmacological sciences</i>	M. Ebrahimzadeh	2013	Antidepressant activity of <i>Hibiscus esculentus</i> L
40	<i>Pharmacognosy research</i>	F. Tamboli	2016	Evaluation of Antiulcer and Antioxidant Activity of <i>Barleria gibsoni</i> Dalz. Leaves

41	<i>Evidence-based complementary and alternative medicine</i>	A. Penido	2017	Medicinal Plants from Northeastern Brazil against Alzheimer's Disease
42	<i>Journal of integrative medicine</i>	S. Kumar Singh	2018	Evaluation of phenolic composition, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of <i>Polygonatum verticillatum</i> (L.)
43	<i>Frontiers in nutrition</i>	A. Tsamo	2020	Metabolite Fingerprinting of Kersting's Groundnut [<i>Macrotyloma geocarpum</i> (Harms) Maréchal & Baudet] Seeds Using UPLC-qTOF-MS Reveals the Nutraceutical and Antioxidant Potentials of the Orphan Legume
44	<i>Molecules</i>	W. Chaiyana	2020	Chemical Constituents, Antioxidant, Anti-MMPs, and Anti-Hyaluronidase Activities of <i>Thunbergia laurifolia</i> Lindl. Leaf Extracts for Skin Aging and Skin Damage Prevention
45	<i>Food Chemistry</i>	A. Ordoñez	2006	Antioxidant activities of <i>Sechium edule</i> (Jacq.) Swartz extracts
46	<i>Pharmaceutical biology</i>	V. Banothu	2017	Phytochemical screening and evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant <i>Albizia odoratissima</i>
47	<i>Avicenna journal of phytomedicine</i>	S. Taghizadeh	2018	Assessment of phenolic profile and antioxidant power of five pistachio (<i>Pistacia vera</i>) cultivars collected from four geographical regions of Iran
48	<i>BMC research notes</i>	T. Usha	2017	Molecular Simulation-based Combinatorial Modeling and Antioxidant Activities of Zingiberaceae Family Rhizomes
49	<i>Pharmaceutical biology</i>	S. Koc	2015	The potential medicinal value of plants from Asteraceae family with antioxidant defense enzymes as biological targets
50	<i>Journal of medicinal food</i>	M. da Conceição	2011	Phenolic content and antioxidant and antiacetylcholinesterase properties of honeys from different floral origins
51	<i>Antioxidants</i>	S. Zonyane	2008	The Implication of Chemotypic Variation on the Anti-Oxidant and Anti-Cancer Activities of <i>Sutherlandia frutescens</i> (L.) R.Br. (Fabaceae) from Different Geographic Locations
52	<i>Annales pharmaceutiques françaises</i>	K Bouterfas	2016	Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (<i>Marrubium vulgare</i> Linné) from three geographical origins
53	<i>African journal of traditional, complementary, and alternative medicines</i>	A. Yildirim	2017	Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown <i>Lysimachia Vulgaris</i> L
54	<i>Brazilian journal of biology</i>	G. Souza	2018	Assessment of the antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of <i>Morus nigra</i> L. (Moraceae)
55	<i>African health sciences</i>	M. Sonibare	2016	Antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions of <i>Vernonia cinerea</i> (L.) Less leaf extract
56	<i>EXCLI journal</i>	M. Stankovic	2011	Immortelle (<i>Xeranthemum annuum</i> L.) as a natural source of biologically active substances

57	<i>Journal of ethnopharmacology</i>	R. Mishra	2018	<i>Viscum articulatum</i> Burm. f. aqueous extract exerts antiproliferative effect and induces cell cycle arrest and apoptosis in leukemia cells
58	<i>International journal of molecular and cellular medicine</i>	A. Khalilpour	2013	Evaluation of Antioxidant Stability of Arbutin and <i>Pyrus boissieriana</i> Buhse Leaf Extract
59	<i>Pharmacognosy research</i>	J. Silva	2017	Antifungal Activity of Hydroalcoholic Extract of <i>Chrysobalanus icaco</i> Against Oral Clinical Isolates of Candida Species
60	<i>Journal of agricultural and food chemistry</i>	V. dewanto	2002	Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity
61	<i>PloS one</i>	A. Mohamed	2013	Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of <i>Syzygium cumini</i> leaves/
62	<i>BMC complementary and alternative medicine</i>	S.Adisakwattana	2012	In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase
63	<i>Journal of complementary & integrative medicine</i>	A. Karimi	2016	Anti-adenovirus activity, antioxidant potential, and phenolic content of black tea (<i>Camellia sinensis</i> Kuntze) extract
64	<i>Food Chemistry</i>	G. Miliauskas	2004	Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts
65	<i>Food Chemistry</i>	J. Lin	2007	Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation
66	<i>Journal of ethnopharmacology</i>	B. Bouimeja	2018	Anti-scorpion venom activity of <i>Thapsia garganica</i> methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences
67	<i>Pharmacognosy magazine</i>	C. Wan	2011	Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of <i>Gynura divaricata</i> leaf extracts at different temperatures
68	<i>Journal of Ethnopharmacology</i>	C.Quettier-Deleu	2000	Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) hulls and flour
69	<i>International journal of molecular medicine</i>	R. Boly	2011	Modulatory activities of <i>Agelanthus dodoneifolius</i> (Loranthaceae) extracts on stimulated equine neutrophils and myeloperoxidase activity
70	<i>EXCLI journal</i>	I. Radojevic	2012	Great horsetail (<i>Equisetum telmateia</i> Ehrh.): Active substances content and biological effects
71	<i>Asian Pacific journal of tropical biomedicine</i>	G. Nagarani	2014	Effect of hydrothermal processing on total polyphenolics and antioxidant potential of underutilized leafy vegetables, <i>Boerhaavia diffusa</i> and <i>Portulaca oleracea</i>
72	<i>African Journal of Biotechnology</i>	F. Pourmorad	2006	Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants
	<i>Acta pharmaceutica</i>	M. El-Hashash	2010	Antioxidant properties of methanolic extracts of the leaves of seven Egyptian Cassia species

73

				<i>Muscari comosum</i> L. Bulb Extracts Modulate Oxidative Stress and Redox Signaling in HepG2 Cells
74	<i>Molecules</i>	F. Giglio	2021	
75	<i>Pharmacognosy magazine</i>	I. Silva	2011	Evaluation of phytochemical composition and antioxidant capacity of a decoction containing <i>Adenantha pavonina</i> L. and <i>Thespesia populnea</i> L
76	<i>Contemporary clinical dentistry</i>	G. Agarwal	2012	Evaluation of chemical composition and efficacy of Chinese propolis extract on <i>Porphyromonas gingivalis</i> and <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> : An in vitro study
77	<i>Bosnian journal of basic medical sciences</i>	D. Vučić	2014	In vitro activity of heather [<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hull] extracts on selected urinary tract pathogens
78	<i>Pharmacognosy research</i>	M. Nikolova	2011	Screening of radical scavenging activity and polyphenol content of Bulgarian plant species
79	<i>Antioxidants</i>	S. Sugiharto	2016	Assay of Antioxidant Potential of Two Filamentous Fungi Isolated from the Indonesian Fermented Dried Cassava
80	<i>Journal of medicinal food</i>	M. Berhow	2012	Rosmarinic acid content in antidiabetic aqueous extract of <i>Ocimum canum</i> sims grown in Ghana
81	<i>Ayu</i>	S. Narasanagi	2017	In vitro study on anti-oxidant and anti-inflammatory properties of <i>Varnya Mahakashaya Dashemani</i> (aqueous extract): A polyherbal formulation

Ce tableau fait partie de la liste des références.

2.2.2. Analyse des données

Les articles inclus ont ensuite été relus dans leur intégralité et analysés pour rechercher des données pertinentes. Pour chaque article sélectionné, les critères (94 critères) à suivre ont été saisi à l'aide de SPSS version 26.

L'analyse des données a été réalisée de manière qualitative, sous la forme d'une synthèse descriptive, adaptée à l'objectif de recherche de notre revue systématique (Tableau 4).

Tableau 4. Critères d'inclusion dans SPSS pour la réalisation de la revue systématique.

N°	Critères
1	Code de l'article
2	Intervalle Années des articles
3	La teneur en flavonoides
4	Activité antioxydante
5	Activité anticancéreuse
6	Activité anti-inflammatoire
7	Activité hypoglycémiant
8	Activité Anti-Acétylcholinestérase
9	Activité hépatoprotectrice
10	Activité hypolipémiant
11	Activité antimicrobienne
12	Activité antidépressante
13	Activité anti-ulcéreuse
14	Potentiel Nutraceutique
15	Activité inhibitrice des métalloprotéases matricielles (MMP)
16	Activité anti- hyaluronidase
17	Activité antivenimeuse
18	Activité anti- virale
19	Activité anti- α -glucosidase
20	Activité anti- α -amylase
21	Activité Stimulatrice de la prolifération des splénocytes
22	Activité Inhibitrice de MPO
23	Activité Modulatrice de la Signalisation Redox
24	Activité Antiangiogénique
25	Pays de recherche
26	Laboratoire
27	Origine de l'échantillon
28	D'où vient notre échantillon
29	L'obtention de l'échantillon
30	Saison de récolte
31	Nature de l'échantillon
32	Nombres échantillons MB utilisés
33	Nombres de parties utilisées
34	Partie de l'échantillon
35	Type d'extraction
36	Technique Extraction Utilisée
37	Natures des extraits utilisés
38	Nombre des extraits
39	Solvant Utilisé pour l'extraction
40	Appareillage utilisé pour l'extraction
41	Fractionnement
42	Nombre des Fractions
43	Type de Réaction
44	Nombre d'additifs utilisés
45	Additifs Utilisés
46	Concentration des Additif 1 (Acétate de potassium) utilisé
47	Concentration des Additif 2 (Nitrite de sodium et Hydroxyde de sodium) utilisé
48	Concentration des Additif 3 (Nitrate de sodium et Hydroxyde de sodium) utilisé
49	Concentration des Additif 4 (Acétate de Sodium) utilisé
50	Concentration des Additif 5 (Acide Acétique) utilisé

51	Marque de l'Acétate de Potassium
52	Marque de l'Acétate de Sodium
53	Marque du Nitrite de Sodium
54	Marque du Nitrate de Sodium
55	Marque d'Hydroxyde de sodium
56	Marque du $AlCl_3$
57	Marque Acide Acétique
58	Concentration $AlCl_3$ utilisé
59	Solvant utilisé pour $AlCl_3$
60	Marque du solvant utilisé pour l'extraction
61	Marque du solvant de l' $AlCl_3$
62	Marque du standard
63	Nombre de standards
64	Standards utilisés
65	Sous classe des standards utilisés
66	Volume Final du mélange Réactionnel
67	Volume de l'échantillon Utilisée
68	Volume $AlCl_3$
69	Volume Eau Distillée
70	Volume Additif 1 utilisé
71	Volume Additif 2 utilisé
72	Volume Additif 3 utilisé
73	Volume Additif 4 (Acétate de Sodium) utilisé
74	Volume Additif 5 (Acide Acétique) utilisé
75	Volume du solvant utilisé
76	Nombres d'incubations
77	Période totale d'incubation
78	Ordre 1 du mélange réactionnel complexe
79	Durée 1ère incubation
80	Ordre 2 du mélange réactionnel complexe
81	Durée 2ème incubation
82	Ordre 3 du mélange réactionnel complexe
83	Durée 3ème incubation
84	Longueur d'ondes
85	Intervalle de concentration du Standard
86	Marque Spectrophotomètre
87	Expression de résultats en :
88	Absorbance du Standard
89	Coefficient de Corrélation
90	Intervalle de concentration totale des Flavonoïdes
91	Intervalle de concentration totale des Flavonoïdes pour Standard 1
92	Intervalle de concentration totale des Flavonoïdes pour Standard 2
93	Intervalle de concentration des Flavonoïdes contenue dans les extraits brutes
94	Intervalle de concentration des Flavonoïdes contenue dans les fractions

2.2.3. Analyse statistique

Les données d'étude sélectionnées ont été traités à l'aide du logiciel (SPSS) version 26, l'analyse statistique a été réalisée en fonction des variables traitées :

Le test de corrélation r de Pearson, pour vérifier évaluer une association (dépendance) entre deux variables.

Le test d'indépendance Khi-deux (χ^2) a été employé pour tester l'indépendance ou la relation entre les variables étudiées. Le seuil de risque acceptable a été fixé à ($\alpha= 5\%$), les valeurs de signification asymptotique (sig) des résultats d'analyse de χ^2 ont été comparées à α . Si :

sig $< \alpha$ hypothèse 0 (H0) est vrai, et les deux variables sont dépendants ;

sig $> \alpha$ hypothèse 1 (H1) est vrai, et les deux variables sont indépendants.

Tous les traitements des graphes ont été réalisées en utilisant Graph Pad Prism version 9.1.0.

Chapitre 3

Résultats et Discussion

3.1. Taux d'utilisation de la technique de dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

Nos statistiques ont montré que 81/91 (89 %) études ont opté pour l'usage du chlorure d'aluminium (III) lors du dosage des flavonoïdes (Figure 6), contre seulement 10/91 (11 %) articles utilisant d'autres techniques de quantification (Tableau 6).

Pourcentage d'utilisation de la technique AlCl₃

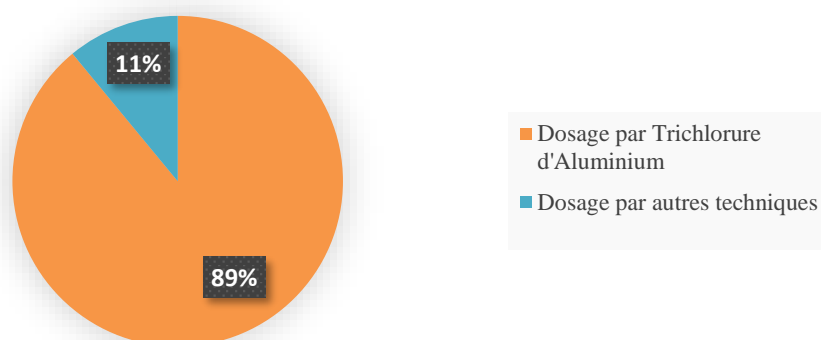


Figure 6. Graphe montrant le pourcentage d'articles utilisant l'AlCl₃ pour le dosage des flavonoïdes.

D'après notre enquête, cette technique spectrophotométrique basée sur la formation de complexes d'aluminium est l'une des techniques les plus utilisées pour la détermination des flavonoïdes totaux. Ceci est dû à la simplicité, rapidité, la reproductibilité et la rentabilité de la technique (Struchkov *et al.*, 2018), et car la teneur en ces composés est considérée comme un paramètre important pour l'évaluation des échantillons du matériel biologique étudié.

Tableau 5. Différentes techniques de dosage non-basées sur l'AlCl₃.

Nom de la technique	Nombre d'articles	Références
Dosage par Al(NO ₃) ₃	2 Articles	(Erdenechimeg <i>et al.</i> , 2017 ; Shi <i>et al.</i> , 2016)
Dosage par 2,4-Dinitrophénylhydrazine	2 Articles	(Iloki-Assanga <i>et al.</i> , 2015 ; Chang <i>et al.</i> , 2020)
Dosage par KOH	1 Article	(Zhou <i>et al.</i> , 2020)
Dosage par vanilline-HCl	1 Article	(He <i>et al.</i> , 2009)
Méthode de Rolim	1 Article	(Rolim <i>et al.</i> , 2005)
Dosage par le réactif oxalo-borique	1 Article	(Marchart <i>et al.</i> , 2003)
Dosage par Borohydrure de Sodium/chloranil	2 Articles	(X. He <i>et al.</i> , 2008 ; Zhang <i>et al.</i> , 2010)

3.2. Années des publications étudiées au fil du temps

En examinant l'histogramme (Figure 7), et d'après la sélection réalisée aléatoirement, et à l'exception de l'année 2021, les résultats obtenus montrent que le nombre d'études réalisées en utilisant la technique de dosage des flavonoïdes par l' AlCl_3 a été distribué d'une manière progressive en fonction du temps.

Distribution chronologique des études

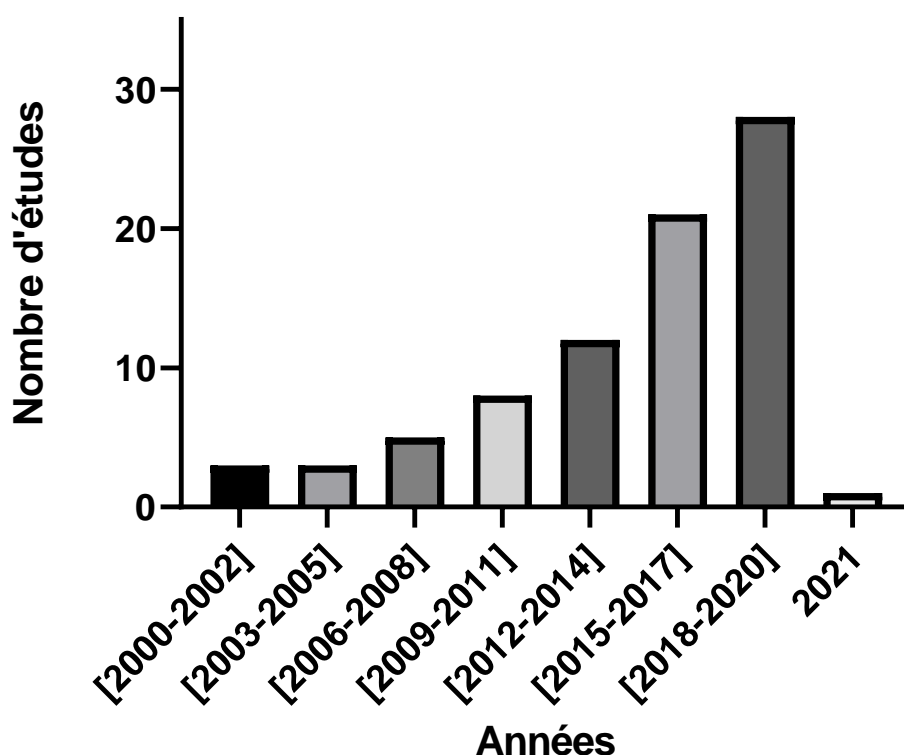


Figure 7. Histogramme montrant le nombre d'études incluses.

La technique de quantification par l' AlCl_3 reste toujours la technique la plus utilisée pour la détermination des flavonoïdes totaux. Cette progression du nombre d'études basées sur les flavonoïdes reflète l'importance de cette classe de molécules aux yeux des chercheurs, qui s'intéressent de plus en plus aux flavonoïdes grâce à leurs propriétés thérapeutiques.

En éliminant les données de l'année 2021, le test de linéarité entre les années de recherche et le nombre d'études réalisées a prouvé qu'il existe une forte corrélation entre les deux avec un coefficient ($r^2=0.94$).

Le faible effectif d'études réalisées en 2021 peut se traduire par défaut de recherche personnel, ou par les conséquences liées au confinement imposé pour faire face à l'épidémie de corona.

3.3. Axes de recherche exigeants un dosage des flavonoïdes par l'AICl₃

En voyant le pourcentage d'études réalisées sur les flavonoïdes indiqué dans la figure 8, on a remarqué qu'elles ont accordé une grande importance au pouvoir antioxydant (53 %), l'une des principales causes étant le stress oxydatif, ce phénomène qui constitue un terrain favorable au développement de plusieurs pathologies, et touchant donc une grande partie de la société. Troubles Métaboliques, athérosclérose, cancer, diabète, troubles neurologiques, maladie cardiovasculaire, polyarthrite rhumatoïde, et même des lésions au niveau de l'ADN sont étroitement liées au stress oxydatif (Pizzino *et al.*, 2017). Les autres causes faisant de cette activité l'une des plus étudiée c'est la facilité de la mise en évidence du pouvoir antioxydant *in vitro* par des techniques simples et pratiques (ORAC, FRAP, DPPH...etc.), et la disponibilité des moyens de recherche.

L'activité antimicrobienne arrive en 2^{ème} position et représente (12 %) des recherches réalisées sur les flavonoïdes. Ces molécules constituent un groupe très important de composés naturels dotés de pouvoir antimicrobien remarquable, ils ont été utilisés par exemple en tant que conservateurs antimicrobiens naturels qui inhibent la croissance des microbes tels que les bactéries et les champignons sans les effets indésirables des substances synthétiques, ce qui représente un atout majeur pour l'industrie alimentaire (Radojevic *et al.*, 2012). Un autre problème qui a été déjà souligné plusieurs fois est la résistance aux antibiotiques, une utilisation massive des antibiotiques rend inefficace un ou plusieurs antibiotiques contre une infection bactérienne. Les infections les plus courantes et les blessures mineures peuvent de nouveau tuer.

Les plantes médicinales ont toujours été étudiées pour leurs activités cytotoxiques significative contre les lignées cellulaires cancéreuses, 9 % d'études s'intéressaient aux effets prometteurs d'inhibition de la croissance. Ces effets antiprolifératifs spécifiques aux cellules cancéreuses ont eu un fort impact sur les recherches des médicaments non toxiques pour traiter les différents types de cancer. Prenant en exemple le cancer du côlon (Rahman, 2018), et le cancer du sein (Riffat *et al.*, 2019).

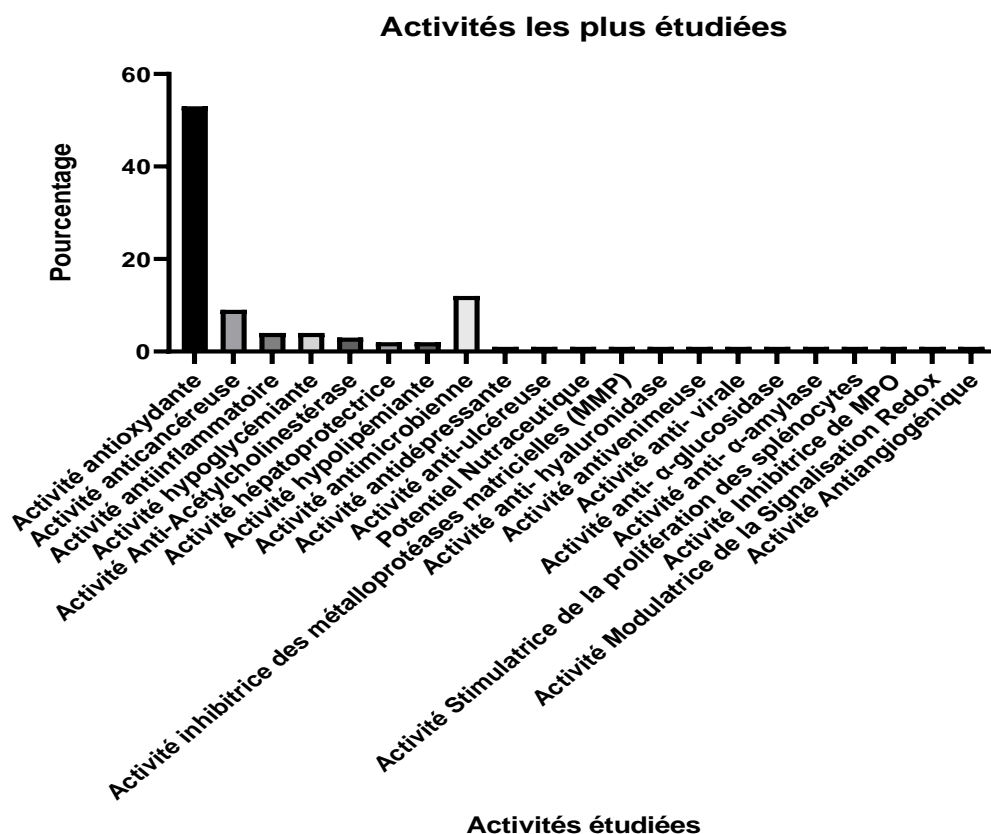


Figure 8. Histogramme montrant les activités biologiques les plus ciblées par les recherches sur les flavonoïdes.

Quatre pour cent des recherches indiquent que plusieurs stratégies de lutte contre le diabète sont en cours d'élaboration. L'une d'entre elle était l'inhibition de l' α -glucosidase et de l' α -amylase, entraînant un retard agressif de la digestion des glucides en monosaccharides absorbables. Les chercheurs ont opté pour l'utilisation des aliments riches en flavonoïdes pour minimiser les effets secondaires engendrés par les inhibiteurs pancréatique tels que les douleurs abdominales, des flatulences, du météorisme et de la diarrhée chez les patients diabétiques (Adisakwattana *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes ont montré un grand potentiel dans le domaine de recherche pharmaceutique à caractère cosmétique. Ces molécules miraculeuses pourraient atténuer le vieillissement de la peau et les effets de l'âge grâce à leur activité anti hyaluronidase qui empêchent la dégradation de l'acide hyaluronique et donc réguler l'hydratation de la peau, par leur action inhibitrice de l'expression des métalloprotéines matricielles (MMP) qui sont une cause importante de la fragmentation du collagène nécessaire pour maintenir l'élasticité de la peau (Chaiyana *et al.*, 2020).

Le nombre d'études réalisées pour une activité donnée ne reflète pas forcément le degré d'importance de l'activité étudiée. Prenant par exemple le pouvoir antivenimeux des

flavonoïdes, ce potentiel n'est pas assez étudié. Le nombre des personnes affectés, la difficulté de la collecte du matériel nécessaire pour réaliser ces études pourraient en être la cause.

3.4. Pays de recherche

La répartition des pays réalisant le plus de recherche sur les flavonoïdes est montrée dans la figure 9. En total, des 81 régions ont été citées, l'Iran occupe la première place en matière de recherche scientifique avec 14.8% du fait que l'Iran soit l'un des pays qui ont fait des avancées considérables en se concentrant sur l'éducation et les recherches. D'après nos chiffres les scientifiques iraniens publient abondamment dans des revues internationales dans tous les domaines scientifiques.

L'Inde avec 11.1 % des publications scientifiques. Ce pays représente environ 3 % de la production mondiale de littérature scientifique et près de la moitié de celle du tiers monde. En termes de nombre d'articles publiés dans plus de 4 000 des principaux journaux scientifiques et universitaires du monde, l'Inde est le pays le plus important en matière de publications scientifiques (Rahman et Qureshi, 1990).

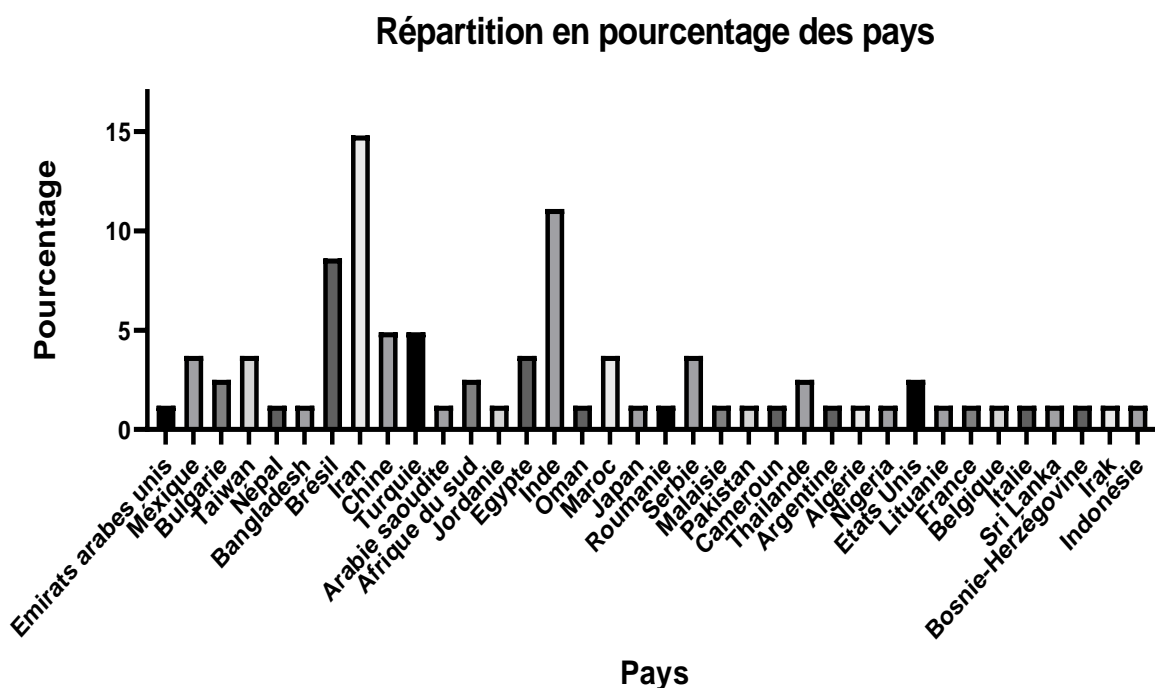


Figure 9. Distribution géographique des pays ayant réalisé le plus de recherches scientifiques sur le dosage des flavonoïdes.

Le Brésil avec 8.6 % et l'un des pays de la région qui ont investi dans la recherche et est doté de pôles scientifiques et technologiques réputés au monde entier. Il y'a donc un lien étroit entre l'évolution de la recherche scientifique et la capacité des laboratoires de recherches. La

faible contribution de certains pays est dû aussi à un problème d'indexation sur les différentes bases de données.

3.5. Habitats naturels et régions des échantillons étudiés

Le résultat de la répartition géographique des lieux d'habitats naturels des échantillons étudiés (Figure 10) ne nous a pas surpris, les mêmes gagnants de la course pour les recherches scientifiques ont emporté cette manche encore une fois, 14.8 % des espèces étudiées viennent de l'Iran, l'un des pays les plus riches du monde en termes de biodiversité, par sa grande superficie, sa richesse floristique importante ou de nombreuses endémiques prennent naissance à ce secteur. Un pays de contraste entre l'orient et l'Asie et l'Europe occidental, qui possède une impressionnante variété de reliefs et de climats. Les altitudes vont de 5604 mètres au sommet du Mont Damavand à 28 m en dessous du niveau de la mer sur les rives de la mer Caspienne, des surplus de précipitations contre des zones totalement d'une aridité extrême (Kiani *et al.*, 2017) font de ce pays un paradis pour les différentes espèces vivantes.

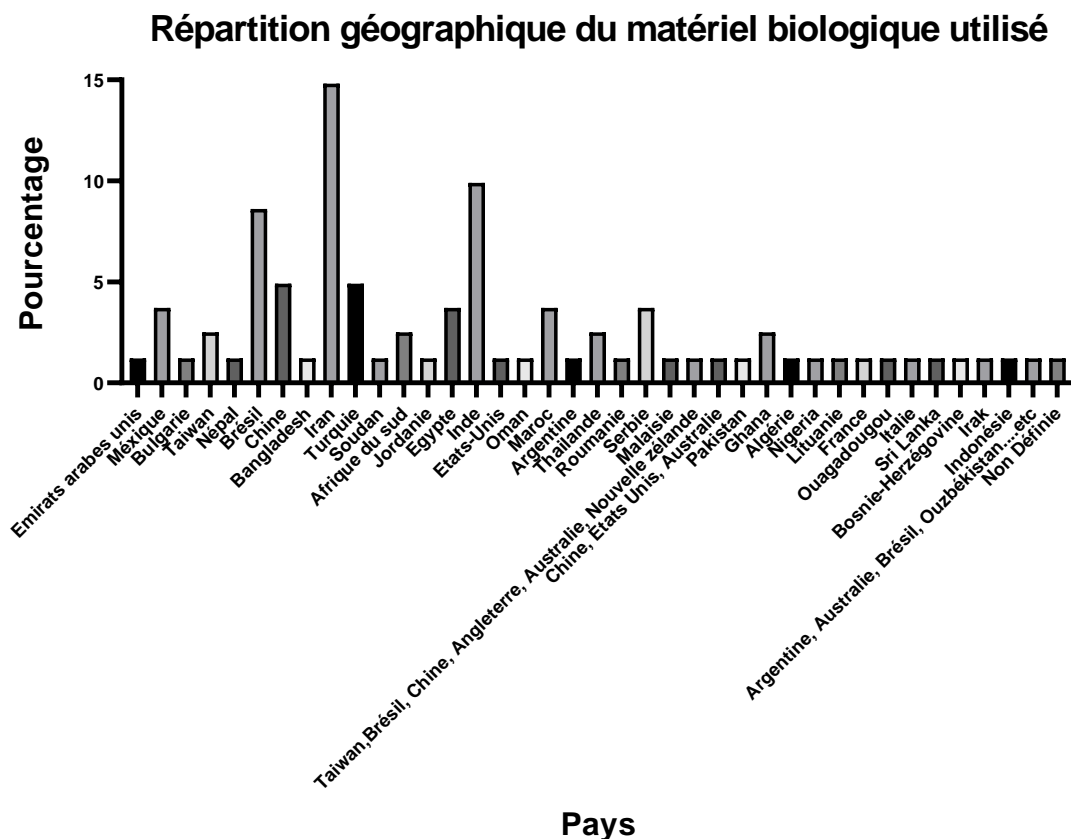


Figure 10. Distribution géographique du matériel biologique utilisé dans les études.

Neuf virgule neuf pour cent de la totale des échantillons étudiés vient de l'Inde, l'un des pays "mégadivers", est reconnu par sa grande biodiversité, forêts, prairies, zones humides,

zones côtières des écosystèmes côtiers et marins, et désertiques. Sur le total des espèces estimées dans le monde, environ 8,4 millions d'espèces sont originaires de l'Inde (Raghunathan *et al.*, 2012).

Le Brésil avec 8.6 % de la totalité d'espèces étudiées, représente l'une des biodiversités les plus riches du monde. Le pays abrite des écosystèmes très variés comme la forêt amazonienne, la forêt atlantique ou la savane du Cerrado (Freitas de Lima *et al.*, 2021).

Cette distribution ne reflète pas uniquement une richesse naturelle, mais une préservation de la biodiversité et une valorisation des espèces et variétés locales dans les régions étudiées.

L'homogénéité entre l'affiliation des chercheurs et le pays des échantillons étudiés a été testée en réalisant un test de χ^2 afin de confirmer la possibilité de l'existence d'une préférence personnelle impliquée dans le choix d'échantillons d'origine locale au détriment d'autres espèces venantes des pays étrangers. L'analyse des données a indiqué la dépendance statistique entre l'affiliation des chercheurs et les pays des échantillons étudiés, du fait que le degré de signification (sig = 0.000) est inférieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. Donc, il y a eu une relation entre ces deux paramètres. Mais ça n'a pas empêché, comme le montre le tableau 7, l'existence d'une valorisation des ressources qui appartenaient aux autres pays, parmi lesquelles :

Tableau 6. Valorisation des espèces et ressources d'origine étrangère.

Affiliation du 1 ^{er} chercheur	Origine des échantillons étudiés
Inde	Chine
Arabie saoudite	Soudan
Taiwan	Taiwan, Brésil, Chine, Angleterre, Australie, Nouvelle Zélande
Chine	Etats-Unis, Australie
Cameroun	Ghana
Etats Unis	Ghana
Belgique	Ouagadougou
Japon	Uruguay, Brésil, Australie, Argentine, Ouzbékistan, Ukraine, Chine, Chili, Bulgarie, Etats-Unis, Thaïlande, Afrique du sud, Nouvelle Zélande, Hongrie

3.6. Ressources naturelles étudiées

Dans cette partie, les données des échantillons utilisés dans les articles étudiés ont été analysés et regroupés d'une manière homogène et informative en prenant en considération leur nature, moyen d'obtention, période de récolte, nombre, parties utilisées ...etc.

3.6.1. Nature des échantillons étudiés

Par simple lecture du tableau 8 tiré des articles analysés, 76.4 % des échantillons utilisés pour la valorisation de l'activité des extraits qui contiennent des flavonoïdes venaient des plantes médicinales. Plus de 5 000 flavonoïdes de structure unique ont été identifiés dans les plantes, qui sont aujourd'hui cultivées à des fins commerciales (exemple : *Acacia tortilis*, *Portulaca oleracea* L.) (Khan, 2014).

L'alimentation est devenue plus qu'une simple source d'énergie, parmi les articles analysés, les aliments riches en flavonoïdes représentent 13.5 % du matériel biologique étudié. Selon Waheed Janabi *et al.* (2019) les aliments ont montré un potentiel nutraceutique prometteur contre les maladies dégénératives mortelles. Les fruits, notamment les agrumes, les baies, les pommes, les légumes, en particulier les légumes verts de couleur foncée et les oignons, les boissons comme le thé et le vin rouge, et le cacao, font aujourd'hui partie des super aliments du millénaire.

Tableau 7. Nature des matériaux biologiques étudiés.

Nature du matériel biologique	Pourcentage
Plante médicinale	72,8
Fruit	4,9
Légume	1,2
Propolis	6,2
Miel	2,5
OGM	1,2
Plante médicinale et Insecte	1,2
Fruits et Légumes	2,5
Plante médicinale et Fruit	1,2
Soie de maïs	1,2
Thé	1,2
Pistache	1,2
Mastic	1,2
Champignons	1,2

OGM : organisme génétiquement modifié (plante)

L'échantillon la plus bizarrement présenté vient des insectes (1.2 %), prenons à titre d'exemple *Agonoscelis pubescens* (Punaise du sorghom), et *Aspongopus viduatus* (Punaise de la pastèque) utilisé en nutrition par la collecte de son huile (Mariod *et al.*, 2015). Les insectes font partie du projet de la valorisation des déchets issus d'insectes et l'industrie agro-alimentaire.

3.6.2. Moyens d'obtention

Les critères recherchés lors de la sélection des échantillons, tels que les conditions de stockage, les conditions de récolte et de conservation ont toujours été considérées comme un indice de fiabilité, ça explique le pourcentage élevé (76.5 %) que représentent les spécimens recoltés (Figure 11). Selon Raya *et al.* (2015), les conditions de poste-récolte prennent à titre d'exemple la prolongation de la durée de stockage ont significativement diminué le contenu en flavonoïdes.

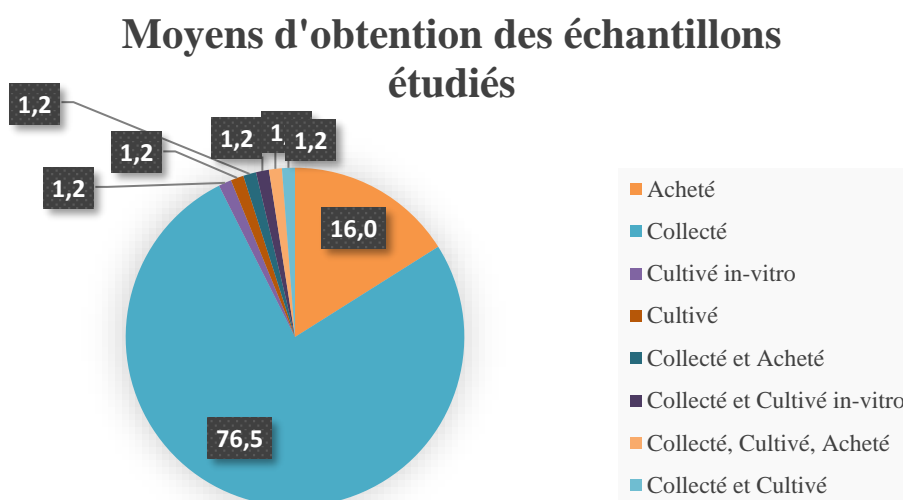


Figure 11. Diagramme qui montre le pourcentage que représentent les différents moyens d'obtenions des spécimens d'intérêt.

En dépit de l'incertitude entourant les normes respectées en traitant les matériaux biologiques en question, 16 % d'entre eux ont été acheté. L'application des techniques de culture *in vitro* à la multiplication d'espèces végétales a contribué au perfectionnement des conditions de croissance, et à la création des plantes modifiées génétiquement portant les caractères d'intérêts, et une teneur élevée en molécules d'intérêts.

3.6.3. Régions de collecte

La distribution des régions de récolte est détaillée dans la figure 12. Selon les études analysées, 69.1 % des échantillons sont collectés de la même région, ce qui montre que les différences de caractéristiques physico-chimiques d'un spécimen donné, issu de différentes régions géographiques n'est pas assez étudié. Par fainéantise ou par manque de motivation, la plupart des chercheurs se contentaient des échantillons venant de la même région.

Les facteurs environnementaux (les précipitations, la température, la fertilité du sol, la vitesse du vent, la pression atmosphérique) influencent sur les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes et donc sur leur teneur et du degré de leur pouvoir thérapeutique (Pandey *et al.*, 2018).

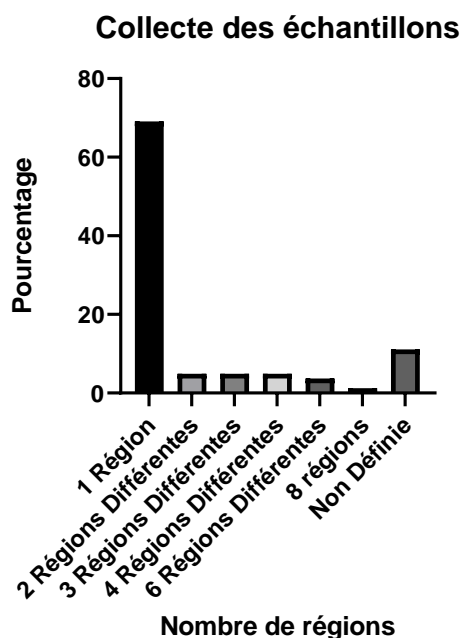


Figure 12. Histogramme de la distribution de la collecte des échantillons en fonction du nombre des régions.

Par exemple, les plantes des habitats tempérés sont exposées à des stress environnementaux sévères, notamment des températures et des radiations extrêmes. Par conséquent, une augmentation de la propriété antioxydante et de la production de composés protecteurs contre les rayons ultraviolet UV-B (anthocyanines, acide ascorbique, flavonoïdes et acide phénolique), tandis qu'une diminution des substances allélopathiques et anti-herbivores (alcaloïdes, iridoïdes et lactones sesquiterpéniques) est observée (Pandey *et al.*, 2018).

3.6.4. Saisons de récolte

La figure 13 représente la distribution des périodes de collecte en fonction des saisons de l'année. L'été 16 % et le printemps 13.6 % ont été les saisons les plus choisies pour la récolte, parce qu'elles constituent les derniers stades de la floraison pour la plupart des variétés.

Les stades de croissance phénologique ont influencé de manière significative l'activité antioxydante phénoliques totales et les teneurs en acide α -linoléique et en acide linoléique. Les feuilles matures de *P. oleracea* par exemple, ont montré les plus hauts contenus phénoliques

totaux et d'acides gras (acide α -linoléique et acide linoléique), ainsi que les activités antioxydantes comparées aux feuilles et à la tige plus jeunes (Saffaryazdi *et al.*, 2020).

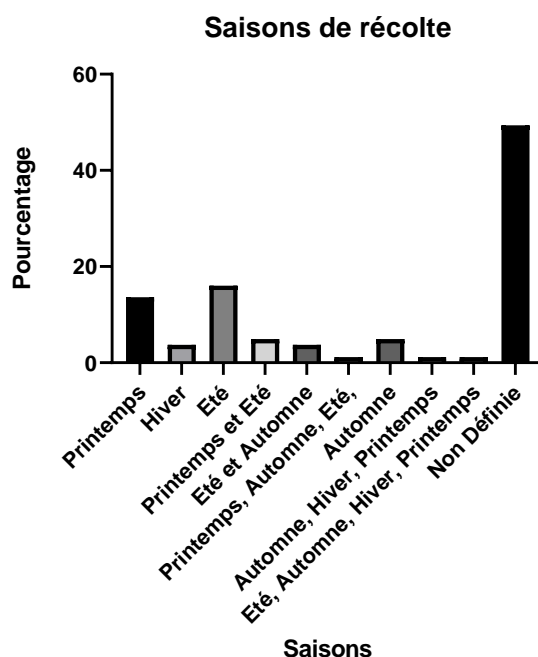


Figure 13. Distribution des périodes de récolte des échantillons sur les saisons de l'année.

Ainsi, la teneur en flavonoïdes des fruits de mûrier collecté en printemps a augmenté de manière significative par rapport à ceux récoltés en automne (Zhishen *et al.*, 1999).

3.6.5. Parties les plus utilisées

Les articles analysés, ont révélé que 79 % des recherches ont quantifié les flavonoïdes dans une seule partie (Figure 14), cette décision peut-être en partie influencée par une connaissance acquise en matière d'utilisation traditionnelle des plantes.

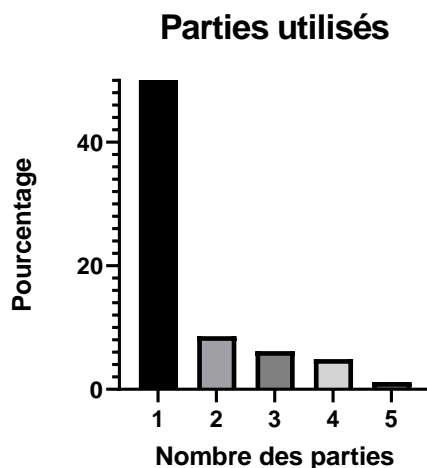


Figure 14. Histogramme du nombre des parties utilisées.

Vingt-sept virgule deux pour cent des dosages ont été réalisés en utilisant l'entièreté des échantillons, 23.5% des études s'intéressaient aux feuilles et 17.3% à la totalité de la partie aérienne.

D'après les résultats analysés (Figure 15)., on a pu voir qu'il existe une variation importante de distribution du contenu des flavonoïdes totaux entre les différentes parties de la même plante, et au sein de la même espèce. Lin *et al.* (2014) ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux dans les fleurs de *A. esculentus* était la plus élevée comparée à celle de l'écorce, tandis que Meng et al. (2020) ont trouvé que la teneur en flavonoïdes dans les racines de *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi était largement plus élevée à celle des feuilles.

Del Valle *et al.* (2015) ont suggéré que les conditions environnementales peuvent jouer un rôle dans l'accumulation de ces molécules dans les différentes parties des plantes issues de la même population.

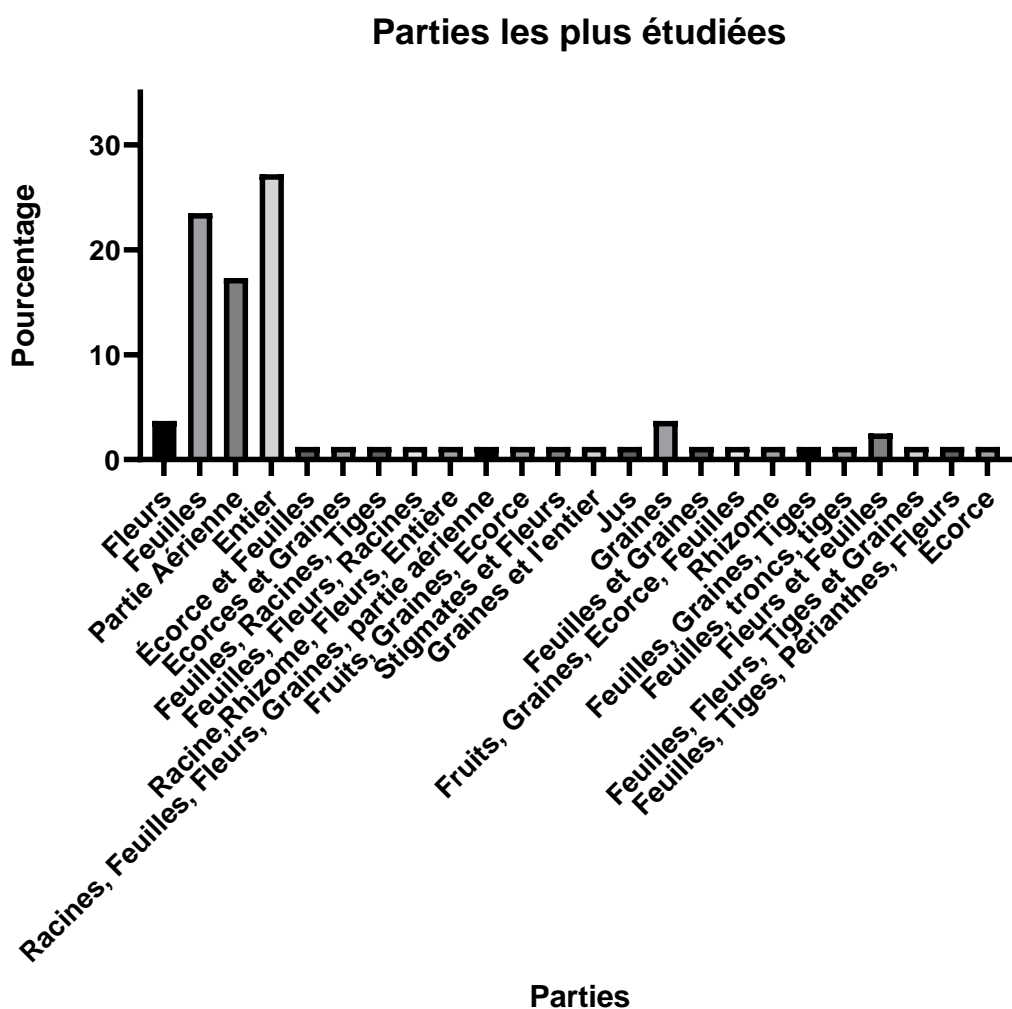


Figure 15. Histogramme montrant les parties les plus utilisées pour l'extraction des flavonoïdes

3.7. Extractions des échantillons

3.7.1. Types d'extractions réalisées pour le dosage des flavonoïdes

Lorsque l'objectif est de produire un extrait avec une gamme bien définie de molécules ayant les effets physiologiques voulues, l'extraction devient une étape critique. Et les outils utilisés (techniques d'extractions et solvants) doivent être soigneusement sélectionnés.

Les articles analysés ont montré que l'extraction aqueuse a été la moins utilisée avec 17.3 % contre 69.1 % pour l'extraction organique (Tableau 6). Cela s'explique du fait que certains flavonoïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool, alors que d'autres ont des propriétés hydrosolubles extrêmement faibles (Bruneton, 1999).

Le Couplage entre extraction aqueuse et organique a été moyennement employé (13.6 %), et donne une idée sur les propriétés des molécules dans les extraits obtenus.

Tableau 8. Types d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes.

Techniques utilisées	Fréquences d'utilisation	Pourcentage (%)
Aqueuse	14 fois	17.3 %
Organique	56 fois	69.1 %
Aqueuse et organique	11 fois	13.6 %

Le méthanol (16%), et l'éthanol (17.3 %) étaient parmi les solvants les plus utilisés pour l'extraction organique (voir annexe 2), grâce à leur polarité élevée. L'eau distillée (18.5 %) s'est imposée comme choix de référence pour l'extraction aqueuse.

Le nombre d'articles analysés qui se sont intéressés au fractionnement étaient moins significatif par rapport au totale, cela explique le faible usage de certains solvants. Le couplage entre des solvants de différentes polarités a été observé. On a pu ainsi remarquer l'utilisation par exemple de solvants à faible polarité donnant à titre d'exemple l'hexane, avec d'autres solvants d'une plus forte polarité comme le chloroforme et l'acétate d'éthyle.

La connaissance de certaines propriétés du solvant telles sa miscibilité à l'eau, sa constante d'acidité, sa constante diélectrique, son moment dipolaire, sa densité, sa volatilité ainsi que sa toxicité permettront le choix de ce solvant seul ou en mélange pour l'extraction d'une substance donnée (Abe *et al.*, 2010).

Le mélange d'un solvant non polaire et d'eau selon Muhamad *et al.* (2014), peut augmenter l'indice de polarité des solvants et donc améliorer l'efficacité de l'extraction. Ainsi, la différence de polarité des solvants d'extraction, affecte la solubilité des constituants chimiques dans l'échantillon et son rendement d'extraction.

3.7.2. Appareillage utilisé pour l'extraction des flavonoïdes

La qualité d'un extrait est influencée par plusieurs facteurs, dont l'appareillage utilisé pour l'extraction. L'extracteur soxhlet qui représente selon les recherches analysées (7.4 %). Simple, plus économique en solvants et plus rapide, cela rend son utilisation plus pratique dans les laboratoires de recherche (Tableau 7).

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) 1.2%, l'extraction assistée par ultrasons (UAE) 7.4% font, selon Chaves *et al.* (2020), partie d'un groupe plus large visant à surmonter les limites techniques des méthodes conventionnelles. Elles sont très efficaces en termes de rendement, de temps, et de coût, car elles permettent par exemple de réduire l'utilisation de solvants organiques et de les remplacer par des solvants alternatifs "verts". Par conséquent, ces techniques peuvent être classées comme des techniques d'extractions "vertes".

La nature des appareils et des solvants utilisés pour l'extraction nous donne une idée sur la nature des molécules étudiées. La recherche des flavonoïdes volatiles explique le recours aux outils tels que le montage chauffage à reflux (2.5 %), et l'appareil de clevenger (1.2 %).

Tableau 9. Appareils et montages utilisés dans l'extraction des flavonoïdes.

Appareils	Fréquences d'utilisation	Pourcentages
Extracteur Soxhlet	6	7,4 %
Extraction par Ultrasons	6	7,4 %
Turbo extraction	1	1,2 %
Méthode conventionnelle et Extraction assistée par Micro-ondes	1	1,2 %
Extraction par Soxhlet et Chauffage à reflux	1	1,2 %
Appareil de Clevenger	1	1,2 %
Extraction par Chauffage à reflux	2	2,5 %
Non Défini	63	77.8 %

L'analyse des données par un test de χ^2 a indiqué l'indépendance statistique entre l'appareillage utilisé pour l'extraction et la nature du solvant choisi, du fait que le degré de signification (sig = 0.426) est supérieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. Ces résultats sont à considérer avec précautions étant donné qu'il n'y a pas eu assez d'articles mentionnant l'usage d'équipement lors de l'extraction.

3.7.3. Techniques d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes

Plusieurs techniques d'extraction visant à augmenter les rendements d'extraction de des composés bioactifs, dont les flavonoïdes ont été mise en œuvre. La macération comme l'indique le tableau 8, était la méthode d'extraction la plus utilisée (67.9 %), grâce à sa simplicité, facilité.

La nature du solvant utilisé peut influencer sur la méthode d'extraction choisie. La connaissance des propriétés du soluté telles sa structure, sa constante d'acidité, sa lipophilie, la nature et la complexité de la matrice dans laquelle il se trouve, permettront d'optimiser l'extraction, dont l'efficacité sera évaluée par le rendement d'extraction (Abe *et al.*, 2010).

L'analyse des données par un test de χ^2 a indiqué la dépendance statistique entre la méthode d'extraction utilisée et la nature du solvant choisi, du fait que le degré de signification (sig = 0.000) est inférieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. Donc, il y a eu une relation entre ces deux paramètres.

Tableau 10. Techniques d'extractions les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes.

Techniques utilisées	Fréquences d'utilisation	Pourcentage (%)
Macération	55	67,9 %
Infusion à froid	7	8,6 %
Décoction	7	8,6 %
Décoction, Infusion, Macération	1	1,2 %
Extraction liquide-liquide	1	1,2 %
Infusion à froid, Décoction	1	1,2 %
Décoction et Macération	5	6,2 %
Macération et Infusion	3	3,7 %
Macération et Hydrodistillation	1	1,2 %

3.7.4. Nature des extraits utilisés lors du dosage des flavonoïdes

Selon la figure 16, réalisée à partir les données collectées des articles analysés, 89 % des chercheurs ont ciblé les extraits bruts. Elles sont des études préliminaires qui s'intéressent à tester l'activité de l'extrait brute, et voir s'ils ont besoin de démasquer l'activité de la classe des flavonoïdes.

Distribution en pourcentage des extraits utilisés

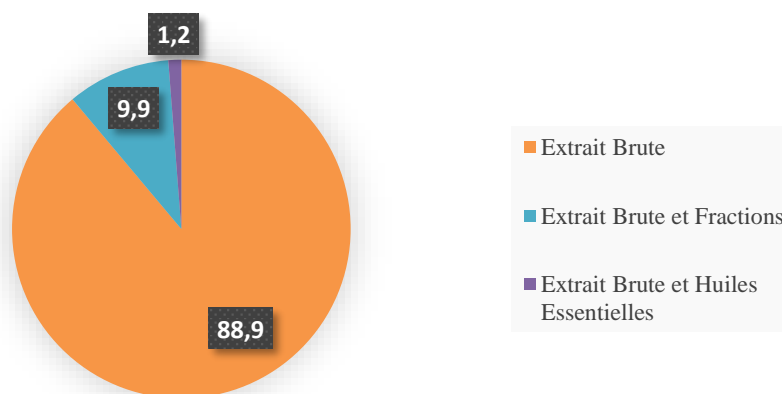


Figure 16. Diagramme la nature des extraits utilisés lors pour le dosage des flavonoïdes.

3.7.5. Nombre des extraits utilisés pour le dosage

Les étapes réalisées dans le cadre des procédures préliminaires d'isolement et de purification des molécules actives à partir d'un matériel biologique nous ont donné une idée sur la qualité du travail, et l'objectif des études réalisées. En examinant la figure 17, on a trouvé que 25.9% des dosage réalisés ont été fait d'un seul extrait.

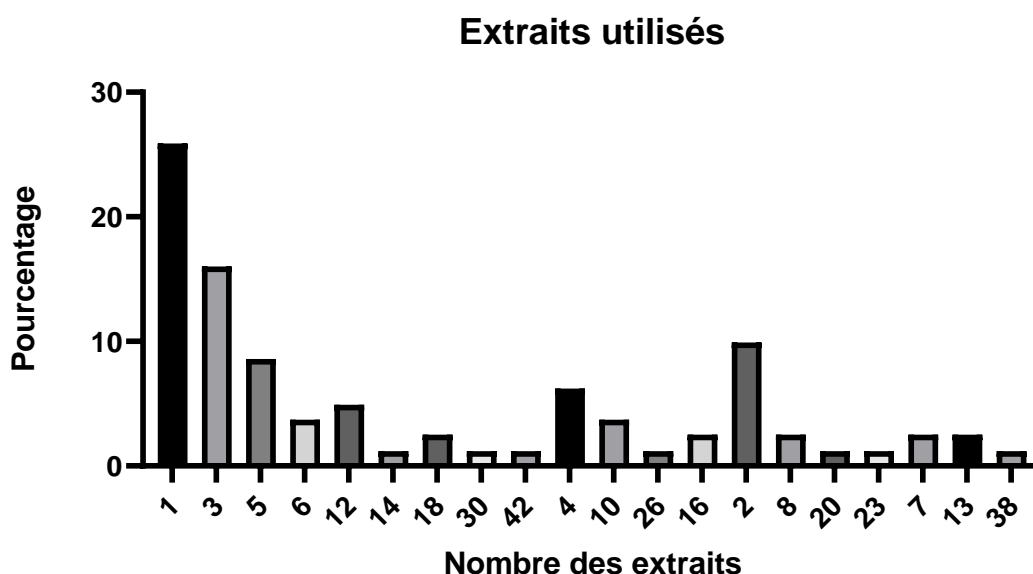


Figure 17. Histogramme présenté en pourcentage du nombre des extraits utilisés

La figure 18 a prouvé que la majorité des études ont eu pour cible de chercher l'activité dans les extraits brutes, et que seulement 11.1% des articles s'intéressaient vraiment à démasquer l'activité dans les fractions isolées, dont 7.3% ont été fractionnées en 3 fractions.

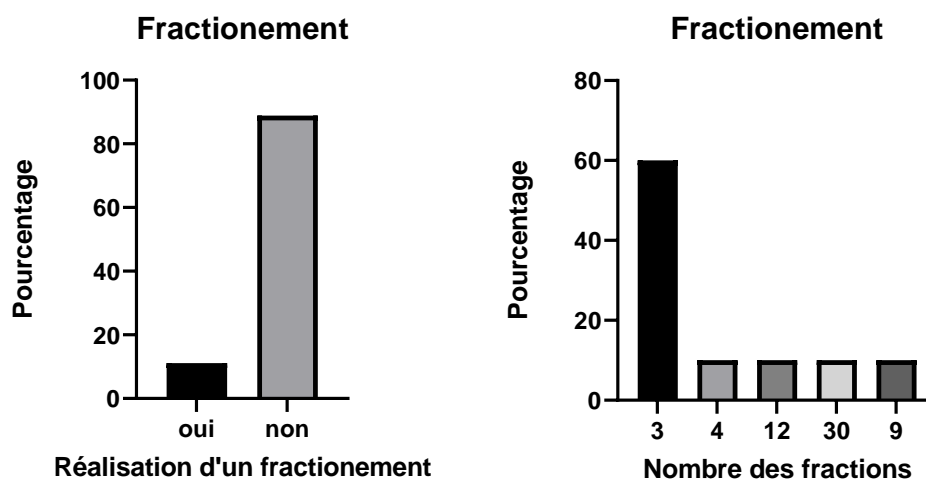


Figure 18. Utilités et pourcentage des fractionnements réalisées.

3.8. Dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

Le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃ est une technique comme toutes les techniques de dosages colorimétriques, qui ont pour but de déterminer la concentration d'une espèce colorée à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant la loi de Beer-Lambert. Elle nécessite un standard, lambda max, durée d'incubation, et une spectroscopie UV/visible (UV/vis) comme instrument de détection.

Notre choix s'est porté sur cette technique en raison de la variabilité qui existe entre les protocoles et les approches les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃.

3.8.1 Complexité des protocoles suivis pour le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

La réaction de quantification des flavonoïdes par l'AlCl₃ a été réparties en 2 groupes selon le degré de complexité du protocole suivi. Selon la figure 19, 73% des protocoles étudiés ont suivi un modèle complexe en utilisant soit 1 additif (44.40 %), soient 2 additifs différents (28.40 %) de la totalité des protocoles. Contre 27 % protocoles suivants un modèle simple (sans additifs). Nous tenons à signaler que le terme Additif utilisé ici est toute substance ou réactif ajouté au mélange réactionnel mis à part l'AlCl₃ et l'échantillon à doser.

Degré de complexité des protocoles en pourcentage

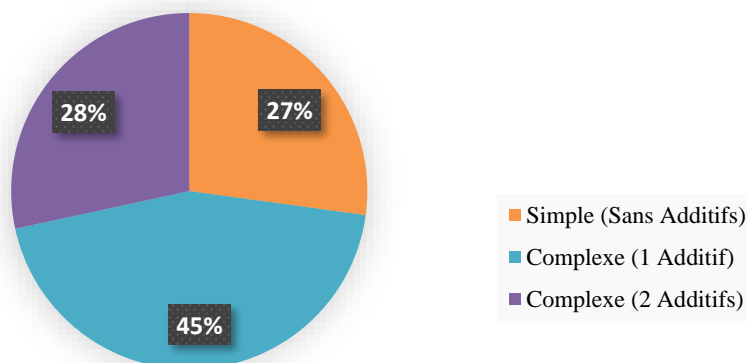


Figure 19. Diagramme montrant le degré de complexité des protocoles suivis lors du dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃.

Le principe de la détermination de la teneur en flavonoïdes par la méthode du chlorure d'aluminium est la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium avec les clusters céto sur un atome C-4 et les clusters hydroxy sur un atome C-3 ou C-5, voisins du groupe des flavones et des flavonols, formant un composé jaune stable (Sumaiyah *et al.*, 2018).

3.8.2. Réactifs utilisés lors de dosages des flavonoïdes

Sans mentionner les additifs utilisés (détaillés en bas), le réactif de base nécessaire pour le dosage des flavonoïdes par cette technique est bel et bien l'AlCl₃. Le tableau 9 indique les concentrations d'AlCl₃ les plus utilisés lors du dosage des flavonoïdes par la technique du trichlorure d'aluminium.

Tableau 11. Différentes concentrations d'AlCl₃ utilisés lors du dosage.

Réactif	Concentration (m/v)	Pourcentage
AlCl ₃	2%	27,5 %
	5%	3,8 %
	10%	63,8 %
	1.2%	1,3 %
	2.5%	1,3 %
	1%	1,3 %
	20%	1,3 %

Soixante-trois virgule huit pour cent des études analysées ont révélé que la concentration (10%) a été de loin la concentration la plus utilisée. Bien que les recherches, selon Fernandes *et al.* (2012) ont prouvé que les conditions choisies pour déterminer une réponse plus élevée pour la teneur totale en flavonoïdes dans le matériel végétal étaient 5% (m/v) d'AlCl₃.

Solvants AlCl₃ en pourcentage

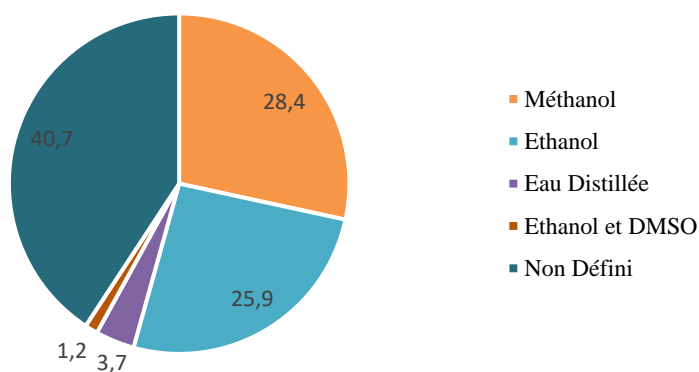


Figure 20. Diagramme montrant le degré de complexité des protocoles suivis lors du dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

Le méthanol était pour 28.4 % des cas, le solvant le plus utilisé, suivi par l'éthanol (27.2%). Tandis que, 40.7% des articles n'ont pas mentionné nom de solvant utilisé pour l'AlCl₃ (Figure 20).

3.8.3. Additifs utilisés pour les protocoles de dosage des flavonoïdes par l' AlCl_3

3.8.3.1. Types d'additifs

Trente-quatre articles analysés ont suivi le protocole complexe à 1 additif (Figure 21). L'acétate de potassium a été révélé en étant l'additif le plus utilisé avec (79 %). L'acétate de sodium avec (15 %), et certains articles (6 %) ont mentionnés l'ajout de l'acide acétique comme un additif pour la réaction. Le sodium d'acétate est utilisé pour ioniser uniquement les hydroxyles phénoliques fortement acides et est donc utile pour leur détection (Rosler *et al.*, 1985).

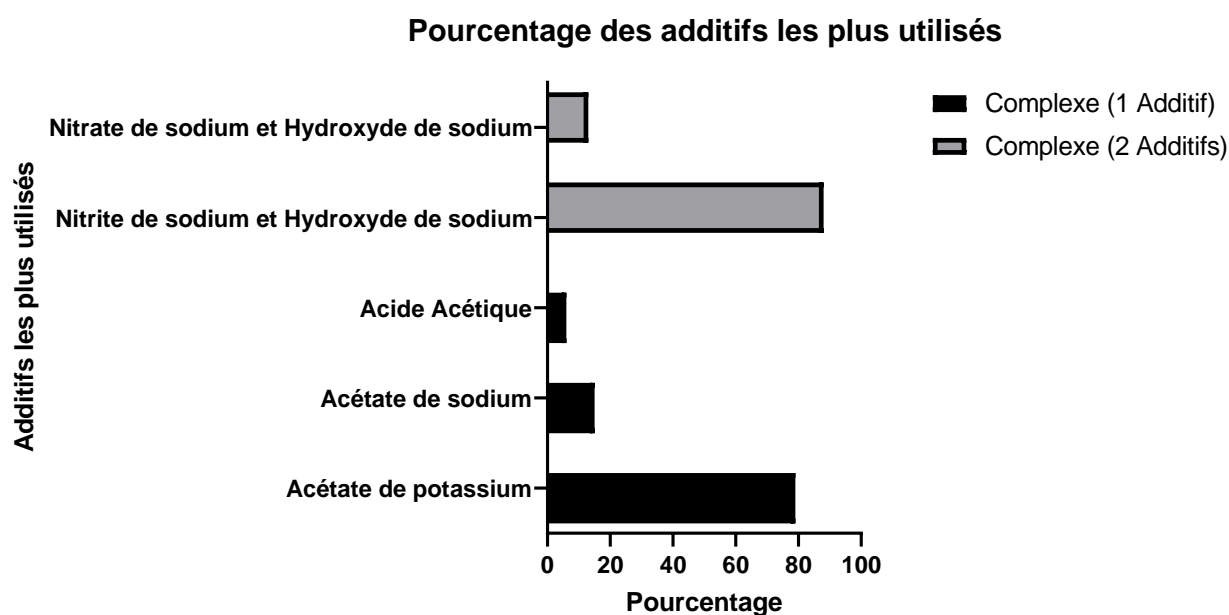


Figure 21. Histogramme des additifs les plus utilisés selon la complexité du protocole.

Vingt-quatre protocoles complexes ont rajouté plus qu'un additif, mais en paire toujours couplées ensemble, dont 88 % étant le Nitrite de sodium (NaNO_2) et Hydroxyde de sodium (NaOH), et 13 % de Nitrate de sodium (NaNO_3) et Hydroxyde de sodium. Selon Mohamed *et al.* (2021), l'utilité du NaOH réside dans sa capacité à former un complexe rose facile à détecter dans le visible à 510 nm, ce qui justifie l'ordre réactionnel suivi.

L'ajout de quelques additifs dans le mélange réactionnel n'as pas pu être expliqué, par manque d'articles traitants le rôle, et les interactions entre chacun d'eux.

3.8.3.2. Concentration des additifs

D'après une lecture détaillée des protocoles de dosages, on a regroupé les différentes concentrations utilisées dans le tableau 10. La concentration d'acétate de potassium et d'acétate de sodium qui correspondaient à 1M ont été la plus utilisée (92.6 %), et (80 %) respectivement.

La concentration 5 % et 1M des deux couples Nitrite de sodium et Hydroxyde de sodium (77.3 %), Nitrate de sodium et Hydroxyde de sodium (100 %) a été la plus mentionnée.

Tableau 12. Concentration des additifs les plus utilisés pour chaque type de protocole.

Type de réaction	Additifs utilisés	Concentration	Pourcentage
Complexe (1 Additif)	Acétate de potassium	1M	92.59 %
		120mM	3.70 %
		5 %	3.70 %
	Acétate de sodium	1M	80 %
		0.2M	20 %
	Acide acétique	Non défini	Non défini
Complexe (2 Additifs)	Nitrite de sodium et Hydroxyde de sodium	5 % et 1M	77.3 %
		5 % et 1mM	4.5 %
		5% et 4 %	13.6 %
		Non défini et 1M	4.5 %
	Nitrate de sodium et Hydroxyde de sodium	5% et 1M	100 %

3.8.4. Standards utilisés pour le dosage des flavonoïdes

Cent pour cent des études analysées ont utilisé une seule courbe d'étalonnage. Les standards les plus utilisés selon les études analysées ont appartenu à la classe des flavonols (98.7 %), parmi eux la quercétine (60.5 %) a été la plus utilisée (Figure 22). L'acide gallique (1.2 %) n'est pas un flavonoïde.

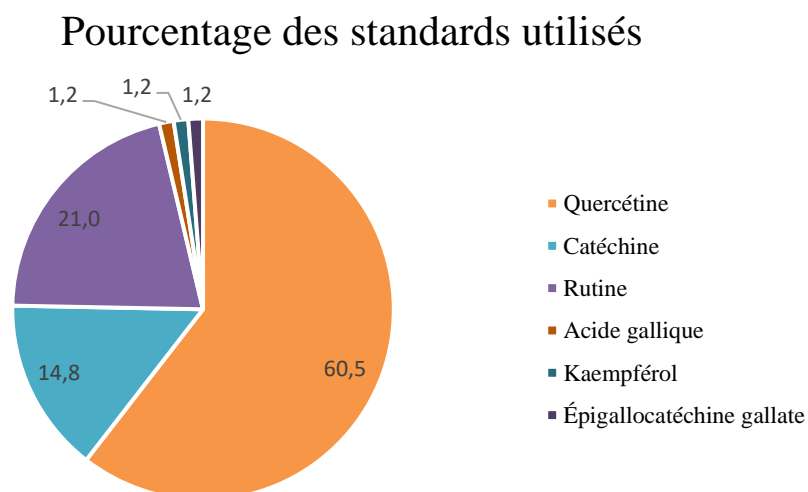


Figure 22. Diagramme des standards utilisés lors de dosage des flavonoïdes.

3.8.5. Marques les plus populaires des produits utilisés

Les paramètres les plus importants caractérisant les réactifs chimiques et influençant ainsi sur le choix de la marque utilisée est leur degré de pureté, la méthode de synthèse, la méthode de lyophilisation.

Six virgules deux pour cent des solvants utilisés pour l'extraction des échantillons ont été obtenu de Merck (Darmstadt, Germany) (voir Annexe 3).

La marque de l' AlCl_3 la plus populaire selon les articles analysés, est Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) avec un pourcentage de (6.2 %), suivie par Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland (3.7 %). Ce que l'on a pu remarquer, c'est que certains protocoles avaient mentionné l'utilisation d' AlCl_3 sous forme hydratée.

L'acétate de potassium a été acquis chez Merck (6.4 %), tandis que (10 %) du nitrite de sodium et (13.5 %) d'hydroxyde de sodium ont été fourni par Sigma-Aldrich. La plupart des solvant d' AlCl_3 ont été fourni par "Zorka pharma" Šabac, Serbia (17.4 %). La majorité des standards (11.1 %) utilisés venaient de chez Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)

Pour avoir une idée sur les marques des réactifs de laboratoire qui ont été le plus souvent mentionnées d'après les articles analysés, veuillez consultez l'annexe 4, 5 et 6.

3.9. Mode opératoire

Le rapport quantité de matière au volume du mélange réactionnel total joue également un rôle important.

3.9.1. Volumes réactionnel final

Lors de la lecture des articles, on a trouvé que le volume final atteint le plus mentionné était 5mL avec un pourcentage de 27.2%. L'utilisation d'un très petit volume de 210 μl est justifié par l'emploi des lecteurs à microplaques (Figure 23). tandis que la seule explication donnée par Amran *et al.*,(2016) pour avoir utilisé un volume de 751.75 ml était l'assurance de la stabilité du complexe flavonoides- AlCl_3 .

Il faut noter que les volumes de différents composants constituant le mélange réactionnel sont calculés par rapport au volume d'échantillon étudié (V).

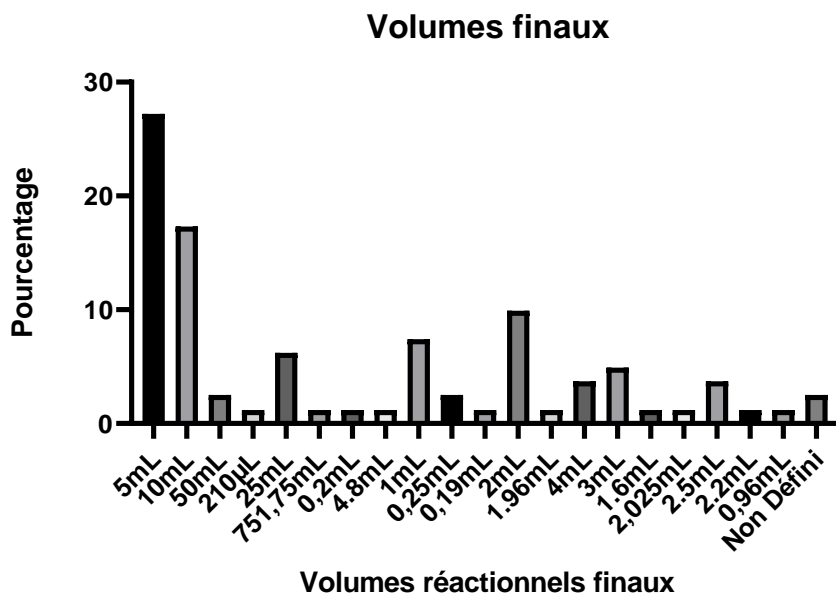


Figure 23. Histogramme des volumes finaux utilisés lors de dosage des flavonoïdes.

Selon le tableau 11, le volume d' AlCl_3 (1V) et (0.2V) du volume d'échantillon ont été les plus utilisés, avec un pourcentage de 29.6 % et 28.4 % respectivement. Le volume d'eau distillée le plus ajouté au mélange réactionnel correspondait à 5.6 V du volume d'échantillon avec un pourcentage de 43.1 %. En ce qui concerne les solvants d' AlCl_3 , 55.2 % des études ont préféré l'ajout de 3V de solvant par rapport au volume d'échantillon étudié.

Tableau 13. Différents volumes d' AlCl_3 utilisés lors du dosage.

Composant	Volume/V échantillon	Pourcentage
AlCl_3	0.2 V	28,4 %
	0.3 V	16,0 %
	1 V	29,6 %
	0.075 V	1,2 %
	0.5 V	6,2 %
	0.6 V	6,2 %
	0.33 V	1,2 %
	3 V	1,2 %
	6 V	2,5 %
	0.1 V	2,5 %
	26.66 V	1,2 %
	0.7 V	1,2 %
	Non Défini	2,5 %
Eau distillée	4 V	3,9 %
	5.6 V	43,1 %
	6.4 V	11,8 %
	12 V	2,0 %
	3.25 V	2,0 %
	8 V	2,0 %

	1,105	2,0 %
	4.4 V	3,9 %
	0.5 V	2,0 %
	27 V	2,0 %
	25 V	2,0 %
	147 V	2,0 %
	2.8 V	2,0 %
	6.1 V	5,9 %
	8.1 V	2,0 %
	128 V	2,0 %
	12.7 V	2,0 %
	6 V	2,0 %
	22.95 V	2,0 %
	0.18 V	2,0 %
	Non Défini	2,0 %
Solvant	3 V	55,2 %
	6 V	3,4 %
	15.33 V	3,4 %
	20 V	3,4 %
	19 V	3,4 %
	23 V	6,9 %
	47.5 V	3,4 %
	17.6 V	3,4 %
	3 V+5.6 V	3,4 %
	Non Définie	13,8

Le tableau 12 a montré que, selon la complexité du protocole suivi, le volume d'acétate de potassium et d'acétate de potassium 0.2V a été choisi comme volume de référence avec un pourcentage de 76 % et 50 %, respectivement. Tandis que le volume 0.5 V et 0.05 V ont été équitablement réparti avec 50 % du taux d'utilisation. En ce qui concerne le protocole complexe à deux additifs, le volume du couple Nitrite de sodium et Hydroxyde de sodium 0.3 V et 2 V a été le plus mentionné (54.5 %). Alors que le volume du Nitrate de sodium et Hydroxyde de sodium 0.3 V et 2 V, 0.3 V et 4 V, 0.05 V et 0.33 V ont été représenté d'une manière équivalente avec (33.3 %) pour chacun d'eux.

Tableau 14. Volumes d'additifs rajoutés au mélange réactionnel lors du dosage.

Type de réaction	Additifs utilisés	Volume/V échantillon	Pourcentage
Complexe (1 Additif)	Acétate de potassium	0.2 V	76,0 %
		1 V	8,0 %
		0.5 V	8,0 %
		6 V	4,0 %
		0.1 V	4,0 %
	Acétate de sodium	0.2 V	50,0 %
		0.5 V	16,7 %
		13.33 V	16,7 %
		Non Défini	16,7 %
	Acide acétique	0.5 V	50,0 %
		0.05 V	50,0 %
	Complexe (2 Additifs)	Nitrite de sodium et Hydroxyde de sodium	0.3 V et 2 V
0.075 V et 0.5 V			4,5 %
0.3 V et 0.02 V			4,5 %
0.3 V et 4 V			9,1 %
1.5 V et 10 V			4,5 %
6 V et 40 V			9,1 %
3 V et 2 V			4,5 %
0.7 V et 5 V			4,5 %
Nitrate de sodium et Hydroxyde de sodium		0.4 V et Non Défini	4,5 %
		0.3 V et 2 V	33,3 %
		0.3 V et 4 V	33,3 %
		0.05 V et 0.33 V	33,3 %

3.9.2. Incubations

Selon les études analysées on a pu remarquer que le nombre d'incubation peut varier d'une à trois incubations, 71.6% des protocoles ont mis leur mélange réactionnel une seule fois en incubation (Figure 24).

Selon la Figure 25, la durée incubation peut aller de 5 minutes à une heure. 35.8 % des protocoles ont mis leur mélange réactionnel en incubation pendant 30 minutes.

L'existence d'une dépendance statistique entre nombre d'incubations et la complexité du protocole suivi, a été prouvé statistiquement par le test χ^2 , du fait que le degré de signification (sig = 0.000) est inférieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. Une seconde analyse des données par un test de χ^2 a aussi indiqué la dépendance statistique entre la durée d'incubation et la complexité du protocole suivi, du fait que (sig < α). En concluant, le degré de complexité des protocoles a influencé sur le nombre d'incubations effectuées et sur la durée d'incubation choisie.

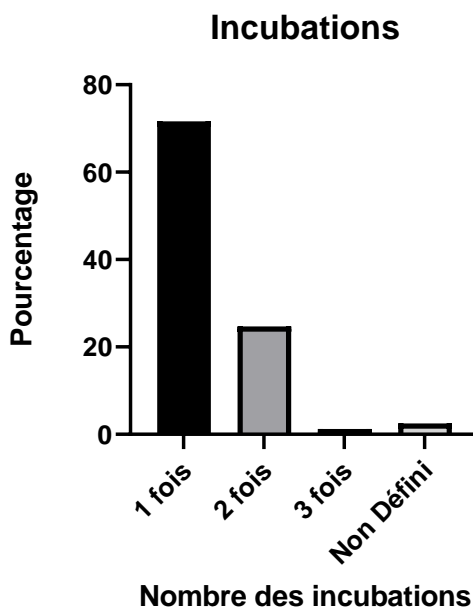


Figure 24. Histogramme du Nombre d'incubations effectuées lors du dosage des flavonoïdes.

le temps de réaction a été révélé comme étant un facteur crucial lors de la formation des complexes flavonoïdes- $AlCl_3$, des études statistiques réalisés auparavant, ont montré que l'une des conditions les plus importantes pour déterminer une réponse plus élevée pour le contenu totale en flavonoïdes est un temps de réaction de 25 minutes (Fernandes *et al.*, 2012). Ça explique donc la raison pour laquelle la durée de 30 minutes d'incubation a été le choix de référence pour les chercheurs.

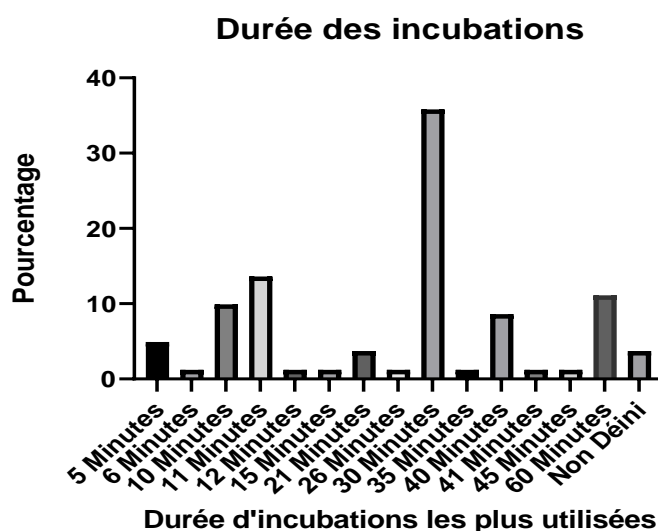


Figure 25. Histogramme des durées globales d'incubations effectuées lors du dosage des flavonoïdes.

3.9.3. Ordre de mélange réactionnel

Le mélange réactionnel complexe à 2 additifs nécessite une description de l'ordre réactionnel suivi lors du dosage. NaNO₂ a été présenté comme l'additif le plus utilisé pour la composition réactionnelle initiale (83.3 %), la première incubation a duré 5 minutes pour 62.5 % des cas. La deuxième composition du mélange réactionnel a connu pour 79.2 % des cas ; l'ajout de l'AlCl₃ seul (Tableau 13). Une deuxième incubation pour une période supplémentaire de 6 minutes a été effectués dans 55 % des protocoles. Le rajout du NaOH après une deuxième incubation a été mentionnée par 94.7 % des protocoles complexes à deux additifs. La durée de 15 minutes a été choisi pour 60 % des protocoles qui ont opté pour une troisième incubation.

Tableau 15. Ordre réactionnel suivi par les protocoles complexes à deux additifs.

Ordre 1		1 ^{ère} Incubation		Ordre 2		2 ^{ème} incubation		Ordre 3		3 ^{ème} incubation	
Compo*	%	Incub* 1	%	Compo	%	Incub 2	%	Compo	%	Incub 3	%
NaNO ₂	83,3	5min	62,5	AlCl ₃	79,2	15min	5	NaOH	94,7	15min	60
NaNO ₃	12,5	6min	33,3	AlCl ₃ + NaOH	8,3	5min	35	NaOH	5,3	30min	20
NaNO ₂ +AlCl ₃	4,2	10min	4,2	AlCl ₃ + NaOH	8,3	6min	55			10min	20
				NaOH	4,2	10min	5				

Compos* : Composants.

Incub* : incubation.

L'existence d'une dépendance statistique entre temps globale des incubations et le nombre d'additifs rajoutés, a été prouvé statistiquement par le test χ^2 , du fait que le degré de signification (sig = 0.000) est inférieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. Donc, le nombre d'additifs rajoutés a influencé sur la durée d'incubation choisie. L'ajout des additifs a été selon les résultats obtenu est peut-être dans l'intention de réduire le temps d'incubation et donc d'accélérer la formation du complexe flavonoïdes-AlCl₃.

L'indépendance statistique entre l'année de publication et la complexité des protocoles suivis, a été prouvé statistiquement par le test χ^2 , la valeur (sig= 0.358) était trouvée supérieur à $\alpha = 0.05$. Cela peut être interprété par le manque d'articles pour que cette relation pourra être établie.

En excluant l'année 2021, un test de linéarité a été établie entre le type de réaction complexe et l'année de publication a montré qu'il existe une corrélation entre les deux avec un coefficient ($r^2=0.90$). Ce qui prouve que les chercheurs donc ont opté peut-être pour l'ajouts des additifs dans le but de réduire les temps d'interaction nécessaire entre AlCl₃ et les flavonoïdes.

3.9.4. Spectrophotométrie et longueurs d'ondes

En examinant la figure 26, issue des articles étudiés auparavant, on a pu constater que 46.9% des protocoles de dosage des flavonoïdes ont préférentiellement utilisée la longueur d'ondes 415nm. Le choix de la longueur d'ondes 415nm pour la plupart des protocoles, est peut-être dû au choix des standards appartenant aux flavonols pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, car selon Sathish *et al.* (2006), les maximums d'absorption des complexes de la plupart des flavones et flavonols naturels se situent dans la gamme 390-440 nm, mais le choix de cette longueur d'ondes est discutable, pour la simple raison que les flavanones et les dihydroflavonols absorbent dans la gamme 310-320 nm, et ne peuvent donc pas contribuer aux mesures spectrophotométriques à 415 nm. Par conséquent, les résultats obtenus par cette méthode se réfèrent en fait à la quantité de flavones et de flavonols uniquement.

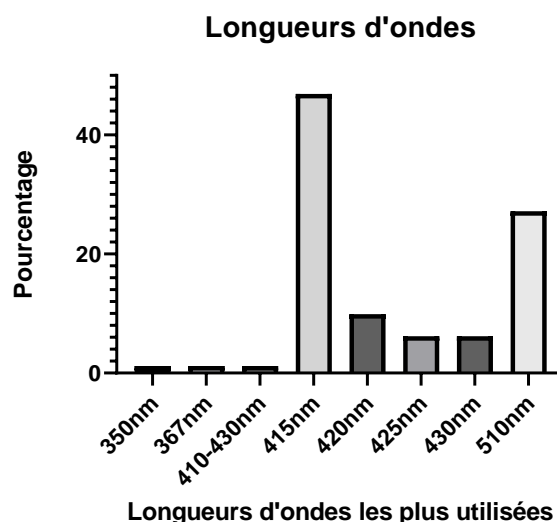


Figure 26. Histogramme des longueurs d'ondes les plus utilisées lors du dosage des flavonoïdes.

L'homogénéité entre les longueurs d'ondes choisies et la complexité des protocoles a été testée en réalisant un test de χ^2 . L'analyse des données a indiqué la dépendance statistique entre ces deux paramètres, du fait que le degré de signification (sig = 0.000) est inférieur au seuil de signification accepté $\alpha = 0.05$. On a pu remarquer que différentes longueurs d'onde étaient utilisées pour différentes méthodes, même s'il s'agissait du même étalon, en l'occurrence la quercétine. Par exemple, la méthode complexe à deux additifs NaNO_2 - NaOH utilise 510 nm alors que la méthode simple ou complexe à un seul additif utilise 415 nm.

Une explication a été donnée par Chantiratikul et Leamsomrong, (2012), qui ont trouvé que pour la réaction de NaNO_2 et AlCl_3 en solution alcaline, le produit complexe de couleur

rose obtenu par l'ajout du NaOH a montré une absorption maximale à une longueur d'onde de 500 nm.

Longueurs d'ondes choisies selon le type de réaction

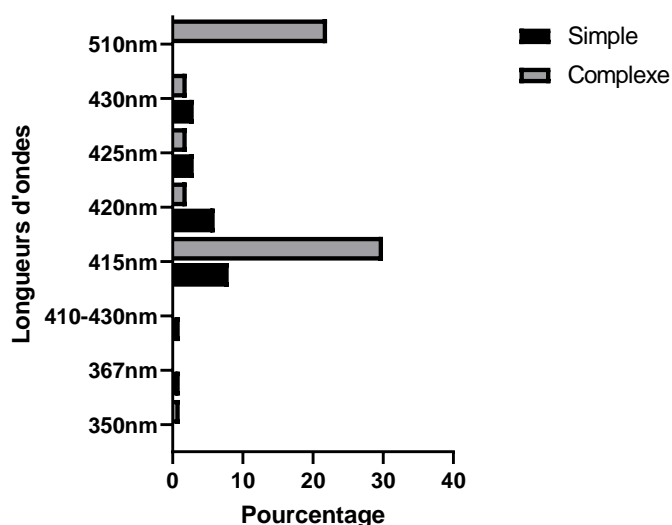


Figure 27. Histogramme des longueurs d'ondes les plus utilisées selon les types de protocoles.

Les spectrophotomètres des marques Shimadzu UV-160A (Kyoto, Japan), Spectrophotomètre double faisceau UV-Visible Perkin Elmer (USA) ont été les plus utilisés pour le dosage des flavonoïdes, avec un pourcentage de (2.5 %) pour chacun des deux (voir Annexe 7).

3.9.5. Intervalle concentration standards

D'après la figure 28, on a pu observer la répartition des concentrations en trois intervalles. L'Intervalle moyen des concentrations utilisées était de [0- 200mg/l] avec un pourcentage de (2.5%). Un intervalle de concentrations très étroit est à signaler [0.07- 1.17µg/ml]. Et un intervalle max élevé jusqu'à 1000mg/l

L'observation de la valeur « Non définie » qui représente 48.1 % des résultats nous a étonné. La sensibilité de la méthode, se situe dans l'intervalle des concentrations des standards utilisé pour établir une courbe d'étalonnage, et représente un intervalle de confiance qui confère une crédibilité et une validité aux résultats obtenus.

Selon Moosavi et Ghassabian, (2018), la qualité d'une méthode bio analytique dépend fortement de la linéarité de la courbe d'étalonnage. Une courbe d'étalonnage linéaire est une indication positive de la performance du test dans une gamme analytique validée. D'autres caractéristiques de la courbe d'étalonnage, notamment le modèle de régression, la pente de la ligne, la pondération et le coefficient de corrélation, doivent être soigneusement évaluées.

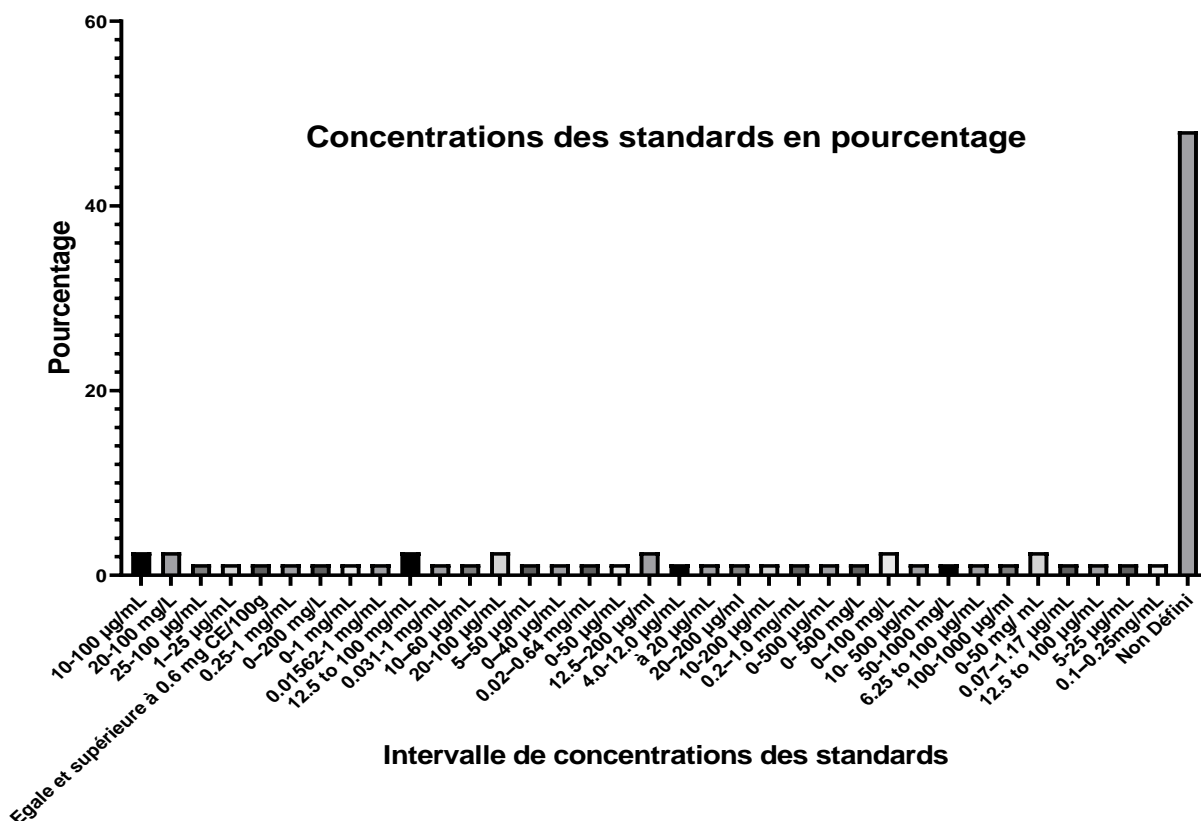


Figure 28. Histogramme montrant l'intervalle des concentrations des standards.

Le test de χ^2 a montré que l'intervalle de concentrations des standards a été indépendant des standards utilisés ($\text{sig} = 0.059 > \alpha = 0.05$), du type de protocole suivi ($\text{sig} = 0.500 > \alpha = 0.05$), du volume final du mélange réactionnel ($\text{sig} = 0.721 > \alpha = 0.05$), et de la concentration d' AlCl_3 ($\text{sig} = 1.000 > \alpha = 0.05$), ce qui n'explique pas l'utilisation de concentrations trop élevées. Ces résultats sont à prendre avec des pincettes étant donné qu'il n'y a pas eu assez d'articles mentionnant l'intervalle de concentration utilisé.

3.10. Traitement des résultats de dosage

3.10.1. Absorbance des standards

Selon les articles lus, 96.3 % des chercheurs ne se sont pas intéressés de présenter les intervalles d'absorbance des standards utilisés (Figure 29). La quercétine a absorbé dans les intervalles [0.2 – 0.8], [0.1 – 0.5], [0.2 – 1.2]. Pour sélectionner un standard pour l'étalonnage, des facteurs tels que les maximums d'absorption est à tenir en compte.

Parmi les 15 étalons flavonoïdes étudiés par Chang *et al.*, (2020), à l'exception de la chrysin et de l'apigénine, les valeurs d'absorbance des complexes formés par les composés flavones et flavonols et l' AlCl_3 étaient beaucoup plus élevées que celles formées par les flavanones et les isoflavones. Les recherches ont confirmé que l' AlCl_3 n'a pas le même degré

de sensibilité *vis-à-vis* tous les flavonoïdes, et selon notre recherche les standards utilisés sont ceux qui absorbent le maximum.

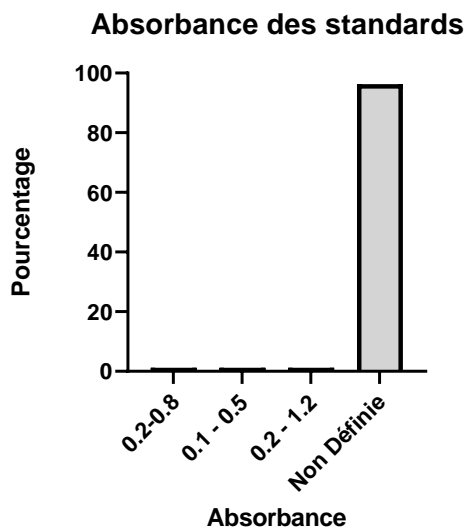


Figure 29. Histogramme montrant l'intervalle d'absorbance du standard utilisé pour le dosage.

3.10.2. Linéarité des courbes d'étalonnage

En analysant le graphe 30, r^2 qui est un indice de la linéarité de la réaction, varie de 0.85 à 0.99. Les réactions qui ont montré le moins de linéarité 0.85 et 0.90 ont suivi un protocole complexe à 2 additifs (NaNO_2 et NaOH), et ont utilisé de la catéchine et la quercétine comme standards, respectivement. Nous tenons à signaler que la plus grande valeur de $r^2 = 1$ a été mentionnée par Berhow *et al.*, (2012). La grande tranche des techniques de dosage analysés (69.1 %) n'a pas mentionné les concentrations utilisées.

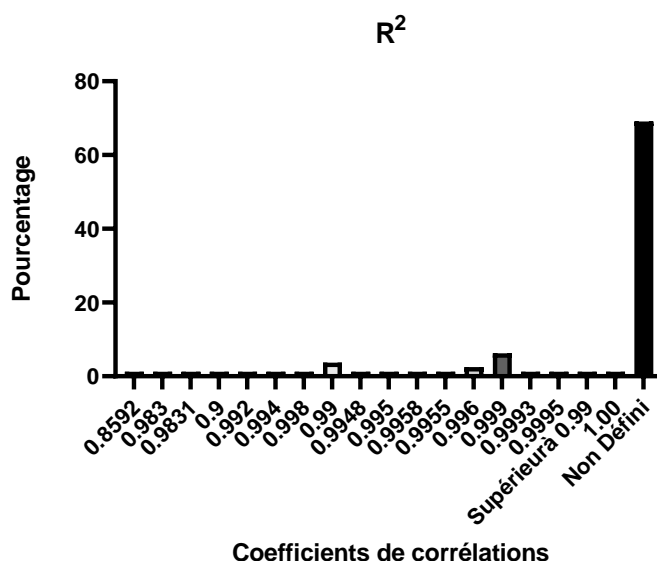


Figure 30. Histogramme montrant les coefficients de corrélation obtenu.

Le test de χ^2 a montré qu'il existe une dépendance statistique entre le coefficient de corrélation et les standards utilisés ($\text{sig} = 0.000 < \alpha = 0.05$), l'une des causes possibles, étant l'utilisation presque exclusive des standards appartenant aux flavonols, dont l'interaction avec l' AlCl_3 est relativement forte. Tandis que le coefficient de corrélation a été indépendant du nombre des additifs ajoutés ($\text{sig} = 0.492 > \alpha = 0.05$), du type de protocole suivi ($\text{sig} = 0.759 > \alpha = 0.05$), et de la durée d'incubation ($\text{sig} = 1.000 > \alpha = 0.05$). Ce qui n'explique pas pourquoi la valeur de r^2 reste inchangée.

3.10.3. Expression des résultats obtenus

Selon la figure 31, 87.7 % des résultats ont été exprimé en poids équivalent Standard/poids d'échantillon, en raison de la nature des matériaux biologiques testés, La majorité des échantillons étaient des plantes médicinales.

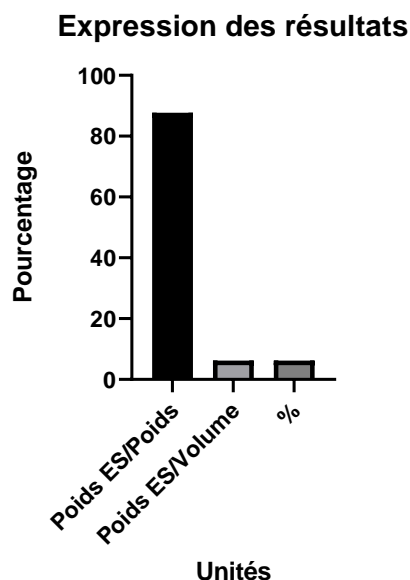


Figure 31. Histogramme montrant les unités utilisées pour l'expression des résultats.

3.10.4. Concentrations des flavonoïdes

On analysant le tableau de résultats (Tableau 14), la première remarque que nous aimerions introduire ici repose sur la citation de l'acide gallique que Elufioye *et al.*, (2019) semblent utiliser pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. L'acide gallique n'appartient même pas aux flavonoïdes et n'as pas figuré dans aucun article traitant le dosage des flavonoïdes. Les résultats de ce dosage ($5.02 \pm 0.01 - 16.07 \pm 0.14$ mg GAE/g) n'ont donc aucune validité par rapport à la classe dosée.

Tableau 16. Intervalle de concentration totale des flavonoïdes.

Minimum	Maximum	Unités	Standard
0.176 ± 0.005	77.85 ± 5.26	mg QE/g	Quercétine
0.02 ± 0.02	76.70	mg QE/ml	Quercétine
2.5	190.3	mg CE/100 g	Catéchine
0	208.23	mg RE/g	Rutine
0.29 – 29.5%	29.5	%	Quercétine
5.02 ± 0.01	16.07 ± 0.14	mg GAE/g	Acide gallique
42.40 ± 0.39	/	% poids/poids équivalent EGCG	ECGG
300.245 ± 0.12	1537.99 ± 0.56	mg RE/Kg	Rutine
653 ± 1	2890 ± 36	mg CE/Kg	Catéchine
27.38 ± 0.00	292.50 ± 70.34	mg CE/g	Catéchine
90	260	µg QE/ml	Quercétine
1.6 ± 0.8	33.82 ± 0.90	µg QE/mg	Quercétine
132,959 ± 12,598	/	µg QE/g	Quercétine
2.96	76.70	mg QE/100ml	Quercétine
367 ± 10.52	/	mg CE/g	Catéchine
18.03	185.43	mg QE/l	Quercétine
9.38 ± 1.58	10.35 ± 1.97	µg CE/g	Catéchine
68.788 ± 6.022	409.651 ± 23.091	µg CE/mg	Catéchine
0.25 ± 0.05	250.1 ± 6.3	mg QE/100g	Quercétine
19.16 ± 0.11	47.52 ± 0.21	mg Kaempferol equivalent/g	Kaempférol
8.0	41.3	g RE/Kg	Rutine
18.03	185.43	mg QE/l	Quercétine

Les chiffres qui figurent dans le tableau 14, ont été apparemment contradictoires. Des plantes ont été jugées extrêmement riches en flavonoïdes (29.5%, 2890 ± 36 mg CE/Kg), tandis que d'autres ont montré une pauvreté remarquable (10.35 µg CE/g), cela est peut-être dû à la variabilité des échantillons à analyser. Pour consulter tous les résultats obtenus veuillez consultez l'annexe 8.

Un pour cent virgule deux des études ont abordé l'utilisation de deux standards différents pour la comparaison du contenu des flavonoïdes quantifiés, par deux techniques différentes. Selon Chang *et al.*, (2020), les résultats ont varié de 0.55 ± 0.00% - 7.73 ± 0.19% pour la quercétine et en utilisant la technique d'AlCl₃, et de 0.29 ± 0.00% - 21.84 ± 0.34% pour la naringénine en suivant la technique de 2,4-dinitrophenylhydrazine.

Le manque de détails entourant l'utilisation de différents standards dans le dosage des flavonoïdes ne nous a pas permis de faire une étude statistique. Les chercheurs s'intéressent à mentionner les résultats mais ont montré aucune envie d'exposer toutes les conditions entourant l'obtention de ces résultats.

Cependant, toujours selon Chang *et al.*, (2020), la méthode colorimétrique pratique utilisant la réaction du chlorure d'aluminium pour déterminer les contenus en flavonoïdes s'est

avérée être spécifique seulement pour les flavones et les flavonols, alors qu'une autre méthode colorimétrique utilisant la réaction de la 2,4- dinitrophénylhydrazine était spécifique pour les flavanones. Par conséquent, ils ont suggéré que les deux analyses soient effectuées afin que la somme des résultats représente mieux la teneur réelle en flavonoïdes totaux.

3.10.5. Impact de quelques facteurs sur la concentration des flavonoïdes

Pour essayer de comprendre les conditions de travail et de mettre la lumière sur les facteurs influençant sur la réaction, on a effectué des tests de linéarité entre différents facteurs. Les résultats ont montré un certain degré de linéarité acceptable entre quelques facteurs, mentionnés dans le tableau 15 :

Tableau 17. Etude de linéarité entre quelques facteurs.

Facteur 1	Facteur 2	Corrélation
Concentrations $AlCl_3$	Volume final réactionnel	0.95
Concentrations $AlCl_3$	Concentrations des standards	0.95
Concentrations $AlCl_3$	Volume $AlCl_3$	0.10
Volume $AlCl_3$	Volume final réactionnel	0.11
Concentration $AlCl_3$	Lambda max	0.10
Volume final réactionnel	Volume échantillon (Standard)	0.94
Volume $AlCl_3$	Volume échantillon (Standard)	0.95
Concentrations $AlCl_3$	Concentration du standard	0.98
Concentrations $AlCl_3$	Volume échantillon	0.27
Concentrations des flavonoïdes	Concentrations des standards	0.76
Concentrations des flavonoïdes	Nombre des additifs	0.10
Concentrations du standard	Concentration des additifs	[0.073-0.21]
Concentration $AlCl_3$	Concentration des additifs	[0.064- 0.499]

En examinant les protocoles et leurs développements par rapport aux composants réactionnels. La concentration d' $AlCl_3$ réactionnel a montré une certaine linéarité par rapport au volume final réactionnel. Tandis que le volume d' $AlCl_3$ n'était pas linéaire avec le volume réactionnel, de même entre le volume $AlCl_3$ et la concentration $AlCl_3$. Cela veut dire que la concentration d' $AlCl_3$ réactionnel n'est pas respectée. Ceci est peut-être dû à l'hétérogénéité des protocoles utilisés.

Le test de χ^2 a montré que la complexité des protocoles a été statistiquement dépendante de la concentration d' $AlCl_3$, du volumes $AlCl_3$, et du volume final réactionnel avec un taux de signification ($sig = 0.000 < \alpha = 0.05$). Ce qui confirme statistiquement que les chercheurs avaient pratiquement une vision envers la concentration réactionnelle du réactif par rapport au volume final réactionnel

La concentration d' $AlCl_3$ a montré une linéarité par rapport à la concentration de l'échantillon (standard). Le volume d' $AlCl_3$ était aussi linéaire avec le volume de l'échantillon

(standard), mais la concentration AlCl_3 n'était pas linéaire le volume d'échantillon. Cela veut dire que la concentration d' AlCl_3 réactionnel par rapport à la concentration réactionnelle du standard n'était pas respectée.

La première raison que nous est venu à l'esprit était l'hétérogénéité des protocoles utilisés mais le test de χ^2 a montré que la complexité des protocoles est statistiquement indépendante de la concentration du standard ($\text{sig} = 0.500 < \alpha = 0.05$) du volumes standard ($\text{sig} = 0.539 < \alpha = 0.05$). Ce qui confirme que la concentration du standard a été choisie de façon aléatoire et en se basant principalement sur l'absorbance.

La corrélation entre les données du réactif AlCl_3 et les données des additifs avec les standards, n'ont montré aucune linéarité ou dépendance. Ceci a été traduit par une hétérogénéité entre les paramètres vis-à-vis des additifs.

Tant que les autres paramètres n'ont pas été respecté ça explique d'une part la faible linéarité de la concentration des flavonoïdes envers les autres facteurs. D'une autre part, la concentration des flavonoïdes est en relation avec le type d'échantillon analysé, donc la variabilité des matériaux biologique analysé présente un facteur crucial qui influence sur la linéarité.

En réalisant un test χ^2 , La concentration des flavonoïdes a montré une indépendance statistique *vis-à-vis* les différents paramètres représentés dans le tableau 16.

Tableau 18. Concentration totale des flavonoïdes vis à vis les paramètres étudiés.

Facteur étudié	Khi deux
Complexité des protocoles	0.448
Nb des extraits	0.361
Nb des fractions	0.297
Lambda max	0.410
Nb d'incubations	0.434
Durée d'incubations	0.379
Standards utilisés	0.415
Intervalle concentration des standards	0.318
Nb des additifs	0.441
Additifs utilisés	0.414
Concentrations additifs	[0.278 - 0.398]
Volume additifs	[0.157 - 0.370]
Concentrations AlCl_3	0.415
Vol AlCl_3	0.387
Volume échantillon	0.448
Volumes finaux	0.358

Les résultats qui figurent dans le tableau 16 signifient qu'aucun facteur n'a été trouvé influençant sur la concentration des flavonoïdes. Cela met en question les facteurs qui ont conduit à cette étrange conclusion.

Peu importe le nombre et la variation des échantillons testés, les types d'extractions, le nombre d'extraits dosés, la méthodologie suivie, les résultats n'ont montré aucune variabilité. Et cela en dépit des recherches bibliographiques qui ont prouvé l'influence de ces facteurs sur les résultats.

Le choix limité des standards utilisés, les degrés d'interactions distinctes des flavonoïdes entre eux et avec le réactif d' AlCl_3 sont donc à prendre en considération.

Conclusion

Conclusion

La méthode spectrophotométrique du dosage des flavonoïdes par l' AlCl_3 a été jusqu'à maintenant la plus utilisée pour la quantification des flavonoïdes. D'un usage très répandu dans les domaines valorisation des activités biologiques ciblées, qui touchent plusieurs axes de recherches (pharmaceutique à caractère cosmétique, médicale etc...). On s'est demandé si les résultats contradictoires obtenus par cette méthode de dosage mentionnée dans des articles de valeurs, ne proviennent pas de la façon dont certains facteurs sont sous-estimés.

En suivant uniquement les protocoles, les chercheurs auraient par erreur laissé échapper des détails très importants sur les facteurs pourront influencer sur la validité des résultats obtenus et pourront par la suite sous-estimer la teneur réelle en flavonoïdes totaux.

L'un d'eux repose sur le choix d'un nombre limité des standards utilisés, basé uniquement sur leurs forte absorbance et réaction avec l' AlCl_3 , au détriment d'autres flavonoïdes pouvant réagir mais faiblement avec l' AlCl_3 . La projection d'un seul type de flavonoïdes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, et de projeter les résultats de l'interaction d'un mélange inconnu de molécules sur un type de standard limité.

Un autre facteur est représenté par l'interaction des flavonoïdes entre eux et avec le réactif d' AlCl_3 . Des couplages de ces molécules ont été réalisé auparavant, ont prouvé que les flavonoïdes réagissent de façon distincte avec l' AlCl_3 , allant d'une très faible à une forte interaction.

Nous proposons de faire des études approfondies sur cet axe de recherche très intéressant, qui est la validité de la technique de dosage par trichlorure d'aluminium, et que les prochaines études devraient porter sur l'utilisation d'autres standards pour rendre la détection flavonoïdes qui sont moins interactives avec l' AlCl_3 , et ainsi les projections des résultats plus fiables, mieux étudier les interactions entre flavonoïdes pour vérifier la validité de cette technique de dosage.

Bibliographie

Abe, E., Delye, S. G., et Alvarez, J. C. (2010). Extraction liquide-liquide : Théorie, applications, difficultés. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), 51-59.

Achat, S. (2013). *Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques* [Thèse de doctorat]. Université d'Avignon.

Adisakwattana, S., Ruengsamran, T., Kampa, P., et Sompong, W. (2012). In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 110.

Amor, L. (2018). *Composition chimique et activités biologiques des extraits de Crataegus oxyacantha L. (Rosaceae)* [Thèse de doctorat]. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Amran, N., Rani, A. N. A., Mahmud, R., et Yin, K. B. (2016). Antioxidant and Cytotoxic Effect of Barringtonia racemosa and Hibiscus sabdariffa Fruit Extracts in MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 66-70.

Arts, I. C., Hollman, P. C., Feskens, E. J., Bueno de Mesquita, H. B., et Kromhout, D. (2001). Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease : The Zutphen Elderly Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(2), 227-232.

Berhow, M. A., Affum, A. O., & Gyan, B. A. (2012). Rosmarinic Acid Content in Antidiabetic Aqueous Extract of *Ocimum canum* Sims Grown in Ghana. *Journal of Medicinal Food*, 15(7), 611-620.

Bouchouka, E. (2016). *Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes* [Thèse de doctorat]. Badji Mokhtar Annaba.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3. éd. rev. et augm). Ed. Tec & doc-Lavoisier [u.a.].

Chaiyana, W., Chansakaow, S., Intasai, N., Kiattisin, K., Lee, K.-H., Lin, W.-C., Lue, S.-C., et Leelapornpisid, P. (2020). Chemical Constituents, Antioxidant, Anti-MMPs, and Anti-Hyaluronidase Activities of Thunbergia laurifolia Lindl. Leaf Extracts for Skin Aging and Skin Damage Prevention. *Molecules*, 25(8), 1923.

Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3).

Chantiratikul, P., et Leamsomrong, K. (2012). Flow Injection Spectrophotometric System for Determination of Flavonoids in Tea Using Modified Dowd Assay. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 1322-1328.

Chaves, J. O., de Souza, M. C., da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. da F., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V.,

Barbero, G. F., et Rostagno, M. A. (2020). Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8, 507887.

Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., et Laganà, A. (2011). Flavonoids: Chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*, 25(5), 469-495.

Crozier, A., Clifford, M. N., et Ashihara, H. (Éds.). (2006). *Plant secondary metabolites : Occurrence, structure and role in the human diet*. Blackwell Pub.

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., et Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 43(4), 348-361.

Del Valle, J. C., Buide, M. L., Casimiro-Soriguer, I., Whittall, J. B., et Narbona, E. (2015). On flavonoid accumulation in different plant parts : Variation patterns among individuals and populations in the shore campion (*Silene littorea*). *Frontiers in Plant Science*, 6, 939.

Elufioye, T. O., Chinaka, C. G., & Oyedeji, A. O. (2019). *Antioxidant and Anticholinesterase Activities of Macrospyra Longistyla (DC) Hiern Relevant in the Management of Alzheimer's Disease*. 15.

Erdenechimeg, Ch., Guiqide, A., Dejidmaa, B., Chimedragchaa, Ch., et Purevsuren, S. (2017). Total phenolic, flavonoid, alkaloid and iridoid content and preventive effect of Lider-7-tang on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 50(12), e5916.

Fatima, E. H., Akka, F. B., Dahmani, J., Belahbib, N., et Zidane, L. (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. . . *Vol.*, 2, 12.

Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpiniaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1-7.

Freitas de Lima, F., Lescano, C. H., & Pires de Oliveira, I. (Éds.). (2021). *Fruits of the Brazilian Cerrado : Composition and Functional Benefits*. Springer International Publishing.

Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F. J., et Mantecón, A. R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191.

Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*, 3(4), 162-169.

Hadj Salem, J. (2009). *Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitraria retusa et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique*. Institut National Polytechnique de Lorraine.

He, Q., Yao, K., Jia, D., Fan, H., Liao, X., et Shi, B. (2009). Determination of total catechins in tea extracts by HPLC and spectrophotometry. *Natural Product Research*, 23(1), 93-100.

He, X., Liu, D., et Liu, R. H. (2008). Sodium borohydride/chloranil-based assay for quantifying total flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9337-9344.

Herbert, R. B. (1981). *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. Springer Netherlands.

Hooper, L., Kroon, P. A., Rimm, E. B., Cohn, J. S., Harvey, I., Le Cornu, K. A., Ryder, J. J., Hall, W. L., et Cassidy, A. (2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(1), 38-50.

Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján, L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. L., et Haines, D. D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Research Notes*, 8(1), 396.

Karak, P. (2019). Biological Activities of Flavonoids : An Overview. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, 10(4), 1567-1574.

Karimi, A., Moradi, M.-T., Alidadi, S., et Hashemi, L. (2016). Anti-adenovirus activity, antioxidant potential, and phenolic content of black tea (*Camellia sinensis* Kuntze) extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 13(4).

Khan, N. (2014). The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 1(2), 100-106.

Kiani, M., Mohammadi, S., Babaei, A., Sefidkon, F., Naghavi, M. R., Ranjbar, M., Razavi, S. A., Saeidi, K., Jafari, H., Asgari, D., et Potter, D. (2017). Iran supports a great share of biodiversity and floristic endemism for *Fritillaria* spp. (Liliaceae) : A review. *Plant Diversity*, 39(5), 245-262.

Kumar, S., et Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-16.

Lin, Y., Lu, M., Liao, H., Li, Y., Han, W., & Yuan, K. (2014). Content determination of the flavonoids in the different parts and different species of *Abelmoschus esculentus* L. by reversed phase-high performance liquid chromatograph and colorimetric method. *Pharmacognosy Magazine*, 10(39), 278.

Lotito, S., et Frei, B. (2006). Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans : Cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*, 41(12), 1727-1746.

Marchart, E., Krenn, L., et Kopp, B. (2003). Quantification of the flavonoid glycosides in *Passiflora incarnata* by capillary electrophoresis. *Planta Medica*, 69(5), 452-456.

Mariod, A., Matthäus, B., Eichner, K., et Hussein, I. H. (2015). Phenolic compounds of three unconventional Sudanese oils. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 14(1), 63-69.

Meng, X., Tang, G.-Y., Liu, P.-H., Zhao, C.-J., Liu, Q., & Li, H.-B. (2020). Antioxidant activity and hepatoprotective effect of 10 medicinal herbs on CCl₄-induced liver injury in mice. *World Journal of Gastroenterology*, 26(37), 5629-5645.

Middleton, E., Kandaswami, C., et Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells : Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.

Mohamed, K. H., Aydi, S. S., Aydi, S., Bousnina, H., et Haddad, M. (2021). *Matricaria recutita L. : Phytochemical characterization, biological activities and possibility of application in biological control*. 83, 9.

Moosavi, S. M., et Ghassabian, S. (2018). Linearity of Calibration Curves for Analytical Methods : A Review of Criteria for Assessment of Method Reliability. In M. T. Stauffer (Éd.), *Calibration and Validation of Analytical Methods—A Sampling of Current Approaches*. InTech.

Muhamad, N., Muhmed, S. A., Yusoff, M. M., et Gim bun, J. (2014). *Influence of Solvent Polarity and Conditions on Extraction of Antioxidant, Flavonoids and Phenolic Content from Averrhoa bilimbi*. 7.

Nollet, L. M. L., et Gutierrez-Urbe, J. A. (Éds.). (2018). *Phenolic Compounds in Food : Characterization and Analysis* (1^{re} éd.). CRC Press.

O’Kennedy, R., et Thornes, R. D. (Éds.). (1997). *Coumarins : Biology, applications, and mode of action*. Wiley.

Ould Kaddour, A. S. (2019). *Etude de l’effet antifongique des extraits polyphénoliques de l’Atriplex halimus L., sur la croissance de certains champignons dermatophytes* [Thèse de doctorat]. Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Panche, A. N., Diwan, A. D., et Chandra, S. R. (2016). Flavonoids : An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.

Pandey, G., Khatoon, S., Pandey, M. M., et Rawat, A. K. S. (2018). Altitudinal variation of berberine, total phenolics and flavonoid content in *Thalictrum foliolosum* and their correlation with antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 9(3), 169-176.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., et Bitto, A. (2017). Oxidative Stress : Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-13.

Radojevic, I. D., Stankovic, M. S., Stefanovic, O. D., Topuzovic, M. D., Comic, L. R., et Ostojic, A. M. (2012). Great horsetail (*Equisetum telmateia* Ehrh.) : Active substances content and biological effects. *EXCLI Journal*, 11, 59-67.

Raghunathan, C., Sivaperuman, C., Venkataraman, K., et Zoological Survey of India (Éds.). (2012). *Recent advances in biodiversity of India*. Zoological Survey of India.

Rahman, A., et Qureshi, M. A. (Éds.). (1990). *Science and technology in India, Pakistan, Bangladesh, and Sri Lanka*. Longman.

Rahman, H. (2018). Phytochemical analysis and antioxidant and anticancer activities of mastic gum resin from *Pistacia atlantica* subspecies *kurdica*. *OncoTargets and Therapy*, Volume 11, 4559-4572.

Raya, K. B., Ahmad, S. H., Farhana, S. F., Mohammad, M., Tajidin, N. E., et Parvez, A. (2015). Changes in phytochemical contents in different parts of *Clinacanthus nutans* (Burm. F.) lindau due to storage duration. *Bragantia*, 74(4), 445-452.

Riffat, B., Ejaz, A., Hina, S., Javed, I., Saira, T., et Tariq, M. (2019). *Rumex dentatus* could be a potent alternative to treatment of microbial infections and of breast cancer. *Journal of Traditional Chinese Medicine = Chung I Tsa Chih Ying Wen Pan*, 39(6), 772-779.

Rolim, A., Maciel, C. P. M., Kaneko, T. M., Consiglieri, V. O., Salgado-Santos, I. M. N., et Velasco, M. V. R. (2005). Validation assay for total flavonoids, as rutin equivalents, from *Trichilia catigua* Adr. Juss (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Benth (Olacaceae) commercial extract. *Journal of AOAC International*, 88(4), 1015-1019.

Rosler, K.-H. A., Wong, D. P. C., et Mabry, T. J. (1985). Problems with Ultraviolet Spectroscopy of Flavonoids Using Sodium Acetate in Methanol. *Journal of Natural Products*, 48(5), 837-840.

Saffaryazdi, A., Ganjeali, A., Farhoosh, R., et Cheniany, M. (2020). Variation in phenolic compounds, α -linolenic acid and linoleic acid contents and antioxidant activity of purslane (*Portulaca oleracea* L.) during phenological growth stages. *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 26(7), 1519-1529.

Sathish, S., Narayan, G., Rao, N., et Janardhana, C. (2006). A Self-Organized Ensemble of Fluorescent 3-Hydroxyflavone-Al (III) Complex as Sensor for Fluoride and Acetate Ions. *Journal of Fluorescence*, 17(1), 1-5.

Shi, X., Liu, D., Zhang, J., Hu, P., Shen, W., Fan, B., Ma, Q., et Wang, X. (2016). Extraction and purification of total flavonoids from pine needles of *Cedrus deodara* contribute to anti-tumor in vitro. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 245.

Souza, R. F. V. de, et De Giovani, W. F. (2005). Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(9), 1985-1990.

Struchkov, P., Beloborodov, V., Kolkhir, V., Voskoboynikova, I., et Savvateev, A. (2018). Comparison of spectrophotometric methods of total flavonoid assay based on complex formation with aluminum chloride as applied to multicomponent herbal drug angionorm. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 9(1), 1.

Sumaiyah, Masfria, et Dalimunthe, A. (2018). Determination of total phenolic content, total flavonoid content, and antimutagenic activity of ethanol extract nanoparticles of *Rhaphidophora pinnata* (L.F) Schott leaves. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(2), 505-510.

Thomas, M. (2011). *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides)* [Thèse de doctorat]. Université d'Orléans.

Vermerris Wilfred, et Nicholson, R. L. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. Springer. 276 p.

Villagómez-Rodríguez, A., Pérez-Ramos, J., Esquivel-Campos, A. L., Pérez-González, C., Soto-Peredo, C. A., & Pérez-Gutiérrez, S. (2019). Anti-inflammatory activity of *Jefea gnaphalioides* (a. Gray), Astereaceae. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 263.

Waheed Janabi, A. H., Kamboh, A. A., Saeed, M., BiBi, J., Naveed, M., et Huixia, L. (2019). Flavonoid-rich foods (FRF): A promising nutraceutical approach against lifespan-shortening diseases. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences, Online First*.

Watson, R. (2018). *Polyphenols in plants : Isolation, purification and extract preparation* (2nd edition). Elsevier. 442p.

Yildirim, A. B., Guner, B., Karakas, F. P., et Turker, A. U. (2017). Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown *Lysimachia vulgaris* L. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 14(2), 177-187.

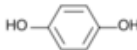

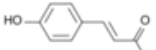
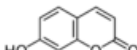
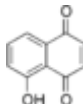
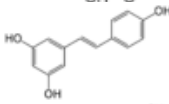
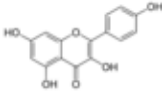
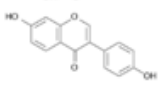
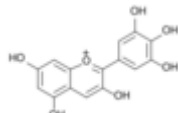
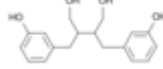
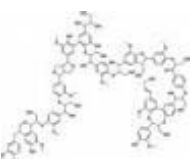
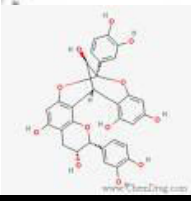
Zhang, M. W., Zhang, R. F., Zhang, F. X., et Liu, R. H. (2010). Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Black Rice Bran of Different Commercially Available Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7580-7587.

Zhishen, J., Mengcheng, T., et Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.

Zhou, Y., Jiao, Y., Sun, Y., & Gao, S. (2020). In vitro production and distribution of flavonoids in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1553-1564.

Anonyme 1. <http://www.prisma-statement.org/>

Annexe 1. Principales classes de composés phénoliques (Hadj Salem, 2009).

Squelette Carboné	Classification	Exemple	Structure	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphthoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraise
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3)2	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) n	Lignines			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) n	Tanins condensés	Procyanidol		Raisins, kaki

Annexe 2. Solvants les plus utilisés pour l'extraction lors du dosage des flavonoïdes.

Solvants utilisés	Pourcentage
Ethanol	17,3 %
Méthanol	16,0 %
Tetrahydrofurane	1,2 %
Eau Distillée	18,5 %
Ethanol Aqueux	3,7 %
Eau, Méthanol, Hexane	1,2 %
Chloroforme, Méthanol, Acétate d'éthyle	1,2 %
Eau, Méthanol, Acétate d'éthyle, Ethanol, Éther de pétrole	1,2 %
Éther de pétrole, Acétate d'éthyle, Ethanol	1,2 %
Méthanol, Acétone, Acétate d'éthyle	4,9 %
Méthanol, Ethanol, Benzène, Chloroforme, Hexane	1,2 %
Méthanol Aqueux	3,7 %
Hexane, Dichlorométhane, Méthanol	1,2 %
Acétate d'éthyle, Méthanol, Eau Distillée	1,2 %
Méthanol, Ethanol; Ethanol Aqueux	1,2 %
Éther de pétrole, Dichlorométhane, Chloroforme, Ethanol, Eau Distillée	1,2 %
Méthanol Aqueux et Acide trifluoroacétique	1,2 %
Ethanol et Eau Distillée	2,5 %
Méthanol, Acétone, Ethanol, Eau Distillée	1,2 %
Hexane, Chloroforme, Méthanol, Acétate d'éthyle	3,7 %
Ethanol, Méthanol, Acétone	1,2 %
Ethanol, Eau Distillée, Acétone	1,2 %
Acétone	1,2 %
Méthanol, Eau Distillée, Dichlorométhane	1,2 %
Méthanol, Eau Distillée, Acétone	1,2 %
Éther diéthylique, Eau Distillée, Acétate d'éthyle, n-Butanol	1,2 %
n-Butanol, Chloroforme, Méthanol, Acétate d'éthyle	1,2 %
Eau Distillée, Méthanol Aqueux 50%, Méthanol Aqueux 70%	1,2 %
Ethanol, Eau Distillée, Acétate d'éthyle	1,2 %
Éther de pétrole et Méthanol aqueux	1,2 %
Méthanol, Acétate d'éthyle, Hexane, Eau Distillée	1,2 %
Ethanol, Eau Distillée, Acétate d'éthyle, Éther de pétrole	1,2 %

Annexe 3. Marques des solvants les plus utilisés pour l'extraction.

Marques des solvants	Pourcentage
Merck (Darmstadt, Germany)	6,2 %
Damao Chemical Factory (Tianjin, China)	1,2 %
Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland)	1,2 %
Sigma-Aldrich	1,2 %
“Zorka pharma” Šabac, Serbia	4,9 %
Sigma-Aldrich (Poznan, Poland)	1,2 %
Merck	2,5 %
HiMedia Laboratory and Research Lab, India	1,2 %
Merck, Germany	1,2 %
Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)	1,2 %
Merck and Sigma–Aldrich Canada Ltd	1,2 %
Fagalab (Edo. de Mexico, Mexico)	1,2 %
Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)	1,2 %
Sigma Chemical Co., Ltd (St. Louis, MO, USA)	1,2 %
OBRPR, Plock, Poland et Lachema, Brno, Czech Republic	1,2 %
Merck (VWRI, Leuven, Belgium) et Chem-Lab (Zedelgem, Belgium)	1,2 %
Merck Co. (Germany)	1,2 %
Sigma Aldrich S.p.A. (Milan, Italy)	1,2 %
S. D. Fine Chem Limited, Bangalore, Karnataka, India	1,2 %
Synth, Brazil	1,2 %
Non définie	65,4 %

Annexe 4. Liste des Marques de réactifs les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes.

Réactifs	Marque	Pourcentage
AlCl ₃	Sigma-Aldrich	2,5 %
	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)	6,2 %
	Damao Chemical Factory (Tianjin, China)	1,2 %
	Sigma Aldrich Chemicals-Germany	1,2 %
	Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland	3,7 %
	Merck	1,2 %
	Merck (Darmstadt, Germany)	1,2 %
	HiMedia Laboratory and Research Lab, India	1,2 %
	Merck (South Africa)	1,2 %
	BDH, UK	1,2 %
	E-Merck (Delhi, India)	1,2 %
	Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)	1,2 %
	Sigma—Aldrich (Steinheim,Germany)	1,2 %
	Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd (Shanghai, China)	1,2 %
	Aldrich Chemicals (USA)	1,2 %
	Fluka (Fluka chemie GmbH, CH-9471 Buchs)	1,2 %
	S. D. Fine Chem Limited, Bangalore, Karnataka, India	1,2 %
	Acros Organics, New Jersey, USA	1,2 %
	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA	1,2 %
	Reachim, Riga, Latvia	1,2 %
Merck KGaA	1,2 %	
Non Définie	65,4 %	
Acétate de potassium	Damao Chemical Factory (Tianjin, China)	3,2 %
	Merck (Darmstadt, Germany)	3,2 %
	Merck	3,2 %
	Sigma-Aldrich (Germany)	3,2 %
	Non Définie	87,1 %
Acétate de sodium	Non Définie	100 %
Nitrite de sodium	E-Merck (Delhi, India)	5,0 %
	Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO).	5,0 %
	Sigma—Aldrich (Steinheim,Germany)	5,0 %
	Riedel –De Haen Ag, SeelzeHannover- Germany	5,0 %
	Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)	5,0 %
	Merck KGaA	5,0 %
	Non Définie	70,0 %
Nitrate de sodium	Non Définie	100 %
Hydroxide de sodium	E-Merck (Delhi, India)	4,5 %
	Fisher Scientific (Pittsburgh, PA)	4,5 %
	Sigma—Aldrich (Steinheim,Germany)	4,5 %
	Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)	4,5 %
	Merck KGaA	4,5 %
	Sigma Aldrich	4,5 %
Non Définie	72,7 %	

Acide Acétique	Non Définie	100 %
-------------------	-------------	-------

Annexe 5. Liste des Marques de solvants les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

Solvant AlCl ₃	Marque du solvant	pourcentage
Methanol	“Zorka pharma” Šabac, Serbia	17.4 %
	Merck Co. (Germany)	4.3 %
	Sigma Aldrich S.p.A. (Milan, Italy)	4.3 %
	Merck, Darmstadt, Germany	4.3 %
	HiMedia Laboratory and Research Lab, India	4.3 %
	Sigma-Aldrich (Germany)	4.3 %
	Chem-Lab (Zedelgem, Belgium)	4.3 %
	Non définie	56.5 %
Ethanol	S. D. Fine Chem Limited, Bangalore, Karnataka, India	4.5 %
	Merck	4.5 %
	Merck and Sigma–Aldrich Canada Ltd	4.5 %
	Non définie	86.4 %
Ethanol et DMSO	Non définie	100 %

Annexe 6. Liste des Marques de Standards les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes par l'AlCl₃

Marque des standards	Pourcentage
Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)	7,4
Sigma	2,5
Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)	11,1
Sigma Aldrich Chemicals-Germany	2,5
Kanto Chemicals (Tokyo, Japan)	1,2
Fluka Chemika (Büchi, Swizerland)	1,2
Sigma-Aldrich	2,5
Merck (Darmstadt, Germany)	1,2
HiMedia Laboratory and Research Lab, India	2,5
Sigma-Aldrich (Schnelldorf, Germany)	1,2
Sigma Aldrich (Hamburg, Germany)	1,2
Sigma-Aldrich, Germany	1,2
Sigma—Aldrich (Steinheim,Germany)	1,2
Extrasynthese (Genay, France)	1,2
Fluka (Fluka chemie GmbH, CH-9471 Buchs)	1,2
S. D. Fine Chem Limited, Bangalore, Karnataka, India	1,2
Acros Organics, New Jersey, USA	1,2
Sigma Chemical Co.	1,2
Non Définie	56,8

Annexe 7. Liste des Marques des spectrophotomètres les plus utilisées pour le dosage des flavonoïdes par l'AICl₃

Marque Spectrophotomètre	Pourcentage
Spectrophotomètre Jenway UV/Vis	1,2 %
Spectrophotomètre Shimadzu UV-160A (Kyoto, Japan)	2,5 %
Spectrophotomètre à microplaques BioTek Eon (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre UV-Visible Ultraspec 2000 England	1,2 %
Spectrophotomètre double faisceau UV-VISible Unico UV-4802 ultraviolet	1,2 %
Spectrophotomètre double faisceau UV-VISible Perkin Elmer (USA)	2,5 %
Spectrophotomètre UV-visible Shimadzu (UV-1650)	1,2 %
Spectrophotomètre PerkinElmer	1,2 %
Spectrophotomètre Hitachi U2000 (Tokyo, Japan)	1,2 %
Spectrophotomètre pour microplaques Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Molecular Devices, Sunnyvale, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre Shimadzu UV-1800	1,2 %
Spectrophotomètre (UV-Visible EZ201, Perkin Elmer, Norwalk, CA, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre Jenway 7300 UV-vis	1,2 %
Spectrophotomètre UV-vis (UNICO 2100, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu)	1,2 %
Spectrophotomètre UV visible (Cecil, UK.)	1,2 %
Spectrophotomètre UV (Jenway 6404, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre Thermo Scientific Technologies, Madison, WI, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre (QUIMIS, Brazil)	1,2 %
Spectrophotomètre Spcetrumlab 752S UV-VIS	1,2 %
Spectrophotomètre MRX II DYNEX (DYNEX Technologies, Inc.)	1,2 %
Spectrophotomètre Hitachi, Model 100-20	1,2 %
Spectrophotomètre UV-2450 (Shimadzu, Japan)	1,2 %
Spectrophotomètre UV-visible (Cyberlab-UV 100, USA)	1,2 %
Spectrophotomètre UV-Visible Spectronic 601Milton Roy (USA)	1,2 %
Spectrophotomètre Shimadzu Biospec 1601 UV visible (Shimatdzu, Japan)	1,2 %
Spectrophotomètre Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA.	1,2 %
Spectrophotomètre Shimadzu, Kyoto, Japan	1,2 %
Lecteur à microplaques (SPECTROstar Nanofi, Ortenberg, Germany)	1,2 %
Non Définie	60,5 %

Annexe 8. Intervalle de concentration totale des flavonoïdes.

Résultats (intervalle de concentration obtenu)	Fréquences	Pourcentage
157.9±2.22 mg QE/g	1	1,2
0.16 ± 0.01 - 0.62 ± 0.02 mEQ/mL	1	1,2
2.5 - 190.3 mg CE/100g	1	1,2
76.58±4.18 - 135.17±2.02 mg QE/g	1	1,2
2 - 24 mg RE/g	1	1,2
30.88 mg QE/g	1	1,2
65.80±0.006 - 208.23±0.007 mg RE/g	1	1,2
0.29 ± 0.00% - 21.84 ± 0.34%	1	1,2
00.00 - 214.76 mg RE/g	1	1,2
4.7 ± 0.1 - 28.7 ± 0.9 mg QE/g	1	1,2
58.22 ± 1.34 mg QE/g	1	1,2
2.34 ±0.6 - 82.27 ±1.7 mg QE/g	1	1,2
5.02 ± 0.01 - 16. 07 ± 0.14 mg GAE/g	1	1,2
11.63 mg QE/g	1	1,2
0.32 ± 0.01 - 14.93 ± 0.24 mg QE/g	1	1,2
311.36 ± 4.41 - 770.85 ± 5.26 mg QE/g	1	1,2
300.2451± 0.12 - 1537.99 ± 0.56 mg RE/kg	1	1,2
43.89 ± 1.47 - 151 ± 11.24 mg QE/g	1	1,2
8.17 ± 0.34 - 97.66 ± 1.89 mg QE/g	1	1,2
635 ± 1 - 2890 ± 36 mg CE/kg	1	1,2
6,08 ± 0,17 - 33,82 ± 0,90 µg QE/mg	1	1,2
0.36 - 2.69 g QE/100g	1	1,2
0.176 ± 0.005 - 3.957 ± 0.213 mg QE/g	1	1,2
1.6±0.8 - 17.2±1.9 µg QE/mg	1	1,2
2.5 ±0.8 - 176.1.7 mg QE/g	1	1,2
11.52 ± 0.01 - 14.11 ± 0.87 mg QE/g	1	1,2
2.96 - 76.70 mg QE/100mL	1	1,2
54.83 mg EQ/g	1	1,2
1.01±0.49 - 2.71±0.75 mg QE/g	1	1,2
64.07 ± 0.19 - 95.71 ± 0.09 mg RU/g	1	1,2
0.61 - 0.86 mg QE/g	1	1,2
2.25 ± 0.17 mg QE/g	1	1,2
40.75±1.15 - 130±1.18mg QE/g	1	1,2
15.05 ± 2.20 mg QE/g	1	1,2
367.19 ± 10.52 mg CE/g	1	1,2
8.2%	1	1,2
23.9 ± 1.2 - 49.3 ±2.2 mg QE/g	1	1,2
260 µg/mL	1	1,2
0.88 ± 0.04 - 13.51 ± 0.04 mg EQ/g	1	1,2
0.052 ± 0.002 - 0.094 ± 0.004 mg RE/g	1	1,2
0.54 ± 0.03 - 3.01 ± 0.3 mg QE/g	1	1,2
0.02 ± 0.02 - 0.75 ± 0.01 mg QE/ml	1	1,2
21.1 ± 2.11 mg RE/g	1	1,2
68.788 ± 6.022 - 409.651 ± 23.091 µg CE/ mg	1	1,2
90 µg QE/ml	1	1,2
74.93 ± 4.98 - 109.74 ± 1.84 mg QE/ g	1	1,2

105.784±0.5 - 109.518±0.5 mg QE/g	1	1,2
0.25 – 0.05 - 8.38 – 1.23 mg QE/100 g	1	1,2
18.03 - 185.43 mgQE/L	1	1,2
54.831 - 66.073 mg CE/g	1	1,2
27.38 ± 0.00 - 99.37 ± 0.00 mg CE/g	1	1,2
35.48 ± 6.86 - 292.50 ± 70.34 mg CE/g	1	1,2
4.17±0.54 - 5.86±0.24 mg QE/g	1	1,2
22.25 ± 0.85 - 62.42 ± 1.01	1	1,2
6.3 ± 3.2 mg of QE/g	1	1,2
80 mg QE/g	1	1,2
132,959.33 ± 12,598.23 µg QE/g	1	1,2
9.38 ± 1.58 - 10.35 ± 1.97 µg CE/g	1	1,2
0.4260.060.42 mg QE/100 mg - 6.2260.10 mg QE/g	1	1,2
44.57±2.65 - 44.57±2.65 mg QE/g	1	1,2
0.3 - 13.8 mg RE/g	1	1,2
1.4 - 29.5 %	1	1,2
4.1 ± 0.9 - 250.1 ± 6.3 mg QE/100 g	1	1,2
24.31 ± 0.3 mg CE/ g	1	1,2
19.16 ± 0.11 - 47.52 ± 0.21mg Kaempferol Equivalent/g	1	1,2
9.8 - 45.6 mgRE/100g	1	1,2
8.0 - 41.3 g RE/Kg	1	1,2
112.6 ± 1.3 - 199.8 ± 0.8 mg RU/g	1	1,2
64.99 ± 0.58 - 85.14 ± 0.52 mg RE/g	1	1,2
25.15±0.18 - 78.3±4.5 mg QE/g	1	1,2
22.56 ± 1.15 - 71.36 ± 7.20 mg RE/g	1	1,2
14.99 ± 0.70 - 20.37 ± 1.24 mg QE/g	1	1,2
42.40 ± 0.39 w/w % of EGCG equivalents	1	1,2
18.792%	1	1,2
42.11±0.32 - 63.68±0.19 mg RE/g	1	1,2
45.55 ± 3.2 mg RE/g extract	1	1,2
2.92 ± 0.15 - 10.87 ± 0.37 mg QE/100g	1	1,2
135 mg CE/g	1	1,2
3.85 ± 0.3 - 0.60 ± 0.5 mg QE/g	1	1,2
2.07 ± 0.02 - 140.6 ± 1.97 mg QE/g	1	1,2
270 ± 10 - 417 ± 25 mg QE/g	1	1,2

Résumé

La technique dosage colorimétrique des flavonoïdes totaux par le réactif de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Réputée être une technique simple, peu couteuse et rapide, elle représente l'une des techniques les plus utilisées à ce jour. Le but de modeste travail était d'effectuer une étude systématique basée sur les articles originaux, 81 articles ont été examinés dans cette analyse, afin de mettre la validité de cette technique en question. Selon les articles analysés, 89 % des dosages effectués ont été réalisé par la méthode de l' $AlCl_3$. Différents protocoles ont été lus et classifiés selon leur degré de complexité, les additifs les plus utilisés (Acétate de potassium, Nitrite sodium et hydroxyde de sodium), les durées d'incubations (30 minutes), les standards choisis (quercétine) et les longueurs d'ondes les plus utilisées (415nm).

Les tests statistiques ont confirmé la négligence de certains paramètres importants tels que les concentrations réactionnelles d' $AlCl_3$, la concentration réactionnelle des standards, et le choix hasardeux des standards en se basant uniquement sur leurs degrés d'absorbance, en ignorant les conséquences qu'elle pourrait avoir sur la mise en évidence de la teneur réelle en flavonoïdes. Finalement, la compréhension des interactions moléculaire entre flavonoïdes, entre d'autres classes de ces molécules et l' $AlCl_3$, l'élargissement de la gamme des standards utilisés, devraient aider à mettre la lumière sur les facteurs influençant sur la fiabilité de la technique et les résultats obtenus, et même contribuer à la mise au point d'une technique prenant en compte ces interactions.

Mots clés : $AlCl_3$, flavonoïdes, Acétate de potassium, Nitrite sodium et hydroxyde de sodium, quercétine, interaction moléculaire.

Abstract

The colorimetric determination of total flavonoids by aluminium trichloride reagent ($AlCl_3$). Reputed to be a simple, inexpensive and rapid technique, it represents one of the most widely used techniques to date. The aim of this modest work was to perform a systematic review based on the original articles, 81 articles were examined in this analysis, in order to question the validity of this technique. According to the analysed articles, 89% of realised assays were performed by the $AlCl_3$ method. Different protocols were read and classified according to their degree of complexity, the most used additives (potassium acetate, sodium nitrite and sodium hydroxide), the incubation times (30 minutes), the chosen standards (quercetin), the most used wavelengths (415nm).

Statistical tests confirmed the neglect of some important parameters such as the reaction concentrations of $AlCl_3$, the reaction concentration of the standards, and the random choice of the standards based only on their absorbance degrees, ignoring the consequences that it could have on the real flavonoid content. Finally, the understanding of the molecular interactions between flavonoids, between other classes of these molecules and $AlCl_3$, the widening of the range of standards used, should help to shed light on the factors influencing the reliability of the technique and the results obtained, and even contribute to the development of a technique taking these interactions into account.

Key words: $AlCl_3$, flavonoids, potassium acetate, sodium nitrite and sodium hydroxide, quercetin, molecular interaction

المخلص

تقنية القياس اللوني لمجموع مركبات الفلافونويد باستخدام كاشف ثلاثي كلوريد الألومنيوم ($AlCl_3$). تشتهر بأنها تقنية بسيطة وغير مكلفة وسريعة، وهي واحدة من أكثر التقنيات المستخدمة على نطاق واسع حتى الآن. هدف هذا العمل المتواضع هو إجراء دراسة منهجية بناءً على مقالات أصلية، وتم مراجعة 81 مقالة في هذا البحث، من أجل تحليل دقة هذه التقنية. وفقاً للمقالات التي تم تحليلها، 89% من الاختبارات التي تم إجراؤها قد تمت باستخدام طريقة $AlCl_3$. تمت قراءة البروتوكولات المختلفة وتصنيفها حسب درجة تعقيدها، والمواد المضافة الأكثر استخداماً (أسيتات البوتاسيوم، و نترتيد الصوديوم، وهيدروكسيد الصوديوم)، ومدة التفاعل (30 دقيقة)، والشواهد المختارة (كيرسيتين)، وأطوال الموجات الأكثر استخداماً (415 نانومتر).

أكدت الاختبارات الإحصائية إهمال بعض العوامل المهمة مثل تركيزات تفاعل $AlCl_3$ ، وتركيز تفاعل المعايير، والاختيار الخطير للمعايير بناءً على درجات الامتصاص فقط، وتجاهل النتائج يمكن أن يكون له أثر على إبراز محتوى الفلافونويد الفعلي. أخيراً، يجب أن يساعد فهم التفاعلات الجزيئية بين مركبات الفلافونويد، وبين الفئات الأخرى من هذه الجزيئات و $AlCl_3$ ، وتوسيع نطاق المعايير المستخدمة، في إلقاء الضوء على العوامل التي تؤثر على موثوقية التقنية والنتائج التي تم الحصول عليها، وحتى المساهمة في تطوير تقنية تأخذ هذه التفاعلات في الاعتبار.

الكلمات المفتاحية: $AlCl_3$ ، الفلافونويد، أسيتات البوتاسيوم، و نترتيد الصوديوم، وهيدروكسيد الصوديوم، كيرسيتين، التفاعل الجزيئي.