



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 بوعريش
Université Mohammed 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 des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Etude phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes
des extraits d'*Asparagus acutifolius* L.**

Présenté par :

BENADDA Amir Djebri, YAHIAOUI Amar & ZETCHI Dina

Soutenu le 24/06/2023, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	M ^{me} NASRI Meriem	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	M BELLIK Yuva	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M ^{me} GUERGOUR Hassina	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

Nos remerciements, d'abord à **Dieu** le tout puissant, pour la volonté, la santé, le courage et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces années.

Nous remercions sincèrement **Dr. NASRI Meriem** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Nous souhaitons lui exprimer notre sincère gratitude.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur, **Pr. BELLIK Yuva**, pour ses conseils scientifiques judicieux et sa disponibilité exceptionnelle tout le long de la réalisation de ce mémoire et surtout pour ses qualités humaines.

A **Dr. GUERGOUR Hassina**, qui a accepté d'évaluer ce travail. Nous souhaitons également lui exprimer notre sincère reconnaissance et notre gratitude.

On tient à remercier sincèrement **Mme DJAMOUI Setti Sabrina** pour sa disponibilité tout au long de ce travail, de nous avoir guider dans ce travail, sa patience, ses orientations, ses encouragements et surtout ses conseils judicieux qui nous ont permis de mener à terme ce travail

On tient à remercier très respectueusement **M. LARIBI Amer** de nous avoir aider dans ce travail, et pour ses orientations et ses encouragements.

Un grand merci au personnel des services de **foresterie** de la wilaya de Bordj Bou Arreridj pour leur aide précieuse dans la prospection et la récolte de la plante.

Dédicaces

J'ai pu accomplir cette tâche avec l'aide de **Dieu**, le Tout-Puissant, qui m'a guidée tout au long de ma vie que je dédie.

Ma mère

Je te remercie pour toutes les nuits dans lesquelles tu restais réveillée pour prendre Soins de moi Tu es mon soutien dans les moments difficiles, et la source intarissable de mon inspiration

A mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs **Serine** et **Hiba**.

A mon frère **Mohamed**.

A tous les **membres de ma famille**, mes **grandes partants**, **oncles** et **tantes** et ma **tante**

Rima

A mes **chères trinômes Amir** et **Amar** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.
A mes **collègues de promo** qui ont cru en moi et qui m'ont toujours encouragé, et avec qui j'ai passé des années inoubliables : **Khouloud**, **Maroua** et **Aymen**

A toutes les personnes qui m'ont encouragé ou aidé tout au long de mes études.

Dina

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à mes **chers parents** qui ont été toujours à mes coté et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.

En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici, l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études et dans ma vie.

A mes deux sœurs **Rosa** et **Kenza** pour leurs soutiens moral et physique.

A toute ma grande famille.

A mon ami et bras droit **mon frère LATRACH Mohamed Zakaria** et à toute personne de sa petite et grande famille que je respecte beaucoup.

A tout mes amis et amies de section et de promo que j'ai passé avec eux de très belles années dans leurs têtes : **Dina, khouloud, Maroua, Nada, Rahma, Ibtihel, Kahina** qui m'ont beaucoup aidé et m'ont encouragé à ne jamais abandonner, un grand merci à vous

A toute personnes qui a crue en moi malgré tous ce que j'ai rencontré de difficultés, obstacles dans ma vie personnelle et professionnelle.

Amir

Dédicaces

A mes amis sans exception, à tous ceux qui me sont chers et à toutes les personnes qui nous ont aidé et nous ont encouragé

Amar

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
I. Introduction	01
II. Matériel et méthodes	03
II.1. Partie plante	03
II.1.1. Matériel végétal	03
II.1.1.1. Répartition géographique	03
II.1.1.2. Description botanique	03
II.1.1.3. Classification botanique	04
II.1.2. Préparation de la poudre d'<i>Asparagus acutifolius</i>	05
II.1.2.1. Récolte	05
II.1.2.2. Séchage	06
II.1.2.3. Broyage et tamisage	06
II.2.3. Analyse physicochimique	07
II.2.3.1. Détermination du taux d'humidité	07
II.2.3.1.1. Teneur en eau	07
II.2.3.1.1. Humidité de la poudre	07
II.2.3.2. Détermination des cendres	08
II.2.4. Etude phytochimique	08
II.2.4.1. Préparation des extraits	08
II.2.4.2. Calcul du rendement	09
II.2.4.3. Dosage des composés phénoliques	09
II.2.4.4. Dosage des flavonoïdes	09
II.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante	10
II.2.5.1. Activité anti-radicalaire	10
II.2.5.2. Pouvoir réducteur	11
II.2.6. Analyse statistique	11
III. Résultats et discussion	12
III.1. Etude physicochimique	12
III.1.1. Teneur en eau	12
III.1.2. Humidité de la poudre	12

III.1.3. Taux de cendre	13
III.2. Etude phytochimique	13
III.2.1. Rendement d'extraction	13
III.2.2. Teneurs en polyphénols totaux.....	14
III.2.3. Teneurs en flavonoïdes totaux.....	16
III.3. Activité antioxydante	17
III.3.1. Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH	17
III.3.2. Pouvoir réducteur.....	18
V. Conclusion	19
Références	
Annexe	
Résumés	

Liste des figures

Figure 01 : Photographies de la plante <i>Asparagus acutifolius</i> L.	05
Figure 02 : Séchage de la plante <i>Asparagus acutifolius</i> L. pendant six jours.....	06
Figure 03 : Séchage de la plante <i>Asparagus acutifolius</i> L. à l'étuve pendant deux jours à 40 °C.....	06
Figure 04 : Processus de broyage et tamisage de la plante <i>Asparagus acutifolius</i> L.	07
Figure 05 : Teneur en eau d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	12
Figure 06 : Taux d'humidité de la poudre d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	12
Figure 07 : Taux de cendre d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	13
Figure 08 : Rendement d'extraction d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	14
Figure 09 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	15
Figure 10 : Teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	16
Figure 11 : Activité scavenger des différents extraits d' <i>Asparagus acutifolius</i> L. à l'égard du radical DPPH	17
Figure 12 : Pouvoir réducteur des différents extraits d' <i>Asparagus acutifolius</i> L.	18

Liste des tableaux

Tableau I : Description botanique de la plante *Asparagus acutifolius* L.04

Tableau II : Classification botanique de la plante *Asparagus acutifolius* L.05

Liste des abréviations

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent acide gallique.

EC : Equivalent catéchine

EQ : Equivalent quercétine.

ES : Extraits sec.

FeCl₃ : Chlorure ferrique

g : Gramme.

h : Heure.

mg : Milligramme.

min : Minute.

ml : Millilitre.

nm : nanomètre.

N : Normalité.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

SOD : Superoxyde dismutase.

TCA : Acide trichloroacétique.

Tc : Taux de cendre.

Introduction

I. Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé, plus de 80% de la population mondiale y recourent à l'usage des plantes pour leurs besoins de santé (**Dro et al., 2013**). Les plantes médicinales sont utilisées par l'homme de différentes façons, telles que l'infusion, la macération, la décoction, et souvent sont utilisées une ou plusieurs de leurs parties (racines, feuilles, fleurs) (**Dutertre et al., 2011**).

Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches aussi bien *in vivo* qu' *in vitro*, en particulier, la recherche de nouveaux constituants naturels comme alternative thérapeutique. La grande catégorie de produits naturels largement dispersés dans le règne végétal comprend des composés phénoliques (**Balasundram et al., 2006**).

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans le règne végétal. Ils possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et dans le domaine de l'agriculture. L'une des propriétés biologiques importantes de ces biomolécules étant leur capacité de chasser les radicaux libres (**Daglia et al., 2011**). Ces radicaux libres sont des entités chimiques (espèces, atomes, molécules ou fragments moléculaires) possédant un (ou plusieurs) électrons "simples" non appariés dans les couches périphériques du squelette moléculaire (**Dacosta, 2003**). Les radicaux sont produits par plusieurs mécanismes physiologiques en raison de leur importance fondamentale pour le corps (**Ali et al., 2020**). Toutefois, une surproduction incontrôlée de radicaux libres peut initier plusieurs processus pathologiques aussi divers que dangereux pour le corps.

L'Asparagus sauvage connue aussi par son nom scientifique *Asparagus acutifolius*. L, est une plante riche en composés bioactifs d'où vient son nom "Roi des plantes" à cause de sa richesse en polyphénols, flavonoïdes, lignane, saponine (**Fukushi et al., 2010 ; Hafizur et al., 2012**). L'Asperge sauvage est utilisée dans divers domaines. En médecine moderne, il est utilisé pour traiter les troubles inflammatoires, fongiques, infectieuses et il est même utilisé comme un remède pour le traitement du cancer (**Jang et al., 2004 ; Tsao et Deng, 2004**).

Les objectifs de la présente étude sont :

- L'analyse physicochimique de la plante *Asparagus acutifolius* (taux d'humidité, teneur en eau, taux de cendre) de la région de Bordj Bou Arreridj.
- L'extraction des substances actives par différents solvants (méthanol 70%, éthanol 70%, acétone 70% et l'eau distillée).
- Le dosage des polyphénols, des flavonoïdes des différents extraits de la plante.
- L'évaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* des différents extraits à travers différents tests : l'activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH ainsi que le pouvoir réducteur.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

II.1.1.1. Répartition géographique

L'espèce *Asparagus acutifolius* est largement répandue en Algérie. Ce légume est fréquent dans les bois et les arbustes, poussant dans divers biotopes humides et ombragés des bioclimats humides, subhumides et semi-arides (Boubetra et al., 2017). Il est bien représenté le long du littoral ouest d'Alger (Bainem, Bouchaoui, Gouraya, Ténès) ainsi que le littoral est (Zemmouri, Guerbés, El Kala). Cette espèce est également présente dans les pinèdes perturbées et plus ouvertes. On la retrouve également dans les forêts du versant sud de l'Atlas tellien (El Affroun, Redjredj, Ain Smara, Mansourah, Bougaa), et dans la chênaie humide (*Quercus ilex*, *Q. suber*, *Q. faginea*). Sur le saharien frontière (Monts Senalba), il constitue des buissons bas, souvent accompagné de *Jasminum fruticans* et *Rosmarinus tourneforti* (Boubetra et al., 2017).

II.1.1.2. Description botanique

Le tableau ci-dessous donne une description botanique détaillée de l'espèce *Asparagus acutifolius* L. (Boubetra et al., 2017).

Tableau I : Description botanique d'*Asparagus acutifolius* L.

Hauteur de la plante (m)	0.5-2 m
Croissance	Rapide
Multiplication	Par prélèvement de rhizome ou griffes
Sol	Sec ou caillouteux
Emplacement	Soleil ou mi-ombre
Feuillage	Pas de feuilles mais des cladodes courtes
Couleur des fleurs	Blanc jaunâtre à verdâtre

Forme de fleur	Campanule
Fleur sexualité	Dioïque
Mélange de fleurs/cladodes	1-3
Longueur des cladodes (mm)	1.7–7.3 mm
Nombre de cladodes dans un fascicule	7-22
Apparence de cladode	Épineux
Longueur du périanthe (mm)	2.4-3.80 mm
Stigmates	Bifide
Longueur du pédicelle (mm)	2.3-3.90 mm
Nombre de graines par fruit	1-2
Forme de baie	Globeux
Diamètre de la baie	4.4-7 mm
Couleur de baie	Baie noire toxique pour l'homme consommer par les oiseaux

II.1.1.3. Classification botanique

Le tableau ci-dessous reprend la taxonomie de *l'Asparagus acutifolius. L* selon **Quézel et Santa 1962**.

Tableau II : Classification botanique d'*Asparagus acutifolius* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Liliacées
Genre	<i>Asparagus</i>
Espèce	<i>Asparagus acutifolius</i> L.

II.1.2. Préparation de la poudre

II.1.2.1. Récolte

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de l'asperge sauvage. Les échantillons ont été récoltés durant le mois de mars 2023 dans la région de Sidi-Makhlouf daïra El Mansoura la wilaya de Bordj Bou Arreridj.



Figure 01 : Photographie de la plante *Asparagus acutifolius* L.

II.1.2.2. Séchage

Les asperges récoltées sont découpées en petits morceaux et sont bien étalés sur des supports couverts de papier aluminium à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant six jours (**Fig. 02**). Ensuite, ces mêmes échantillons sont séchés dans une étuve à une température de 40 C° pendant 2 jours (48h) (**Fig. 03**) (**Kablan et al., 2008**).

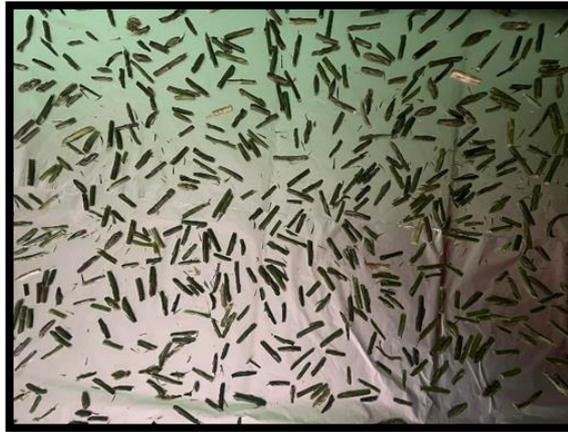


Figure 02 : Séchage de la plante *Asparagus acutifolius* L. pendant six jours.



Figure 03 : Séchage de la plante *Asparagus acutifolius* L. à l'étuve pendant deux jours à 40 °C.

II.1.2.3. Broyage et tamisage

Les tiges coupées et séchées (103.72g), sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique de marque CLATRONIC afin d'obtenir une poudre très fine. Cette poudre est tamisée à l'aide d'un tamis de granulométrie 0.2mm (**Fig. 04**). La poudre obtenue est conservée dans un flacon en verre bien fermé et couvert par un papier d'aluminium pour éviter l'oxydation de l'échantillon (**Kablan et al., 2008**).



Figure 04 : Processus de broyage et tamisage de la plante *Asparagus acutifolius* L.

II.2.3. Analyse physico-chimique

II.2.3.1. Détermination du taux d'humidité

II.2.3.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau de la plante a été déterminée comme suit : une asperge fraîche est pesée puis séchée à l'air libre à une température ambiante et à l'ombre. Cette dernière est pesée une deuxième fois pour déterminer le poids perdu.

$$TE \% = ((P - P') / P) \times 100\%$$

TE : teneur en eau en %

P : poids de l'échantillon "plante fraîche" (g)

P' : poids de l'échantillon "plante sèche" (g)

II.2.3.1.1. Humidité de la poudre (H%)

L'humidité de la poudre a été déterminée par la méthode de séchage à l'étuve selon **AOAC (2000)**. Une quantité de **2g** de poudre de plante est mise dans un creuset en porcelaine préalablement taré. Le creuset et son contenu sont ensuite placés dans une étuve universelle (Mettler type-ONE 7, Schutzart DIN EN 60529-IP 20. Germany) à **103 ± 2°C pendant 24 h**. Après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (gel de silice), le creuset est pesé. L'expérience est répétée trois fois. L'humidité est calculée comme suite :

$$H\%: ((M-M') / M)100\%$$

H% : humidité de la poudre en %

M : masse de l'échantillon en poudre avant le séchage.

M': masse de l'échantillon en poudre après le séchage.

II.2.3.2 Détermination des cendres

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux restant après combustion d'un échantillon contenant des matières organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. La cendre constitue **environ 1 à 5 %** de la masse de l'aliment lorsqu'il est mouillé. La teneur en cendres est déterminée après minéralisation par voie sèche dans des creusets en porcelaine pré-pesés selon **AOAC (2000)**. Une quantité de **1 g** de poudre végétale est mise dans un creuset préalablement taré puis placée dans un four à moufle de type Nabertherm à une température de **800°C pendant 6 heures** et chauffée jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche (toute la matière organique est brûlée et seule la partie inorganique de la poudre est récupérée). L'ensemble est retiré et refroidit dans un dessiccateur suivi des pesées. La teneur en cendres est calculée selon l'équation suivante :

$$TC\%: ((M-M') / E)$$

M : Masse finale (creuset + cendres totales).

M': Masse du creuset vide.

E : Prises d'essais de la matière.

II.2.4. Etude phytochimique

II.2.4.1. Préparation des extraits

L'extraction est réalisée selon la méthode de macération sous agitation (**Buchi, Allemagne**). Quatre solvants sont utilisés : méthanol 70 %, éthanol 70 %, acétone 70 % et l'eau distillée. Une quantité de 5g de poudre est mélangée avec 75 ml de chaque solvant. Le mélange résultant est agité magnétiquement à une température ambiante pendant 3 heures puis filtré à l'aide d'un papier filtre. Une deuxième extraction est effectuée avec le résidu

dans les mêmes conditions. Les deux filtrats sont réunis et leur solvant est éliminé dans un rotavapor (Rotavapor R-215) réglé à 40°C. Les extraits obtenus sont séchés à l'aide d'une étuve portée à 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec qui est conservé au réfrigérateur pour les différents tests.

II.2.4.2. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après évaporation et la masse de la matière végétale après séchage, exprimé en pourcentage.

$$R\% = ([MEX] / [MMV]) \times 100\%$$

MEX : masse de l'extrait obtenu après évaporation (g).

MMV : masse de la matière végétale séchée et laminé (g).

R% : rendement en pourcentage %.

II.2.4.3. Dosage des composés phénoliques

La teneur phénolique totale des extraits d'*Asparagus acutifolius* est déterminée selon le protocole décrit par **Singleton et Rossi (1965)**. Un volume de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 %) est ajouté à 200 µL de chaque extrait ou standard. Après 4 minutes, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (7,5 %) Na₂CO₃ sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La teneur en composés phénoliques est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) en se référant à l'équation de régression de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (20–180 µg/ml) (**annexe 01**).

II.2.4.4. Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes de l'extrait d'*Asperge acutifolius* est réalisé selon **Jain et al. (2011)** avec quelques modifications. Un volume de 1 ml d'une solution méthanolique à 2% de chlorure d'aluminium (AlCl₃) et ajouté à 1 ml de l'extrait puis incubé 30 minutes à température ambiante. L'absorbance est lue à 430 nm. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits d'*Asparagus acutifolius* sont calculées en se référant à la courbe

d'étalonnage obtenue avec la quercétine (**Annexe 03**), les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine /g d'extrait sec (mg EQ/g ES).

II.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante

Dans cette étude, deux tests sont réalisés pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de l'espèce étudiée, le test DPPH ainsi que le pouvoir réducteur.

II.2.5.1. Activité anti-radicalaire

La capacité des extraits d'*Asparagus acutifolius* de réduire le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été évaluée selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**. Le DPPH est dissout dans 03 ml de méthanol pour préparer une solution mère, la solution test a été préparée en diluant la solution mère de DPPH avec du méthanol jusqu'à obtention une absorbance de $0,98 \pm 0,02$ à 517 nm. Un volume de 1000 μ L de chaque extrait à une concentration de 50 μ g/ml a été ajouté à 200 μ L de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange est agité et maintenu à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance de la solution résultante est mesurée à 517 nm. Un contrôle est préparé en remplaçant la solution d'extrait par le méthanol. Le blanc de chaque extrait est préparé en mélangeant 200 μ L de méthanol avec un volume 1000 μ L d'extrait. Toutes les opérations sont répétées trois fois.

L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence (**Annexe 04**). Le pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH[•] de chaque extrait est calculé comme suit :

$$\text{Activité scavenger du radical DPPH}^\bullet (\%) = [(Ac - (At - Ab) / Ac)] \times 100\%$$

Absorbance du contrôle (Ac) : C'est l'absorbance du solvant avec seulement le DPPH.

Absorbance du test (At) : C'est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'extrait.

Absorbance du blanc (Ab) : C'est l'absorbance de la solution de l'extrait sans le DPPH.

II.2.5.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits d'*Asparagus acutifolius* est déterminé selon le protocole d'Oyaïzu (1986) avec quelques modifications. Un volume de 100 µL de chaque extrait à une concentration de 1000 µg/ml est mélangé avec 500 µL d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH = 6,6) et 0.5 ml d'une solution de ferricyanate de potassium à 1% ($K_3Fe(CN)_6$) préparé dans l'eau distillée. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min, puis les tubes à essais sont retirés. Un volume de 0.5 ml d'acide trichloroacétique à 10% (TCA) est ajouté, suivi d'une centrifugation à 650 rpm pendant 10 min. A 500 µL du surnageant sont ajoutés 0.5 ml d'eaudistillée et 100 ml de $FeCl_3$ à 0,1%. La mesure de l'absorbance a été effectuée à 700 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme standard de référence (Annexe 06) dans les mêmes conditions.

II.2.6. Analyse statistique

Tous les essais réalisés dans la présente étude ont été répétés au moins trois fois et les résultats ont été exprimés par la moyenne \pm la déviation standard. Les graphes sont mis en forme par EXCEL. L'étude statistique est réalisée à l'aide d'un logiciel statistique (Stat View 5.0). Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test Student t ou les tests ANOVA. Les différences ont été jugées significatives à $p < 0,05$.

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Etude physico-chimique

III.1.1. Teneur en eau

Les analyses obtenues ont montré que la plante fraîchement récoltée à une teneur moyenne en eau de l'ordre de $85.35 \pm 4,27\%$ (Fig. 05).

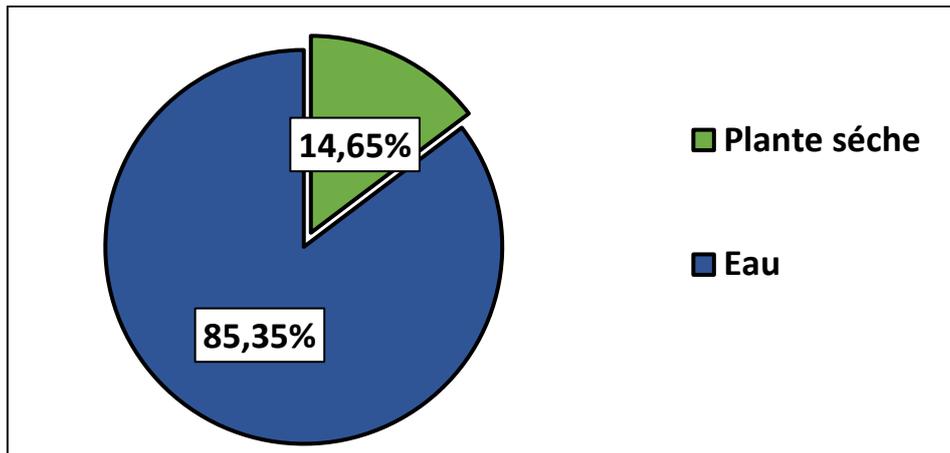


Figure 05 : Teneur en eau d'*Asparagus acutifolius* L.

La teneur en eau de l'*Asparagus acutifolius* L. peut varier en fonction de plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, le sol et la saison.

III.1.2. Humidité de la poudre

Le résultat représenté dans la figure 06 montre que le taux d'humidité de la poudre d'*Asparagus acutifolius* est de $9.93 \pm 0.10\%$. Cette valeur est conforme à la norme de la pharmacopée européenne qui est limitée à 10% (Fettah, 2019).

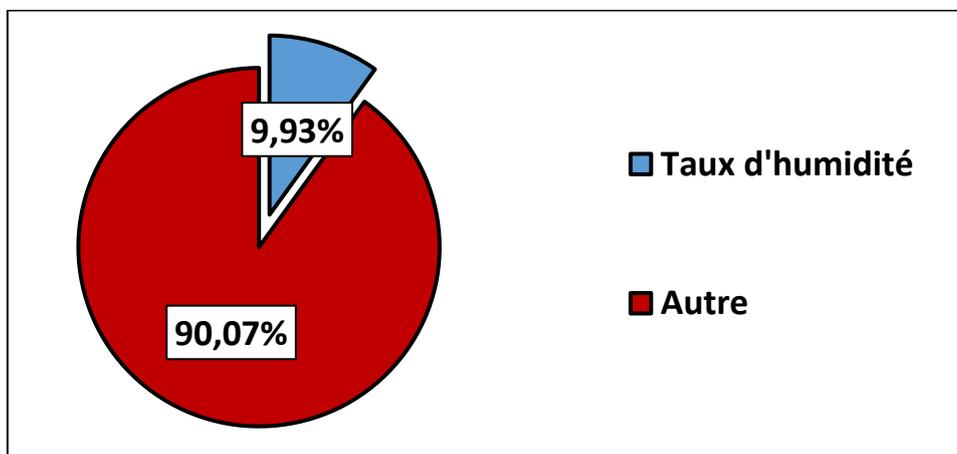


Figure 06 : Taux d'humidité de la poudre d'*Asparagus acutifolius* L.

En général, la poudre de plante a tendance à avoir un taux d'humidité très faible, souvent inférieur à 10%. Cela est dû au fait que les plantes sont généralement séchées à l'air libre pour éviter l'altération de leurs composants actifs.

III.1.3. Taux de cendre

Les résultats du taux de cendres d'*Asparagus acutifolius* L. montrent un pourcentage de 3.79 ± 0.20 % (**Fig. 07**). Cela indique que la quantité de matière inorganique présente dans cette plante est dans la plage acceptable selon les normes de AOAC (2000).

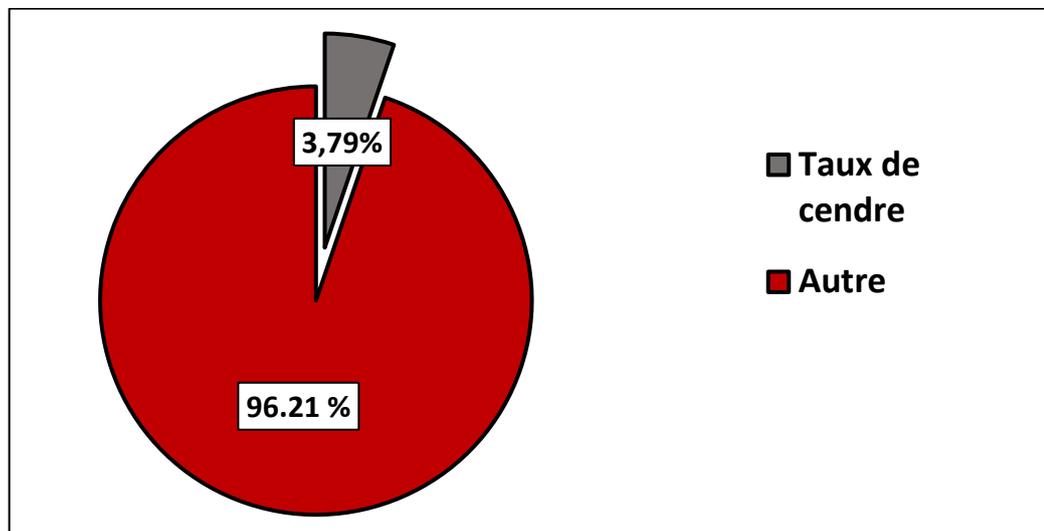


Figure 07 : Taux de cendre d'*Asparagus acutifolius* L.

Le taux de cendres dans l'espèce *Asparagus acutifolius* L. peut varier légèrement en fonction de divers facteurs telles que la méthode de culture, la région géographique.

III.2. Etude phytochimique

III.2.1. Rendement d'extraction

Dans la présente étude, quatre solvants ont été utilisés pour l'extraction des composés bioactifs à partir de toutes les parties de la plante *Asparagus acutifolius*. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction varie en fonction du solvant utilisé (**Fig. 08**).

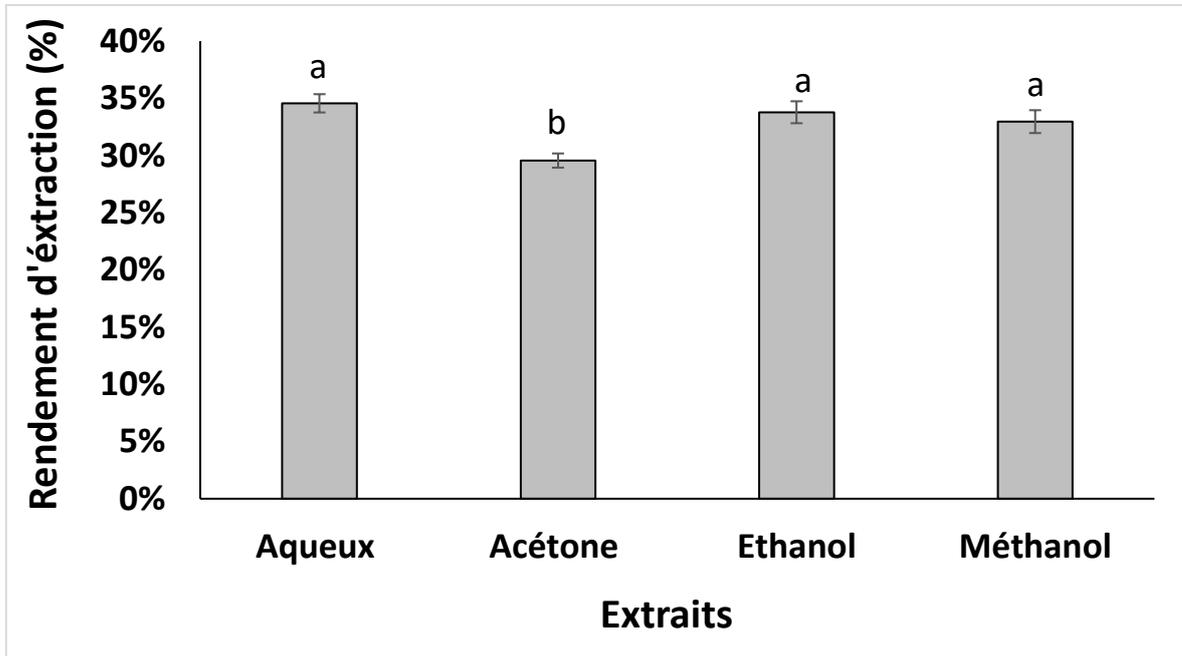


Figure 08 : Rendement d'extraction d'*Asparagus acutifolius* L. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à $p \leq 0.05$.

Les trois extraits : aqueux, éthanolique et méthanolique montrent les plus grandes valeurs avec des moyennes de $34.56 \pm 0.80\%$, $33.78 \pm 0.96\%$, et $32.96 \pm 1\%$, respectivement, alors que l'extrait acétonique donne le rendement le plus faible avec une valeur moyenne de $29.56 \pm 0.62\%$ ($p \leq 0.05$).

Les résultats obtenus sont largement supérieurs à ceux rapportés par **Terregghla et al. (2021)** qui ont appliqué la même méthode d'extraction et de l'éthanol 70% sur la plante *Asparagus officinalis* et qui ont un rendement d'extraction de l'ordre de 14.07 %.

III.2.2. Teneurs en polyphénols totaux

Les résultats de dosage des polyphénols montrent que les teneurs varient également en fonction des solvants utilisés (**Fig. 09**).

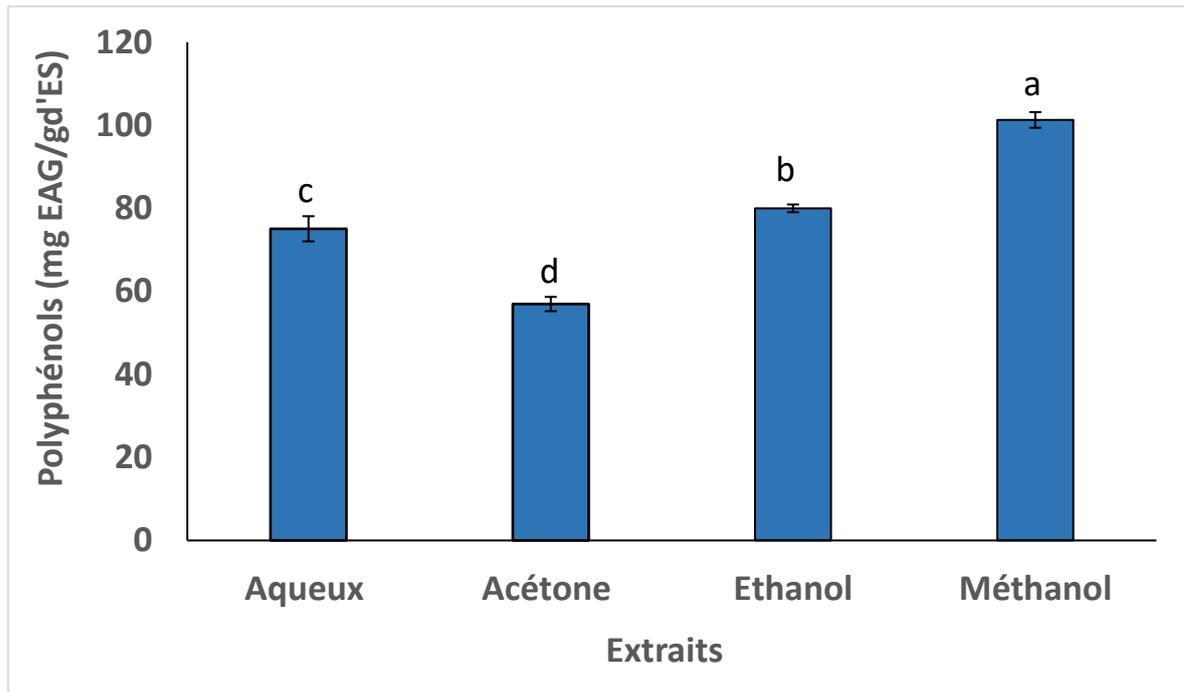


Figure 09 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* L. Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à $p \leq 0.05$.

La plus grande teneur en polyphénols a été enregistrée dans l'extrait méthanolique avec une valeur moyenne de 101.30 ± 1.89 mg EAG/g ES, suivi par l'extrait éthanolique (80 ± 0.94 mg EAG/g ES), puis l'extrait aqueux (75.07 ± 3.04 mg EAG/g ES) ($p \leq 0.05$). L'extrait acétonique a montré la teneur la plus faible (56.95 ± 7.72 mg EAG/g ES) ($p \leq 0.05$).

De manière générale, les résultats obtenus, dans la présente étude, sont supérieurs à ceux de **Kaska et al. (2018)** qui ont travaillé sur l'*Asparagus acutifolius* d'origine de Turkey et qui ont obtenu des valeurs moyenne de 54.10 ± 0.67 mg EAG/g ES avec l'extrait éthanolique et 24.92 ± 1.58 mg EAG/g ES avec l'extrait aqueux. De même, nos résultats semblent être supérieurs à ceux de **Sun et al. (2007)** qui ont appliqué du méthanol et de l'acétone sur l'espèce *Asparagus acutifolius* et qui ont détecté des valeurs de 4.9 ± 0.7 mg EC/g d'ES et 5.0 ± 0.5 mg EC/g d'ES), respectivement.

En raison de facteurs externes tels que la température et le climat, la génétique (la variété et l'origine des espèces), la physiologie (le stade de développement des plantes, les organes utilisés) et le temps de stockage, les teneurs en composés phénoliques varient sensiblement d'une espèce à l'autre et au sein de la même espèce (**Ksouri et al., 2009**).

III.2.3. Teneurs en flavonoïdes totaux

D'après les résultats obtenus, il apparaît là aussi que les teneurs en flavonoïdes totaux varient en fonction du solvant utilisé (**Fig. 10**).

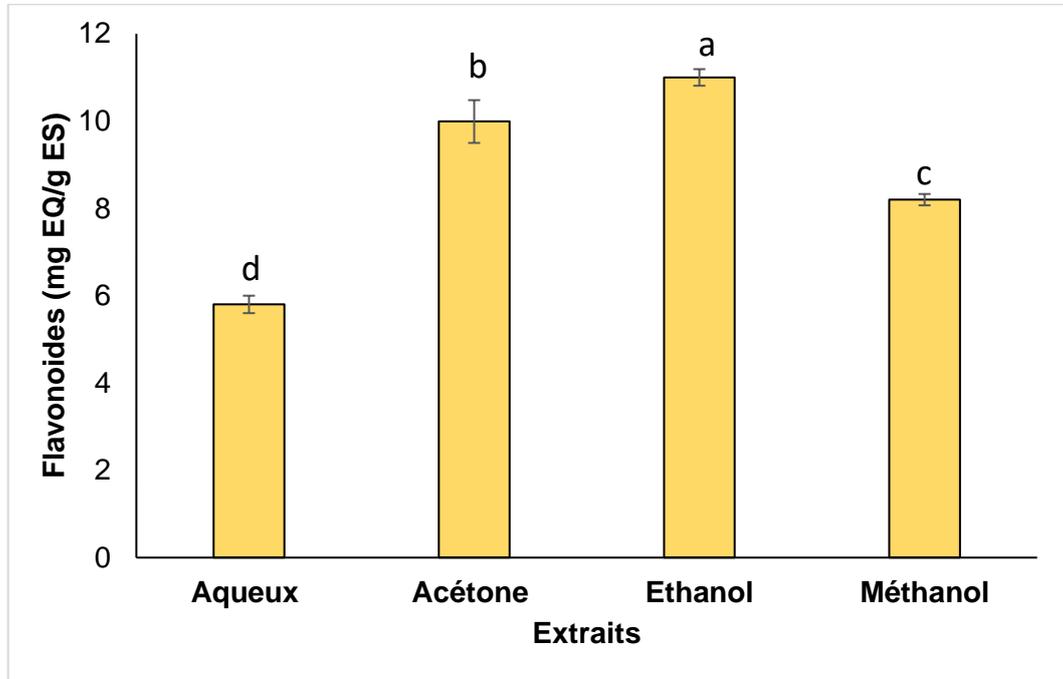


Figure 10 : Teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* L. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à $p \leq 0.05$.

L'extrait éthanolique a une grande concentration en flavonoïdes avec une valeur moyenne de 11 ± 0.19 mg EQ/g d'ES, suivi de l'extrait acétonique (9.99 ± 0.49 mg EQ/g d'ES) et de l'extrait méthanolique (8.20 ± 0.13 mg EQ/g d'ES). Ici, c'est plutôt l'extrait aqueux qui montre la plus faible teneur en flavonoïdes (5.80 ± 0.2 mg EQ/g d'ES) ($p \leq 0.05$).

Les résultats obtenus avec les extraits éthanolique et aqueux (11 ± 0.19 mg EQ/g d'ES et 5.80 ± 0.2 mg EQ/g d'ES) apparaissent inférieurs à ceux de **Kaska et al. (2018)** qui ont détecté des valeurs de 92.70 ± 0.21 et 21.87 ± 0.12 mg EQ/g d'ES, respectivement (en utilisant les mêmes solvants soit l'éthanol et l'eau). Quant aux résultats obtenus avec les extraits méthanolique et acétonique, ces derniers sont largement supérieurs à ceux de **Sun et al. (2007)** qui ont détecté des valeurs de 4.2 ± 0.3 mg ER/g d'ES et 4.7 ± 0.5 mg ER/g d'ES (en utilisant les mêmes solvants soit le méthanol et l'acétone).

III.3. Activité antioxydante

De nombreuses études ont démontré que les groupes hydroxyles au sein des composés phénoliques et flavonoïdes sont ceux qui confèrent leurs propriétés antioxydantes. **Heim et al. (2002)** rapportent que les effets antioxydants des substances naturelles sont dues aux composés phénoliques. **Yang et al. (2002)** estiment qu'il existe des relations entre les structures chimiques des composés phénoliques et leurs propriétés antioxydantes, de plus, la capacité de ces molécules à se lier aux radicaux libres dépend en grande partie à leurs structures (**Sokol-Letowska et al., 2007**).

III.3.1. Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH

Les résultats de ce test montrent que le pourcentage d'inhibition des extraits étudiés varie en fonction du solvant utilisé (**Fig. 11**).

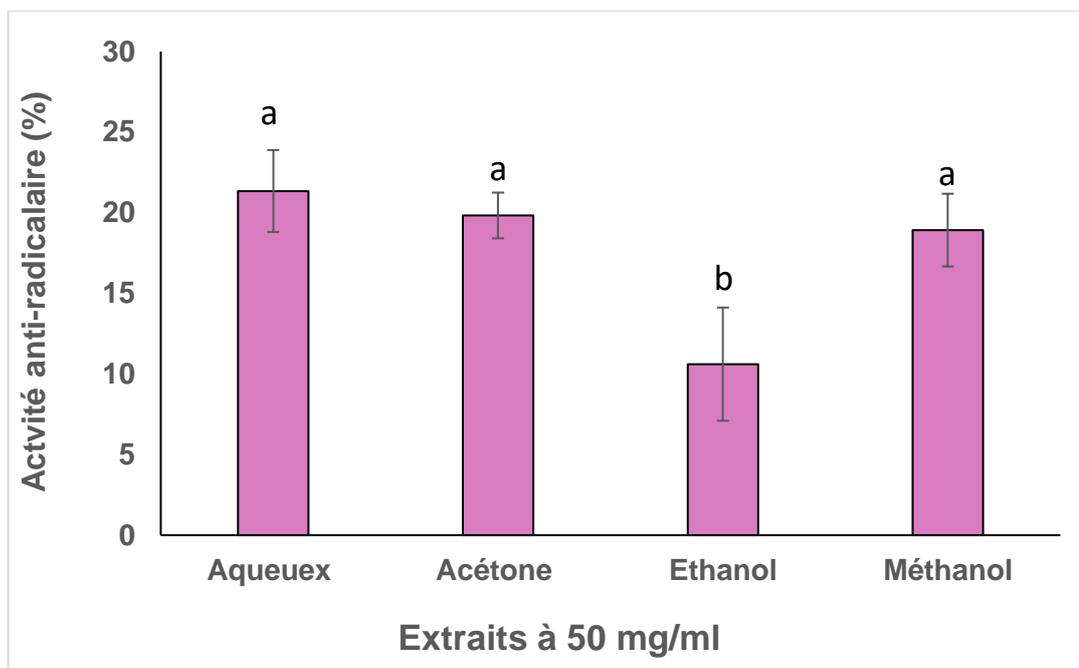


Figure 11 : Activité scavenger des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* L. à l'égard du radical DPPH. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à $p \leq 0.05$.

Les résultats obtenus à 50 μ g/mL révèlent que l'extrait aqueux a une grande activité antiradicalaire (21.34 \pm 0.03 %). L'extrait acétonique montre également une bonne activité scavenger 19.83 \pm 0.02%, suivi de l'extrait méthanolique avec une valeur de 18,83 \pm 0.03%. En fin L'extrait éthanolique a montré l'effet scavenger le plus bas (10.31 \pm 0.04%) ($p \leq 0.05$).

Les résultats obtenus dans notre travail sont tous supérieures à ceux trouvés par **Sun et al. (2007)**. Les pourcentages d’inhibition des extraits méthanolique, aqueux et acétonique ($18,83 \pm 0,03\%$, $21,34 \pm 0,03$ et $19,83 \pm 0,002$) apparaissent respectivement supérieure à ceux de **Sun et al. (2007)**. Qui ont détecté des valeurs de $17,4 \pm 4,1$, $10,9 \pm 2,3$ et $15,2 \pm 3$, en utilisant les mêmes solvants soit le méthanol, l’eau et l’acétone.

III.3.2. Pouvoir réducteur

Les résultats de ce test ont montré que le pouvoir réducteur des extraits étudiés varie en fonction du solvant utilisé.

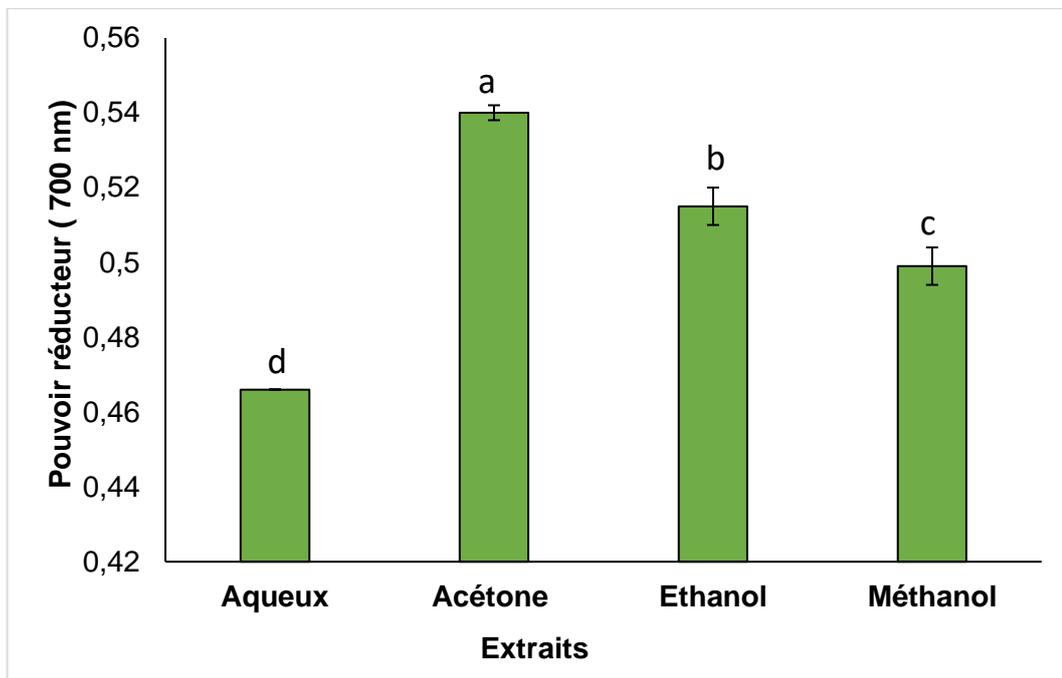


Figure 12 : Pouvoir réducteur des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* L. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type. Les lettres différentes indiquent une différence significative à $p \leq 0,05$.

Les résultats obtenus à $1000 \mu\text{g/mL}$ montrent que l’extrait acétonique semble être le plus actif avec une valeur moyenne de $0,540 \pm 0,005$, suivi de l’extrait éthanolique avec une valeur moyenne de $0,515 \pm 0,005$. L’extrait méthanolique présente une capacité réductrice de $0,499 \pm 0,002$ tandis que l’extrait aqueux montre la valeur la plus faible ($0,466 \pm 0,002$) ($p \leq 0,05$).

Conclusion

V. Conclusion

Cette étude a porté sur la plante *Asparagus acutifolius* L. qui appartient à la famille des Liliaceae. Cette famille regroupe des plantes médicinales très prisées pour leurs métabolites secondaires.

Le but du présent travail a consisté en l'étude physicochimique, phytochimique, et l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits préparés à partir de la plante entière (racines, cladodes, tiges) de l'espèce *Asparagus acutifolius* L. en utilisant différents solvants d'extraction.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que plante étudiée est riche en polyphénols, mais faible en flavonoïdes. L'extrait méthanolique a exprimé la teneur la plus élevée en polyphénols avec un important rendement d'extraction. Alors que l'extrait éthanolique a donné la plus forte concentration en flavonoïdes. D'autre part, l'étude du potentiel anti-radicalaire effectué par la méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a montré que cette plante exerce un important pouvoir antioxydant. En effet, l'extrait acétonique a montré le meilleur pouvoir réducteur, tandis que l'extrait aqueux a montré la plus forte activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH.

Références

Bibliographiques

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, D C. Agron. Fr (1), p12.

Ali, N. E., Kaddam, L. A., Alkarib, S. Y., Kaballo, B. G., Khalid, S. A., Higawee, A., ... & Saeed, A. M. (2020). Gum Arabic (Acacia Senegal) augmented total antioxidant capacity and reduced C-reactive protein among haemodialysis patients in phase II trial. *International Journal of Nephrology*.

Balasundaram, G., Sato, M., & Webster, T. J. (2006). Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials*, 27(14), 2798-2805.

Boubetra, K., Amirouche, N., & Amirouche, R. (2017). Comparative morphological and cytogenetic study of five Asparagus (Asparagaceae) species from Algeria including the endemic *A. altissimus* Munby. *Turkish Journal of Botany*, 41(6), 588-599.

Burits M., Bucar F. (2000). Antioxidant Activity of Nigella Sativa Essential Oil, *Phytotherapy.Res.*, 5(14), 323- 328. [http:// doi.org/ 10.1002/1099-1573\(200008\)14:53.0.CO; 2-Q](http://doi.org/10.1002/1099-1573(200008)14:53.0.CO;2-Q).

Dacosta Y. (2003). Les phyto nutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta, Paris, 317 p.

Daglia, M., Papetti, A., Mascherpa, D., Grisoli, P., Giusto, G., Lingström, P., ... & Gazzani, G. (2011). Plant and fungal food components with potential activity on the development of microbial oral diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011.

Desmier, T. (2016). *Les antioxydants de nos jours : définition et applications*. Thèse doctorat. Université limoge.

Dro, B., Soro, D., Koné, M. W., Bakayoko, A., & Kamanzi, K. (2013). Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17(3), 2631-2646.

Dutertre, M., Sanchez, G., Barbier, J., Corcos, L., & Auboeuf, D. (2011). The emerging role of pre-messenger RNA splicing in stress responses: sending alternative messages and silent messengers. *RNA biology*, 8(5), 740-747.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Fettah A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra. Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider, Biskra. 94p.

- Fukushi E, Onodera S, Yamamori A, Shiomi N, Kawabata J (2010)** NMR analysis of tri- and tetrasaccharides from asparagus. *Magn Reson Chem* 38:1005–1011.
- Gauche 1, É., & Hauswirth 1, C. (2006).** Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*, (2), 43-066.
- Hafizur RM, Kabir N, Chishti S (2012)** Asparagus officinalis extract controls blood glucose by improving insulin secretion and β -cell function in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Brit Jof Nutr* 108:1586–1595.
- Heim K.E., Taglia ferro A.R., Bobilya D.J. (2002):** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structureactivity relation ship; *Journal. Nutr. Biochem.* 13: 572-584.
- Jang DS, Cuendet M, Fong HHS, Pezzuto JM, Kinghorn AD (2004)** Constituents of Asparagus officinalis evaluated for inhibitory activity against cyclooxygenase-2. *J Agric Food Chem* 52:2218–2222
- Jain D.P., Pancholi S.S ., Rakesh Patel R. (2011).** Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2, 177–183.
- 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.
- Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Abdelly C. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte Tamarix gallica L. And related polyphenolic constituents. *Food and Chemical toxicology*, 47(8), 2083-2091.
- Kaska, A., Deniz, N., & Mammadov, R. (2018).** Biological activities of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.). *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(3), 243-251.
- Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 44, 307–315.
- 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.
- Sokol-Letowska A., Oszmiansk J., wojdylo A. (2007).** Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103: 853-859.
- Singleton V.L., Rossi J.A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture.* 16(3) : 144-1

Sun, T., Powers, J.R., Tang, J. (2007): Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 105: 101-106.

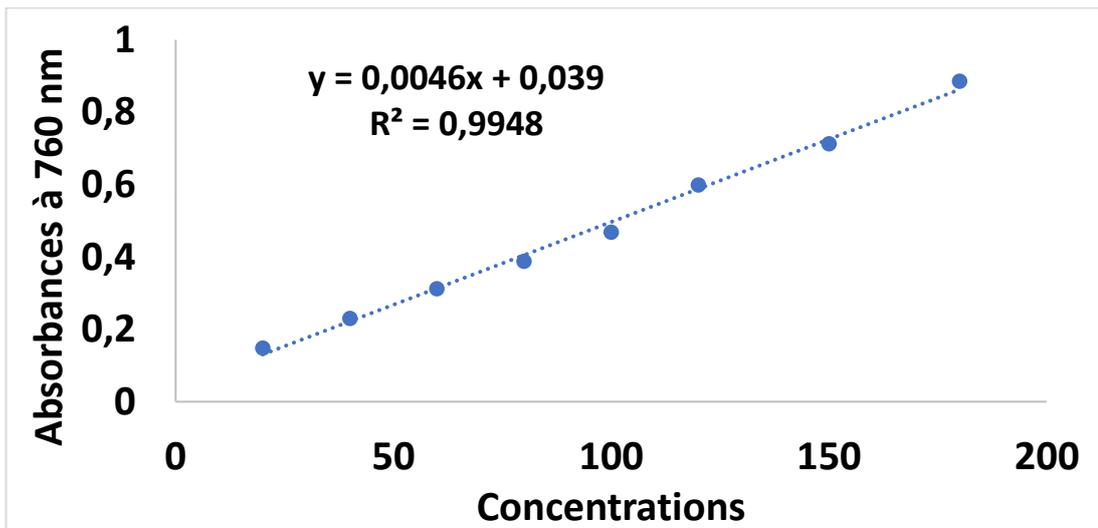
Terreghla, A., Ouldmaamar, A., Remili, S., & HOCEINI, A. (2021). *Évaluation de l'activité biologique des extraits de Globularia alypum et d'Asparagus officinalis récoltés de la wilaya de Médéa* (Doctoral dissertation).

Tsao R, Deng Z (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromatogr B* 812:85–99.

Yang J.H., Lin H.C., Mau J.L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry* 77: 229-235.

Annexes

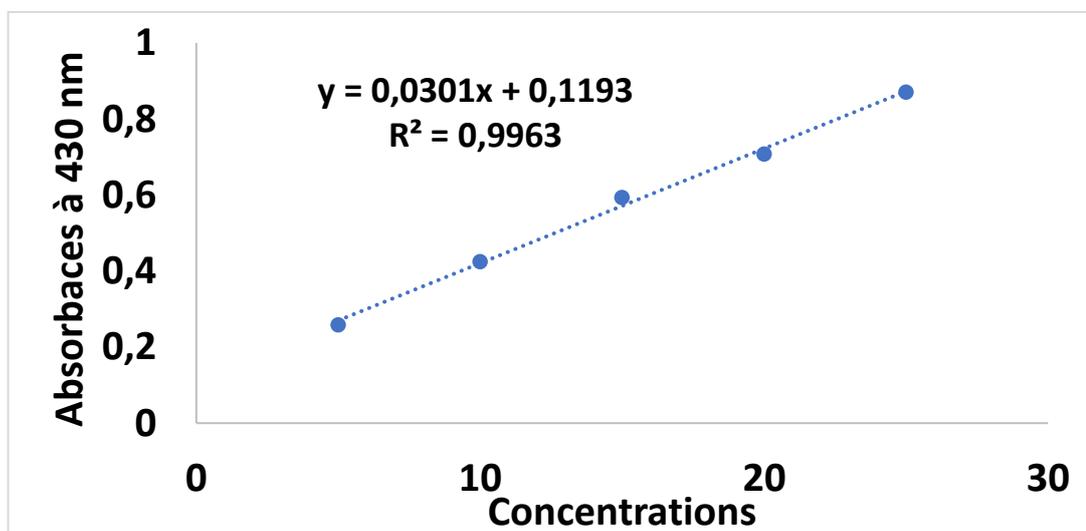
Annexe 01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



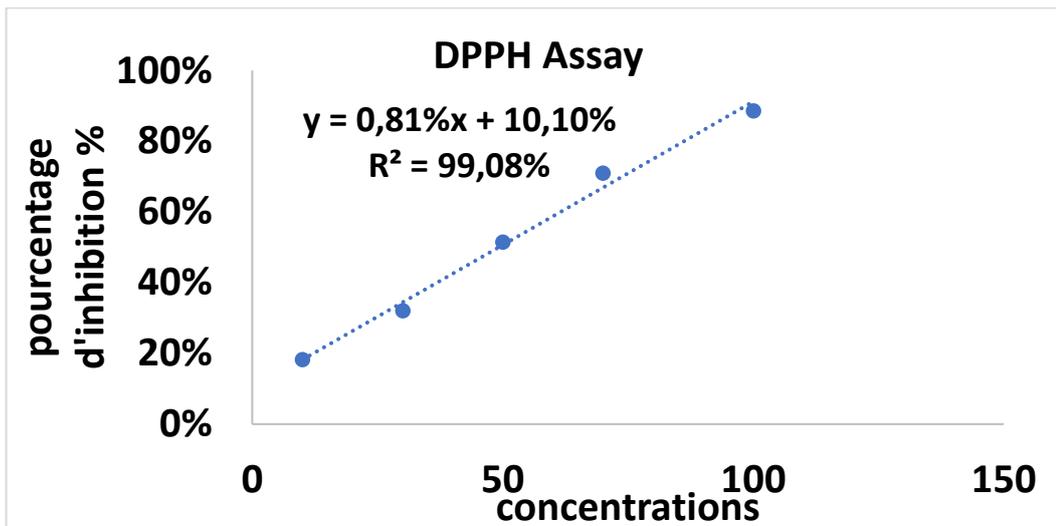
Annexe 02 : Image montrant les résultats de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.



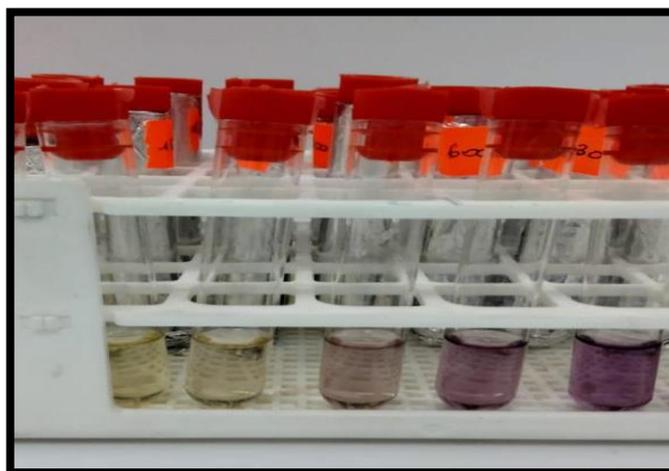
Annexe 03 : Courbe d'étalonnage de quercétine.



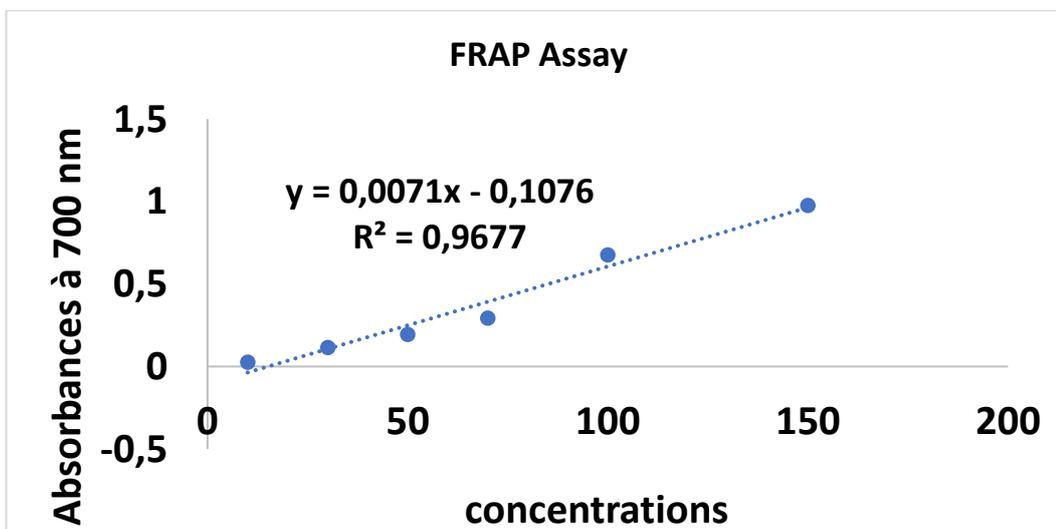
Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (DPPH).



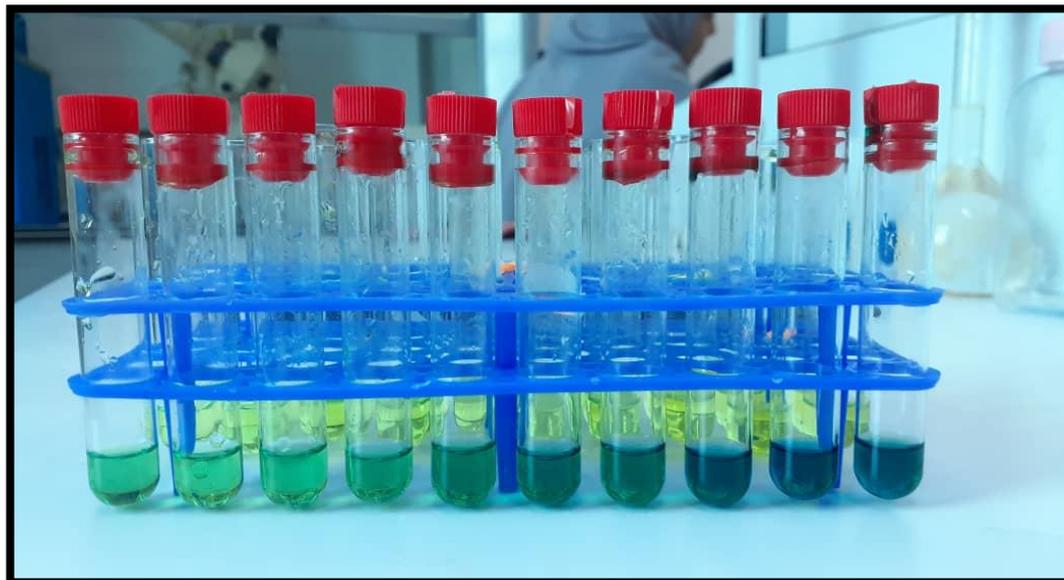
Annexe 05 : Image montrant les résultats de la gamme d'étalonnage de l'activité antioxydante.



Annexe 06 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.



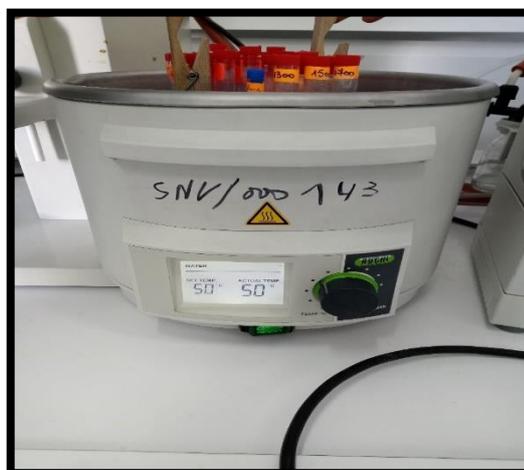
Annexe 07 : Image montrant les résultats de la gamme d'étalonnage du pouvoir réducteur.



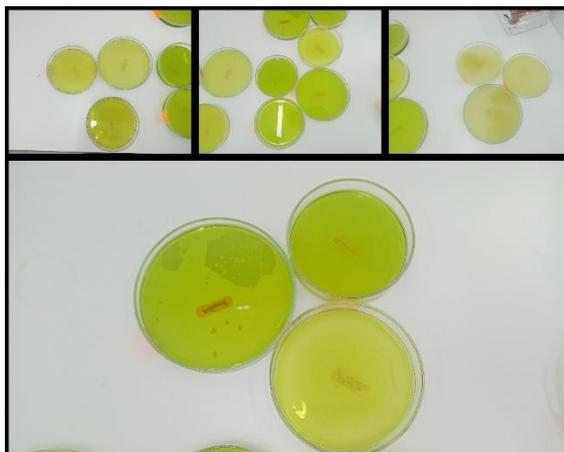
Annexe08 : Image montrant la mesure de solution **tampon** phosphate à l'aide de Ph mètre.



Annexe09 : Image montrant l'incubé des tubes à 50°C pendant 20 min.



Annexe10 : Image montrant les extraits obtenus avant les séchés à l'aide d'une étuve portée à 40°C.



Annexe 11 : Image montrant l'obtention d'une cendre blanche à l'aide d'un four à moufle.



Annexe12: Image montrant les résultats de pouvoir réducteur des différents extraits d'*Asparagus acutifolius* à une concentration 1000 $\mu\text{g/mL}$.



Résumé

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الدراسة الفيزيوكيميائية النباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات *Asparagus acutifolius* L. تم استخلاص المواد الفعالة باستخدام ميثانول 70% ، إيثانول 70% ، أسيتون 70% والماء. أجري التقييم الكيميائي النباتي عن طريق تحديد مجموع البوليفينول و الفلافونويد. تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة عن طريق الكسح الجذري لـ DPPH وتقليل الطاقة. أظهر التحليل الفيزيوكيميائي محتوى ماء يساوي 85% و محتوى رطوبة يساوي 9.93% ومحتوى رماد بنسبة 3.79%، بينما تم تسجيل أعلى مستويات البوليفينول في المستخلص الميثانولي بمتوسط 101.30 ± 1.89 mg EAG/g ES تم الكشف عن أعلى محتوى من الفلافونويد في المستخلص الإيثانولي (11 ± 0.19 mg EQ/g d'ES). أظهر المستخلص المائي نشاطاً قوياً مضاداً على الكسح الجذري لـ DPPH. في المقابل ، أظهر الأسيتون أعلى قوة للإرجاع (0.540 ± 0.005).

الكلمات المفتاحية: *Asparagus acutifolius* L. ، التحليل الفيزيوكيميائية ، الكيمياء النباتية ، النشاط المضاد للأكسدة .

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude physicochimique, phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Asparagus acutifolius*. L. L'extraction des substances actives a été réalisée en utilisant différents solvants (Méthanol, Ethanol, Acétone à 70%) et l'eau distillée. L'évaluation phytochimique a été effectuée par le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes. L'activité antioxydante a été testée par le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur. L'analyse physicochimique a révélé une teneur en eau de $85.35 \pm 4.27\%$, un taux d'humidité de la poudre égale à $9.93 \pm 0.10\%$ et un taux de cendre de $3.79 \pm 0.20\%$. L'espèce *Asparagus acutifolius*. L. est également riche en polyphénols où la plus avec une grande teneur a été enregistrée dans l'extrait méthanolique (101.30 ± 1.89 mg EAG/g ES). La plus grande teneur en flavonoïdes a été observée dans l'extrait éthanolique (11 ± 0.19 mg EQ/g d'ES). L'extrait aqueux a montré une forte activité antiradicalaire. En revanche, l'extrait acétonique a montré le pouvoir réducteur le plus élevé (0.540 ± 0.005).

Mots clés : *Asparagus acutifolius*. L, analyse physico-chimique, phytochimie, activité antioxydante.

Abstract

The aim of this work is the study of physicochemical, phytochemical and to evaluate the antioxidant activity of *Asparagus acutifolius*. L extracts. The extraction of the active substances was carried out using different solvents (Methanol, Ethanol, Acetone at 70%) and distilled water. The phytochemical evaluation was carried out by the dosage of total polyphenols and flavonoids. Antioxidant activity was tested by DPPH radical trapping and reducing power. Physicochemical analysis revealed a water content of $85.35 \pm 4.27\%$, a powder moisture rate equal to $9.93 \pm 0.10\%$, and an ashes rate of $3.79 \pm 0.20\%$. It was found that *Asparagus acutifolius*. L, was rich in polyphenols, the high content was recorded in methanol extract (101.30 ± 1.89 mg EAG/g ES). The highest content of flavonoids was found in ethanol extract (11 ± 0.19 mg EQ/g of ES). The aqueous extract showed a strong anti-radical activity. In contrast, acetone extract showed the best reducing power (0.540 ± 0.005).

Keys words: *Asparagus acutifolius*. L, physico-chemical analysis, phytochemistry, antioxidant activity.