



ISSN Print: 2394-7500
 ISSN Online: 2394-5869
 Impact Factor: 5.2
 IJAR 2020; 6(10): 557-560
www.allresearchjournal.com
 Received: 21-08-2020
 Accepted: 26-09-2020

Samaké Edouard Savio
 Laboratoire de Biochimie
 Végétale, Alimentaire et de
 Biotechnologie (LBVAB),
 Faculté des Sciences et
 Techniques, Université des
 Sciences, des Techniques et des
 Technologies de Bamako,
 Bamako, Mali

Togola Issiaka
 Laboratoire de Biochimie
 Végétale, Alimentaire et de
 Biotechnologie (LBVAB),
 Faculté des Sciences et
 Techniques, Université des
 Sciences, des Techniques et des
 Technologies de Bamako,
 Bamako, Mali

Toukara Fatoumata
 Laboratoire de Biochimie
 Végétale, Alimentaire et de
 Biotechnologie (LBVAB),
 Faculté des Sciences et
 Techniques, Université des
 Sciences, des Techniques et des
 Technologies de Bamako,
 Bamako, Mali

Corresponding Author:
Samaké Edouard Savio
 Laboratoire de Biochimie
 Végétale, Alimentaire et de
 Biotechnologie (LBVAB),
 Faculté des Sciences et
 Techniques, Université des
 Sciences, des Techniques et des
 Technologies de Bamako,
 Bamako, Mali

Activité antioxydante *in vitro* des extraits des graines de *Hibiscus sabdariffa* L. récoltées dans quatre localités du Mali

Samaké Edouard Savio, Togola Issiaka and Toukara Fatoumata

DOI: <https://doi.org/10.22271/allresearch.2020.v6.i10i.7393>

Abstract

Les composés antioxydants naturels font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.

Les graines de *Hibiscus sabdariffa* L. sont beaucoup consommées au Mali sous forme d'un condiment traditionnel nommé « *Datou* ». Cette étude avait pour objectif la détermination de l'activité antiradicalaire des extraits de graines de *Hibiscus sabdariffa* L. Les graines ont été récoltées dans quatre (4) villes du Mali (Bamako, Banamba, Tousséguéla et Tominian). Les composés phénoliques ont été dosés par spectrophotométrie et l'activité antiradicalaire a été évaluée par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus ont révélés que tous les extraits possèdent des teneurs assez bonnes en polyphénols et en flavonoïdes et les plus importantes ont été enregistrées dans l'échantillon de Bamako $3,01 \pm 0,01$ mg EAG/g et $0,095 \pm 0,006$ mg ER/g. Le même échantillon a présenté la meilleure activité antioxydante avec une IC_{50} de $246 \pm 0,023$ μ g/mL. Au terme de cette étude, les résultats obtenus montrent que les graines de *Hibiscus sabdariffa* L. possèdent une activité antioxydante avérée.

Keywords: *Hibiscus Sabdariffa* L., graine, phenols totaux, activite antiradicalaire, Mali

1. Introduction

A l'origine l'espèce *Hibiscus sabdariffa* était cultivée en Afrique, et largement distribué dans les zones tropicales, subtropicales, des Indes occidentales à l'Amérique centrale et en Asie où l'espèce s'est adaptée (Okereke 2015) ^[1]. Cette plante est beaucoup connue pour ses multiples vertus thérapeutiques. Odigie *et al.*, (2003) ^[2] ont démontré *in vivo* les effets antihypertensif et cardio-protecteur des extraits de *Hibiscus sabdariffa* L. L'effet protecteur des extraits de *H. sabdariffa* contre la fibrose du foie a été signalé par Liu *et al.*, (2006) ^[3]. Tandis que Ali *et al.* (2003) ^[4] ont mis en évidence la réduction de l'hépatotoxicité induite par le paracétamol chez les souris. Les activités anti-athérosclérotique, anti-leucémiques et antalgiques des extraits de *H. sabdariffa* ont été démontrées (Ajay *et al.*, 2007 ; Lin *et al.*, 2003) ^[5,6]. L'activité antiradicalaire d'extraits d'anthocyanes obtenue des calices de *H. sabdariffa* a révélé des propriétés comparables à celles de l'acide ascorbique (Palé *et al.*, 2004) ^[7]. Des études sur les extraits ont montré l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité et la prévention de l'hyperlipidémie chez les rats (Chen *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2006) ^[8,9]. Au Mali, les graines finement écrasées et légèrement salées sont mâchées pour soulager les maux de cœur (l'envie de vomir) Traoré, (1983) ^[10].

Toutes les parties (organes) de la plante sont consommées:

- Les calices sont trempés dans l'eau chaude afin de faire une boisson (*Dableni*),
- Les feuilles sont bouillies pour préparer des sauces accompagnant différents plats.
- Les graines sont consommées sous forme d'un condiment traditionnel (*Datou*).
- Les fibres sont utilisées comme corde et sont aussi utilisées dans la fabrication des sacs.

Au Mali, en milieu rural le « *Datou* » est fortement consommé, cependant, peu études traitent la détermination des composés phénoliques et l'évaluation de son activité antiradicalaire des graines de *H. sabdariffa*, ce qui justifie le présent travail.

2. Matériels et Méthodes

2.1 Matériels

Matériel végétal était constitué des graines de *Hibiscus sabdariffa* L. récoltées dans quatre (4) villes du Mali (Bamako ; Tominian, Tousséguéla et Banamba) entre Novembre et Décembre 2018. Les produits chimiques et les solvants utilisés sont de grade analytique.

2.2 Méthodes

2.1 Le criblage phytochimique

Les extraits ont été analysés pour mettre en évidence les différents groupes phytochimiques. Les protocoles décrits par Harborne, (1998) [11] et Srivastava *et al.*, (2012) [12] ont servi à réaliser ce travail. Ainsi, les alcaloïdes ont été mis en évidence par le réactif de Dragendorff. La caractérisation des tanins a été effectuée par le chlorure ferrique. Pour la détermination des triterpènes, nous avons utilisé l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré. L'alcool chlorhydrique dilué, les copeaux de magnésium et l'alcool iso amylique ont été utilisés pour rechercher des flavonoïdes. La recherche des coumarines a été faite par la méthode de fluorescences à l'UV à 365 nm. Le test de mousse a permis de mettre en évidence les saponosides et l'ammoniac a permis de mettre en évidence les anthraquinones libres.

2.3 Dosage des polyphénols

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour la quantification des polyphénols des graines de *Hibiscus sabdariffa* L. décrite par Singleton *et al.*, (1999) [13] légèrement modifiée par Togola *et al.*, (2019) [4].

500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué à 10% dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 100 µL d'extrait avec des concentrations bien déterminées. Quatre minutes après, 400 µL de Na₂CO₃ (75 mg/mL), sont additionnées au mélange réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

2.4 Dosage des flavonoïdes

La teneur en Flavonoïdes totaux des extraits de graines de *Hibiscus sabdariffa* L. a été réalisée par la méthode décrite par Fofié *et al.*, (2017) [15] avec une légère modification. A 1

mL d'échantillon, a été ajouté 1 mL de la solution d'AlCl₃ (2% dans du méthanol). Après 10 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430 nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent rutine par gramme d'extrait (mg ER/g).

2.5 Activité antioxydante: le test de DPPH

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des graines de *Hibiscus sabdariffa* L. selon la méthode utilisée par Brand Williams *et al.*, (1995) [16]. Brièvement, 50 µL de chaque solution éthanolique, à différentes concentrations (12,5 ; 26 ; 40 ; 60 ; 80 µg/mL) sont ajoutés à 1,95 mL de la solution éthanolique du DPPH (0,024 g/L). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µL de l'éthanol avec 1,95 mL de la solution éthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre un blanc à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test a été répété 3 fois. Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante:

$$[PI] = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A₀ = absorbance DPPH; A₁: absorbance échantillon. Les IC₅₀ (concentrations qui inhibent 50% du radical DPPH) ont été déduites à partir de la droite de regression linéaire obtenue à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH

2.6 Analyse des données

Les données expérimentales obtenues ont été exprimés par une moyenne (±l'écart-type) et traitées avec les logiciels Excel version 2013 et Minitab 18.1. Le test ANOVA à un seul facteur utilisant le test de Fisher a été choisi pour comparer les moyennes au seuil de signification $\alpha = 0,05$.

3. Résultats et Discussion

3.1 Criblage phytochimique

Les résultats reprenant les groupes des substances chimiques identifiées sont repris dans le table ci-dessous.

Table 1: Résultat du criblage phytochimique de l'extrait acetonique des graines de *H. sabdariffa* L.

Métabolites secondaires	Ext. Aqueux	Ext. Ethanolique	Ext. Méthanolique	Ext. Acetonique
Tanins	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-	-
Coumarines	+	+	+	+
Saponosides	+	+	+	+
Anthraquinones	+	+	+	+
Terpénoïdes	+	+	+	+

Le screening phytochimique a révélé la présence de: tanins, flavonoïdes, triterpénoïdes, saponosides, anthraquinones.

Les mêmes métabolites ont été retrouvés dans les calices et les feuilles de *H. sabdariffa* (Mensah *et al.* 2015 ; Adamu *et al.* 2015) [17, 18].

3.2 Teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes des extraits des graines sont reportés dans le table 2.

Table 2: Teneur en Polyphénols totaux et Flavonoïdes totaux

Solvants	Echantillons	Polyphenols totaux mg EAG/g	Flavonoïdes totaux mg ER/g
Eau	Bamako	1,577±0,05 ^{de}	0,086±0,009 ^{bc}
	Banamba	1,149±0,02 ^s	0,037±0,009 ^{gh}
	Tominian	1,564±0,25 ^{de}	0,045±0,005 ^{fg}
	Tousséguéla	1,567±0,06 ^{de}	0,079±0,008 ^c
Acetone à 70%	Bamako	3,005±0,012 ^a	0,095±0,007 ^a
	Banamba	1,990±0,06 ^c	0,055±0,001 ^{de}
	Tominian	2,007±0,05 ^c	0,063±0,002 ^d
	Tousséguéla	2,229±0,04 ^b	0,090±0,002 ^{ab}
Ethanol à 70%	Bamako	2,235±0,06 ^b	0,044±0,003 ^{fg}
	Banamba	0,980±0,04 ^h	0,024±0,008 ^{ij}
	Tominian	0,982±0,08 ^h	0,033±0,003 ^{hi}
	Tousséguéla	1,710±0,12 ^d	0,033±0,009 ^h
Methanol à 70%	Bamako	2,051±0,06 ^c	0,055±0,003 ^{de}
	Banamba	1,036±0,13 ^{gh}	0,016±0,001 ⁱ
	Tominian	1,386±0,03 ^f	0,019±0,003 ^j
	Tousséguéla	1,5124±0,01 ^{ef}	0,050±0,003 ^{ef}

* Les moyennes par colonne ne partageant aucune lettre sont significativement différentes ($p < 0,05$)

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux diffèrent significativement ($P < 0,05$) d'un échantillon à un autre.

La meilleure teneur en polyphénols a été observée avec les

extraits acétoniques, dont l'échantillon de Bamako a montré la plus forte suivi de l'échantillon de Tousséguéla et enfin le test statistique a montré qu'il n'existe aucune différence significative entre l'échantillon Tominian et Banamba. De même que les polyphénols, la meilleure teneur en flavonoïdes a été observée avec les extraits acétoniques dont la plus forte avec l'échantillon de Bamako et la plus faible avec l'échantillon de Banamba. Nos teneurs sont supérieures à celles obtenues par Cissouma *et al.*, (2013) [19], qui ont obtenu 1,99±0,01 mg EAG/g pour l'extrait acétonique à 30%. Mais elles sont inférieures à la teneur des calices (453,43± 3,78 mg EAG/g) et des feuilles (377,78±6,61mgEAG/g d'extrait) Formagio *et al.*, (2015) [20]. Comme les polyphénols, nous avons eu la même tendance avec les flavonoïdes. L'étude statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les échantillons. Les teneurs des échantillons sont inférieures à celles obtenues dans les calices et les feuilles de valeurs respectives: 97,43 ±2,51 mg EQ/g d'extrait et 140,29±3,14 mg EQ/g d'extrait Formagio *et al.*; 2015.

3.3 L'activité Antioxydante *in vitro*: la réduction du radical DPPH

La figure 1 représente le pouvoir antioxydant des échantillons.

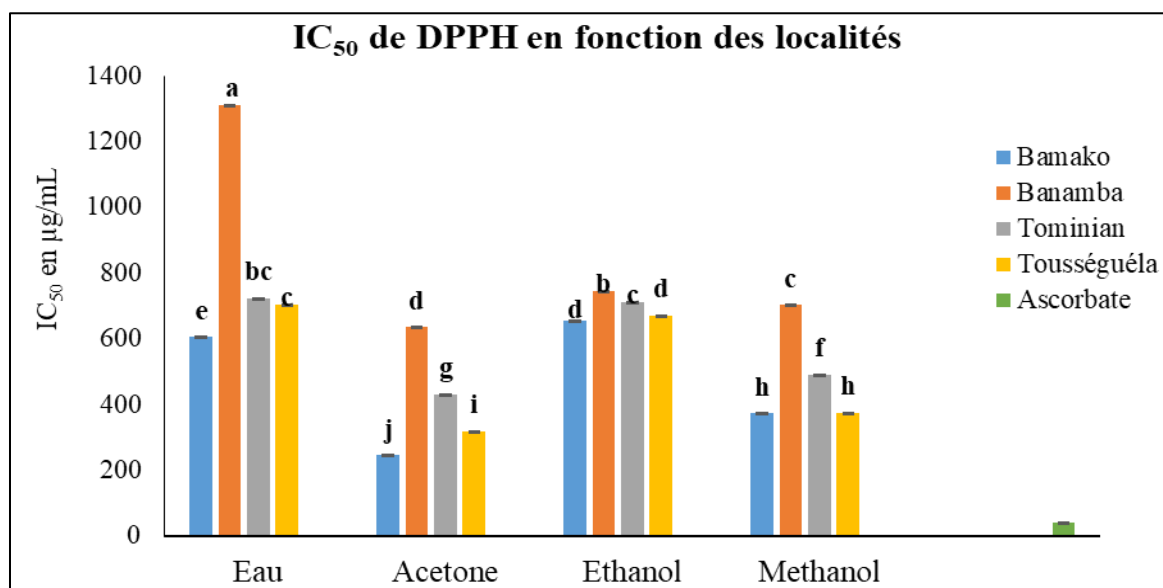


Fig. 1: IC₅₀ du DPPH en fonction des localités

* Les bandes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes ($p < 0,05$)

Dans notre étude, le calcul statistique montre qu'il y'a une différence significative entre les échantillons ($P < 0,05$).

La meilleure activité antioxydante a été obtenue dans les extraits acétoniques dont la plus forte avec l'échantillon de Bamako avec une IC₅₀ 246 ± 0,005 µg/mL et la plus faible avec l'échantillon de Banamba avec une IC₅₀ 636± 0,017 µg/mL. La faible activité a été remarquée dans les extraits aqueux et la plus faible avec l'échantillon de Banamba avec une IC₅₀ 1312± 0,016 µg/mL. Nos échantillons ont été plus actifs que l'échantillon des graines étudié par Cissouma *et al.*, (2013) [19] récolté à Koutiala qui ont eu une IC₅₀ supérieure à la nôtre (0,65±0,03mg/mL) avec l'extrait acétonique. Mais, ils sont moins actifs que les feuilles (44,98µg/mL) et les calices (37,86µg/mL) Formagio *et al.* (2015) [20].

4. Conclusion

L'étude phytochimique et l'activité antioxydante des graines de *Hibiscus sabdariffa* L. a été réalisée. Ces graines provenant de diverses localités présentent une bonne teneur en composés phénoliques et flavonoïdes, sont dotées d'un pouvoir antioxydant. L'échantillon de Bamako présente une activité antioxydante supérieure à celles des autres (Tousséguéla, Tominian et Banamba). Ce pouvoir antioxydant des graines de cette plante justifierait leurs multiples utilisations thérapeutiques.

5. Références

- Okereke CN, Iroka FC, Chukwuma MO. Phytochemical analysis and medicinal uses of *Hibiscus sabdariffa*., International Journal of Herbal Medicine 2015; 2(6):16-19.

2. Odigie IP, Ettarh RR, Adigun SA. Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats, *J. Ethnopharmacol.* 2003; 86:181-185.
3. Liu JY, Chen CC. Wang *sabdariffa* extract on CCl₄-induced liver fibrosis in rats, *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44:336-343.
4. Ali BH, Mousa HM, El-Mougy S. The effect of a water extract and anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats, *Phytother. Res.* 2003; 17(1):56-59.
5. Ajay M, Chai HJ, Mustafa AM, Gilani AH, Mustafa MR. Mechanisms of the antihypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces, *J. Ethnopharmacol.* 2007; 109:388-393.
6. Lin WWH, Hsu JD, Yang MY, Wang CJ. The protective effects of *Hibiscus*. L., Hsieh Y.J., Chou F.P., Wang, C.J., Cheng M.T., Tseng T.H., *Hibiscus* protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide induced rat hepatic damage, *Arch. Toxicol.* 2003; 77:42-47.
7. Palé É, Kouda-Bonafos M, Nacro M. Caractérisation et mesure des activités antiradicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina Faso, *C.R. Chimie.* 2004; 7:973-980.
8. Chen CC, Chou FP, Ho YC, Lin WL, Kao ES, Huang AC *et al.* Inhibitory effects of *Hibiscus sabdariffa* L. extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats, *J. Sci. Food Agric.* 2004; 84:1989-1996.
9. Chang YC, Huang KX, Huang AC, Ho YC, Wang CJ. *Hibiscus* anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis, *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44:1015-1023.
10. Traoré D. Médecine et magie africaines ou comment le noir se soigne-t-il ? *PRESENCE AFRICAINE*, 1983, 569.
11. Harborne JB. *Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis* 3e ed. Chapman and Hill. 1998, 303.
12. Srivastava N, Chauhan A, Sharma B. Isolation and characterization of some phytochemicals from Indian traditional plants. *Biotechnology Research International.* 2012; (4):549850.
13. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 1999; 299:152-178.
14. Togola I, Dembélé AA, Tounkara F, Diarra N, Konaré MA, Karembé M *et al.* Evaluation of *in vitro* Antioxidant Activities of Ethanol Extracts of *Datura innoxia* Mill. Leaves and Seeds Harvested in Mali, *Annual Research & Review in Biology.* 2019; 33(2):1-8
15. Fofié NBY, Kouakou LPMS, Coulibaly K, Sanogo R, Bamba DK. Composition en sels minéraux et en métabolites secondaires de *Zizyphus mauritania* Lam., une plante antihyperglycémiant. *Journal de la Société Ouest Africaine de Chimie.* 2017; 044:30-35.
16. Brand Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate anti-oxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie.* 1995 ; 28(1):25-30.
17. Mensah JK, Golomeke D. Antioxidant and antimicrobial activities of the extracts of the *Calyx of Hibiscus Sabdariffa* Linn. *Current Science Perspectives* 2015; 1(2):69-76.
18. Adamu H, Ngwu RO. Phytochemical Screening and Antibacterial Activities Of *Hibiscus sabdariffa* L. Leaf Extracts, *Nigerian Journal of Chemical Research*, 2015, 20,
19. Cissouma AI, Tounkara F, Nikoo M, Yang N, Xu X. Physico Chemical Properties and Antioxidant Activity of Roselle Seed Extracts, *Journal of Food Science and Technology.* 2013; 5(11):1483-1489.
20. Formagio ASN, Ramos DD, Vieira MC, Ramalho SR, Silva MM, Zárata NAH *et al.* Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties, *Braz. J. Biol.*, 2015; 75(1):69-76, <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.07413>.