

Etude phytochimique de quelques légumes consommés dans le Haut-Katanga (RD Congo) et évaluation de leur activité antioxydante

[Phytochemical study of some vegetables consumed in Haut-Katanga (DR Congo) and their antioxidant activity evaluation]

Mulungulungu N. Déogratias, Kalonda M. Emery, Mbayo K. Marsi, and Nsomp M. Mira

Département de Chimie,
Faculté des Sciences, Université de Lubumbashi,
Lubumbashi, RD Congo

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: This work aimed to make a phytochemical study of nine vegetables (*Adeniagummifera*, *Bidenspilosa*, *Celosia trigyna*, *Crassocephalumpicridifolium*, *Cleome monophylla*, *Fagarachalybeum*, *Solanumnigrum*, *Polygonumsalificolumand* *Ipomoea Aquatica*) consumed in Haut-Katanga and assess their antioxidant activity.

The phytochemical study showed that each specie contains at least three groups of substances including tannins (88.8%), anthocyanins (88.8%) and flavanoids (77.8%), saponins (77, 7%), alkaloids (44.4%), cyanogenic glycosides (44.4%) and terpenoids (33.3%).

The evaluation of the antioxidant activity showed that vegetables studied contain substances which are able to inhibit the action of free radicals as DPPH. Indeed, all the extracts inhibited DPPH with at least 19% during 10 or 30 minutes of incubation. Furthermore, evaluation of the effect of temperature has shown that antioxidants had reached a maximum concentration at 70°C. This varied between 0 and 0.803mg/mL

KEYWORDS: Phytochemical, vegetable, inhibition, antioxidant.

RESUME: Ce travail avait pour objectif de faire une étude phytochimique de neuf légumes (*Adeniagummifera*, *Bidenspilosa*, *Celosiatrigyna*, *Crassocephalumpicridifolium*, *Cleomemonophylla*, *Fagarachalybeum*, *Solanumnigrum*, *Polygonumsalificolum* et *IpomoeaAquatica*) consommés dans le Haut-Katanga et d'évaluer leur activité antioxydante.

L'étude phytochimique a montré que chaque espèce contient au moins trois groupes de substances parmi lesquels les tanins (88,8%), les anthocyanes (88,8%), les flavonoïdes (77,8%), les saponines (77,7%), les alcaloïdes (44,4%), les hétérosides cyanogènes (44,4%) et les terpénoïdes (33,3%).

La mise en évidence de l'activité antioxydante a montré que les légumes étudiés contiennent des substances capables d'inhiber l'action des radicaux libres comme le DPPH. En effet, tous les extraits ont inhibé le DPPH avec au moins 19% à 10 ou 30 minutes d'incubation. Par ailleurs, l'évaluation de l'effet de température a montré que les antioxydants avaient atteint un maximum de concentration à 70°C. Celle-ci a varié entre 0 et 0.803mg/mL.

MOTS-CLEFS: Phytochimique, légumes, inhibition, antioxydant.

1 INTRODUCTION

L'alimentation humaine devient de plus en plus variée. Certes elle permet de couvrir les besoins énergétiques de l'organisme et ceux du métabolisme basal mais suite aux avancées technologiques dans l'agroalimentaire l'homme se préoccupe de plus en plus dans la diète des aliments plus appétissants doués de bonnes caractéristiques organoleptiques mais négligeant beaucoup les aspects de sécurité nutritionnelle et la composition bromatologique détaillée des aliments. L'une des conséquences de ce type d'alimentation est l'apparition de maladies accentuant le vieillissement cellulaire et réduisant la durée de vie. Ces maladies en croissance proviennent notamment du stress oxydatif.

Le stress oxydatif dû aux radicaux libres est considéré comme une des principales causes de cancer et jouerait un rôle important dans les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, les maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébraux-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes. Il est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, les rhumatismes et autres affections symptomatiques [1].

La consommation des antioxydants ou des aliments riches en flavonoïdes et anthocyanosides, en acide ascorbique, en caroténoïdes est le plus souvent conseillée. Ceux-ci contribuent à la prévention de certains méfaits dus aux radicaux libres [2]. Ces éléments phytochimiques assurent aussi une protection exogène de l'organisme [3].

Toutefois, ces substances antioxydantes contenues dans les aliments sont instables et sensibles à la chaleur. Cette dernière déprime ou renforce leur action [4].

En effet, lors de la cuisson, certains antioxydants tels que la vitamine C sont inactivés, alors que d'autres se transforment pour devenir plus actifs ou plus facilement absorbables par le système digestif. C'est le cas des lycopènes de la tomate. La cuisson de la tomate augmente la quantité de lycopène biodisponible. Ainsi, il ya environ quatre fois plus de lycopène biodisponible dans la sauce tomate que dans la tomate fraîche [5]. La connaissance et la consommation de ces substances réductrices capables de réagir avec les radicaux libres peut être la base d'une lutte individuelle au développement des maladies ci haut citées.

Bien que la valeur nutritive de la plupart des feuilles comestibles en région zambézienne a été déterminée par Malaisse[6], il paraît opportun de déterminer les qualités des antioxydants y contenus et les facteurs déterminant les conditions de leur utilisation optimale. Ainsi l'objectif de ce travail est de procéder à l'étude phytochimique de neuf légumes consommés à Lubumbashi et d'évaluer l'activité antioxydante de leurs extraits.

2 MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal est composé de neuf espèces qui sont consommées comme légume à Lubumbashi et à Kipushi ainsi que dans leurs environs.

Tableau I. Espèces, parties consommées (PC) et noms vernaculaires

Nom scientifique	Famille	Nom vernaculaire	PC
<i>Adeniagummifera</i> (Harv.) Harms var <i>Gummifera</i>	Passifloraceae	Kimboyi (lala, lamba), Komboponoke (bemba), Abizingimba (hemba), Elobo (Luba), Mole (tshokwe), Mubunda (Pende),	Feuilles
<i>Bidenspilosa</i> L.	Asteraceae	Sokontwe (bemba), Lukontwe Nselatwende (luba), Yimbwarambwata (tshokwe, Minungu), Kanika (lala, lamba), Kashisha (Mashi), Musong (Kanyoka), Nsanon (Rund), Ngoloso (hemba)	Feuilles
<i>Celosiatrigyna</i> L.	Amarantaceae	Kisandji (lala, lamba, bemba), Madi-maban (kanyoka), Katuni (Rund), Katshikitshiki (luba, yanzi)	Feuilles
<i>Crassocephalumpicridifolium</i> (DC.) S. Moore	Asteraceae	Kati kula (lala, lamba, bemba)	Feuilles
<i>Cleomemonophylla</i> L.	Capparaceae	Sosa (lala, lamba, bemba)	Feuilles
<i>Fagarachalybeum</i> Engl.	Rutaceae	Pupwekyulu (lamba, bemba)	Feuilles
<i>Solanumnigrum</i> L.	Solanaceae	Ndulwe (lala, lamba, bemba), mutete (swahili), Katet (Rund, ndembo, tshokwe)	Feuilles
<i>Polygonumsalicifolium</i> Brouss. Ex Wild	Polygonaceae	Musona (bemba), funte (lala, lamba, aushi)	Feuilles
<i>Ipomoea aquatica</i> forssk	Convolvulaceae	Kalembuila (bemba), Mulapalala (lala, lamba, ndembo, rund), lolwe (luba), matembeleyamayi (Swahili RDC)	Feuilles

3 METHODES

3.1 RECHERCHE DES ALCALOÏDES

1g de poudre de matière végétale sèche est macérée dans 10ml de méthanol à la température ambiante pendant 24 heures ou à 50°C pendant 4 heures. La solution obtenue est filtrée et est évaporée à sec à 40°C. Le résidu est repris par 2 fois 2ml de solution chaude d'acide chlorhydrique 1% et est ensuite filtré. La solution acide obtenue est alcalinisée par l'ammoniaque concentrée dans une ampoule à décanter et extraite par 3 fois avec 4 ml de chloroforme. Les phases organiques combinées sont évaporées à sec et le résidu, repris par 0,5ml de chloroforme, est transféré dans un tube à hémolyse. Ajouter dans ce tube 0,5ml de HCl 1% et agiter pour mélanger. Les alcaloïdes protonés se trouvent dans la phase aqueuse qui est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur. Six gouttes sont déposées sur une lame porte-objet. Chacune de ces gouttes est traitée par l'un des six réactifs de précipitations (Réactif de Dragendorff, de Mayer, de Wagner, de Sonneschein, de Hager et de Bertrand). La présence d'alcaloïdes n'est considérée comme certaine que si chacun des six réactifs donne un précipité. La méthode permet de détecter des teneurs d'alcaloïdes inférieures à 0,01% sur une prise d'échantillon de 1g (Lumbu et al., 2005).

3.2 RECHERCHE DES ANTHOCYANES ET DES FLAVONOÏDES

5g de matériel végétal sont infusés dans 50ml d'eau distillée pendant 30 minutes. Après filtration, 5ml de filtrat sont traités par l'alcool éthylique à 94%, additionnés successivement de 5ml d'eau distillée, 5ml de HCl, quelques gouttes d'alcool isoamylique et 0,5g de copeaux de magnésium. Une coloration rose-orangé, rouge ou rouge violet apparaît dans la couche surnageante si la solution contient des flavonoïdes. De même, la réaction effectuée pendant deux minutes au bain-marie en l'absence de copeaux de magnésium permet la caractérisation des anthocyanes lorsqu'apparaît une coloration rouge [7-8].

3.3 RECHERCHE DES HÉTÉROSIDES CYANOGENES

5g de poudre végétale sont placés dans un erlenmeyer avec 10ml d'eau distillée. Fermer l'erlenmeyer avec un bouchon auquel est fixée une bandelette de papier picrosodé légèrement humectée d'eau. Chauffer légèrement la solution. Le papier picrosodé jaune vire à l'orange ou au rouge si l'extrait végétal dégage de l'acide cyanhydrique [7-8].

3.4 RECHERCHE DES QUINONES

5g de matériel végétal en poudre sont macérés pendant 24 heures dans l'éther de pétrole. Après filtration, 10ml de filtrat sont traités par 5ml de NaOH 1%. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence d'hydroxy-anthraquinones dans la solution [7-8].

3.5 RECHERCHE DES TANINS

5g de matériel sont infusés dans 50ml d'eau dans un erlenmeyer pendant 30 minutes. 5ml de l'infusé sont filtrés, transférés dans un tube à essai et additionnés d'un ml de chlorure ferrique 1%. Le test est positif lorsqu'un précipité ou une coloration (bleu - vert, bleu sombre ou vert) apparaît. 15ml de réactif de Stiasny sont ajoutés à 30ml de l'infusé. Le mélange est porté au bain-marie à 90 °C. L'apparition d'un précipité indique la présence de tanins catéchiques (procyanidols). La solution est ensuite filtrée. Le filtrat est saturé d'acétate de sodium avant d'y ajouter quelques gouttes de chlorure ferrique. La formation d'un précipité révèle la présence de tanins galliques [7-8].

3.6 RECHERCHE DES SAPONINES

Dans un erlenmeyer, peser 10g de matière végétale. Ajouter 100ml d'eau distillée. Porter le tout à l'ébullition pendant 30 minutes. Refroidir et filtrer la solution. Recueillir 15ml du filtrat. Verser ensuite ce filtrat dans un tube à essai de 16mm de diamètre et 160mm de hauteur. Agiter le contenu pendant 10 secondes. Laisser reposer la solution pendant 10 minutes et mesurer la hauteur de la mousse. En cas d'une hauteur de mousse inférieure à 10mm, y ajouter le mélange H₂SO₄ et K₂Cr₂O₇ 10%. L'apparition d'une coloration vert- sale indique la présence des saponines [7-8].

3.7 RECHERCHE DES STEROÏDES ET TERPENOÏDES

5g de matériel végétal sont macérés pendant 24 heures dans l'éther de pétrole. Après filtration, le solvant est évaporé à sec. Au résidu obtenu, on ajoute successivement en agitant 2ml de chloroforme, 0,5ml d'anhydride acétique et trois gouttes d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration mauve ou verte indique la présence des stéroïdes. L'identification des terpenoïdes suit le même schéma que celui des stéroïdes. En plus du test utilisé pour la recherche des stéroïdes, quelques gouttes du réactif de Hirschson sont ajoutées à 4 ou 5ml de la solution acidifiée. Une coloration jaune virant au rouge indique la présence de terpenoïdes[7-8].

3.8 EXTRACTION DES ANTHOCYANES

Les anthocyanides sont solubles dans l'eau et dans l'alcool mais ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et ils sont instables en milieu neutre ou alcalin. Leur extraction est classiquement réalisée par un alcool (méthanol); l'éthanol est préféré si le produit est destiné à l'usage alimentaire) Macérer à l'éther de pétrole 50 g de matières végétales placées dans un erlenmeyer de 450 ml pendant 48 h.

Filtrer, évaporer sous pression réduite et laver le marc à l'aide du mélange acétone, MeOH/métabisulfite de sodium (2÷7÷0,5%). Filtrer et laver le résidu par le mélange Acétone/MeOH/Ac tartrique : (2÷7÷1%) selon la méthode décrite par Ribéreau-Gayon[9] et complétée par Merghem[10].

3.9 IDENTIFICATION DES ANTIOXYDANTS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Dissoudre 10mg de chacune des fractions ou de l'extrait dans 1ml du solvant approprié et filtrer si nécessaire pour obtenir un mélange homogène. Sur plaque de silicagel₆₀₂₅₄ de format 10×10 cm, déposer 5µl de solution de chaque fraction ou extrait et 2µl de chaque substance de référence à l'aide des microcapillaires. Après séchage des plaques à l'air libre, elles sont placées dans les cuves de migration contenant l'éluant : Hexane-Acétate d'éthyle (1÷1), Dichlorométhane-méthanol-Eau (65÷35÷5) et Hexane-Acétate d'éthyles-méthanol-acide acétique (6÷3÷1÷0,5). Incuber pendant 10 et 30 minutes dans le noir à la température ambiante. Révéler sous une lampe UV à 254 et 366 nm avec une solution de DPPH 2mg/ml dans le méthanol. En présence de substances antioxydantes, le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre au jaune [11].

3.10 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques a été réalisée selon la méthode décrite par Gerald et ses collaborateurs[12], en présence de 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH), en utilisant la quercétine comme antioxydant de référence (Ahmet, 2009 ; Gerald, 2011) et la lecture est faite à l'aide d'un spectrophotomètre Hach Drell 4000.

Dans des tubes à essai, introduire 5ml de la solution méthanolique de DPPH et 50µl de l'extrait méthanolique de l'échantillon. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à la température ambiante pendant 10 et 30 minutes. La mesure de l'absorbance à 517nm est effectuée au spectrophotomètre. Commencer par la lecture du blanc qui est la solution de DPPH et poursuivre la lecture des échantillons [13]. Les résultats peuvent être exprimés en tant que activité anti-radicalaire ou inhibition des radicaux libres en pourcentage (%) en utilisant la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{(Abs\ blanc - Abs\ échantillon)}{Abs\ blanc} \times 100$$

Avec : I (%) = Pouvoir inhibiteur de l'extraits sur le DPPH en pourcentage ; Abs blanc= Absorbance du blanc et Abs Echantillon= absorbance de l'échantillon ;

3.11 EVALUATION DE LA DEGRADATION DES ANTIOXYDANTS

Les extraits ont été obtenus par macération dans le méthanol pendant 24 heures. Prendre 2mg de l'extrait le dissoudre dans 10 ml de méthanol. Chauffer à 50, 70 et 90°C pendant 40 minutes et 1heures 30 minutes. Prélever 25µl de l'extrait méthanolique, y ajouter 2,5µl de la solution méthanolique de DPPH à 0,004% et incuber pendant 30 minutes. On procède ensuite à la lecture des absorbances des étalons d'abord et ensuite des échantillons [14].

4 RESULTATS

4.1 MISE EN EVIDENCE DES GROUPES DES SUBSTANCES

L'identification des groupes des substances est faite à l'aide des réactifs appropriés par des tests de coloration et de précipitation pour mettre en évidence les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les hétérosides cyanogènes, les quinones, les anthocyanes les stéroïdes et les terpénoïdes etc. Les résultats de cette analyse sont repris dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II. Résultats du criblage chimique des plantes étudiées

Echantillon		Alc	Tan	Flav	Anth	Qun	Sap	Ste	Ter	Hcn	Resultats +	
											Nbre	%
<i>Adeniagummifera</i>	AdG	-	+	++	++	-	++	+	-	+	6	66,67
<i>Bidenspilosa</i>	BiP	+	+	++	++	-	+	+	+	-	6	66,67
<i>Celosiatrigyna</i>	CeT	-	+	+	+	-	+	-	-	+	5	55,56
<i>C. picridifolium</i>	CrP	-	+	+	+	-	+	-	-	-	3	33,33
<i>Cleomemonophylla</i>	CIM	-	+	-	+	-	-	-	-	+	3	33,33
<i>Fagarachalybeum</i>	FaX	+	+	++	+	-	+	+	+	-	6	66,67
<i>Solanumnigrum</i>	SoN	+	-	+	+	-	+	-	-	+	5	55,56
<i>Polygonumsalicifolium</i>	PoS	-	+	-	-	-	+++	+	+	-	4	44,44
<i>Ipomoeaaquatica</i>	IpA	+	+	+	+++	-	-	+	-	-	5	55,56
Nombre des Résultats +		4	8	7	8	0	7	5	3	4		
% des Résultats +		44,4	88,9	77,8	88,9	0	77,8	55,6	33,3	44,4		

Légende : + présence ; - : Négatif

Il ressort de ce tableau que les extraits contiennent au moins trois groupes de substances. Le groupe des métabolites secondaires le plus abondants sont ceux des tanins (88,8%), des anthocyanes (88,8%), les flavonoïdes (77,8%) et des saponines (77,7%). Par ailleurs les groupes rares dans les légumes analysés sont alcaloïdes (44,4%), les hétérosides cyanogènes (44,4%) et les terpénoïdes (33,3%).

4.2 IDENTIFICATION DES SUBSTANCES ANTIOXYDANTES

En présence de substances antioxydantes, le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre à la couleur jaune sur plaque CCM. Ce test est également une indication de l'activité antiradicalaire des extraits étudiés.

Tableau III. Identification des antioxydants par CCM dans les systèmes :

Echantillon	Rf			Coloration			Résultat		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
<i>Adeniagummifera</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>Bidenspilosa</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>Celosiatrigyna</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>Crassocephalumpicridifolium</i>	0	0,510	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	++	+
<i>Cleomemonophylla</i>	0	0,612 et 0,816	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	++	+
<i>Fagarachalybeum</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>Solanumnigrum</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>Polygonumsalicifolium</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	+	+	+
<i>IpomoeaAquatica</i>	0	0	0	Jaune	Jaune	Jaune	++	+	++

A : Hexane/Acétate d'éthyle (1÷1) ; B : DCM/ Méthanol/eau (65÷35÷5) et C : DCM/AcOEt/MeOH/AcOH (6÷3÷1÷0,5)

Le développement des plaques chromatographiques et la révélation par la solution de DPPH ont montré que les extraits des systèmes A,B,C contiennent des composés à effet antioxydant. Cependant, le système utilisé n'a pas permis de séparer ces derniers. Cela se traduit par le non décolllement des spots dans l'ensemble sur la ligne de base.

Les composés antioxydants sont plus abondants dans *Crassocephalumpicridifolium* et *Cleomemonophylla*. Dans ces deux espèces, on a observé les Rf de 0,510 pour *Crassocephalumpicridifolium* et de 0.612 et 0.816 pour *Cleomemonophylla* et des colorations jaunes plus intenses.

Le troisième système a montré que la concentration des substances antioxydantes est plus élevée dans *Ipomoeaaquatica*.

4.3 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

L'évaluation de l'activité antioxydante est basée sur le pouvoir inhibiteur d'un extrait sur le DPPH. Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité anti radicalaire ou pourcentage de DPPH restant. Ce pourcentage de DPPH permet d'utiliser le paramètre IC₅₀ qui est défini comme la concentration de substrat qui cause une perte de 50% d'activité de DPPH. Les résultats sont consignés dans le tableau VI ci-dessous.

Tableau IV .Evaluation de l'activité antioxydante à 10 et 30 minutes d'incubation

Echantillon	ABS blanc	Abs Extrait		% Inhibition	
		10 min	30min	10 min	30min
<i>Adeniagummifera</i>	0,056	0,040	0.036	28.57	35.71
<i>Bidenspilosa</i>	0,056	0,045	0.042	19.64	25.00
<i>Celosiatrigyna</i>	0,056	0,040	0.043	28.57	23.21
<i>Crassocephalumpicridifolium</i>	0,056	0,042	0.040	25.00	28.57
<i>Cleomemonophylla</i>	0,056	0,043	0.041	23.21	26.79
<i>Fagarachalybeum</i>	0,056	0,043	0.043	23.21	23.21
<i>Solanumnigrum</i>	0,056	0,043	0.040	23.21	28.57
<i>Polygonumsalicyfolium</i>	0,056	0,044	0.042	21.43	25.00
<i>Ipomoeaaquatica</i>	0,056	0,040	0.038	28.57	32.14
Quercétine	0,056	0,024	0,024	57,14	57,14

L'évaluation de l'effet inhibiteur des composés antioxydants des extraits sur le DPPH, a montré que *Adeniagummifera*, *Celosiatrigyna* et *IpomoeaAquatica* ont montré que leurs extraits ont inhibé le DPPH à 28,57%. Par ailleurs, *Bidenspilosa* a montré le plus faible pouvoir inhibiteur sur le DPPH (19,64%) de tous les extraits étudiés à 10 minutes d'incubation.

Après trente minutes d'incubation des extraits avec le DPPH, on a observé que les composés antioxydants ont inhibé le DPPH à 35,71% pour les extraits de *Adeniagummifera*, à 31,14% pour les extraits de *IpomoeaAquatica* et à 28,57% pour les extraits de *Crassocephalumpicridifolium* et de *Solanumnigrum*. Par contre, *Celosiatrigyna* et *Fagarachalybeum* ont inhibé le DPPH avec le plus faible pouvoir (21,57%) de tous les extraits étudiés.

4.4 EVALUATION DE LA DEGRADATION DES ANTIOXYDANTS EN FONCTION DE LA TEMPERATURE ET DU TEMPS

Nous suivons la variation de la quantité des antioxydants, en fonction du temps d'extraction et de la température de cuisson dans le but de se situer dans les conditions des consommateurs et d'évaluer la biodisponibilité des antioxydants au moment des transformations culinaires éventuelles.

Tableau V. Effet des températures sur les antioxydants durant 40 et 90 minutes de chauffage

Espèce	Concentration en mg par ml					
	50°C		70°C		90°C	
	40 min	90 min	40 min	90 min	40 min	90 min
<i>Adeniagummifera</i>	0,510	0,408	0,320	0,480	0,276	0,245
<i>Bidenspilosa</i>	0,586	0,612	0,663	0,803	0,694	0,427
<i>Celosiatrigyna</i>	0,561	0,459	0,586	0,510	0,019	0,587
<i>Crassocephalumpicridifolium</i>	0,485	0,306	0,586	0,816	0,240	0,560
<i>Cleomemonophylla</i>	0,408	0,306	0,433	0,530	0,106	0,507
<i>Fagarachalybeum</i>	0,561	0,153	0,280	0,020	0,347	0,347
<i>Solanumnigrum</i>	0,485	0,561	0,586	0,897	0,320	0,614
<i>Polygonumsalificolum</i>	0,714	0,688	0,510	0,897	0,480	0,587
<i>Ipomoea aquatica</i>	0,000	0,356	0,332	0,492	0,230	0,560

Au regard des concentrations, il ressort de ce tableau que la température dégrade les antioxydants dans les extraits de certaines espèces. Toutefois, pour certaines espèces notamment *Celosiatrigyna*, *Crassocephalumpicridifolium*, *Cleomemonophylla*, *Solanumnigrum*, on a observé un effet contraire. Cependant pour *Fagarachalybeum*, on a observé une décroissance de la concentration en passant de 50°C à 70°C, puis une augmentation de la concentration en passant de 70°C à 90°C.

5 DISCUSSION

5.1 MISE EN EVIDENCE DES GROUPES DES METABOLITES

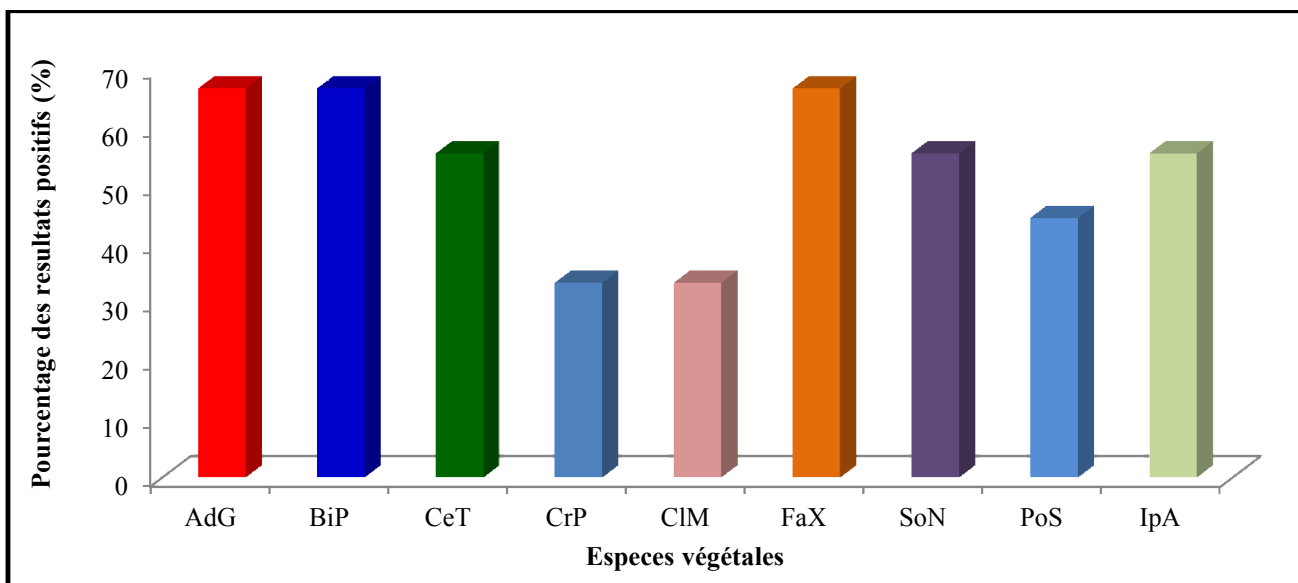


Figure 1. Répartition des pourcentages positifs dans les espèces étudiées

Les plantes étudiées peuvent être groupées en trois catégories : les plantes qui ont réalisé 66,6% des résultats positifs. Ce sont les espèces les plus pourvues. Il s'agit de *Adeniagummifera*, *Bidenspilosa* et *Fagarachalybeum*. Elles sont suivies des espèces qui ont réalisé 55,5% des résultats positifs (*Celosiatrigyna*, *Solanumnigrum* et *Ipomoea aquatica*). Les espèces qui ont obtenu 33,3% des résultats positifs sont les moins pourvues en métabolites secondaires bioactifs (*Crassocephalumpicridifolium* et *Cleomemonophylla*).

La divergence phytochimique des espèces étudiées pourrait être justifiée par le fait que leur composition chimique est fonction de la période de récolte, de l'âge à la récolte, de la nature du sol et des autres caractéristiques physiques et biologiques de l'écosystème [15].

Par ailleurs, l'abondance des groupes des substance par rapport au nombre des tests réalisés est représentée sur le graphique de la figure 2 ci-dessous.

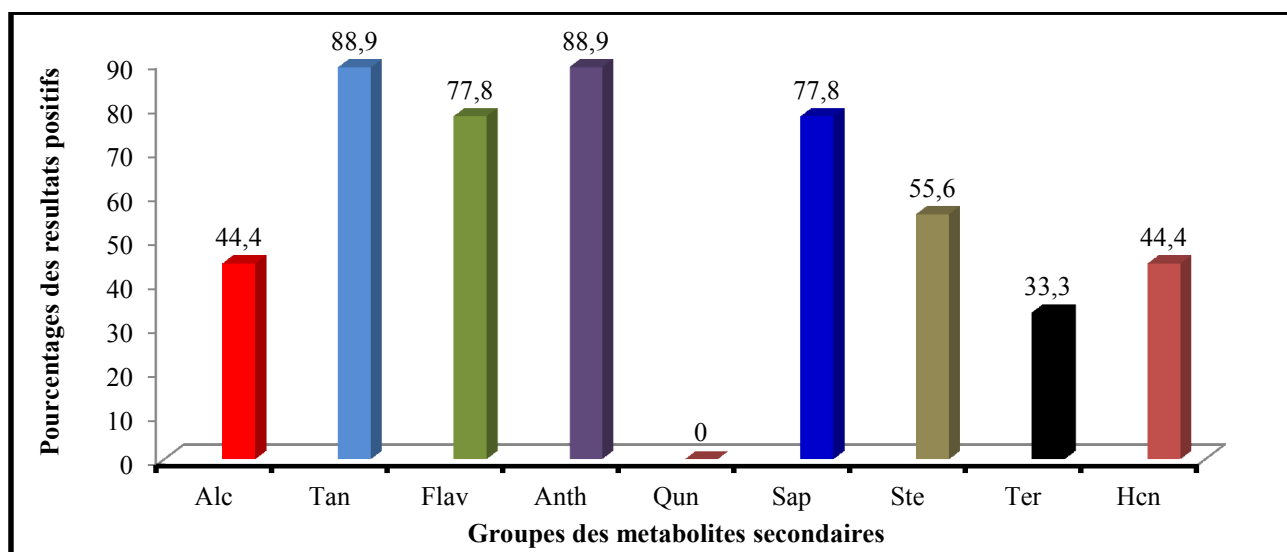


Figure 2. Pourcentage des positifs dans les espèces étudiées.

L'observation de la figure 2 ci-dessus montre que les anthocyaes (88,9%), tanins (88,9%), les flavonoides (77,8%) et le Saponines (77,8%) sont les groupes des métabolites secondaires les plus abondantes dans les espèces étudiées. Par revanche, quinones n'ont pas été identifiées dans les espèces étudiées.

Les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins sont les composés les plus abondants dans les espèces étudiées. En effet, ces composés polyphénoliques, reconnus comme d'excellents antioxydants [2], jouent un rôle important dans le système de défense. Ils sont, en outre, connus comme ayant des propriétés biologiques diverses.

5.2 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques a été réalisée selon la méthode décrite par Gerald et collaborateurs, en présence de 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH), en utilisant la quercétine comme antioxydant de référence [12-13] et la lecture est faite à l'aide d'un spectrophotomètre Hach Drell 4000. Les résultats obtenus et repris dans le tableau IV ont permis de tracer les graphiques ci-dessous.

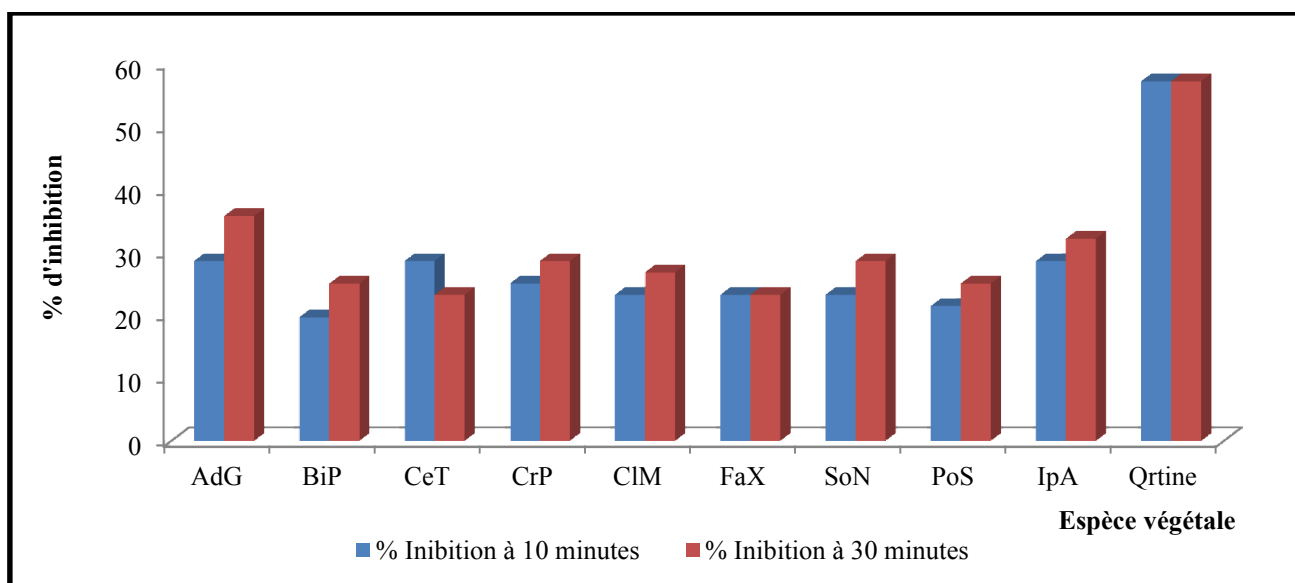


Figure 3. Comparaison du pourcentage d'inhibition des différents extraits

Le temps d'incubation a un effet positif sur l'effet inhibiteur de la DPPH en passant de 10 à 30 minutes. C'est ainsi que pour la majorité des extraits on est passé de la plus faible inhibition à 10 minutes à une inhibition améliorée après 30 minutes d'incubation avec le DPPH. Ainsi pour la majorité des extraits, le pouvoir inhibiteur est passé de 19 à 28% après 10 minutes d'incubation et de 23 à 35% après 30 minutes. Toutefois, le temps d'incubation n'a eu aucun effet sur le pouvoir inhibiteur de la quercétine (57,14% de 10 à 30 minutes d'incubation) et sur les extraits de *Fagarachalybeum* (23,21% pendant 10 et 30 minutes d'incubation) ainsi que pour les extraits de *Celosiatrigyna* (28,5% à 10 minutes à 23,21% à 30 minutes d'incubation) qui ont manifesté une inhibition décroissante vis-à-vis du DPPH en passant de 10 à 30 minutes d'incubation. L'augmentation du pouvoir inhibiteur en passant de 10 à 30 minutes pourrait être justifiée par le fait que l'on donne beaucoup plus de temps de contact et de réaction entre les substances antiradicalaires contenues dans les extraits et le DPPH.

Par ailleurs, les extraits de *Adeniagummifera* ont montré le plus haut pouvoir inhibiteur vis-à-vis du DPPH (28,57% à 10 minutes et 35,71% à trente minutes d'incubation). Le plus faible effet inhibiteur a été observé avec les extraits de *Bidenspilosa* à 10 minutes (19,64%) ainsi que de *Celosiatrigyna* et de *Fagarachalybeum*(23,21%) à 30 minutes.

5.3 EFFET DE TEMPERATURE SUR LA CONCENTRATION DES ANTIOXYDANTS

Les essais de dosage des antioxydants dans les extraits méthanoliques avaient pour but de travailler dans les conditions des consommateurs et de rentabiliser la biodisponibilité au moment des transformations éventuelles. Les résultats obtenus ont été représentés par la figure 4 ci-dessous.

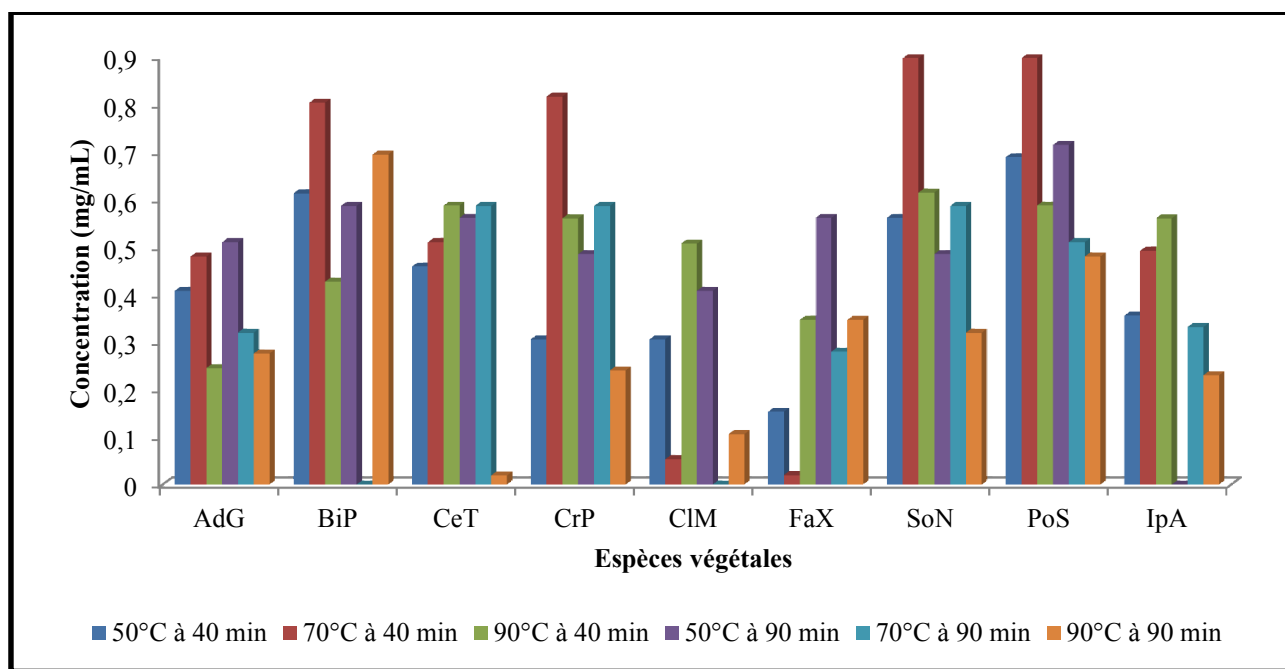


Figure 4. Effet de la température sur la concentration des antioxydants

Le chauffage des extraits à 50°C, 70°C et 90°C durant 40 et 90 minutes a montré la disponibilité des antioxydants dans les extraits a atteint le maximum à 70°C pour la majorité des espèces étudiées. Cependant pour d'autres espèces, on a observé que le maximum a été atteint à 90°C. C'est le cas de *Bidenspilosa* (0.586mg/mL à 50°C, 0.663mg/mL à 70°C et 0.694mg/mL à 90°C) durant 40 minutes et de *Ipomoeaaquatica* (0.365mg/mL à 50°C, 0.492mg/mL à 70°C et 0.560mg/mL à 90°C) durant 90 minutes de chauffage.

Plusieurs études ont indiqué que l'extraction prolongée de substances antioxydantes conduit à une diminution de la teneur en composés phénoliques des extraits bruts en raison de l'oxydation de ces composés en prolongeant l'exposition à des facteurs environnementaux tels que la lumière et de l'oxygène [16-17].

Les disparités de concentration pourraient être expliquées par la seconde loi de diffusion de Fick, qui prédit que, après un certain temps, il y aura un équilibre final entre le soluté dans la matrice solide (échantillon de plante) et dans la solution (solvant d'extraction) [18]. Par conséquent, la concentration en antioxydants observée est fonction de la composition chimique des différentes légumes et de matières extractibles (protéines, acides aminés et métabolites secondaires).

Par ailleurs, une augmentation de température accroît l'efficacité de l'extraction par la chaleur car celle-ci augmenta la perméabilité des cellules. Elle augmente également la solubilité et le coefficient de diffusion des composés à extraire et diminue la viscosité du solvant, ce qui facilite son passage à travers la masse de substrat solide. Toutefois, les résultats de cette recherche ont montré que la température optimum d'extraction des substances antioxydantes est de 70°C. En outre, l'utilisation de températures supérieures à 70°C diminue le rendement total des substances antioxydantes. Cela est probablement dû à leur dégradation. En effet, la chaleur peut solubiliser les composés antioxydants en général, particulièrement les composés phénoliques, mais cette solubilisation est fonction de la nature des espèces végétales étudiées. Ainsi, des mesures efficaces de traitement pour libérer des composés antioxydants de différentes plantes peuvent ne pas être identiques [19].

Bien que des températures élevées peuvent parfois améliorer les rendements d'extraction, mais les substances extraites peuvent se dégrader et peuvent provoquer ainsi l'apparition de nouveaux composés qui absorbent à la même longueur d'onde que les composés antioxydants ; ce qui annihile l'action des uns et des autres [20].

Par ailleurs, *Fagarachalybeum* a manifesté un comportement étrange. Après un chauffage de 90 minutes, on a observé une concentration de 0.153mg/mL à 50°C, puis 0,020mg/mL à 70°C et ensuite une augmentation de concentration à 0.347mg/mL à 90°C

6 CONCLUSION

Ce travail a montré que les légumes étudiés (*Adeniagummifera*, *Bidenspilosa*, *Celosiatrigyna*, *Crassocephalumpicridifolium*, *Cleomemonophylla*, *Fagarachalybeum*, *Solanumnigrum*, *Polygonumsalicifolium* et *Ipomoea Aquatica*) contiennent des métabolites secondaires bioactifs, à savoir : les alcaloïdes, les flavonoïdes, les quinones, leucoanthocyanes, les saponines, les stéroïdes, les tanins et les terpénoïdes dont certains sont antioxydants.

Les tests de l'évaluation de l'activité antioxydante avec le DPPH comme radical libre stable et la quercétine comme antioxydant de référence ont révélé que tous les extraits méthanoliques des espèces présentaient un effet inhibiteur sur le DPPH traduisant une activité antioxydante ou antiradicalaire dans les légumes étudiés.

L'analyse de la biodisponibilité de l'antioxydant alimentaire en fonction des paramètres temps d'extraction et de la température a révélé que les légumes libèrent l'antioxydant à des températures variant entre 50°C, 70°C et 90°C alors pour d'autres légumes l'augmentation de température réduit la disponibilité des antioxydants.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur Kisimba Kibuye Emile, botaniste du laboratoire de géomorphologie de la Faculté des sciences de l'université de Lubumbashi pour la récolte des espèces végétales et leur identification.

REFERENCES

- [1] A Favier, "Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique", Mécanismes biochimiques, 108-114, 2003.
- [2] J. Bruneton, "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales", 3^e éd., TEC, Paris, pp.21, 23, 320-370, 1999.
- [3] Ahmet et al., "A antimicrobial and antioxydant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepetacataria*", Journal of microbiology; p 69-76, 2009.
- [4] D. Derache, "Toxicologie et sécurité des aliments", TEC, Paris, p.127, 1986.
- [5] S. Hekimi and J.L. Liu, "The impact of mitochondrial oxidative stress on bile acid-like molecules in *C. elegans* provides a new perspective on human metabolic diseases", Worm.: 2(1):e21457, 2003.
- [6] F. Malaisse, "Se nourrir en forêt claire Africaine, Approche écologique et nutritionnelle", Presses agronomiques de Gembloux, Gembloux, pp.55-69, 1997.
- [7] J. Harborne, "Méthodes phytochimiques : Un guide pour des techniques d'analyses des plantes", Ed. Chapman, Londres, p.271, 1973
- [8] S. Lumbu, K.M. Mbayo et K. Kahumba, "Analyse semi-quantitative de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi et ses environs", Ann. Méd.Vét. ; PUL, XVII, 1, 8-12, 2005.
- [9] P. Ribereau-Gayon, "Les composés phénoliques des végétaux", Dunod, Paris, 254p, 1968.
- [10] R. Merghem, M. Jay, M. R. Viricel, C. Bayet and B. Voirin, "Five 8-C benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae)", Phytochemistry., 38 (3) : 637-640, 1995.
- [11] T. Takao, N. Watanabe, I. Yagi and K. Sakata, "A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidant produced by marine bacteria from fish and shellfish, Bioscience. Biotechnology and Biochemistry, 58: 1780-1783, 1994
- [12] B.S. Maataoui, A. Hmyenne, S. Hilali, "Activités antiradicalaires d'extrait de jus du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*)" ; Lebanese Science Journal, pp 3-8, 2006.
- [13] Ahmet et al. (2009); A antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepetacataria*, Journal of microbiology; pp.69-76.
- [14] P. Baud Traité de chimie industrielle : industries organiques. Tome III. 4^e Edition revue et complétée. Masson et Cie Editeurs. Paris p 6, 1951).
- [15] A. Abdollahi, M.F. Ramandi, S.A. Kouhpayeh, S. Najafipour, E. Ahmadi, M.H. Meshkibaf and M. Naghdi, "Antimicrobial Effect of 15 Medicinal Plant Species and their Dependency on Climatic Conditions of Growth in Different Geographical and Ecological: Areas of Fars Province", Zahedan J. Res. Med. Sci.; 14 (5) : pp 34-37, 2012
- [16] M. Naczka, and F. Shahidi, Extraction and analysis of phenolics in food, Journal of Chromatography A 1054: 95-111, 2004.
- [17] S.W. Chan, C.Y. Lee, C.F. Yap, W.M. Wan Aida and C.W. Ho, Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from lima purut, (*Citrus hystrix*) peels, International Food Research Journal 16: 203-21, 2009.
- [18] K.K. Chew, M.Z. Khoo, S.Y. Ng, Y.Y. Thoo, M. Wan Aida and C.W. Ho, 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphonstamineus* extracts, International Food Research Journal 18(4): 1427-1435, 2011.

- [19] S.C. Lee, S.M. Jeong, S.Y. Kim, H.R.Park, K.C. Nam and D.U. Ahn, "Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls, *Food Chemistry*, 94: 489–493, 2006
- [20] B. Sun and M.I. Spranger, "Review: quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes, *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 20 (2): 59-89, 2005.
- [21] R. Kœchlin, "Stress oxydant et suppléments antioxydants", pp.165-177, 2006.
- [22] Y. Jahangiria, H. Ghahremanib, J. AbediniTorghabehc, E.AtayeSalehi; Effect of temperature and solvent on the total phenolic compounds extraction from leaves of *Ficus carica*; *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(5):253-259, 2011.
- [23] F.Benmeziane, R. Djamai, Y. Cadot and R.Seridi, "Optimization of extraction parameters of phenolic compounds from Algerian fresh table grapes (*Vitis Vinifera*)", *International Food Research Journal* 21(3): 1061-1065, 2014.
- [24] C.Ramassamy, "Emerging role of polyphenolic compounds in treatment of neurodegenerative disease", *European pharmacology*, pp51-56, 2006.