

N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie



Mémoire de master

Spécialité : Sciences biologiques

Option : biochimie-immunologie

Présenté par : Metahri Mohammed El Amine

THÈME

**Etude des propriétés biologiques des molécules bioactives de l'argousier
(Sea Buckthorn)**

Soutenu le : 12/07/2021

Devant le jury composé de :

Président : M ^{me} Harir Noria	Professeur	UDL Sidi Bel Abbes
Encadreur : M ^{me} Chenni Fatima Zohra	MCA	UDL Sidi Bel Abbes
Examinatrice : M ^{me} Zemri Khalida	MCA	UDL Sidi Bel Abbes
Examinatrice : M ^{me} Zahzeh Meriem	MCB	UDL Sidi Bel Abbes

Année universitaire : 2020 -2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENTS

Nous Tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous aide et qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma gratitude à ma Encadreur M^{me} Chenni Fatima Zohra, maître de conférences classe A à l'université de Sidi Bel Abbes, pour son aide durant toute la période du travail., pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Mes remerciements s'adressent également aux ingénieurs de laboratoire : Mme Sihem et Mr Hmida, Je vous remercie pour votre aide et votre accueil chaleureux. Merci à tous !

Nous exprimons ensuite notre estime et nos sincères remerciements aux membres de jury de soutenance ; Mme la présidente de Jury, M^{me} Harir Noria, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbes d'avoir accepté juger ce travail, M^{me} Zemri Khalida , maître de conférences classe A à l'université de Sidi Bel Abbes et M^{me} Zahzeh Meriem maître de conférences classe B à l'université de Sidi Bel Abbes d'avoir accepté d'examiner notre travail.



Dédicace

Je rends grâce à dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études.

Je dédie ce mémoire fruit de mon long chemin d'étude :

A mon père qui m'a inculqué une bonne éducation, le chemin de la dignité et la voie de la sagesse.

A ma mère, qui m'éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue tout au long de mes études. Pour nous voir Qu'est-ce que nous allons devenir.

Mon grand-père : Tedjini, que dieu lui prête longue vie.

À mes adorables sœurs : que Dieu les Protège, Meriem et Imen, Je souhaite la réussite dans leur vie privée.

A mes amis de cœur : Adel, Nabil et Mohammed pour nos moment difficile, nos fous rires, nos soirées.

A mes amis plus proches : seif Eddine, Chaimaa, Lamia et Ikram pour leur soutient durant les moments difficiles de mon travail,

A toute la promotion de biochimie-immunologie promo 2021

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de lion à la réalisation de ce travail.

Metabri Mohammed

EL Amine

Résumé

L'argousier est considéré comme une source importante de composés bioactifs qui possède plusieurs vertus grâce à sa richesse en composés phénoliques. Le processus d'extraction des polyphénols est également affecté par plusieurs facteurs, notamment : nature et concentration de solvant, temps et la température. Le présent travail a pour objectif de déterminer les conditions d'extraction optimales des composés phénoliques à partir de l'argousier et d'évaluer leur activité antioxydante. Les résultats obtenus montrent que les conditions d'extraction ont un effet significatif sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits et que les meilleures conditions d'extraction sont les suivantes : extrait aqueux, à température 60°. Les résultats montrent également que le pouvoir réducteur est présent avec une absorbance élevée, alors qu'il y a une corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antioxydante.

Mots clé : Hippophae rhamnoides L., l'argousier, activité antioxydante, pouvoir réducteur, activité anti hémolytique.

Abstract

Sea buckthorn is considered an important source of bioactive compounds which has several virtues thanks to its richness in phenolic compounds. The polyphenol extraction process is also affected by several factors, including: nature and concentration of solvent, time and temperature. The objective of this work is to determine the optimal conditions for the extraction of phenolic compounds from sea buckthorn and to evaluate their antioxidant activity. The results obtained show that the conditions of extraction have a significant effect on the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of the extracts and that the best extraction conditions are as follows: aqueous extract, at temperature 60 °. The results also show that the reducing power is present with a high absorbance, while there is coordination between reducing power and antioxidant activity.

Key words: Hippophae rhamnoides L., sea buckthorn, antioxidant activity, reducing power, anti-hemolytic activity.

مُلَخَّصٌ

يعتبر نبق البحر مصدرًا مهمًا للمركبات النشطة بيولوجيًا والتي لها العديد من المزايا بفضل ثرائها في المركبات الفينولية. تتأثر عملية استخلاص البوليفينول أيضًا بعدة عوامل ، منها: طبيعة وتركيز المذيب ، والوقت ودرجة الحرارة. الهدف من هذا العمل هو تحديد الظروف المثلى لاستخراج المركبات الفينولية من النبق البحري وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة ، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن ظروف الاستخراج لها تأثير كبير على محتوى المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة. من المستخلصات وأن أفضل شروط الاستخلاص هي كما يلي: مستخلص مائي ، عند درجة حرارة 60 درجة ، وأظهرت النتائج أيضًا أن قوة الاختزال موجودة بامتصاص عالي ، في حين أن هناك تنسيقًا بين الطاقة المختزلة والنشاط المضاد للأكسدة

الكلمات المفتاحية: Hippophae rhamnoides L. ، نبق البحر ، نشاط مضاد للأكسدة

، قوة مخفضة ، نشاط مضاد لانحلال الدم.

Table des matières

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Présentation de l'argousier (Hippophaë rhamnoides L.)

1. La famille des Elaeagnaceae.	5
2. L'argousier, Hippophaë rhamnoides L.	5
3. Classification.....	5
4. Origine géographique de l'argousier	6
5. Description botanique (morphologique)	7
6. Description phytochimique	7
6.1. Fruit (baie) :	8
6.2. Feuilles	9
7. Contexte historique et utilisations traditionnelles	10
8. Intérêts écologiques de l'argousier	11

Chapitre II : les bienfaits et le rôle médicinal de l'argousier

1. Composition nutritionnelle	14
1.1. Vitamines.....	14
1.2. Glucides	14
1.3. Minéraux	14
1.4. Acides organiques	15
1.5. Flavonoïdes	15
1.6. Lipides	15
2. Valeurs nutritionnelles.....	16
3. Valeurs médicinales	16
4. Etudes cliniques	18

Chapitre III : Matériels et Méthodes

1. Objectif du travail	22
2. Appareillage	22
3. Préparation des extraits	24
3.1. Première étape	24
3.2. Deuxième étape	25
4. Détermination des composés phénoliques totaux	25
5. Détermination d'activité antioxydante	26
6. Détermination de la capacité réductrice	27
7. Détermination de l'activité Anti-hémolytique :	28

Chapitre IV : Résultats et discussion.

1.resultats et discussion	31
Conclusion	39
Références bibliographiques	40
Annexes	43

Liste des abréviations

SBT : sea buckthorn

FRAP : pouvoir antioxydant réducteur ferrique

TCA : Acide trichloracétique

PBS : Tampon phosphate salin

pH : (potentiel Hydrogène) mesure quantitative de l'acidité ou de la basicité de solutions aqueuses ou liquides.

Rpm : Tour par minute

Liste des figures

Figure 1 : L'argousier, *Hippophaë rhamnoides* L.

Figure 2 : étuve

Figure 3 : centrifugeuse

Figure 4 : broyeur

Figure 5 : spectrophotomètre UV 1700

Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 7 : Composés phénoliques totaux des différents extraits à 37°C.

Figure 8 : Composés phénoliques totaux de différents extraits à 60°.

Figure 9 : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH des extraits d'argousier

Figure 10 : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH des extraits d'argousier

Figure 11 : Résultats de l'inhibition d'hémolyse des extraits d'argousier

Introduction

L'intérêt pour l'étude de différentes espèces de plantes afin de déterminer leurs avantages thérapeutiques augmente dans le monde entier. Plusieurs études ont montré que les plantes produisent de puissants antioxydants pour contrôler le stress oxydatif causé par la lumière du soleil et l'oxygène, et sont une source de nouveaux composés ayant une activité antioxydante (Scartezzini et Speroni, 2005). L'Ayurveda, le système de santé traditionnel indien (ayus-life, Vedic-know what science islife) est le plus ancien système médical du monde, qui utilise le potentiel de diverses herbes et est habituellement utilisé pour formuler des médicaments à base de polyol (**Dash et Kashyap, 1980**).

Ces dernières années, une grande attention a été accordée à l'importance clinique de la phytothérapie. L'argousier (*Hippophae rhamnoides* L., Elaeagnaceae) est un arbuste épineux à feuilles caduques qui lie l'azote en Europe et en Asie (Rousi, 1971). En tibétain et en mongol, il est utilisé comme plante médicinale. médecine traditionnelle (Lu, 1992). Depuis les années 1950, de nombreux médicaments à base d'argousier (SBT) fabriqués à partir de matériaux sauvages et cultivés ont été utilisés cliniquement en radiothérapie : solutions huileuses, extraits mous, préparations pour membrane, aérosols et autres complexes (**Xu Mingyu, 1991**).

Bien que de nombreux avantages cliniques du l'argousier aient été revendiqués, très peu d'études scientifiques authentiques sont disponibles.

C'est dans ce contexte que nous avons choisi de travailler sur cette plante souvent méconnue en Algérie et dans le but d'en exploiter une perspective nutritionnelle et thérapeutique.

Notre objectif de ce travail est d'évaluer les propriétés phytochimiques et biologiques des fruits d'argousier et l'estimation de la valeur nutritionnelle des

baies d'argousier et leurs éventuelles utilisations. Et on va comparer notre résultat avec les données obtenues avec ceux rapportées par d'autres chercheurs

Les premier et le deuxième chapitre contenons sont consacrés a une synthèse bibliographique sur l'argousier, la classification, les bienfaits et quelques études cliniques.

Le troisième chapitre décrit la partie expérimentale avec une présentation de technique d'extraction et les tests manipulé, et le quatrième chapitre est réservé pour les résultats obtenues qui y sont discutés et confronté a ceux d'autres auteurs., enfin la conclusion pour clôturer ce manuscrit

Revue bibliographique

Chapitre I :Présentation de l'argousier
(*Hippophaë rhamnoides* L.)

I.1. Présentation de l'argousier (Hippophaë rhamnoides L.) :

1. La famille des Elaeagnaceae :

La famille des Elaeagnacées appartient à l'ordre des Rosales et se compose de trois genres (Elaeagnus L. , Hippophaë L. , Sherpherdia Nutt.) et 45 espèces selon la dernière version du Angiosperm Phylogeny Group. Cette famille est principalement présente dans l'hémisphère nord (Amérique du Nord, Europe et Asie), mais se développe dans d'autres régions du monde grâce à l'utilisation de certaines espèces en agriculture ou comme plante ornementale.(Saleem et *al.*, 2010)

2. L'argousier, Hippophaë rhamnoides L. :

L'argousier appartient à l'ordre des rosales et comprend 3 genres (Elaeagnus.L, Hippophae L, Sherpherdia Nutt) et 45 espèces. Le genre Hippophae (Elaeagnaceae) comprend 7 espèces parmi lesquelles H.rhamnoides est la plus importante avec une subdivision en 8 sous espèces (Thomas,2011) .

3. Classification :

Embranchement : Spermatophytes

Sous- embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédone

Sous-classe : Rosidae (Rosides)

Ordre : Rosales

Famille : Elaeagnaceae

Genre : Hippophaë

Espèce : Hippophaë rhamnoides L.



Figure1 : L'argousier, Hippophaë rhamnoides L.

4. Origine géographique de l'argousier :

L'argousier est particulièrement répandu en Asie. Dans les régions subtropicales, l'argousier est une plante qui pousse en Asie et sur le continent européen ; on le trouve dans les dunes de sable de la côte de la mer Baltique en Europe ; par la suite, il a voyagé dans toute l'Allemagne, la Pologne, le Pays-Bas, Finlande et Lettonie. La France et l'Italie ont des emplacements appropriés, en particulier sur les lacs et les rivières sablonneux. En Asie, l'argousier est apprécié à la fois dans la région de l'Altaï (frontière entre la Russie et la Mongolie) et dans l'Himalaya. Cet arbuste est également très commun en Chine. Dans ces endroits, l'argousier choisit des zones sablonneuses ou rocheuses. Après que des immigrants ont importé des graines au milieu du siècle dernier et y ont trouvé des conditions idéales, un petit groupe d'argousiers de la région de l'Abitibi au Québec semble s'être naturalisé dans la carrière. (www.naturaforce.com)

5. Description botanique (morphologique) :

L'argousier (*Hippophaë rhamnoides*), à ne pas confondre avec l'arbousier, est aussi appelé saule épineux ou argousier. C'est un arbuste de 3 à 5 m de haut appartenant à la famille des Eleagnacées. Il pousse spontanément dans les pays européens et asiatiques et les zones montagneuses à climat tempéré ou subtropical et sur les dunes de sable côtières. C'est un arbuste feuillu aux ports denses et légèrement étalés. Ses branches grises très épineuses ont des feuilles étroites et élancées et des feuilles gris argenté en dessous, très semblables aux feuilles de saule. Les petites fleurs jaunes qui éclosent en avril ou mai avant la germination des feuilles, et les plantes femelles ne portent que des baies rouge orangé, car l'argousier est dioïque. Ils sont nombreux et regroupés par branches. Ils apparaissent en septembre, mais sont particulièrement visibles après la chute des feuilles. Si vous ne les récoltez pas pour faire des confitures, des conserves ou des jus riches en vitamines, ils constituent un excellent accompagnement tout au long de l'hiver. le sol est sec (c'est-à-dire des plantes économes en eau) ou pauvre en aérosols, un sol sablonneux ou pierreux et de l'argile. Il a la capacité d'amender le sol en fixant l'azote, tout comme les légumineuses (**Stephane,2021**)

6. Description phytochimique :

Les divers composés bioactifs trouvés dans les différentes parties de l'argousier et surtout dans les baies et les feuilles de l'argousier sont particulièrement intéressants. D'un intérêt particulier, ils renferment plusieurs composés tels que les caroténoïdes, tocophérols, tocotriénols, acides gras polyinsaturés essentiels, polyphénols doués d'activités biologiques et qui ne cessent d'être étudié par de nombreux chercheurs. (**Vernet, A.2006**)

6.1. Fruit (baie) :

La baie de l'argousier a une composition unique associée à un cocktail de composants qui ne peuvent généralement être trouvés qu'individuellement. Les ingrédients biologiquement actifs varient selon la maturité, la taille, le type, la géographie, le climat et la méthode d'extraction du fruit. Les baies sont de couleur jaune orangé à fruits rouges, Ils sont une riche source de nombreux composés précieux, tels que les multivitamines (C et E), les caroténoïdes (-carotène, lycopène, lutéine et zéaxanthine), les flavonoïdes (isorhamnetine, quercétine) Isorhamnetin-3- β -glucoside ; Isorhamnetin-3- β -d-glucosamine ; Kaempférol, Etc.), acides organiques, acides aminés, oligo-éléments et macronutriments. De nombreux composés biologiquement actifs ont été isolés des baies, tels que les hippo-cérébrosides, l'acide oléanolique, l'acide ursolique, l'acide 19- α -hydroxyursolique, l'acide dodécanoïque, le 5-hydroxyméthyl-2-furaldéhyde, Aldéhydes cycliques, acide béhénique, acide palmitique et 1-hexadécène. Chacun de ses composés possède ses propriétés biologiques, par exemple l'isorhamnine isolée de grignons d'argousier a montré une activité antioxydante significative dans plusieurs aspects. Les esters de zéaxanthine et de -cryptoxanthine identifiés par analyse chromatographique dans les baies d'argousier, peuvent être utilisés comme ingrédients en agroalimentaires, cosmétiques ou produits de santé nutritionnelle. Plusieurs d'entre eux possèdent des activités antioxydantes

Les produits les plus reconnus de l'argousier comprennent les huiles de graines riches en acides gras essentiels (oméga-3 et 6) et les huiles de pulpe qui contiennent des niveaux élevés d'oméga-7. L'argousier est la seule huile qui fournit naturellement un rapport 1:1 d'oméga-3:oméga-6 (acide linoléique et acide linolénique). -Sitostérol Il a été identifié comme le composant principal des stérols végétaux dans l'huile d'argousier. Un

L.)

complexe riche en substances biologiquement actives peut être obtenu à partir de baies d'argousier. Les baies sont des fruits jaune orangé à rouge, riches en une variété de composés précieux, tels que les multivitamines (C et E), les caroténoïdes (-carotène, lycopène, lutéine et zéaxanthine), les flavonoïdes (Isorhamnetin, Quercetin, Isorhamnetin-3- β - Glucoside ; Isorhamnétine-3- β -d-Glucosamine ; Kaempférol, Etc.), acides organiques, acides aminés, oligo-éléments et macronutriments (**Geetha et al.,2010**).

6.2. Feuilles :

Les feuilles de l'argousier contiennent des nutriments et des substances biologiquement actives, principalement des flavonoïdes, des caroténoïdes, des stérols libres et des stérols estérifiés, Alcool triterpénique et isoprénol.

Les feuilles sont de même très riches en antioxydants importants comprennent l'alpha-carotène, la vitamine E, les catéchines, l'acide ellagique, l'acide férulique, l'acide folique et le calcium, le magnésium, le potassium, calcium, magnésium et potassium Ainsi que les composés polyphénoliques.

Les feuilles sont représentées par les flavanols, les leuco anthocyanes, (-) épicatechine, (+) gallo catechine, (-) épigallocatechine et acide gallique.

Les composants tanniques sont séparés des feuilles, et les composants principaux sont des monomères de gallon hydrolysables et des ellagitanins Types de monomères : stryтинine, isostrictinine, casuarine, casuarine. Dernièrement antioxydant, protection cellulaire et antibactérien eau et extraits hydroalcooliques de Le SBT laisse le système in vitro et l'analyse RP-HPLC de composés marqués par RP-HPLC. Certains de ses composants phénoliques biologiquement actifs, tels que la quercétine-3-O-galactoside, la quercétine-3-O-glucoside, le kaempférol-isorhamnétine et l'isorhamnétine dans l'eau et les

extraits hydroalcooliques de feuilles de SBT ont été quantifiés par RP-HP. (Geetha et al 2010).

7. Contexte historique et utilisations traditionnelles :

Le mot hippophae vient du latin hippo, qui signifie cheval, , et Phos, qui signifie lumière. En Grèce, l'argousier est utilisé dans l'alimentation animale, ce qui peut entraîner une prise de poids et un lustre, en particulier pour les chevaux. Le poids et l'éclat de la fourrure, en particulier les chevaux. Il a une longue histoire dans le traitement de nombreuses maladies. Ses effets pharmacologiques sont enregistrés dans des classiques tels que "Tang Dynasty Xibudian" et "Qing Dynasty Bible Notes". Dès 900 après JC, il était utilisé comme plante médicinale au Tibet. Des références à l'utilisation médicale de l'argousier ont été trouvées dans la littérature médicale tibétaine ancienne, y compris les "Quatre livres de pharmacopée" de la dynastie Tang (618-907 après JC). Les habitants d'Asie centrale et du Sud-Est utilisaient l'argousier comme traitement traditionnel depuis des siècles. Étant donné qu'il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les maladies en Asie centrale et du Sud-Est, il est considéré comme l'une des ressources biologiques les plus importantes ; une ressource biologique précieuse qui a été utilisée localement comme combustible, aliments pour animaux et incendie pendant des siècles. Chaque partie de la plante, comme le fruit, les feuilles, les branches, les racines et l'écorce, est traditionnellement utilisée comme médicament, complément alimentaire, bois de chauffage et clôture. Les baies d'argousier ont été utilisées comme source de nourriture à base de plantes, saine et naturelle. Soins de la peau en Europe et en Asie Dans la médecine traditionnelle tibéto-mongole, les baies d'argousier sont utilisées pour traiter les mucosités et la toux, et pour améliorer la circulation sanguine et la digestion. La fonction du système digestif en Russie et dans l'Himalaya.

L.)

Elles ont été également utilisées pour traiter les maladies de la peau, la jaunisse, l'asthme, les maladies du tractus gastro-intestinal, les laxatifs et les rhumatismes. En Asie centrale (les Pamirs du Tadjikistan, et d'Afghanistan), les résidents locaux utilisaient les baies d'argousier et pour traiter l'hypertension artérielle, le système digestif et les maladies de la peau. L'huile extraite des baies est utilisée pour traiter la gastrite, l'ulcère gastrique, l'érosion utérine et l'inflammation génitale. De plus, les gens utilisaient une infusion de baies séchées sur la peau. En Allemagne, l'argousier est utilisé pour la restauration écologique des sols dégradés, Particulièrement adapté pour le reboisement et la protection contre l'érosion des sols dans les décharges de déchets industriels et les décharges de déchets de mines de charbon (Gheeta et al. ,2011).

8. Intérêts écologiques de l'argousier :

L'argousier a une valeur écologique particulière. Grâce à son système racinaire à ramification rapide, cet arbuste aide à prévenir l'érosion des sols et à stabiliser les dunes de sable. En effet, l'argousier symbiose avec des champignons dans les racines, assurant ainsi la fixation de l'azote dans le sol. Permettant ainsi la restauration de la structure du sol et de sa fertilité. Ces caractéristiques permettent à l'argousier de s'adapter aux sols à faible productivité, tels que les sols sableux, caillouteux et même argileux, qui ne nécessitent pas de propriétés de sol élevées, telles que la résistance à l'humidité, la résistance à la sécheresse et la résistance aux éclaboussures.

En raison de son adaptabilité, cet arbuste est largement utilisé dans le trench-coat, symbole de la prairie canadienne. Les coupe-vent et les décorations protègent les terres agricoles et améliorent l'habitat faunique. L'argousier peut agir comme une barrière chimique, car il résiste aux pesticides et à la pollution. Il est

L.)

également utilisé pour lutter contre l'érosion, notamment en Chine, et pour limiter la propagation des déserts. De plus, cet arbuste peut aider à stabiliser le remblai.

À propos de cette plante qui pousse quasiment partout, le botaniste W. Pelikan a écrit : « L'argousier ne demande rien au sol, il tire sa vitalité de la lumière ». Cependant, tout en s'adaptant aux sols les plus pauvres, cet arbuste ne peut se passer du soleil pour s'épanouir et porter ses fruits (**Merzougui,2020**).



**Chapitre II : Les bienfaits et le rôle médicinal de
l'argousier**



II.1. Composition nutritionnelle :

1.1. Vitamines :

Les fruits de l'argousier sont riches en vitamines (C, E, A, B1, B2, F, K et P). La concentration de vitamine C dans les baies d'argousier est plus élevée que l'orange, les fraises et le kiwi. La teneur moyenne des oranges est de 59 mg/100 g, et la teneur en argousier varie de 360 mg/100 g de la sous-espèce européenne d'argousier à 2500 mg/100 g de la sous-espèce chinoise. De grandes quantités de tocophérols et de tocotriénols (vitamine E) se trouvent également dans les fruits de l'argousier. La teneur totale de ces ingrédients dans les graines et les baies fraîches varie de 100 à 300 mg/kg, et de 10 à 150 mg/kg. Leur teneur en vitamine E dépasse la teneur en vitamine E du blé, du maïs et du soja (**Yang et al., 2002**).

1.2. Glucides :

La teneur en sucre des fruits de l'argousier varie avec le moment de la récolte. Les principaux sucres des fruits de l'argousier sont le glucose et le fructose, ainsi que de petites quantités de xylose et d'alcools de sucre, tels que le mannitol, le sorbitol et le xylitol. (**Li & Beveridge, 2003**).

1.3. Minéraux :

Le fruit de l'argousier contient beaucoup de minéraux et d'oligo-éléments. Le jus de fruit a une teneur élevée en minéraux. Ce dernier contient tous les oligo-éléments et macro-éléments nécessaires, bien que d'autres éléments tels que le cuivre, le manganèse, le zinc, le nickel, le strontium, le vanadium et molybdène sont également inclus dans Inside. Le sélénium, le bore, le baryum, l'aluminium, le soufre, le chlore et le plomb, le potassium, le calcium, le phosphore, le magnésium, le sodium et le fer sont décrits comme les éléments les plus typiques des fruits. (**Solonenko & Privalov, 2005**).

1.4. Acides organiques :

Le fruit de l'argousier a une teneur élevée en acides organiques. La teneur en acides organiques des baies d'argousier est comprise entre 1,64 et 5,95 %, ce qui est bien supérieur à celui des citrons. L'argousier contient les acides suivants : acide malique, acide citrique, acide tartrique, acide succinique, acide quinique et l'acide oxalique.

1.5. Flavonoïdes :

Un certain nombre d'études ont montré que les fruits et les feuilles de l'argousier contiennent des flavonoïdes. Les principaux flavonoïdes identifiés sont les anthocyanes blancs, les catéchines et les flavonols (isorhamnétine, quercétine, quexine et caméline), qui sont tous des composés phénoliques, dont la quercétine est le principal (87,3 %) **(Li & Beveridge, 2003)**.

1.6. Lipides :

L'une des principales caractéristiques du fruit de l'argousier est qu'il est riche en lipides. Les principaux composants des lipides du fruit de l'argousier sont les tocophérols, les tocotriénols, les caroténoïdes, les stérols, les triglycérides (TAG) et les phospholipides (PLP) et les diglycérides. L'huile de graines se caractérise par une teneur élevée en acides gras polyinsaturés (85-90%), parmi lesquels se distinguent deux acides gras essentiels : l'acide linoléique ou oméga 6 (18 : 2 n -6) et l'acide alpha-linolénique ou acide oméga 3 (18 : 3 n -3). Les huiles des tissus mous (pulpe et peau du fruit) par contre se caractérisent par une teneur élevée en acides gras saturés. Il contient principalement de l'acide palmitoléique ou oméga-7 (16 :1 n -7, 16-54%) et de l'acide palmitique (16 :0, 17 -47%), acide oléique ou oméga-9 (18 :1 n-9, 2-35%). L'huile de pulpe est riche en caroténoïdes, responsables de la couleur rouge orangé de l'argousier. Le carotène représente environ 15 à 55 % du total

des caroténoïdes. Il est rapporté qu'il existe d'autres caroténoïdes dans les fruits de l'argousier, tels que : B. α -carotène, -carotène, ca-carotène, lycopène, β -carotène de maïs, cryptoxanthine, xanthine synthétique, lutéine et zéaxanthine (Li & Beveridge, 2003).

2. Valeurs nutritionnelles :

L'argousier est également riche en protéines, notamment en globuline et albumine (Solonenko et Shishkina, 1983), en carotène (Kostyrko, 1990), en acides gras (Loskutova et *al.*, 1989) et en vitamine E (Bernath, Foldesi, 1992). Il est plus riche en acides gras et en vitamine E que le blé, le carthame, le maïs et le soja (Lu, 1992). Les feuilles d'argousier contiennent de nombreux nutriments, en particulier des protéines et des substances biologiquement actives (Morar et *al.*, 1990), qui sont particulièrement utiles dans l'alimentation animale.

3. Valeurs médicinales :

En raison de sa haute valeur médicinale, l'argousier est considéré comme une nouvelle génération de produits phytopharmaceutiques. L'utilisation de l'argousier à des fins médicinales est bien connue en Asie et en Europe, et ils le reconnaissent comme plante médicinale. Plus de 10 types de médicaments à base d'argousier ont été développés et fournis sous diverses formes (telles que liquide, poudre, plâtre, film, pommade, comprimé, liniment, suppositoire et en spray contre les maux de gorge par exemple)

Les feuilles et les fruits de l'argousier contiennent de grandes quantités de flavonoïdes, tels que des anthocyanes blancs, des catéchines et des flavonols (isorhamnétine, quercétine, quexine et caméline) et de petites quantités de flavanone (Hakkinen et *al.*, 2000). Ces données montrent que, entre autres, l'argousier peut renforcer le système immunitaire, réduire la résistance des vaisseaux sanguins périphériques à la pénétration et aux métastases et augmenter

l'élasticité des vaisseaux sanguins. Les phénols peuvent combattre l'oxydation, le développement de tumeurs et les radiations (Chen, 1998).

Il existe des preuves qu'il peut soulager l'angine de poitrine, normaliser la fréquence cardiaque, améliorer la fonction cardiovasculaire, éventuellement par une action directe sur le myocarde, et traiter la maladie coronarienne (Zhang, 1987). Des comprimés de flavonoïdes d'acide acétylsalicylique sont actuellement fabriqués en Chine comme médicaments d'ordonnance pour améliorer la fonction cardiaque. L'extrait d'argousier peut améliorer la fonction immunitaire non spécifique, l'effet anti-allergique et augmenter l'activité phagocytaire, et il a été observé que le jus d'argousier peut augmenter le taux de prolifération des lymphocytes spléniques de souris (Zhong, 1989). Le jus d'argousier contient de la superoxyde dismutase, qui présente une activité antioxydante en piégeant les radicaux libres dans le système membranaire (Jin, 1989).

L'huile d'argousier a été reconnue comme ayant des fonctions pharmacologiques importantes : anti-inflammatoire, antimicrobienne, analgésique et réparatrice des tissus (Li et Wang, 1998). En raison de sa teneur élevée en vitamine E, l'huile d'argousier a un effet anti-inflammatoire, qui peut piéger les radicaux libres et réduire l'oxydation des graisses insaturées dans les membranes graisseuses (Zhen et al., 1996).

L'huile d'argousier a des effets antitumoraux car l'huile de graines est connue pour ralentir la croissance tumorale de 30 à 50 % (Wang et al., 1989). L'injection intrapéritonéale d'huile de graines (1,59 g/kg de poids corporel) a inhibé de manière significative (30 %) le taux de croissance du mélanome malin (B 16) et du sarcome (S1 80), et ils ont été transplantés chez des souris sans volume. Thymus ou rate (Zhang et al., 1989). De plus, il provoque une augmentation significative de l'indice phagocytaire et de l'indice phagocytaire cellulaire. L'effet antitumoral de l'huile extraite des restes de fruits d'argousier (pulpe) a été confirmé en améliorant significativement le taux de survie des souris atteintes du carcinome d'ascite d'Ehrlich (Yang et al., 1989). L'augmentation de la durée de

survie et de l'espérance de vie est proportionnelle à l'injection intrapéritonéale d'huile à la dose de 1 à 500 mg/kg. Les sous-produits extraits de l'huile n'ont pas de cytotoxicité significative (50 %) pour la lignée cellulaire de leucémie humaine K562 à une concentration de 25 mg/ml (Andere, 1989). Les chercheurs suggèrent que l'effet protecteur sur le cancer du col de l'utérus provient des vitamines A et E et du B-carotène, qui sont présents en abondance dans l'huile de graines d'argousier. **(Wu et al., 1989).**

Le jus d'argousier a une activité antioxydante très élevée, égale ou supérieure à celle des bleuets (Velioglu et al., 1998). L'activité thérapeutique de la partie aquatique du fruit de l'argousier est liée à cette capacité antioxydante, et est principalement liée à la concentration en composés phénoliques dans le jus de fruit (Gao et al., 2000). Une partie de l'activité antioxydante peut être attribuée à l'acide ascorbique, qui est connu pour être présent en grandes quantités. L'activité antioxydante lipophile de l'argousier est liée à la concentration de caroténoïdes dans l'extrait d'hexane, mais le tocophérol (vitamine E) peut également jouer un rôle **(Thomas et al., 2004).**

4. Etudes cliniques :

Le SBT est traditionnellement utilisé pour traiter les ulcères gastriques, et des études en laboratoire ont montré l'efficacité de l'huile de graines pour cette application. Le traitement avec de l'huile de graines SBT a entraîné une augmentation des niveaux d'acide : acide linoléique, acide linoléique et acide eicosapentaénoïque dans les phospholipides plasmatiques, ce qui a amélioré l'état atopique. Le but est de caractériser les propriétés antioxydantes du jus de SBT et d'évaluer son effet sur les lipides sanguins, l'oxydation des lipoprotéines de basse densité et les plaquettes. L'agrégation et la concentration des protéines solubles d'adhésion cellulaire dans le plasma. Vingt volontaires masculins en bonne santé ont reçu un placebo ou du jus de SBT pendant 8 semaines. C. Lorsqu'ils sont ajoutés au jus de SBT, l' α -tocophérol, le β -

carotène et les flavonoïdes sont respectivement de 462, 3,2 et 355 mg. Les résultats de l'étude indiquent que le jus SB La T affecte les facteurs de risque de maladie coronarienne humaine, ce qui peut être dû à sa teneur élevée en antioxydants. Dans une autre étude, des patients atteints de maladie coronarienne ont pris 10 mg de flavonoïdes SBT 3 fois par jour pendant 6 semaines. Le taux de cholestérol baisse et la fonction cardiaque s'améliore.

La consommation de baies SBT chez 229 participants en bonne santé a augmenté de manière significative la concentration plasmatique à jeun de quercétine et d'isorhamnétine, ce qui indique qu'il s'agit d'une bonne source alimentaire de flavonols. Cependant, cela n'a pas eu d'effet sur les concentrations circulantes des marqueurs lipidiques chez des adultes normolipidémiques en bonne santé et ayant un régime alimentaire sain. Dans une autre étude clinique, le SBT a été utilisé chez des patients cirrhotiques pour déterminer son effet sur les changements des paramètres fibrotiques, l'amélioration de la fonction hépatique et s'il pouvait être utilisé comme agent thérapeutique anti-fibrotique. **(geetha et al 2011)**.

Partie expérimentale

Chapitre III :Matériels et Méthodes

III.1. Objectif du travail :

L'argousier est une plante sauvage qui possèdent plusieurs vertues dont la plupart sont détaillées dans la partie bibliographique, elle mérite d'être exploité et valorisé en Algérie. Nous nous sommes fixés comme objectif :

- Evaluation des propriétés phytochimiques et biologiques des fruits d'argousier
- Estimation de la valeur nutritionnelle des baies d'argousier et leurs éventuelles utilisations.
- Pour atteindre nos objectifs, nous avons réalisé plusieurs tests de caractérisation biochimique et d'activité biologique sur des échantillons d'argousier récoltés d'une région située à 12 Km au sud de la wilaya de Tipaza. A cet effet, le travail expérimental est réalisé au laboratoire de technologie alimentaire et de biochimie du département de biologie de l'université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbas.

2. Appareillages utilisés :

- **Etuve** : Une étuve de laboratoire est un appareil de chauffage fonctionnant le plus souvent à la pression atmosphérique et permettant d'effectuer divers traitements thermiques à température régulée. Les laboratoires d'analyses ou de recherche en sont souvent pourvus.



Figure2 : étuve

- **Centrifugeuse** : permet d'impulser un mouvement de rotation à forte vitesse pour mélanger un contenant et ainsi séparer des molécules.



Figure 3 : centrifugeuse

- **Broyeur** : consiste à réduire des morceaux de matériaux solides d'une taille donnée à une taille plus petite



Figure 4 : broyeur

- **Spectrophotomètre uv-visible** : instrument permettant de réaliser une mesure spectrophotométrique. Un spectromètre, ou spectroscopie, est un appareil qui permet d'effectuer une mesure spectrométrique de l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée ou sur une région donnée du spectre.



Figure5 : spectrophotomètre UV 1700

3.2. Préparation des extraits :

On a pris 2 échantillons différents A et B. De ces derniers, nous avons préparé trois extraits :

- L'extrait nommé A : il s'agit des fruits d'argousier broyés au moulin
- L'extrait nommé B : il s'agit des fruits d'argousier broyés au moulin
- L'extrait nommé C : : il s'agit des fruits d'argousier non broyés (sans aucune force centrifuge)

Premier échantillon A avec broyage et l'autre B avec broyage et un autre extrait du même échantillon A qu'on le nomme échantillon C, sans broyage juste écraser les baies. On a réalisé ce travail au niveau du labo de technologie alimentaire de la faculté.

3.1. Première étape

- Pour la préparation des extraits A et C, nous avons préparé les deux échantillons et on les a rincés avec de l'eau, ensuite nous les avons séchés à l'étuve. Après, on a broyé 33g et on les a mis dans 200ml de l'eau distillée pour chaque échantillon avec une incubation à 37°C pendant 1 h sous agitation.
- Après, on a filtré le jus et on a séché le concentré obtenu dans l'étuve à 40°C pendant 1h et on l'a conservé à l'abri de lumière (**Salaheen,2014**).
- Pour la préparation de l'extrait C, nous avons procédé de la même manière que la préparation de l'extrait A mais sans aucune force centrifuge, avec une autre méthode de préparation : on a mélangé 100g de fruits avec de l'eau bouillante et laissé reposer pendant 10 min.
- Après, on a éliminé l'eau bouillante et mis à nouveau 200ml de l'eau distillée et on a écrasé les fruits, en utilisant un mortier.
- On a filtré le jus et laissé sécher le concentré dans l'étuve à 40°C pendant 1h et on l'a conservé à l'abri de lumière (**Salaheen,2014**).

3.2. Deuxième étape :

- Nous avons réalisé 3 extractions de chaque échantillon A, B et C dans respectivement : éthanol 10%, méthanol 10% et l'eau distillé.
- On a pesé 2.5g de concentré et dissous dans 50ml de chaque solvant, après on a incubé pendant 12h à deux températures différentes ; 37°C à 60°C.
- Après 24h on a centrifugé notre extrait à 3000 rpm pendant 20 min.
- Le surnageant obtenu de chaque échantillons constitue l'extrait éthanolique, extrait méthanolique et l'extrait aqueux.
- L'ensemble est conservé à 4°C

4. Détermination des composés phénoliques totaux :

4.1. Principe :

La teneur phénolique totale est déterminée par un dosage colorimétrique à l'aide d'un spectrophotomètre en utilisant l'essai Folin-ciocalteu. L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968).

4.2. Mode opératoire :

On a dissous 50µl d'extrait dans 3.95 ml d'eau, après on a ajouté 250µl de folin-ciocalteu, avec 750µl NaCO₃(7.56%) au mélange et laissée incuber pendant 2h à 37°C. On vérifie la lecture DO à 765 nm et on la compare avec la courbe d'étalonnage.

5. Détermination de l'activité antioxydante

5.2. Principe :

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus largement utilisé pour une évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité aux radicaux libres et de sa facilité d'analyse. Les résultats sont indépendants, simples et rapides. Le test consiste à placer des radicaux libres DPPH (violets) en présence de molécules appelées « antioxydantes » pour mesurer leur capacité à piéger les radicaux libres. La forme réorganisée (jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorption de cette longueur d'onde (**Haddouchi et al,2016**).

- Déterminer le pourcentage en DPPH via la formule :

$$\% \text{ DPPH} = (1 - \text{DO échantillon} / \text{DO témoin}) \times 100$$

DO échantillon : absorbance de l'échantillon

DO témoin : absorbance du témoin

5.3. Mode opératoire :

On a dilué 10 μ l de DPPH dans 70% de méthanol/eau dans une éprouvette de 50 ml. On a ajouté 2ml de la solution de DPPH à 0.5ml d'échantillon. De même, on a ajouté 0.5ml de méthanol/eau 70% avec 2 ml de DPPH pour la préparation de la solution contrôle. Puis on a incubé les échantillons ainsi que la solution contrôle à température ambiante pendant 30 min à l'abri de lumière. La lecture de l'absorbance est réalisée en utilisant un spectrophotomètre à 517nm.

6. Détermination de la capacité réductrice :

6.2. Principe :

Le pouvoir réducteur du fer est estimé par la méthode d'Oyaizu, (1986). Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le (Fe^{3+}) participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de fenton qui est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}). Une Matériel et méthodes 19 augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits.

6.3. Mode opératoire :

- On a préparé un mélange de 1 ml d'échantillon (10-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et 1 ml de témoin (eau distillée) avec 2.5ml de ferricyanure de potassium (0.25%) plus 2.5 ml PBS à pH 6.6.
- Après, on a mélangé à nouveau la solution obtenue et incubé à 50°C pendant 20 min.
- Une fois refroidi, on a mélangé avec 2.5 ml de TCA (acide trichloracétique) 10%.
- Centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min et prélever 2.5 ml de surnageant et ajouter 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (0.025%). Enfin nous avons mixé et laissé se reposer pendant 10 min L'absorbance est ensuite mesurée à 700 nm .

7. Détermination de l'activité Anti-hémolytique :

7.1. Principe :

Ce test permet de suivre l'impact de l'évolution positive ou négative d'un antioxydant sur l'état des défenses anti-radicaux libres d'un échantillon de sang. Il consiste à exposer une suspension de globules rouges à un stress oxydatif.

Les globules rouges vont déployer leurs défenses antioxydantes pour combattre l'agressivité jusqu'à ce que la membrane soit altérée et que la cellule libère son contenu. La mesure spectrophotométrique de l'hémoglobine à 540 nm permet d'évaluer l'action anti-hémolytique. Le H₂O₂ provoque la lyse des érythrocytes dans ce test (**Chehtit-Hacid 2016**).

7.2. Mode opératoire :

Le potentiel anti-hémolytique des extraits/fractions a été contrôlé par spectrophotométrie comme décrit précédemment. 5ml de sang d'une personne saine ont été recueillis dans des tubes EDTA et centrifugés pendant 10 minutes à 3000 rpm.

Le surnageant a été retiré et le culot a été lavé trois fois avec du PBS (0,2 M, pH 7,4) avant d'être remis en suspension dans une solution saline (0,5 %). 0,5 ml de l'extrait/fractions (100- 1000 µ/ml dans PBS) a été distribué dans 1 ml de suspension érythrocytaire et incubé à température ambiante pendant 20 min.

Ensuite, 0,5 ml de H₂O₂ solution préparée dans une solution saline tamponnée a été ajouté au mélange réactionnel pour provoquer la dégradation oxydative des lipides membranaires des globules rouges.

Ensuite, les échantillons ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes et la concentration du surnageant a été notée par spectrophotométrie à 540 nm.

L'hémolyse relative a été évaluée en comparaison avec l'hémolyse dans les échantillons traités au H₂O₂ (contrôle négatif), qui a été fixée à 100 %.

Une solution saline de tampon phosphate a été utilisée comme contrôle positif.

Chaque série d'expériences a été réalisée en trois exemplaires et l'activité inhibitrice des différentes fractions et a été calculée et exprimée en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse.

L'acide ascorbique (100-500 ug/ml) traitée de manière similaire a été employée comme référence.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule décrite ci- dessous :

- $\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = (A_c - A_e / A_c) * 100.$

Dont :

- A_c : c'est l'absorbance obtenue après hémolyse totale.
- A_e : c'est l'absorbance obtenue en présence de l'extrait.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Résultats et discussion :

1.1 détermination de composés phénoliques totaux :

En se basant sur les absorbances des différents extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) à deux températures différentes, 37 et 60°C, ayant réagi avec le réactif de Folin Ciocalteu et en comparaison avec une courbe d'étalonnage d'une solution étalon d'acide gallique, les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux sont représentés sur la figure 7. Les teneurs calculées à partir de l'équation de régression linéaire sont exprimées en mg EAG /ml .

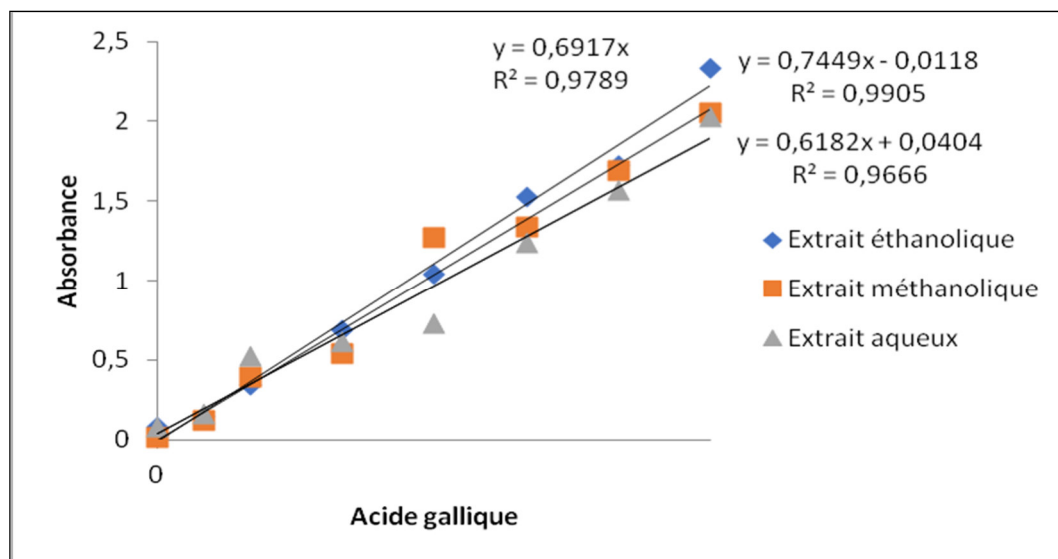


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les courbes d'étalonnages obtenues pour chaque extrait en traçant les absorbances en fonctions des concentrations en acide gallique révèlent des $R^2 \geq 0,97$. Ces résultats sont largement suffisants pour permettre le dosage des polyphénols dans les différents extraits.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits des différents solvants d'extraction (le méthanol 10%, l'éthanol 10% et l'eau) à température 37° et 60° sont représentés sur les figures 7 et 8.

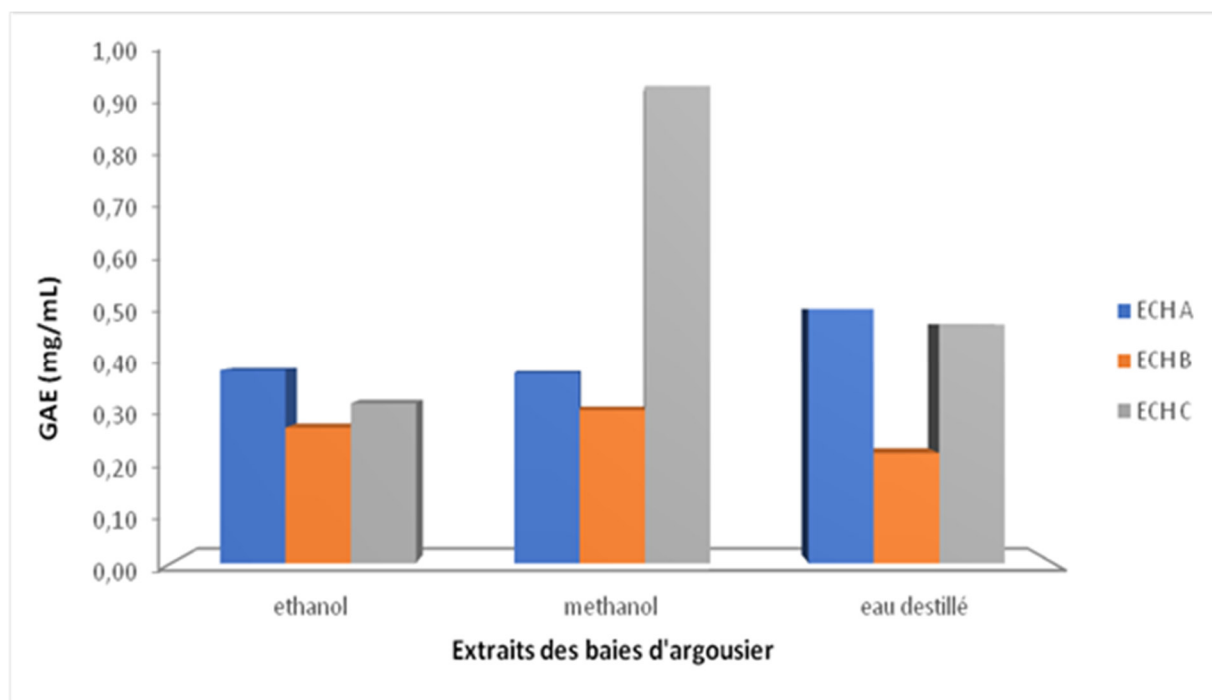


Figure 7 : Composés phénoliques totaux des différents extraits à 37°C.

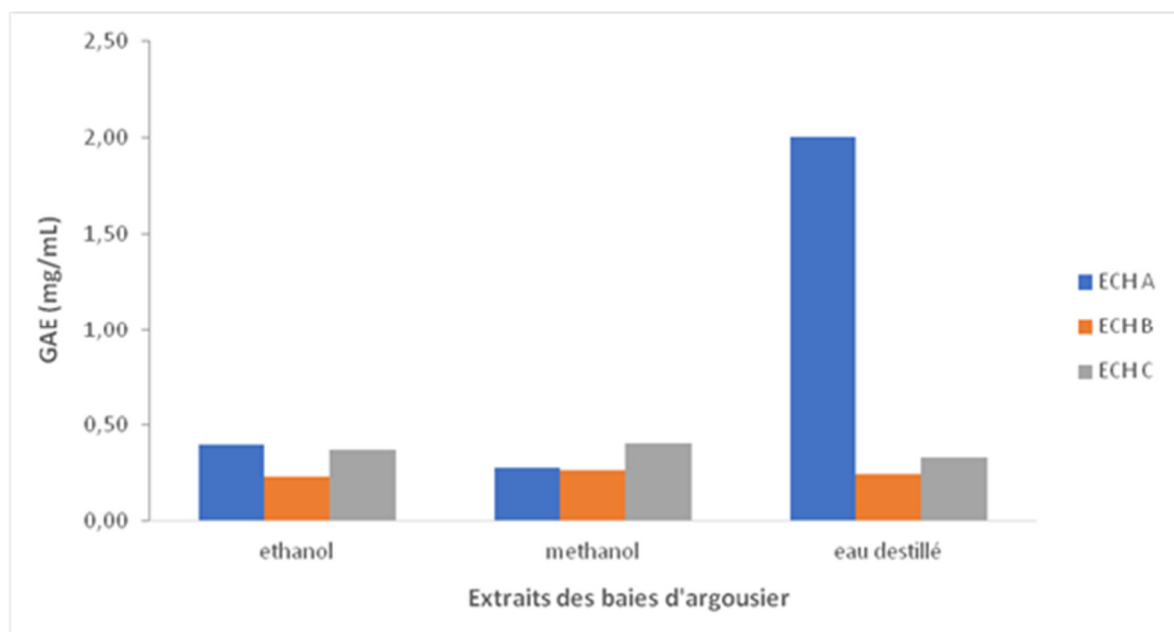


Figure 8 : Composés phénoliques totaux de différents extraits à 60°.

L'analyse des composés phénoliques totaux a été réalisée par spectrophotométrie avec une longueur d'onde de 700 nm. Les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux des différents extraits varient entre 0.33 et 0.63 mg EAG/ml. La concentration la plus élevée des composés phénoliques a été mesurée dans l'extrait méthanolique, avec une teneur de 0.94 mg EAG/ml. Les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux sont comprises entre $0,33 \pm 0,07$ mg EAG/ml pour l'extrait éthanolique et entre $0,40 \pm 0,25$ et $0,54 \pm 0,34$ mgEAG/ml pour les extraits aqueux et méthanolique respectivement. S'agissant de la teneur en composés phénoliques en fonction de la température, nos résultats ne montrent pas de variation en teneur phénolique et ce que ce soit la température, 37° et 60°C.

La teneur élevée en polyphénols contenue dans la fraction méthanolique montre qu'il s'agit de meilleur solvant pour extraire les polyphénols des fruits d'argousier. Nos résultats sont similaires à ceux indiqués par Kant, 2012. Salaheen et *al.*, 2014 ont étudié l'extraction des composés phénoliques des baies noires (mûres et myrtilles) avec les trois solvants : l'éthanol, le méthanol et l'eau. L'extraction par l'éthanol (10%) a donné la teneur la plus élevée en composés phénoliques. L'élévation en polyphénols dans cette fraction, permet d'envisager une meilleure capacité antioxydante comparée aux deux autres extraits.

1.2. Activité antioxydante des baies d'argousier :

L'activité antioxydante des extraits des baies d'argousier a été mesurée par le test de DPPH. Les résultats de l'activité antiradicalaire (DPPH) en fonction de différents solvants d'extraction: le méthanol 10%, l'éthanol 10 % et l'eau sont représentés dans la figure 9.

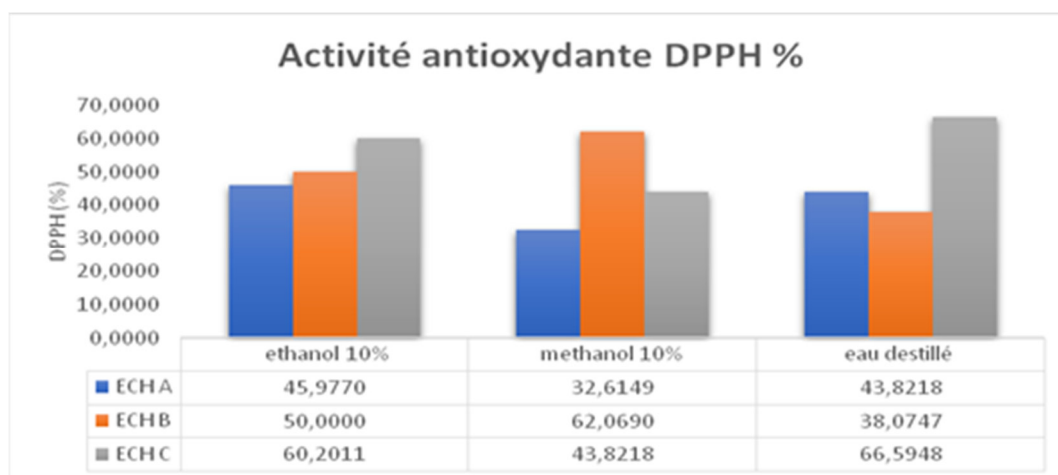


Figure9 : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH des extraits d'argousier

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de l'échantillon C a une grande activité antioxydante avec $66.5\% \pm 0,001$ dans l'extrait aqueux pour l'activité antiradicalaire DPPH. Tandis que, les extraits méthanolique 10% pour échantillon A a la plus faible activité antiradicalaire DPPH avec $32.6\% \pm 0,030$. Pourtant Muzykiewicz et *al.*, 2018 stipule que l'extraction pendant 1h dans le méthanol est la meilleure méthode d'extraction pour l'obtention des extraits avec une forte activité antioxydante de l'argousier.

L'extrait aqueux enregistre l'activité antioxydante la plus élevée, ce qui peut montrer sa grande capacité de piégeage des radicaux libres par rapport aux extraits ethanolique et méthanolique. Ces résultats ne sont pas cohérents avec les teneurs en composés phénoliques. L'extrait qui a la teneur en composés phénoliques la plus faible, il a l'activité antioxydante la plus élevée. Nos résultats montrent une composition phénolique différente entre les différents extraits, et l'apparition de nouvelles molécules avec une capacité de piégeage des radicaux libres. Ces résultats coïncident avec ceux trouvés par Upadhyay et *al.*, 2010 qui ont conclu que les extraits éthanoliques et aqueux des feuilles d'argousier sont doués d'activité antioxydante.

Cette activité antioxydante est plus importante dans les feuilles d'argousier comparées avec les fruits de cette espèce. Ainsi, Bittova et *al.*, 2014 ont analysé les capacités antioxydantes des différentes parties (tiges, feuilles et les baies) de l'argousier et ont reporté que les feuilles d'argousier donnent la meilleure activité antioxydante. Les résultats de cette étude ne sont pas corrélés avec les teneurs en composés phénoliques. Cette différence a été expliquée par la différence des méthodes d'extractions utilisées, conditions de stockage ainsi que le moment de la récolte (Criste, 2020). La maturité du fruit aura également un impact sur l'activité de piégeage des radicaux, le potentiel antioxydant moins faible que celui des feuilles, est plus élevé dans les fruits immatures que les matures (Muzykiewicz et *al.*, 2018) Les résultats obtenus dans la présente étude sont différents de ceux reportés par Duong et *al.*, qui ont montré que l'extrait aqueux a une faible activité antioxydante avec le test DPPH.

Cette activité est dépendante de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques des fruits d'argousier. En présence d'un radical libre DPPH•, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de la réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydante du donneur d'hydrogène (Laib, 2012). Cette activité est peut-être due aux différents composés des baies d'argousier notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes qui possèdent un pouvoir antioxydant.

1.3. Pouvoir réducteur FRAP :

En plus de l'étude des capacités de piégeage des radicaux libres par le test DPPH, nous avons essayé d'évaluer les capacités réductrices des baies d'argousier par le test FRAP.

Les résultats du pouvoir réducteur du fer (FRAP) en fonction de différents solvants d'extraction : le méthanol 10% l'éthanol 60 % et l'eau sont représentés dans la figure 10.

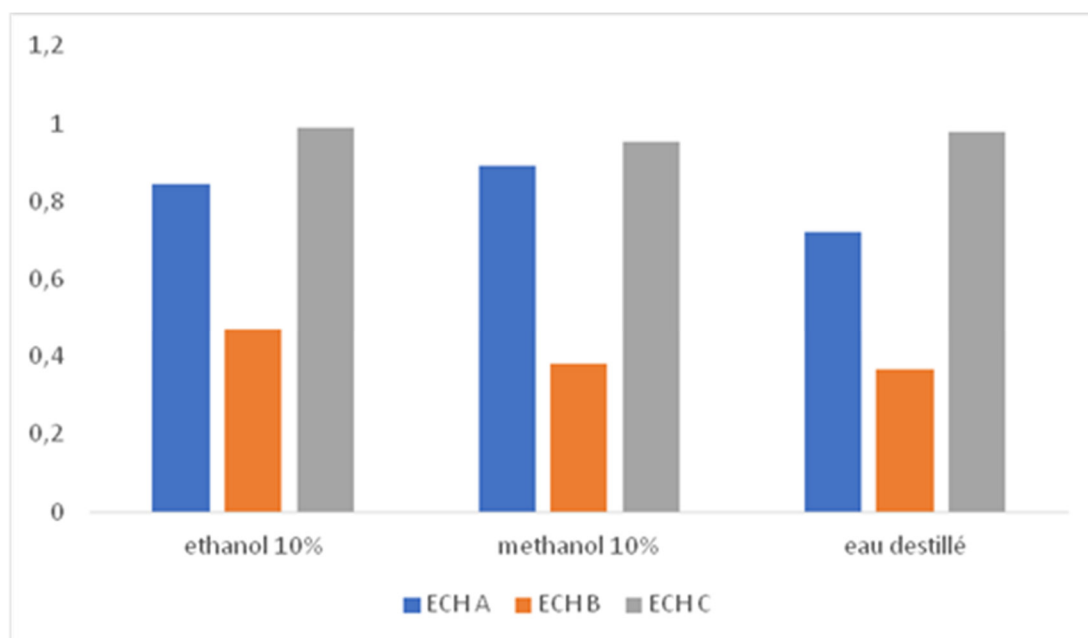


Figure 10 : Résultats de l'activité antiradicalaire DPPH des extraits d'argousier

Les valeurs des absorbances présentées sur la figure ci-dessus montrent des variations entre les trois échantillons au sein du même extrait en comparaison avec le témoin. L'examen sommaire des résultats obtenus concernant l'activité réductrice des différents extraits montrent une forte capacité réductrice des extraits éthanolique par rapport aux deux autres extraits. Une autre observation pouvant être faite concernant le classement des différents échantillons (A, B et C) en termes de capacités antioxydantes à travers ce test. Sans prendre en

considération les différences entre les méthodes d'extraction, le classement par moyenne des échantillons allant des plus antioxydants vers les moins antioxydants est le suivant : extraits des baies C, extraits des baies A, extraits des baies B. Ces résultats ne sont pas cohérents avec les teneurs en composés phénoliques totaux selon les différentes méthodes d'extraction. De même, nos résultats ne coïncident pas avec ceux trouvés par Kant, 2012 et Negi, 2005 qui ont rapporté une forte capacité réductrice traduite donc par une forte activité antioxydante des extraits méthanolique des fruits et des graines d'argousier respectivement.

1.4. Activité anti hémolytique :

L'activité hémolytique des extraits éthanoliques des baies d'argousier a été évaluée sur des globules rouges humains en présence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les résultats d'inhibition d'hémolyse en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de l'échantillon A et en comparaison avec un témoin positif sont représentés sur la figure 11.

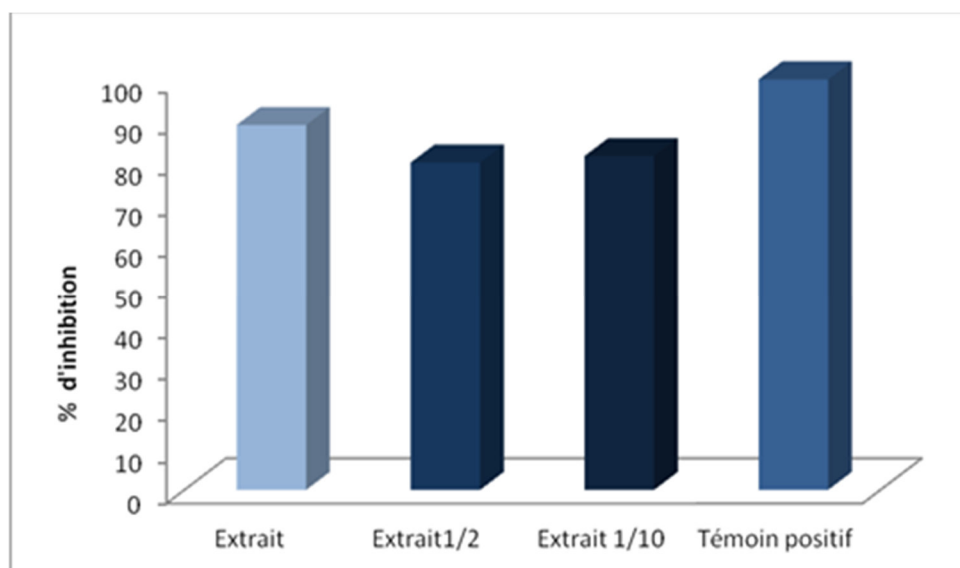


Figure 11 : Résultats de l'inhibition d'hémolyse des extraits d'argousier

Au vu des résultats ci-dessus, et en comparaison avec le témoin positif qui affiche un taux d'inhibition de 100%, l'extrait d'argousier possède une forte activité inhibitrice (89, 80 et 81% respectivement) même à des concentrations 10 fois plus faibles. Ceci montre que nos extraits protègent les érythrocytes contre l'hémolyse. Nos résultats montrent que, les composés phénoliques par exemple des baies d'argousier ont pu contourner les effets nocifs des radicaux libres générés par le H₂O₂. Ces résultats concernant l'activité anti hémolytique des fruits d'argousier sont bien cohérents avec ceux rapportés par plusieurs auteurs sur plusieurs espèces riches en composés phénoliques telles que *Acacia hydaspica*, *Maytenus roleanus* et *Ononis mitissima* L. (; Shabbir, 2013 ; Afsar, 2016 ; Besbas, 2020)

En somme, à travers l'ensemble des protocoles expérimentaux réalisés sur les différents extraits des baies d'argousier pour l'extraction et l'identification des composés phénoliques totaux et l'étude des propriétés antioxydantes et anti hémolytiques de cette espèce nous pouvons déduire la richesse des baies d'argousier en composés bioactifs naturels (flavonoïdes, composés phénoliques, tannins, ...etc.) doués d'activité biologiques.

Conclusion :

Aujourd'hui, on cesse d'assister à un retour à la nature et à la thérapeutique par les plantes en raison des effets néfastes de nombreux traitements conventionnels

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à évaluer le taux de composés phénoliques ainsi que les propriétés antioxydantes de variants extraits (éthanolique, méthanolique, et aqueux) de les échantillons de l'argousier, les résultats montrent que l'extrait aqueux et méthanolique a des taux élevés et que la température avait un rôle principal dans l'influence sur les extraits.

Le test DPPH a révélé également que l'extrait aqueux de l'échantillon C a une activité antioxydante supérieure que l'autres extraits.

Le test FRAP montre qu'il y a une capacité réductrice élevée dans l'échantillon C suivie avec l'échantillon A a peu près dans tous les extraits et que l'échantillon B est faible.

Ces résultats restent partiels et d'autres travaux s'imposent au niveau pharmacologique et chimique, donc il serait intéressant à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique

Références bibliographiques

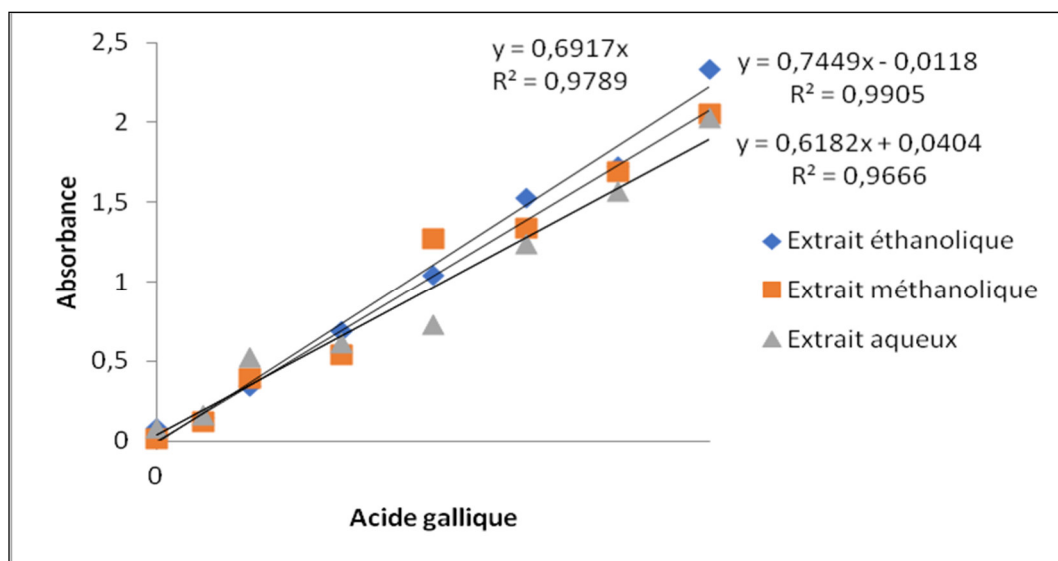
- Afsar, T., Razak, S., Khan, M. R., Mawash, S., Almajwal, A., Shabir, M., & Haq, I. U. (2016). Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydaspica* R. Parker aerial parts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1).
- Argousier : Origine, histoire et bienfaits - Natura Force.com
- Besbas, S., Mouffouk, S., Haba, H., Marcourt, L., Wolfender, J.-L., & Benkhaled, M. (2020). Chemical composition, antioxidant, antihemolytic and anti-inflammatory activities of *Ononis mitissima* L. *Phytochemistry Letters*, 37, 63–69.
- CHEHTIT-HACID , F. 2016. Etude de la variabilité biochimique, physiologique et évaluation des activités biologiques des polyphénols de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.). Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- Criste, A., Urcan, A. C., Bunea, A., Pripon Furtuna, F. R., Olah, N. K., Madden, R. H., & Corcionivoschi, N. (2020). Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties. *Molecules*, 25(5), 1170.
- Dash, B., Kashyap, P., 1980. *Materia Medica of Ayurveda*. Concept Publishing Company, New Delhi.
- Duong T., Phan T., Ha T. (2015). Effects of extraction process on phenolic content and antioxidant activity of soybean. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3(1-2): 33-38.
- Geetha Suryakumar; Asheesh Gupta (2011). Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). , 138(2), 0–278.
- Haddouchi, F.; Chaouche, T. M.; Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie; Phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four Saharan plants from Algeria; . *Phytothérapie*, doi:10.1007/s10298-016-1086-8
- Li, T.S.C.; Beveridge, T.H.J. (with contributions by B.D. Oomah, W.R. Schroeder, and E. Small). *Sea Buckthorn (Hippophaë rhamnoides L.)*:

-
- Production and Utilization. 2003. NRC Research Press, Ottawa, Ontario. 133 p.
- Li, Y. R., et Wang, L.Y. 1994. A preliminary analysis of the effects of sea buckthorn oil capsule and sea buckthorn 'Maisaitong' capsule on ischemic apoplexy. *Hippophae* 7 45-46.
 - Li, Thomas H. J. Beveridge, National Research Council Canada ,NRC Research Press, 2003 - 133 pages
 - NEGI, P., CHAUHAN, A., SADIA, G., ROHINISHREE, Y., & RAMTEKE, R. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*L.*) seed extracts. *Food Chemistry*, 92(1), 119–124.
 - Saleem, M., Nazir, M., Ali, M.S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaz, N. and Jabbar, A. (2010) Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural Product Reports*, 27(2), 238-254.
 - Shabbir, M., Khan, M. R., & Saeed, N. (2013). Assessment of phytochemicals, antioxidant, anti-lipid peroxidation and anti-hemolytic activity of extract and various fractions of *Maytenus royleanus* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1).
 - Souhaila merzougui, ECOLOGIE, ÉVEIL ÉCOLOGIQUE ; L'argousier, un arbuste épineux à multiples intérêts ! <http://www.explorialis.org>
 - Stephane,2021 Argousier : Plantation, Culture, Variétés (gerbeaud.com)
 - Thomas Michel. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Alimentation et Nutrition. Université d'Orléans, 2011.
 - Thomas S.c. Li et Thomas H.J. Beveridge Agriculture et agroalimentaire Canada Centre de recherches en agroalimentaire du Pacifique Summerland (C.-B.) Canada VOH 1Z0, 2004
 - Upadhyay, N. K., Yogendra Kumar, M. S., & Gupta, A. (2010). Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3443–3448.
 - Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., et Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, and vegetables 136 Production et utilisation de l'argousier (*Hippophae rhamnoides L.*) and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46 : 4113-4117.
-

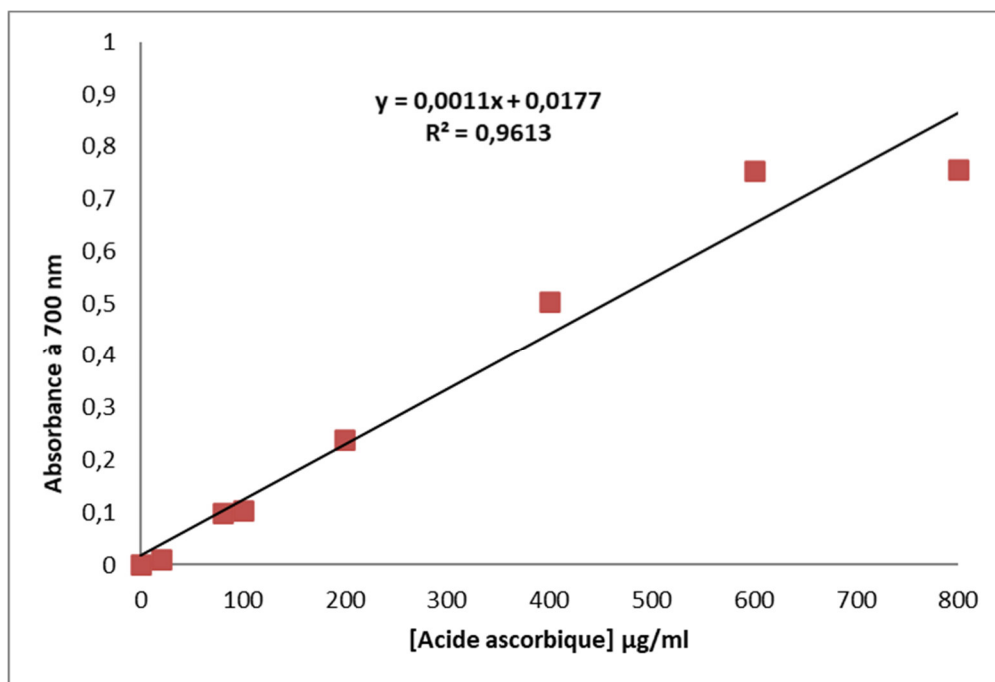
- Vernet, A. L'argousier (*Hippophae rhamnoides* L.). *Phytothérapie* 4, 125–129 (2006)
- Wu, C.C., Panek, R.J., Holm, A.V., Raymond, J.C., Hartmann, L.W., Swank, J.H., 1989, *ApJ* 339, 443-454.
- Xu Mingyu, 1991. Present conditions and the future research on the seabuckthorn medicinal use. *Journal of Water and Soil Conservation of China* 5, 38.
- Yang, B., & Kallio, H. (2002). Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophaë*) lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 13(5), 160–167.
- Zhen, H.J .. Chen, X.Y, Yang, Q.Z., et He, EC. 1 996. Effects of sea buckthorn ail on immune function of mice. *J. Lanzhou Univ. (Natural Sei.)* 26 : 95-98.

Annexes :

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexe 2 : courbe d'étalonnage d'acide ascorbique



Résumé

L'argousier est considéré comme une source importante de composés bioactifs qui possède plusieurs vertus grâce à sa richesse en composés phénoliques. Le processus d'extraction des polyphénols est également affecté par plusieurs facteurs, notamment : nature et concentration de solvant, temps et la température. Le présent travail a pour objectif de déterminer les conditions d'extraction optimales des composés phénoliques à partir de l'argousier et d'évaluer leur activité antioxydante. Les résultats obtenus montrent que les conditions d'extraction ont un effet significatif sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits et que les meilleures conditions d'extraction sont les suivantes : extrait aqueux, à température 60°. Les résultats montrent également que le pouvoir réducteur est présent avec une absorbance élevée, alors qu'il y a une corrélation entre le pouvoir réducteur et l'activité antioxydante.

Mots clé : Hippophae rhamnoides L., l'argousier, activité antioxydante, pouvoir réducteur, activité anti hémolytique.