

## Activité antioxydante et teneur en polyphénols totaux d'un extrait sec du jus et d'un décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae)

EFFO Kouakou Etienne<sup>1\*</sup>, ADEHOUNI Yacouba Adebo<sup>1</sup>, ODO Alida Edwige<sup>2</sup>, KONE Yaridjouma<sup>1</sup>, AKRE Liliane<sup>1</sup>, ADIKO Marcelline<sup>2</sup>, KOUAKOU Sylvain Landry<sup>1</sup>, DJADJI Ayoman Thierry Lenoir<sup>1</sup>, IRIE-N'GUESSAN Amenan Geneviève<sup>1</sup>, KOUAKOU-SIRANSY N'Doua Gisèle<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Département de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan – Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup> Département de Pharmacognosie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan – Côte d'Ivoire.

Date de réception : 12 Août 2021; Date de révision : 01 Septembre 2021; Date d'acceptation : 07 Septembre 2021

### Résumé :

L'implication des radicaux libres dans des processus pathologiques, incite à la recherche d'antioxydants. Les fruits comestibles de *Irvingia gabonensis* en seraient une source naturelle. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'activité antioxydante d'un extrait sec du jus et d'un décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* et d'y doser les polyphénols totaux.

Du jus obtenu par pression du fruit frais de *Irvingia gabonensis* a permis d'avoir un extrait sec par évaporation. L'épicerpe du fruit a été séché, broyée, mis en décoction puis évaporé à sec pour l'obtention d'un décocté. L'activité antioxydante a été évaluée in vitro par la mesure de l'activité anti radicalaire DPPH, puis par la mesure du pouvoir réducteur du fer. Les polyphénols totaux ont été dosés dans chaque extrait.

Les extraits ont montré une activité anti radicalaire dose-dépendante. Le décocté de l'épicerpe avait une IC<sub>50</sub> de 21,75 ± 1,43 µg/ml, meilleure que celle de l'extrait sec de jus (28,24 ± 0,84 µg/ml) (P<0,05). Ce décocté a également eu un meilleur pouvoir réducteur du fer (1436 ± 191,8 µmol Eq Trolox/g) que l'extrait de jus (736,4 ± 49,49 µmol Eq Trolox/g) (P< 0,05). La teneur en polyphénols totaux était par ailleurs plus forte dans le décocté (182,9 ± 4,33 mg EAG/g) que dans l'extrait du jus (95,84 ± 7,90 mg EAG/g) (P<0,001).

L'épicerpe et le jus de fruit de *Irvingia gabonensis* posséderaient une activité antioxydante qui pourrait être attribuée à leur composition en polyphénols. Le fruit de *Irvingia gabonensis* pourrait être un bon pourvoyeur d'antioxydants naturels.

**Mots Clé :** *Irvingia gabonensis*, fruit, jus, épicerpe, antioxydant, polyphénols.

## Antioxidant activity and total polyphenol content of a dry extract of the juice and a decocté of the epicarp of the fruit of *Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae).

### Abstract:

The involvement of free radicals in pathological processes encourages the search for antioxidants. The edible fruits of *Irvingia gabonensis* are said to be a natural source. The objective of our study was to evaluate the antioxidant activity of a dry extract of the juice and a decocté of the epicarp of the fruit of *Irvingia gabonensis* and to determine the total polyphenols therein.

Juice obtained by pressing the fresh fruit of *Irvingia gabonensis* produced a dry extract by evaporation. The epicarp of the fruit was dried, crushed, decocted and then evaporated to dryness to obtain a decocté. The antioxidant activity was evaluated in vitro by measuring the anti-radical DPPH activity, then by measuring the reducing power of iron. Total polyphenols were assayed in each extract. The extracts showed dose-dependent anti-radical activity. The epicarp decocté had an IC<sub>50</sub> of 21.75 ± 1.43 µg/ml, better than that of the dry extract of juice (28.24 ± 0.84 µg/ml) (P<0.05). This decocté also had a better reducing power of iron (1436 ± 191.8 µmol Eq Trolox/g) than the juice extract (736.4 ± 49.49 µmol Eq Trolox/g) (P <0.05). The total polyphenol content was also higher in the decocté (182.9 ± 4.33 mg EAG/g) than in the juice extract (95.84 ± 7.90 mg EAG/g) (P<0.001).

The epicarp and the fruit juice of *Irvingia gabonensis* are thought to have antioxidant activity which could be attributed to their polyphenol composition. The fruit of *Irvingia gabonensis* could be a good supplier of natural antioxidants.

**Key words:** *Irvingia gabonensis*, fruit, juice, epicarp, antioxidant, polyphenols.

### Introduction

Les radicaux libres, en cas de production excessive, sont impliqués dans un certain nombre de processus pathologiques tels que l'asthme, le cancer, les maladies cardio-vasculaires, la cataracte, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies du foie et les maladies dégénératives (Dash *et al.*, 2007). La réduction des radicaux libres par des antioxydants permettrait de réduire le stress oxydatif associé à ces

pathologies. Les antioxydants sont des agents qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation d'un substrat oxydable dans une réaction en chaîne (Alan et Miller, 1996).

Face à la limite de la médecine conventionnelle à fournir des médicaments efficaces contre le mécanisme oxydatif, la recherche est de plus en plus couramment orientée vers la mise en évidence des propriétés antioxydantes de

(\*) Correspondence : Effo K. E. ; e-mail : [effoet@yahoo.fr](mailto:effoet@yahoo.fr) ; tél. : (+225) 07 07 19 24 76.

plantes. De nombreuses plantes se sont d'ailleurs révélées comme possédant des propriétés antioxydantes (Shiney et Ganesh, 2012). Les propriétés de ces plantes utilisées en médecine traditionnelle ont été attribuées principalement à la présence de polyphénols (Shiney et Ganesh, 2012).

*Irvingia gabonensis* (Irvingiaceae) est un arbre dont les graines et la pulpe de fruits sont comestibles en Afrique occidentale et centrale. La pulpe est utilisée pour faire de la gelée, de la confiture et des jus (Okolo, 1995). Les graines sont utilisées comme épaississant pour la soupe,

le ragoût ou comme additif pour aromatiser (Leakey et Newton, 1994). *Irvingia gabonensis* est utilisé dans le traitement de la diarrhée. Le fruit est riche en vitamine C et est consommé comme fruit du désert dans toute l'Afrique occidentale et centrale (Leakey et Newton, 1994). Le fruit de *Irvingia gabonensis*, pourrait dès lors constituer une source naturelle d'antioxydants.

L'objectif général de notre étude a été d'évaluer l'activité antioxydante *in vitro* d'un extrait sec du jus et d'un décocté de l'épicarpe du fruit de *Irvingia gabonensis* et d'y doser les polyphénols totaux.

## Matériel et méthodes

**- Matériel végétal et préparation des extraits :** Le matériel végétal était constitué des fruits frais de *Irvingia gabonensis*, récoltés en juin 2018 et identifiés au Centre National de Floristique d'Abidjan. Ces fruits ont été lavés, puis l'épicarpe a été séparé du fruit. Le jus a été obtenu par pressage. L'épicarpe a été séparé du fruit, lavé à l'eau, séché à l'étuve, broyé, puis stockées dans des bocaux fermés hermétiquement et conservé au réfrigérateur. Un échantillon a été conservé au laboratoire de pharmacologie de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan sous l'herbier N° IG 2018.

**- Matériel technique :** Le matériel technique était composé d'une balance de précision MEMMERT, d'un agitateur magnétique AGIMATIC-N, d'une étuve d'un pH-mètre, d'un spectrophotomètre UV-VIS HACH et de verrerie usuelle de laboratoire.

**- Réactifs et solvants utilisés :** Différents produits réactifs et solvants ont été utilisés : Méthanol, Réactif de Folin-Ciocalteu, Carbonate de calcium, Acide gallique, DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Germany), Vitamine C (Sigma Aldrich, Germany), TPTZ (2, 4, 6-tripyridyltriazine) (Merck, Germany), Solution de chlorure de fer, Trolox, Acétate de sodium (Chem-Lab NV, Belgique), Acide acétique, HCl, eau distillée.

**- Préparation des extraits :** Le jus frais de *Irvingia gabonensis* a été séché à l'étuve à 40 °C pour obtenir un extrait sec pendant 72h. Un décocté de l'épicarpe a été obtenu par décoction à partir de 10 grammes de poudre fine de l'épicarpe, dans 100 ml d'eau distillée portés à ébullition pendant 15 minutes. Le décocté a été filtré sur du coton hydrophile sous vide, puis sur du papier filtre de type Wattman. Le filtrat recueilli a été porté à l'étuve à 40 °C pendant 24 h. Il a été obtenu des

poudres sèches de couleur marron pour les différents extraits.

### -Evaluation de l'activité antioxydante

#### ▪ Mesure de l'activité anti radicalaire par le DPPH

**Principe :** La méthode utilisée a été celle de Parejo *et al.* (2000) qui est le test au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). En effet, la réduction du DPPH par un capteur de radicaux libres s'accompagne de son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm. Une faible absorbance traduit une forte inhibition du DPPH et donc une forte activité antiradicalaire.

**Méthode :** A 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH (100 µM) a été mélangé 1 ml de d'une gamme de concentration des extraits (0-100 µg/ml). Une gamme de concentrations (0-100 µg/ml) pour la vitamine C a été utilisée comme référence. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 2 ml de la solution de DPPH et de 1,5 ml de la solution méthanolique. Les échantillons et la référence sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le Pourcentage d'inhibition (PI) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$PI = \frac{A_0 - A_1}{A_0} * 100$$

**PI(%) :** Pourcentage d'inhibition en % ;  $A_0$  : absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait (blanc) ;  $A_1$  : absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait (essai).

#### ▪ Mesure du pouvoir réducteur du fer (Test FRAP)

**Principe :** Le pouvoir réducteur du fer ( $Fe^{3+}$ ) dans les préparations est déterminé selon la méthode

décrite par Oyaizu (1986). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation de la réduction du fer ferrique donc du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

**Mode opératoire :** Une solution fraîche du réactif FRAP (10 mM) a été préparée par mélange de 2,5 ml de la solution du TPTZ (10 mM dans 40 mM de HCl) avec 2,5ml du FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (20 mM) et 25ml du tampon acétate (300 mM d'acétate de sodium, pH conduit à 3,6 par l'acide acétique). Ensuite, 3500 µl du réactif FRAP ont été ajoutés à 140 µl des composés test dissous dans une solution méthanolique. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à 593 nm. Le Trolox a été utilisé comme contrôle de dosage. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec les concentrations suivantes de Trolox : 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,0625 ; 0,031 mg/ml.

**Dosage des polyphénols :** La méthode de Wood *et al.* (2002) a été utilisée pour le dosage des polyphénols totaux. Un volume de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) a été ajouté à 0,5 ml d'extrait. Le mélange a été maintenu pendant 2 minutes dans l'obscurité à température ambiante, puis 2 ml de solution de carbonate de calcium (75 g.l<sup>-1</sup>) ont été ajoutés.

Ensuite, le mélange a été placé pendant 10 minutes au bain-marie à 50 °C, puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à 760 nm. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les analyses ont été réalisées en triplet et la concentration en polyphénols a été exprimée en milligramme par équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg Eq AG/g).

**-Traitement et analyse des données :** Les résultats ont été exprimés en moyenne ± écart type. La représentation graphique a été réalisée à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 8.0. La comparaison des moyennes a été faite par le test de Dunnett au risque α égal à 0,05.

**Résultats**

**Activité antioxydante in vitro**

- **Activité anti radicalaire :** Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH de l'extrait sec du jus et du décocté de l'épicerpe du fruit de *Irovingia gabonensis* sont représentés sur la figure 1. Les deux extraits ont réduit de manière dose-dépendante le radical DPPH avec une activité superposable à celle de la vitamine C.

L'IC<sub>50</sub>, exprimant la capacité antioxydante des différents extraits, a été déterminée à partir de la

figure 1. Le décocté de l'épicerpe du fruit de *Irovingia gabonensis* avait une IC<sub>50</sub> de 21,75 ± 1,43 µg/ml, meilleure à celle de l'extrait sec de jus de *Irovingia gabonensis* qui était de 28,24 ± 0,84 µg/ml ; mais la différence n'était pas significative. Par contre, la vitamine C a eu une meilleure IC<sub>50</sub>, de 6,05 ± 0,39 µg/ml, significativement supérieure à celles des extraits.

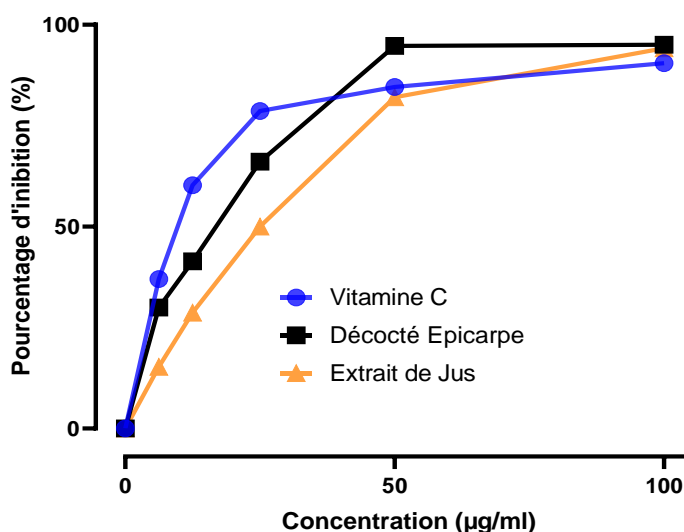
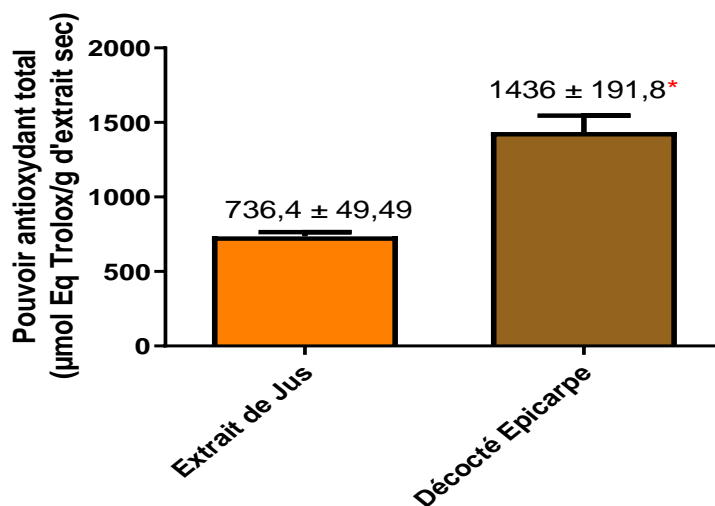


Figure 1 : Courbe d'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

- **Pouvoir réducteur du fer** : Le pouvoir réducteur du fer, appelé aussi le pouvoir antioxydant total, a été exprimé en micromole équivalent de Trolox par gramme d'extrait sec ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g}$ ) et représenté sur la figure 2. Cette figure montre que tous les deux extraits étudiés ont eu une activité antioxydante. Toutefois, le décocté de

l'épicarpe de *Irvingia gabonensis* a eu une activité antioxydante supérieure à celle de l'extrait de jus de *Irvingia gabonensis*. En effet, le pouvoir réducteur du fer de l'épicarpe de *Irvingia gabonensis* était de  $1436 \pm 191,8 \mu\text{mol Eq Trolox/g}$  et celui du jus de *Irvingia gabonensis*, de  $736,4 \pm 49,49 \mu\text{mol Eq Trolox/g}$  ( $P < 0,05$ ).

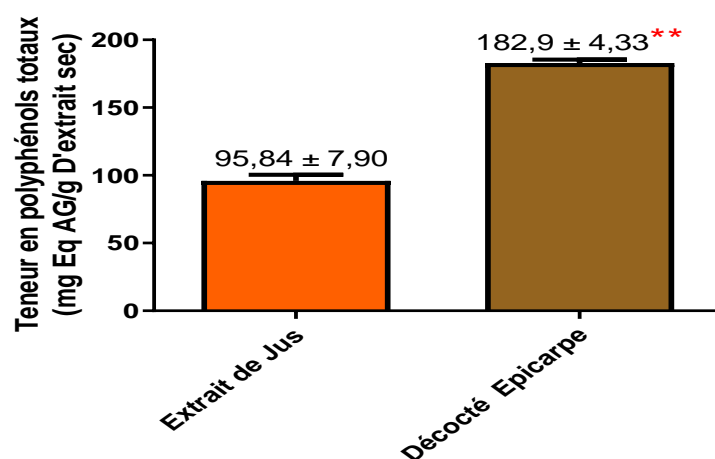


**Figure 2** : Pouvoir antioxydant total des extraits.

Les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  écart type. N= 3. \*P < 0,05 : Test de Dunett, différence significative comparativement à l'extrait de jus.

**Dosage des polyphénols totaux** : La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/g) et représentée sur la figure 3. Les extraits étudiés, étaient riches en polyphénols totaux mais avec des teneurs significativement

différentes ( $P < 0,001$ ). En effet, le décocté de l'épicarpe possédait une teneur en polyphénols de  $182,9 \pm 4,33 \text{ mg Eq AG/g}$  et l'extrait sec de jus, une teneur de  $95,84 \pm 7,90 \text{ mg Eq AG/g}$ .



**Figure 3** : Teneurs en polyphénols totaux des extraits.

Les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  écart type. N= 3. \*\*P < 0,001 : Test de Dunett, différence significative comparativement à l'extrait de jus.

## Discussion

La présente étude visait à évaluer l'activité antioxydante in vitro d'un extrait sec de jus du fruit et d'un décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* et de déterminer leurs teneurs en polyphénols totaux. L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes de piégeage du radical de DPPH (Parejo *et al.*, 2000) et de réduction du fer (Oyaizu, 1986).

Concernant la méthode de piégeage du radical de DPPH, il est rapporté que ce radical implique un processus de transfert d'atomes d'hydrogène (Kaviarasan *et al.*, 2007). L'activité antiradicalaire se traduit par un don d'électrons ou de protons réduisant la forme radicalaire hydrazyle du DPPH en forme non radicalaire hydrazine. Toutes les substances capables de piéger des radicaux libres sont qualifiées d'antioxydants (Dehpour *et al.*, 2009). L'extrait sec de jus et le décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* auraient piégé le radical DPPH et de ce fait, pourraient avoir une activité antioxydante. Cette activité antioxydante semble meilleure avec le décocté de l'épicerpe du fruit qui a eu un IC<sub>50</sub> plus faible quoique la différence ne soit pas statistiquement significative.

Quant au pouvoir réducteur du fer, diverses études ont montré que le pouvoir réducteur d'un composé pourrait servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong *et al.*, 2004 ; Kumaran et Karunakaran, 2007). Les antioxydants sont

considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007). La présence des réductants dans un extrait provoque alors la réduction de fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). L'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* avait un pouvoir antioxydant plus important que celui du jus de fruit.

Cette analyse permet de ressortir que l'extrait sec de jus du fruit et le décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* ont une potentielle activité antioxydante avec une meilleure activité de le décocté de l'épicerpe du fruit. Cette différence d'activité pourrait être attribuée à la teneur en polyphénols des deux extraits. Le décocté l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* contenait environ deux fois plus de polyphénols que l'extrait sec du jus de fruit. En effet, selon Shiny et Ganesh (2012), de nombreuses propriétés de ces plantes utilisées en médecine traditionnelle sont attribuées principalement à la présence de polyphénols. Aussi, Manga *et al.* (2004) ont découvert que les flavonoïdes qui font partie du grand groupe des polyphénols, possèdent des activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires.

La présence de polyphénols dans les extraits pourrait probablement être responsable des effets antioxydants observés. Les composés phénoliques végétaux constituent un groupe majeur de composés qui agissent comme antioxydants primaires ou épurateurs de radicaux libres (Ayoola *et al.*, 2008).

## Conclusion

Le décocté de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* a montré une activité antioxydante in vitro plus puissante celle de l'extrait du jus du fruit de *Irvingia gabonensis*, avec un pourcentage d'inhibition plus élevé et une CI<sub>50</sub> plus faible. La supériorité de l'activité antioxydante de l'épicerpe du fruit de *Irvingia gabonensis* à celle de l'extrait du jus du fruit de *Irvingia gabonensis* pourrait s'expliquer par une forte teneur en polyphénols. Cette activité reste néanmoins

nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique. Toutefois, le fruit de *Irvingia gabonensis* pourrait faire l'objet d'autres investigations, comme l'évaluation de son activité antioxydante in vivo dans un modèle animal.

## Conflits d'intérêt

Nous ne déclarons aucun conflit d'intérêt concernant ce travail.

## Références

Alan L., Miller N., 1996. Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage. *Alternative Medicine Review*, 1(2), 103-111.

Ayoola, G. A., Coker, H.A., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O., 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024.

Dash D.K., Yerigar V.C., Nayak S.S., Ghosh T., Rajalingam D., Sengupta P., Maiti B.C., Maity T.K., 2007. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R. Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6(3), 755-765.

Dehpour A.A., Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., Navabi S.M., 2009. Antioxidant activity of methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Aceites*, 60, 405-412.



- Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., Lee S.C., 2004.** Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from Citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3389-3393.
- Kaviarasan S., Naik G.H., Gangabhairathi R., Anuradha C.V., Priyadarsini K.I., 2007.** In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chemistry*, 103, 31-37.
- Kumaran A., Karunakaran R.J., 2007.** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 40, 344-352.
- Leakey R. and Newton A., 1994.** Domestication of tropical trees for timber and timber products. *MAB Digest*, 17, 67-68
- Manga H.M., Brkic D., Marie D.E.P., Quetin-Leclercq J., 2004.** In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 92: 209-214.
- Okolo C.O., 1995.** The Analgesic effects of *Irvingia gabonensis* stem bark extract. *Journal of Ethno Pharmacology*, 45(2), 125-9.
- Oyaizu M., 1986.** Studies on products of browning reaction: antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Parejo I., Codina C., Petrakis C. et Kefalas P., 2000.** Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/EDTA- induced luminal chemiluminescence and DPPH free radical assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44, 507-512.
- Shiney R.B., Ganesh P., 2012.** Phytochemical analysis and comparative effect of *Cinnamomum zeylanicus*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with selected antibiotics and its antibacterial activity against Enterobacteriaceae family. *International journal of pharmaceutical and biological archive*, 3(4), 914-917.
- Siddhuraju P., Becker K., 2007.** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10-19.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-153.
- Wood J.E., Senthilmohan S.T., Peskin A.V., 2002.** Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77(2), 155-161.