



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie

## Intitulé

**Evaluation de l'activité antioxydante de l'asperge sauvage  
algérienne *Asparagus acutifolius***

Présenté par : Inas TLIDJANE

Devant le jury :

Président : Dr Yuva BELLIK

Université de Bordj Bou Arréridj

Directeur : Pr. Redha DJENIDI

Université de Bordj Bou Arréridj

Examinatrice : Dr Widad FATMI

Université de Bordj Bou Arréridj

Année universitaire : 2020/2021

## Remerciements

Merci à ALLAH de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Avant d'aborder l'exposé de mes résultats, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à faciliter l'élaboration de ce modeste travail.

Je tiens à remercier le **Dr. Yuba Bellik** d'avoir accepté de présider mon jury de soutenance.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à mon encadreur le **Pr Rédha DJENIDI** pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqué de nous prodiguer durant la réalisation de ce travail, et pour sa compréhension

Un remerciement particulier à ma co-encadreuse **Dr. Fahima FELLAH** qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, sa simplicité et surtout pour sa patience. Madame, j'ai été satisfaite de votre qualité de bonne enseignante, je ne peux que sincèrement vous exprimer mon profond respect et ma gratitude.

Je remercie également Mme la **Dre. Widad FATMI** d'avoir eu l'amabilité d'examiner mon mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs de laboratoire et l'**Université de Béjaia** sans laquelle ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

Un grand merci à tous les enseignants de notre cursus éducatif de l'école primaire à l'université.

## Dédicaces

Merci à Allah de m'avoir orienté sur la chemin et de m'avoir donné la santé, le courage

Merci, merci, merci.

Avec un énorme plaisir et une immense joie, je dédie ce travail à mes chers parents, pour leurs sacrifices et leur soutien permanent pendant mes années d'études

A mon amour, mon grand-père Ahmed Benamara qui a été le premier à m'encourager à aller si loin dans mes études. J'ai voulu mener ce travail à terme pour que tu sois fier de moi.

A ma chère mère Nacera durant mon enfance et même à l'âge adulte tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tes prières et tes bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon adorable frère Zaher-Eddine, les mots ne peuvent résumer mon amour à ton égard.

A mon mari Chouayb pour l'encouragement, la confiance, le soutien, un grand merci pour ta présence et la sympathie que j'ai reçu à l'occasion de la soutenance et une dédicace exceptionnelle pour sa famille.

J'adresse aussi mes dédicaces à mes amies avec lesquelles j'ai passé des moments agréables Douaa, Fatima et Ghada ,Nihel.

A ma collègue Aicha, merci de m'avoir aidé lorsque j'avais besoin d'aide. Je te remercie grandement pour l'aide que tu m'as apportée pour finir ce travail.

A toute la promo de biochimie 2020.

## Liste des abréviations

$\mu\text{g}$  : Microgramme.

$\mu\text{M}$  : Micromole.

A : Absorbance.

AG : Acide gallique.

DPPH: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent acide gallique.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique.

$\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$  : Acide phosphomolybdique.

$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  : Acide phosphotungstique.

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  : Ferricyanure de potassium.

Mg EAG/g : Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

nm : Nanomètre.

TAC : Total Antioxidant Capacity.

TCA : Acide trichloracétique.

## LISTE DES FIGURES

Figure 01 . Asperge sauvage algérienne . . . . .	3
Figure 02. Morphologie d'Asparagus ( Chaumeton, 1830).....	4
Figure 03 . Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux . . . . .	9
Figure 04 . Teneur en polyphénols totaux de l'asperge sauvage pour les deux solvants . . . . .	10
Figure 05 . Courbe d'étalonnage pour l'activité antioxydante totale . . . . .	10
Figure 06. Capacité antioxydante totale des deux extraits acétonique et éthanolique chez l'asperge sauvage . . . . .	11
Figure 07. Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur . . . . .	12
Figure 08. Pouvoir réducteur du fer des extraits acétonique et éthanolique chez l'asperge sauvage . . . . .	12
Figure 09. Activité antiradicalaire des extraits acétonique et éthanolique chez l'asperge sauvage . . . . .	13
Figure10. Courbe d'étalonnage pour le pouvoir chélateur. . . . .	14
Figure 11. Résultats pour le pouvoir chélateur des extraits acétonique et éthanolique chez l'asperge sauvage . . . . .	15



# SOMMAIRE

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Sommaire

Introduction.....1

**Chapitre 01 : Matériel et méthodes .....3**

1.1 Matériel végétal .....3

1.1.1 Classification.....3

1.1.2 Morphologie.....4

1.1.3 Préparation de la poudre et des extraits .....4

1.1.3.1 Préparation de la poudre .....4

1.1.3.1.1 Récolte.....4

....

1.1.3.1.2 Séchage.....5

1.1.3.1.3 Broyage.....5

1.1.3.1.4 Tamisage.....5

1.1.4 Extraction.....5

1.2 Etude phytochimique .....6

1.2.1 Dosage des polyphénols totaux .....6

1.2.2 Activité antioxydante.....6

1.2.2.1 Activité antioxydante totale (TAC).....6

1.2.2.2 Détermination du pouvoir réducteur.....7

1.2.2.3 Chélation du fer ferreux .....7

1.2.2.4 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).....7

1.3 Analyse statistique .....	8
<b>Chapitre 02 : Résultats et discussion .....</b>	<b>9</b>
2.1 Résultats.....	9
2.1.1 Teneur en polyphénols totaux .....	9
2.1.2 Activité antioxydante totale.....	10
2.1.3 Pouvoir réducteur du fer .....	12
2.1.4 Piégeage du radical libre DPPH.....	13
2.1.5 Pouvoir chélateur des ions ferreux.....	13
2.2 Discussion.....	15
<b>Conclusion .....</b>	<b>17</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>19</b>

## **Résumés**



# Introduction

## Introduction

Aujourd'hui le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, dit du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution. Ce facteur d'inflammation et de mutagenèse est considéré comme une des principales causes du cancer et jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer, comme dans plusieurs affections plus courantes telles que les maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébraux-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes (**Bechlem, 2018**)

Les antioxydants qui sont présents dans de nombreux aliments que nous consommons quotidiennement comme les fruits et les légumes, et principalement les vitamines (A, C, E), les tanins, les flavonoïdes, etc., pourraient diminuer ces dégâts en agissant contre l'oxydation causée par des substances chimiques nocives, les radicaux libres qui sont des toxine provoquant le vieillissement et qui sont à l'origine de plusieurs maladies. Ces derniers sont générés par l'organisme lors des réactions métaboliques d'oxydo-réduction, mais ils peuvent être augmentés par certains environnements, par exemple la fumée de cigarette ou bien la pollution urbaine .

La diversité actuelle des espèces végétales sauvages ou cultivées est le résultat de l'évolution biologique et aussi de l'adaptation à la diversité des environnements physiques. Pour l'humanité, c'est une des ressources pouvant satisfaire ses besoins élémentaires d'abord alimentaires et médicinaux, mais aussi esthétiques. Bien que l'utilisation traditionnelle des plantes sauvages comestibles ait diminué avec le développement de l'agriculture et des chaînes d'approvisionnement mondiales, certaines espèces sont encore consommées (**Hamdi, 2015**) .

Dans le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à la valorisation d'une plante très utilisée depuis l'antiquité en phytothérapie et dans la médecine traditionnelle à savoir l'asperge sauvage *Asparagus acutifolius* appartenant à la famille des Liliacées.

L'objectif du présent travail vise à évaluer les propriétés antioxydantes *in vitro* de différents extraits de la partie aérienne d'*Asparagus acutifolius*, soit l'extrait éthanolique, soit l'extrait acétonique.

Le mémoire, comportant plusieurs chapitres, est structuré comme suit :

La première partie présente la démarche expérimentale en commençant par la récolte des échantillons, suivie du séchage et du broyage, puis de l'extraction des substances actives par différents solvants. Nous avons aussi mis le point sur tous les protocoles adoptés pour le dosage des polyphénols et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits à l'égard du radical DPPH ainsi que le pouvoir réducteur de fer et le pouvoir chélateur des ions ferreux.

La deuxième partie décrit les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Ce travail se termine par une conclusion générale, dans laquelle différentes perspectives de recherche sont évoquées, en se basant sur les résultats obtenus.

# Chapitre I:

## Matériel et méthodes

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### I-1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes supérieures de l'Asperge sauvage (*Asparagus acutifolius*), originaire de la région méditerranéenne, qui appartient à la famille des Liliaceae anciennement nommée Asparagaceae (**Figure. 01**), Depuis l'antiquité, l'asperge est un légume nutritif et sain possédant certaines propriétés biologiques.

#### I-1-1 Classification

La taxonomie de l'Asperge sauvage est la suivante selon (**Quézel et Santa 1962**) :

**Règne** : Plantae

**Sous-règne** : Tracheobionta

**Division** : Magnoliophyta

**Classe** : Liliopsida

**Sous-classe** : Liliidae

**Ordre** : Liliales

**Famille** : Liliaceae

**Genre** : *Asparagus*

**Espèce** : *Asparagus acutifolius* L.



**Figure 01** : *Asperge sauvage algérienne*

### I-1-2 Morphologie

Le genre *Asparagus* est constitué de plantes herbacées pérennes (Benavides-Barajas, 1992), qui se forment à partir de graines produisant un rhizome portant des yeux (bourgeons) qui émettent des turions à la partie supérieure et des racines charnues rayonnant en étoile à la partie inférieure (Figure. 02). Les turions (partie consommée de l'asperge) forment des tiges droites pouvant atteindre 50 cm de hauteur avec un feuillage fin et ramifié appelé cladode (Benages, 1990).



Figure 02 : Morphologie d'Asparagus

*Asparagus. acutifolius* est largement distribuée dans les pays méditerranéens. Ce taxon est fréquent dans les zones boisées et arbustives, poussant dans divers biotopes humides et ombragés de bioclimats humides, subhumides et semi-arides.

### I.1.3 Préparation de poudre et des extraits :

#### I-1.3.1 Préparation de la poudre

La préparation de la poudre d'asperge comprend différentes étapes .

##### I-1.3.1.1 Récolte

La collecte de l'asperge sauvage a été effectuée dans la région de El -Kseur, dans la wilaya de Bejaïa, durant le mois de Mars 2021.

#### **I-1.3.1.2 Séchage**

Après avoir bien nettoyé les tiges de l'asperge récoltée précédemment, elles sont coupées en petites morceaux, puis séchées à l'ombre pendant 6 jours. Elles sont ensuite passées à l'étuve à une température de 40°C (**Kablan et al., 2008**).

#### **I-1.3.1.3 Broyage**

Après le séchage, les échantillons secs obtenus sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique de type Moulinex 220-240 V jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

#### **I-1.3.1.4 Tamisage**

Le tamisage a été effectué afin d'obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 125 µm . La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, fermés hermétiquement, à l'abri de la lumière pour éviter que la poudre n'absorbe l'humidité, mais aussi pour réduire le taux d'oxydation dû à la lumière (**Kablan et al., 2008**).

#### **I-1.4. Extraction**

La préparation de l'extrait d'*Asparagus acutifolius* a été réalisée par la méthode de macération extraction solide-liquide L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux : la solubilité et la diffusion. La macération est réalisée en utilisant deux solvants, à savoir l'acétone et l'éthanol.

Une quantité de 200mg de poudre a été mise dans deux Erlmeyer, puis 20 ml d'acétone 25% ont été ajoutés dans l'un des deux et 20 ml d'éthanol 25% dans l'autre. Le mélange est mis sous agitation à l'aide d'une plaque agitatrice pendant 30 min à 25 C°. Puis les extraits obtenus ont été centrifugés pendant 5 minutes à 3500 tours/ minute et le surnageant récupéré pour l'analyse a été filtré et conservé dans des flacons opaques à 4C°. Tous les essais d'extraction ont été réalisés deux fois.

## I-2. Etude phytochimique :

### I-2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par **Singleton et Rossi (1965)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Une quantité de 0.2ml de l'extrait brut est introduite dans des tubes à essais, puis 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1:10) a été ajouté. Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par cent gramme de poudre d'asperge sauvage (mg EAG/100 de poudre).

### I-2.2. Activité antioxydante

#### I-2.2.1. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode du phosphomolybdène de **Prieto et al. (1999)**. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en molybdène Mo (V) MoO<sup>2+</sup> en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate de Mo (V) à pH acide (**Benhammou,2012**).

Une quantité de 0,3 ml de l'extrait est introduite dans les tubes à essais, puis 3 ml de solution à préparer sont additionnés (la solution contient de l'acide sulfurique 0,6 M, du phosphate de sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont agités et incubés au bain-marie à 95°C pendant 90 minutes. Après refroidissement l'absorbance est mesurée à 695 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en



milligrammes équivalents d'acide gallique par cent grammes de poudre (mg EAG/100g de poudre).

### I-2.2.2. Détermination du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (**Blasovics et al., 2003**). En solution, cette forme réduite prend une couleur vert-bleue, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (**Ferruzzi et Blakeslee, 2007**).

Le test a été déterminé en utilisant la technique d'**Oyaizu (1986)**. 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0,2M ; pH= 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 1 ml d'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange avant d'être centrifugé à 700 g pendant 10 minutes à température ambiante. 1 ml de surnageant est additionné à 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ , 0.1%). L'absorbance est lue à 700 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie pour l'acide gallique dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.

### I-2.2.3. Chélation du fer ferreux

La ferrozine (acide 3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phényl)-sulfonique) complexe le fer (II) et forme un composé rouge magenta permettant un dosage colorimétrique à 562 nm. La capacité chélatrice des extraits a été estimée par la méthode modifiée de **Dinis et al. (1994)**. Pour 1 ml de l'extrait, 2,7 ml d'eau distillée et 0,1 ml de chlorure ferreux 2 mM ont été ajoutés. Après 3 min, 200  $\mu\text{l}$  de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnés au milieu réactionnel. Le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 562 nm. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal du solvant d'extraction. La capacité de chélation exprimée en milligramme équivalent d'EDTA par cent grammes de poudre (mg EEDTA/100g de poudre)

### I-2.2.4. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH $\cdot$  de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le

radical DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**). Un volume de 500 µl d'extrait est additionné à 1 ml d'une solution de DPPH (60 µM dans le méthanol absolu). Le mélange réactionnel est agité au Vortex pendant 1 minute puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à 517 nm. L'activité scavenger est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH. Elle est donnée par l'équation suivante:

$$\text{Activité scavenger en (\%)} = (AT-AE/AT) \times 100$$

**AT**= absorbance du témoin

**AE**= absorbance de l'échantillon

### **I-3. Analyse statistique**

Une étude statistique a été réalisée en appliquant le test de Student (t-test) à l'aide du logiciel GraphPad Prism 7, afin de mettre en évidence les différences significatives entre les deux solvants d'extraction pour chaque paramètre à  $p \leq 0,05$ .

# Chapitre II:

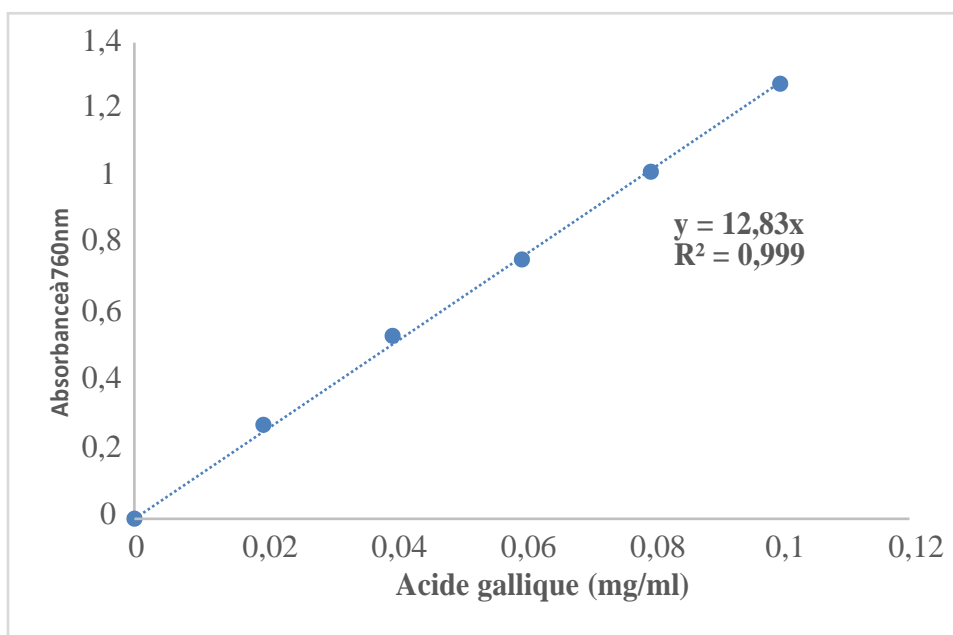
Résultats et discussion

## Chapitre 2 : Résultats et discussion

### 2-1 Résultats

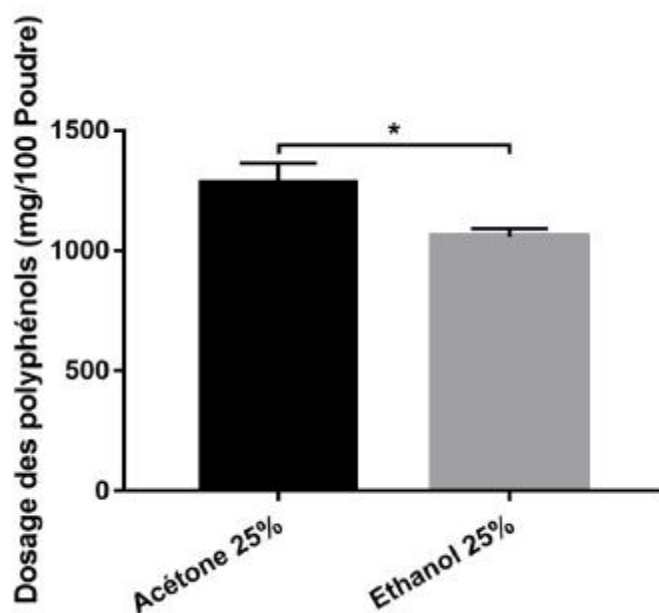
#### 2-1-1 Teneur en polyphénols totaux

L'analyse quantitative des polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage présentée dans la **(Figure. 03)** exprimée en mg équivalent d'acide gallique par cent grammes de poudre.



**Figure 03** : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

D'après nos résultats, l'extrait d'asperge sauvage possède une teneur en polyphénols totaux de  $1058,82 \pm 33,063$  mg EAG / 100g de poudre lors de l'utilisation de l'éthanol comme solvant d'extraction et de  $1284,4582 \pm 79,950$  mg EAG / 100g de poudre lors de l'utilisation de l'acétone **(Figure. 04)**.

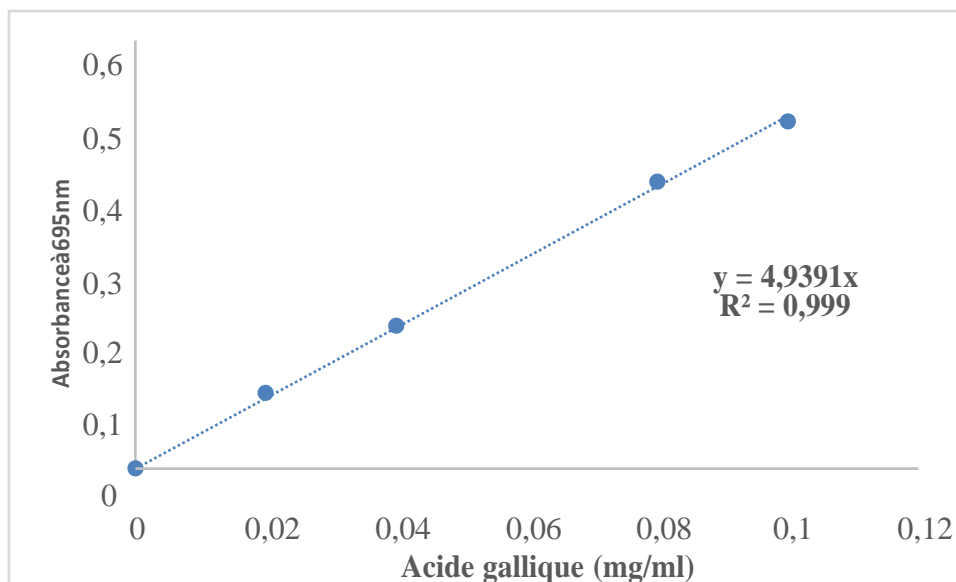


**Figure 04** : Teneur en polyphénols totaux de l'asperge sauvage pour les deux solvants.

\* : Différence significative.

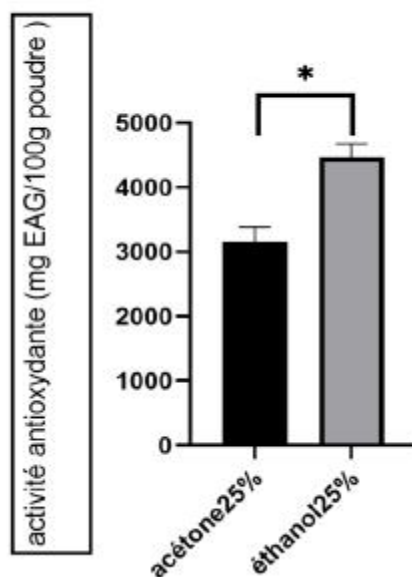
### 2-1-2- Activité antioxydante totale

L'activité antioxydante totale est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage présentée dans la (**Figure. 05**) .



**Figure 05** : Courbe d'étalonnage pour l'activité antioxydante totale.

À partir des résultats obtenus, l'extrait acétonique de l'Asperge sauvage a une activité antioxydante totale égale à  $3161,09 \pm 223,43$  mg EAG/100 g, tandis que l'extrait éthanolique possède une activité antioxydante totale plus élevée qui est égale à  $4468,79 \pm 206,67$  mg EAG/100 g (**Figure. 06**). De plus le test T révèle qu'il y a une différence significative entre les extraits acétonique et éthanolique pour *Asparagus acutifolius*.

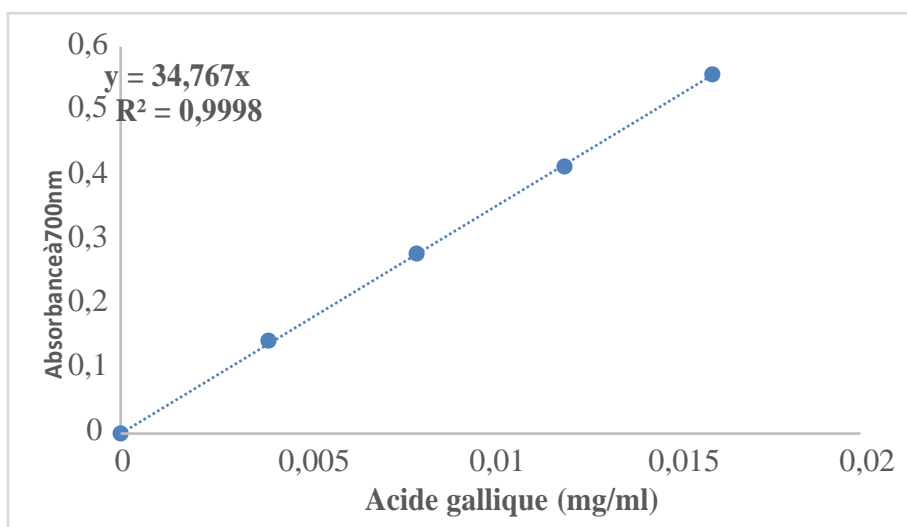


**Figure 06 :** Capacité antioxydante totale des deux extraits acétonique et éthanolique chez l'Asperge sauvage

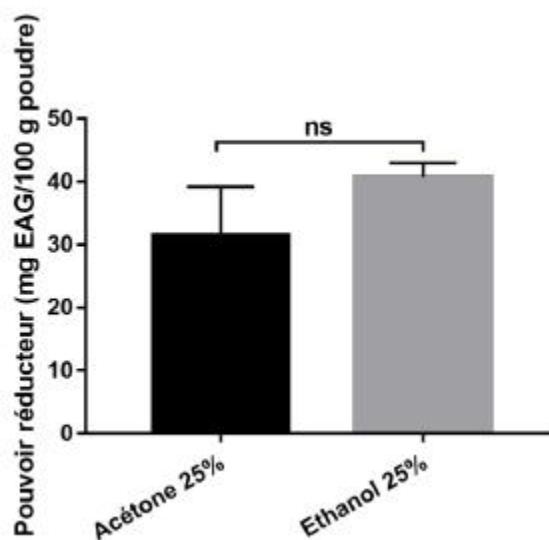
\* : Différence significative.

### 2-1-3 Pouvoir réducteur du fer

D'après les résultats obtenus lors de l'utilisation de l'éthanol à 25% est de  $40,748 \pm 2,22$  mg EAG/100 g et  $31,450 \pm 7,73$  mg EAG/100 g lors de l'utilisation de l'acétone à 25%. Selon les analyses statistiques il y a une différence non significative entre les deux extraits (**Figure 07 et 08**).



**Figure 07** : Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur

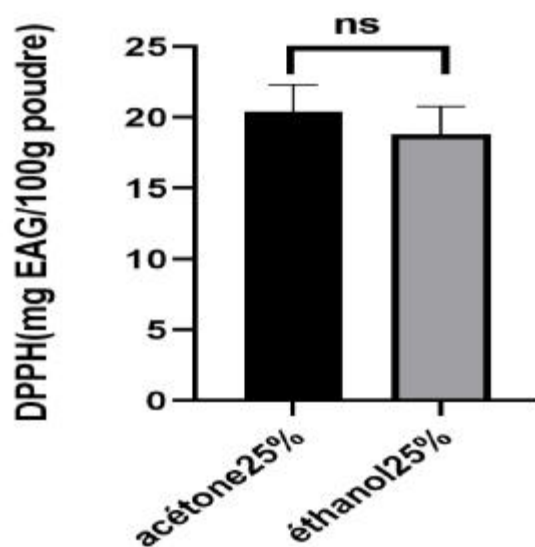


**Figure 08** : Pouvoir réducteur du fer des extraits acétonique et éthanolique chez l'Asperge sauvage

**NS** : non significative.

#### 2-1-4 Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats obtenus du piégeage du radical DPPH pour l'extrait acétonique sont de  $20,3923 \pm 2,272$  mg EAG/100 g et  $18,8235 \pm 1,799$  mg EAG/100 g pour l'extrait éthanolique (**Figure. 09**). Le test T montre qu'il y a une différence non significative entre les deux extraits ( $p < 0,05$ ).



**Figure 09** : Activité antiradicalaire des extraits acétonique et éthanolique chez l'Asperge sauvage

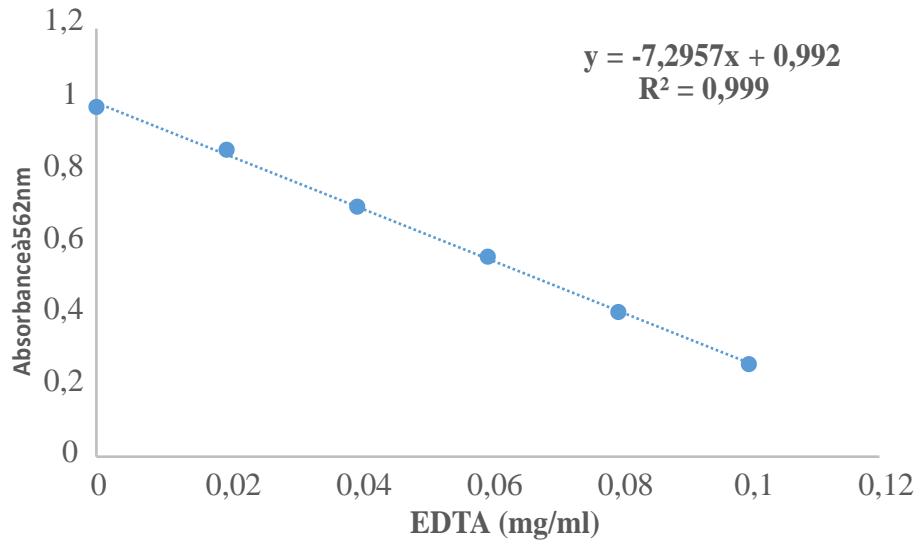
NS : non significative.

#### 2-1-5 Pouvoir chélateur des ions ferreux

La ferrozine complexe le fer (II) et forme un composé rouge magenta ( $Fe^{2+}$ -Férozine) permettant un dosage colorimétrique avec un maximum d'absorption à 562 nm. La formation de ce complexe est perturbée en présence d'agents chélateurs aboutissant à une diminution de la couleur rouge, qui est suivie par spectrophotométrie.

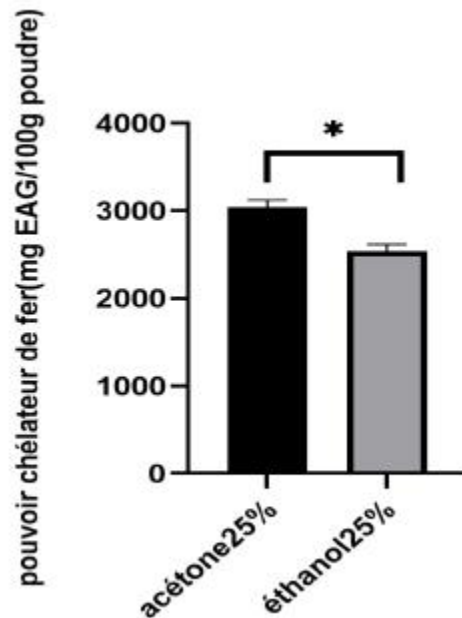


Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait acétonique est de l'ordre de  $3041,34 \pm 81,785$  mg EEDTA /100 g et de l'ordre de  $2539,48 \pm 77,897$  mg EEDTA /100 g lors de l'utilisation de l'extrait éthanolique (**Figure. 10 et 11**).



**Figure 10** : Courbe d'étalonnage pour le pouvoir chélateur.

Le t-test a révélé une différence significative entre les deux extraits ( $p < 0,05$ ).



**Figure 11** : Résultats pour le pouvoir chélateur des extraits acétonique et éthanolique chez l'Asperge sauvage.

\* : Différence significative.

## 2-2 Discussion

Dans de nombreux pays, les espèces du genre *Asparagus* ont été traditionnellement utilisées comme aliments ou produits pharmaceutiques. En Algérie, malgré l'importance de ce genre, il demeure insuffisamment étudié à la fois sur le plan phytochimique et biologique. A cet effet, et dans le cadre de développement de la flore algérienne, nous nous sommes intéressées à l'étude des espèces spontanées du Nord Est algérien, du genre *Asparagus* à caractère médicinal. Il s'agit d'*Asparagus acutifolius*.

Tout d'abord, la première étape cruciale de l'étude des antioxydants naturels issus des plantes est l'extraction des composés bioactifs des matrices végétales qui dépend de la méthode et du solvant approprié, pour leur quantification et leur classification (**Brun *et al.*, 1992**). Les analyses phytochimiques des extraits d'une plante constitue aussi une étape préliminaire d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques.

La présente étude a montré que l'asperge sauvage a des teneurs variables en polyphénols en fonction du solvant d'extraction utilisé. En effet, l'acétone à 25% est celui qui a permis d'obtenir une meilleure teneur en composés phénoliques avec une moyenne de  $1284,45 \pm 79,50$  mg EAG/100g de poudre. Cette richesse en polyphénols est expliquée par l'exposition de cette partie de la plante au soleil (**Kohmura *et al.*, 2008**). D'autres études ont montré que les composés phénoliques sont produits par la plante en raison de leur lutte contre les rayons UV (**Dai et Mumper, 2010 ; Bravo, 1998**). Aussi, **Guillen *et al.* (2008)** et **Jaramillo *et al.* (2016)** ont montré que les teneurs et les types de phénols, de flavonoïdes et de saponines sont plus élevés chez les Asperges sauvages que chez les Asperges cultivées.

Il est important de noter que la concentration des ces composants bioactifs chez les espèces du genre *Asparagus* varie en fonction de la saison, du climat, de l'altitude, de l'organe, ainsi que du métabolisme de la plante (**Rodríguez *et al.*, 2005 ; Morales, 2011 ; Negi *et al.*, 2011**).

Il est intéressant de mentionner que la capacité des polyphénols végétaux à agir comme antioxydants dans les systèmes biologiques a été reconnue dans les années trente (**Benthsath et al., 1936**), mais le mécanisme antioxydant a été largement ignoré jusqu'à récemment.

D'autre part, les résultats de cette étude ont indiqué que l'Asperge sauvage a une activité antioxydante totale remarquable. L'extraits éthanolique d'Asperge sauvage donne une valeur de  $4468,78904 \pm 206,679$  mg EAG /100g et  $3161,08531 \pm 223,438$  mg EAG/100g lors de l'utilisation de l'extrait acétonique. En effet, cette activité dépend non seulement de la structure, mais aussi de la concentration, en raison de l'existence d'une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et la capacité antioxydante des extraits de plantes.

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités antioxydantes en raison de sa stabilité, rapidité et simplicité. A la lumière de notre étude, l'extrait éthanolique d'*Asparagus acutifolius* présente une meilleur activité antioxydante par apport à l'extrait acétonique avec une valeur de  $4468,789 \pm 206,67$  mg EAG/100 g. A l'inverse, dans les résultats du test de réduction du radical DPPH, c'est l'extrait acétonique qui montre un meilleur résultat avec une moyenne de  $20,610 \pm 2,27$  mg EAG/100 g de poudre. D'après les analyses du pouvoir réducteur du fer dont la capacité réductrice est de  $40,748 \pm 2,22$  mg EAG/100 g, nous constatons que l'effet réducteur de la plante étudié est plus remarquable lors de l'utilisation de l'extrait éthanolique contrairement aux résultats du pouvoir chélateur des ions ferreux dû aux composés phénoliques contenus dans la partie aérienne de l'Asperge sauvage, et qui est notable lors de l'utilisation de l'extrait acétonique, qui donne une valeur de  $3041,335 \pm 81,78$ mg EEDTA/100g de poudre.

# Conclusion

## Conclusion

Les plantes médicinales sont considérées depuis des siècles comme une source majeure de produits utilisés en thérapeutique. Parmi ces produits, on trouve les polyphénols qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêts en raison du bénéfice qu'ils pourraient apporter en termes de prévention et de traitement des maladies.

L'objectif principal de la présente recherche a consisté en l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits d'*Asparagus acutifolius* préparés à partir de deux différents solvants: l'acétone et l'éthanol, par macération des parties aériennes de la plante appartenant à la famille des Liliaceae, l'une des familles les plus importantes dans la flore de l'Algérie.

L'ensemble des résultats obtenus nous a permis d'avoir une idée sur le profil phytochimique et la capacité antioxydante d'*Asparagus acutifolius*.

L'analyse quantitative des extraits étudiés révèle que cette plante est riche en composés phénoliques. L'étude du potentiel anti-radicalaire effectué par la méthode du piégeage du radical libre (DPPH) a montré que l'extrait acétonique a un pouvoir antioxydant important, alors que l'extrait éthanolique présente un pouvoir réducteur du fer avec une valeur remarquable de  $40,748 \pm 2,22$  mg EAG/100 g de poudre. De plus, la capacité chélatrice de l'extrait acétonique donne un meilleur résultat avec une valeur de  $3041,335 \pm 81,78$  mg EEDTA/100 g de poudre

L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances bioactives d'origine naturelle. Une étude *in vivo* est nécessaire pour obtenir une vue plus approfondie sur les propriétés antioxydantes des extraits de la plante étudiée à savoir :

- Une identification et isolement des composés de cette plante par des techniques d'analyse avancées (HPLC), et leur application *in vivo* pour une identification plus précise et la détermination de leur toxicité.

- Elargir le spectre de l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* en orientant l'étude vers d'autres activités biologiques telles que les activités antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse,...etc.
  
- Déterminer des mécanismes d'action des composés actifs.
  
- Réaliser des études sur les autres parties de la plante.
  
- Envisager la formulation d'un médicament à base de la plante.

## Références bibliographiques

**Amel Hamdi ;,2015.** Caractérisation chimique de quelques espèces du genre *Asparagus* et étude de leurs activités biologiques. Thèse du doctorat, Université de TUNIS EL MANAR.

**Benages S., 1990.** El espárrago. *Ediciones Mundi-Prensa, Bilbao.* 179-212.

**Benavides-Barajas L., 1992.** Al-Andalus: La cocina y su historia. *Edición Clásica Dulcinea.*

**Benthsath A., Rusznak S. 1936.** Vitamin nature of flavone. *Nature.* 138: 27-35.

**Blàzovics A., Lugasi A., Szentmihályi K., Kéry A., 2003.** Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum fectorum* *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biologica Szegediensis.* 47(1-4): 99-102.

**Blois M.S., 1958.** Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 26 : 1199-1200.

**Bravo L., 1998.** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews.* 56(11): 317-333.

**Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M., 2011.** Antioxidant and anti-listerial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry.* 127(4): 1821-1827.

**Costa F.O., De Waard J.R., Boutillier J., Ratnasingham S., Dooh R.T., Hajibabaei M., Hebert P.D., 2007.** Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustaceae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 64(2): 272-295.

**Dai J., Mumper R.J., 2010.** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15(10): 7313-7352.

**Darmon J.Y., Rauss A., Dreyfuss D., Bleichner G., Elkharrat D., Schlemmer B., Huet Y., 1992.** Evaluation of Risk Factors for Laryngeal Edema after Tracheal Extubation in Adults and Its Prevention by Dexamethasone A Placebo-controlled, Double-blind, Multicenter Study. *Journal of the American Society of Anesthesiologists.* 77(2): 245-251.

**Dinis T.C., Madeira V.M., Almeida L.M., 1994.** Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of biochemistry and biophysics.* 315(1): 161-169.

**Djeridane A., Yousfi M., Brunel J.M., Stocker P., 2010.** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol.* 48(10) : 2599-2606.

**Ferruzzi M.G., Blakeslee J., 2007.** Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research.* 27 : 1-12.

**Guillen M.D., Goicoechea E., 2008.** Formation of oxygenated  $\alpha$ ,  $\beta$  -unsaturated aldehydes and other toxic compounds in sunflower oil oxidation at room temperature in closed receptacles. *Food Chemistry.* 111(1): 157-164.

**Gülçin I., Bursal E., Şehitoğlu M. H., Bilsel M., Gören A.C., 2010.** Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology.* 48(8-9) :2227-2238.

**Houria BECHLEM 2018 .** Etude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales Algériennes , thèse du doctorat université DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE.

**Huang S., Ingber D.E., 2005.** Cell tension, matrix mechanics, and cancer development. *Cancer cell.* 8(3): 175-176.

**Huang Y., Zou J., Zheng X., Wang Y., Xu X., 2004.** Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C: N ratios. *Soil Biology and Biochemistry.* 36(6): 973-981.

**Jiang H., Ramunno-Johnson D., Song C., Amirbekian B., Kohmura Y., Nishino Y., Miao J., 2008.** Nanoscale imaging of mineral crystals inside biological composite materials using X-ray diffraction microscopy. *Physical review letters.* 100(3): 038-103.

**Kablan B.J., Adiko M., Abrogoua D.P., 2008.** Évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie.* 6(5): 282-288.

**Krache I., 2012.** Effets anti-inflammatoires, antioxydants et toxiques de l'extrait de *Teucrium polium* L. *Doctorat en sciences biologique, Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif.* 113p.

**Maiza-Benabdesselam F., Bekkai F., Benallaoua S., 2011.** Antibacterial activity of essential oils of two Algerian medicinal plants *Origanum glandulosum* Desf. and *Artemisia herba alba*. *Life sciences Leaflets.* 16: 582.



**Morales-Morales D., Jensen C. G., 2011.** The chemistry of pincer compounds. 1<sup>st</sup> Ed. *Elsevier*. 466p.

**Negi G., Kumar A., Sharma S.S., 2011.** Melatonin modulates neuro-inflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF- $\kappa$ B and Nrf2 cascades. *Journal of pineal research*. 50(2): 124-131.

**Oyaizu M., 1986.** Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition*. 44 : 307-315.

**Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*. 269(2): 337-341.

**Quézel P., Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Tome 1, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris*. 189-196.

**Rawel H.M., Frey S.K., Meidtner K., Kroll J., Schweigert F.J., 2006.** Determining the binding affinities of phenolic compounds to proteins by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence. *Molecular Nutrition & Food Research*. 50: 705-713.

**Ribéreau-Gayon G., 1968.** Etude des mécanismes de synthèse et de transformation de l'acide malique, de l'acide tartrique et de l'acide citrique chez *Vitis vinifera* L. *Phytochemistry*. 7(9) : 1471-1482.

**Sánchez- Azofeifa G.A., Quesada M., Rodríguez J.P., Nassar J. M., Stoner K.E., Castillo A., Cuevas- Reyes P., 2005.** Research priorities for neotropical dry forests. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation*. 37(4): 477-485.

**Sanchez-Moreno C., 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*. 8(3) : 121- 137.

**Seitz L.C., Dickens C.F., Nishio K., Hikita Y., Montoya J., Doyle A., Jaramillo T.F., 2016.** A highly active and stable IrOx/SrIrO<sub>3</sub> catalyst for the oxygen evolution reaction. *Science*. 353:1011-1014.

**Singleton V.L., Rossi J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 16(3) : 144-158.

**Wang T.Y., Li Q., Bi K.S., 2018.** Bioactive flavonoids in medicinal plants : Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 13: 12-23.

## Résumé

L'asperge sauvage, plante médicinale appartenant à la famille des Liliacées, est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne. Dans cette optique, cette étude s'est donnée pour objectif de quantifier les substances bioactives contenues dans la partie aérienne d'*Asparagus acutifolius*, particulièrement les polyphénols, et d'évaluer ses propriétés antioxydantes. L'échantillon a été soumis à une macération dans l'éthanol et l'acétone. La quantification des polyphénols totaux dans les deux extraits, montre la richesse de cette espèce en métabolites secondaires et particulièrement en polyphénols. L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* par la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que tous les extraits présentent d'importantes propriétés antioxydantes. L'extrait acétonique a montré la plus forte activité anti-radicalaire, avec une valeur de  $20,610 \pm 2,27$  mg EAG/100 g, suivi de l'extrait éthanolique avec une valeur de  $18,170 \pm 1,79$  mg EAG/100 g.

Les résultats obtenus sont prometteurs et ouvrent des perspectives dans le domaine de l'utilisation des substances naturelles qui peuvent être une alternative valable pour remplacer les produits chimiques couramment utilisés en thérapie.

**Mots-clefs :** *Asparagus acutifolius*, Polyphénols, Activité antioxydante.

## Abstract

Wild *Asparagus* is a medicinal plant belonging to the Family of Liliaceae and has been used in traditional Algerian medicine during a long time. In this aim, this study had the purpose to quantify the bioactive substances contained in the airborne part of *Asparagus acutifolius*, particularly the polyphenols and to evaluate their antioxidant properties. The samples were macerated in ethanol and acetone. The quantification of total polyphenols in both extracts showed the richness of this species in secondary metabolites and particularly polyphenols. The study of the antioxidant activity of the different extracts of *Asparagus acutifolius* by the DPPH free radical scavenger method showed that all the extracts had important antioxidant properties. Acetonic extract showed the highest anti-radicular activity with a value of  $20.610 \pm 2.27$  mg AG/100 g, followed by ethanolic extract with a value of  $18.170 \pm 1.79$  mg EAG/100 g.

The results obtained are promising and open up opportunities in the field of the use of natural substances which can be a valid alternative to chemicals.

**Keywords:** *Asparagus acutifolius*, Polyphenols, Antioxidant activity.

## المخلص

الهلينون البري هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الليلك ويستخدم منذ فترة طويلة في الطب التقليدي الجزائري. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد كمية المواد النشطة بيولوجيًا الموجودة في الجزء العلوي من *Asparagus acutifolius* وخاصة مادة البوليفينول، وتقييم خصائصها المضادة للأكسدة. تعرضت العينة للنقع في الإيثانول والأسيتون، وأظهر تقدير كمية البوليفينول الكلي في المستخلصين ثراء هذا النوع في المستقبلات الثانوية وخاصة في البوليفينول. أظهرت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المختلفة من نبات الهليون باستخدام طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH أن جميع المستخلصات لها خصائص مضادة للأكسدة مهمة. حيث أظهر مستخلص الأسيتون أقوى نشاط مضاد للجذور بقيمة ( $20.610 \pm 2.27$  مجم / 100 EAG / مجم من المسحوق) يليه المستخلص الإيثانولي بقيمة ( $18.170 \pm 1.79$  مجم / 100 EAG / مجم مسحوق).

النتائج التي تم الحصول عليها هي وجهات نظر واعدة ومفتوحة في مجال استخدام المواد الطبيعية التي يمكن أن تكون بديلاً صالحاً لتحل محل المواد

الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: *Asparagus acutifolius* ، البوليفينول ، نشاط مضادات الأكسدة.