

ACTIVITES ANTI-RADICALAIRES D'EXTRAITS DE JUS DE FRUITS DU FIGUIER DE BARBARIE (*OPUNTIA FICUS INDICA*)

B. S. Maataoui, A. Hmyene¹ et S. Hilali

Laboratoire de Biochimie Nutritionnelle et Alimentaire, Département de Biologie, Faculté des Sciences et Techniques, B.P. 577, Settat, Maroc

¹ Laboratoire de Biochimie, Département de Biologie, Faculté des Sciences et Techniques, B.P. 146, Mohammedia, Maroc
maataouis@hotmail.com

(Received 25 July 2005 - Accepted 13 October 2005)

RESUME

L'activité anti-oxydante des jus de fruits de figuier de Barbarie a été évaluée, in vitro, par le test au DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les composés phénoliques, flavonoides et pigments de types bétalaines, possèdent des activités anti-radicalaires plus importantes que celle de la vitamine C. Les jus bruts présentent des activités plus élevées que celles des composés qui les constituent. Les jus issus des fruits de couleur pourpre possèdent des activités anti-oxydantes plus élevées que ceux issus des fruits de couleur jaune - orange.*

Mots clés : figuier de Barbarie, activité anti-oxydante, flavonoides, bétalaines

ABSTRACT

The antioxidant activity of the juices of prickly pear fruits has been evaluated, in vitro, by DPPH test. The results showed that the phenolic compounds, flavonoids and pigments of betalains type, present antioxidant activities more important than Vitamin C. The raw juices have more elevated activities than their constituents. The juices from purple colour fruits possess an antioxidant activity more than those from the yellow-orange colour fruits.*

Keywords: prickly pear, antioxidant activity, flavonoids, betalains

INTRODUCTION

La survenue de certaines maladies dégénératives est favorisée en partie par des facteurs nutritionnels (Gerber & Corpet, 1997). Pendant longtemps l'accent a été exclusivement mis sur le rôle d'apports excessifs en certains nutriments, comme cause de ces pathologies. A la suite des données d'observation, notamment de ce qu'il est convenu d'appeler le régime méditerranéen et le paradoxe français, la notion d'éléments nutritionnels protecteurs est apparue (Renaud *et al.*, 1995). Parmi les aliments associés à cet effet protecteur, les fruits et légumes possèdent un rôle important. En effet, ils sont une source en plusieurs composés fonctionnels, qui agissent en interaction et en synergie (Zino *et al.*, 1998).

Longtemps marginalisée, la production fruitière du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) est en nette progression, vue l'importance socio-économique et environnementale de cette culture. Ces fruits sont nutritionnellement importants. Ils sont riches en vitamine C, pigments de type bétalaines, composés phénoliques, sucres réducteurs et sels minéraux (Maataoui & Hilali, 2004). Dans ce cadre, l'étude s'est intéressée à l'évaluation des activités anti-oxydantes de différents composés de fruits de figuier de Barbarie par le test de capture des radicaux libres.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Des fruits de couleur jaune-orange (JO) et pourpre (Pr) cueillis au mois d'août 2003, dans la région de la Chaouia (centre du Maroc) ont été lavés, épluchés et les pulpes ainsi obtenues ont été homogénéisées puis filtrées sur un tamis afin de séparer les graines et obtenir les jus correspondants.

Tous les produits chimiques utilisés sont de grade analytique (Fluka), sauf ceux utilisés en chromatographie qui sont de grade HPLC.

Dosage de l'acide ascorbique

La vitamine C, contenue dans les jus étudiés, a été déterminée par la méthode AOAC (1975).

Dosage des composés phénoliques

L'extraction de composés phénoliques contenus dans les jus étudiés a été effectuée par le mélange éthanol-eau : 80-20 (v/v). Le dosage quantitatif a été effectué par la méthode au réactif de Folin Ciocalteux (Rathjen & Robinson, 1992).

Dosage des pigments bétalaines

Les pigments totaux contenus dans les jus bruts étudiés ont été extraits par le mélange méthanol - eau : 80-20 (v/v) (Fernandez & Almela, 2001). Après centrifugation, les surnageants obtenus constituent la fraction "bétalaine totale". Les quantités en pigments extraites des jus de fruits ont été évaluées par spectrophotométrie selon la loi de Beer Lambert, à 484 et 535 nm. Les coefficients d'extinction molaire sont de $65000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ pour la bétanine et de $48000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ pour l'indicaxanthine (Schwartz & Von Elbe, 1980).

Extraction et caractérisation des flavonoïdes

Les jus ont été concentrés à l'évaporateur rotatif. Une extraction au diéthyléther en deux fois, a été effectuée. Ceci a permis d'obtenir deux fractions. Une fraction aqueuse et une fraction organique. La fraction aqueuse a été ensuite extraite avec l'acétate d'éthyle. Deux fractions sont alors obtenues. Une fraction aqueuse (fraction I) et une fraction organique, qui mélangée à celle obtenue après extraction au diéthyléther, constitue la fraction II. Chaque fraction (I et II) a été évaporée puis solubilisée dans un volume minimal de méthanol. Les

différentes fractions ainsi obtenues ont été soumises à une analyse chromatographique par HPLC. Pour cela, 20 µl de chaque fraction ont été injectés sur une colonne de type ODS alltime 5µm, de dimensions égales à 250 mm x 4.6 mm. La phase mobile est constituée de deux éluants : l'eau distillée et l'acétonitrile dont les pH sont ajustés à 3.1 par l'acide acétique. Le gradient d'éluion appliqué est de type linéaire, étalé sur 30 min, commençant avec de l'eau distillée et finissant avec l'acétonitrile. Le débit est de 1 ml / min. La détection a été effectuée par un détecteur UV visible à longueur d'ondes variables à 254 nm. Les flavonoides contenus dans chaque fraction analysée ont été identifiés par comparaison avec les temps de rétention obtenus pour des témoins, décrits dans la littérature (Galati *et al.*, 2003).

Activité anti-radicalaire par le test au DPPH*

L'activité anti-radicalaire des différents composés extraits a été évaluée *in vitro*, par le test au DPPH*. Le DPPH* (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette, vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 518 nm. Pour cela, des volumes, contenant des quantités équivalentes à celles des jus de fruits des différents composés fonctionnels extraits ont été incubés avec une solution méthanolique de DPPH* à 40 µg / ml, dans du tampon acétate 0.1M pH 5.5. A des intervalles de temps réguliers, les absorbances à 518 nm ont été enregistrées. Pour chaque test, le coefficient directeur de la cinétique de décoloration a été déterminé (Yingkun *et al.*, 2002).

Les résultats obtenus pour chaque composé testé sont exprimés par rapport à ceux obtenus pour la vitamine C, prise comme référence.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Activité anti-oxydante de l'acide ascorbique, composés phénoliques et colorants des jus de fruits de figuier de Barbarie

Après extraction et dosage, les teneurs en pigments, composés phénoliques et acide ascorbique dans les deux jus de fruits étudiés, sont représentés sur le Tableau I.

TABLEAU I

Teneurs en Acide Ascorbique, Composés Phénoliques et Colorants des Jus de Fruits Etudiés, Exprimées en % Massique

	Jus (JO)	Jus (Pr)
Acide ascorbique	0.04 % ± 0.003	0.034 % ± 0.005
Composés phénoliques	0.02 % ± 0.001	0.028 % ± 0.001
Indicaxanthine	0.245 % ± 0.007	0.022% ± 0.001
Bétanine	0.027 % ± 0.002	0.3065 % ± 0.002

On remarque que les jus de fruits étudiés sont riches en vitamine C, composés phénoliques et pigments. Les jus issus des fruits de couleur pourpre contiennent des quantités de pigments beaucoup plus élevées que celles des jus issus des fruits de couleur jaune-orange. Les résultats obtenus sont similaires à ceux décrits par plusieurs auteurs (Saenz *et al.*, 1993; Odoux & Dominguez, 1996).

Après incubation avec le DPPH* à une concentration de 40 µg / ml, les cinétiques de décoloration à 518 nm ont été déterminées. Pour chaque graphe obtenu, le coefficient directeur de la droite a été déterminé, et la capacité de capture des radicaux libres, de chaque composé a été exprimée, par rapport à une solution de vitamine C à la concentration de 0.04 % (Figure 1).

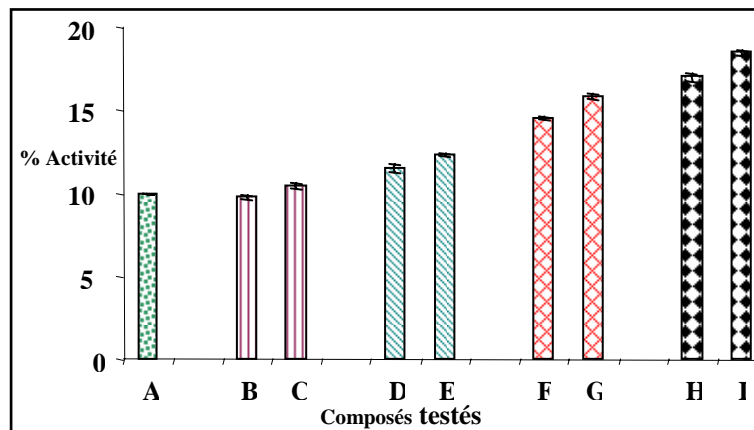


Figure 1. Test d'activité au DPPH* des composés extraits.

A : vitamine C ; B : acide ascorbique JO ; C : acide ascorbique Pr ; D : composés phénoliques JO ; E : composés phénoliques Pr ; F : colorants JO ; G : colorants Pr ; H : jus JO brut et I : jus Pr brut.

On remarque que tous les composés testés présentent une capacité de capture des radicaux libres nettement supérieure à celle de la vitamine C, prise comme référence. En effet, les composés phénoliques présentent une activité 1.2 fois plus élevée que l'acide ascorbique et les pigments en présentent 1.5 fois plus. De même, on constate que pour un même composé, la capacité anti-oxydante des fruits de couleur pourpre semble être plus élevée que celle des fruits de couleur jaune-orange.

Les résultats obtenus montrent également que, quelque soit le type de fruits étudiés, l'action anti-radicalaire des pigments (indicaxanthine et bétanine) est bien supérieure à celle des composés phénoliques. De même, les jus bruts des fruits d'*Opuntia ficus-indica* présentent une activité anti-oxydante nettement supérieure à celle des composés qui les constituent. Cette constatation trouve sûrement son explication, dans un effet synergique entre les constituants des jus étudiés.

Activité anti-radicalaire des flavonoides extraits des jus de fruits de Barbarie

Après extraction, les contenus en flavonoides des fractions aqueuse et organique ont été analysés par HPLC. Les résultats enregistrés montrent la présence exclusive de deux molécules dans la fraction aqueuse. Par contre, on note une absence totale de ces composés dans la fraction II, extraite par le diéthylether et l'acétate d'éthyle. La comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux décrits par la littérature montre qu'il s'agit des dérivés de la rutine et l'isorhammetine. Le fait que ces composés soient présents dans la fraction aqueuse, laisse supposer qu'ils sont glycosilés (Galati *et al.*, 2003).

L'action anti-oxydante des dérivés flavonoides extraits (Figure 2) a provoqué une diminution de l'absorbance du DPPH* de 50 % avec seulement 5 μ l. La fraction II, même à des volumes de 50 μ l n'a pas provoqué de diminution significative de l'absorbance à 518 nm.

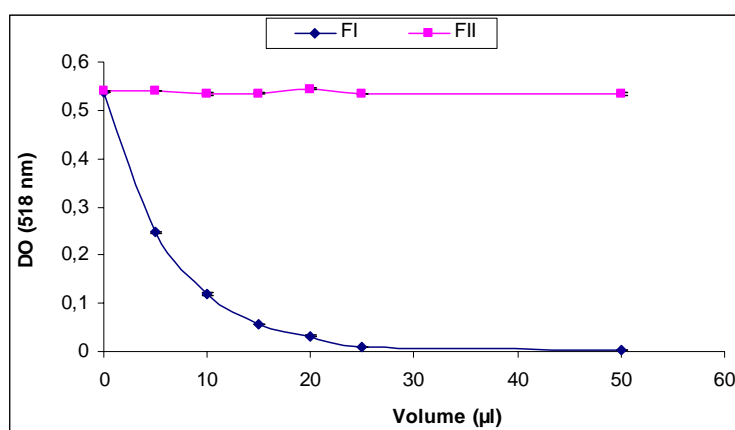


Figure 2. Effet anti-oxydant en fonction du volume des fractions flavonoïdes I et II.

CONCLUSION

Les fruits du figuier de Barbarie se sont révélés contenir plusieurs composés fonctionnels à activités anti-radicalaires. En effet les composés phénoliques, flavonoides et pigments se sont révélés avoir un potentiel de capture des radicaux libres plus élevé que la vitamine C, prise comme référence. L'effet synergique de ces composés dans les jus de fruits bruts a été constaté. Les fruits d'*Opuntia ficus indica* de couleur pourpre semblent posséder une activité protectrice contre l'oxydation, plus élevée que ceux de couleur jaune – orange. La valorisation biotechnologique de cette espèce en tant que source de composés fonctionnels, est possible, en plus de ses propriétés nutritionnelles et organoleptiques élevées.

REFERENCES

- AOAC: Association of Official Analytical Chemists 1975. *Official methods of analysis*. 12th edition. Washington D.C., USA.
- Fernandez, L. J. et Almela, J. A. 2001. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. *Arch. Invest. Med.*, 14 (4): 437-443.
- Galati, E. M. , Mondello, M. R., Giuffrida, D., Dugo, G. , Miceli, N., Pergolizzi et Taviano, M. F. 2003. Chemical characterisation and biological effects of silician *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 4903-4908.
- Gerber, M. et Corpet, D. E. 1997. Alimentation méditerranéenne et santé. *Med. Nutr.*, 4: 143-154.
- Maataoui, B. S. et Hilali, S. 2004. Composition physico-chimique de jus de deux types de fruits de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) cultivés au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 3(2): 8-13.
- Odoux, E. et Dominguez, L. A. 1996. Le figuier de Barbarie : une source industrielle de bétalaïnes ? *Fruits*, 51 (1): 61-78.
- Rathjen, A. H. et Robinson, S. P. 1992. Characterization of a variegated grapevine mutant showing reduced polyphénol oxidase activity. *Aust. J. Plant Physiol.* , 19 : 43-54.
- Renaud, S., Lorget, M. et Delaye, J. 1995. Cretan mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61(suppl.): 1360S-1367S.
- Saenz, C., Sepulveda, E., Araya, E. et Calvo, C. 1993. Colour changes in concentrated juices of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) during storage at different temperatures. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 26: 417-421.
- Schwartz, S. J. et Von Elbe, J. H. 1980. Quantitative determination of individual betacyanin pigments by high-performance liquid chromatography. *J. Agri. Food Chem.*, 28: 540-543.
- Yingkum, Q., Yingjie, C., Yupin, P., Hisashi, M. et Masayuki, Y. 2002. Constituents with radical scavenging effect from *Opuntia dillenii*: Structures of new co-pyrone and Flavonol glycoside. *Chem. Pharm. Bull.*, 50 (11): 1507-1510.
- Zino, S. J. M., Harman, S. K. et Skeaff, C. M. 1998. Fruit and vegetables consumption and antioxidant status of seventh-day Adventists. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 8 : 297-304.