

Effect of eco-extraction on polyphenols contents and antioxidant activity of *Lepidium sativum* seeds

Effet de l'Eco-extraction sur les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante des grains de *Lepidium sativum*

F. MEDINI^{1*}, M. BEN HAMIDA¹, A. ATWI¹, R. KSOURI¹

¹ Aromatic and Medicinal Plant Laboratory, Biotechnology center of Borj cedria, BP 901, 2050 Hammam-Lif, Tunisia.

*Corresponding author: medinifaten@gmail.com

Abstract – Aromatic and medicinal plants are always an inexhaustible source of active ingredients. Our study was carried out on the seeds of *Lepidium sativum*. This plant is traditionally well known for its therapeutic virtues. The seeds were ground into a fine powder and then subjected to two types of extraction: maceration at room temperature and microwave-assisted extraction. Solvents used in both techniques: water, pure ethanol and ethanol / water mixtures (20, 50 and 80%). The various extracts obtained were assayed for their contents of total polyphenols, flavonoids and tannins condensed by spectrophotometric methods. Then, they were evaluated for their antioxidant powers using total antioxidant activity, the DPPH test and the reducing power of iron. The results showed that the maceration with the aqueous extract had the highest total polyphenol content (13.8 mgEAG / gMS). However, the use of the microwave as an unconventional extraction medium extracted the highest levels of flavonoids and condensed tannins. The ethanol extract (50%) is the richest of flavonoids (2.9 mgEC / gMS) and the ethanol (20%) extract is the richest in condensed tannins (1.9 mgEC / gMS). For antioxidant activities, ethanol macerate (20%) exhibited the highest total antioxidant activity (11.80 mgEAG / gMS) and pure ethanol macerate had the best ability to trap DPPH free radicals. with an IC50 of 14.5 µg / ml and to reduce ferric ions with an IC50 of 500 µg / ml.

Keywords: *Lepidium sativum*, seeds, phenolic compounds, extraction techniques, antioxidant activity.

Résumé - Les plantes aromatiques et médicinales restent toujours une source inépuisable de principes actifs. Notre étude a été réalisée sur les graines de *Lepidium sativum*. Cette plante est traditionnellement très connue par ses vertus thérapeutiques. Les graines ont été broyées en poudre fine, puis elles ont été soumises, à deux types d'extraction : une macération à la température ambiante et une extraction assistée par micro-onde. Les solvants utilisés dans les deux techniques sont l'eau, l'éthanol pur et des mélanges éthanol/eau (20, 50 et 80%). Les différents extraits obtenus ont été dosés pour leurs teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés par des méthodes spectrophotométriques. Ensuite, ils ont été évalués vis-à-vis de leurs pouvoirs antioxydants en utilisant l'activité antioxydante totale, le test DPPH et le pouvoir réducteur du fer. Les résultats ont montré que la macération avec l'extrait aqueux a présenté la plus forte teneur en polyphénols totaux (13.8 mg EAG/g MS). Cependant, l'utilisation de la micro-onde comme moyen d'extraction non conventionnelle a montré les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en tannins condensés. L'extrait à l'éthanol (50%) est le plus riche en flavonoïdes (2.9 mg EC/g MS) et celui à l'éthanol (20%) est le plus riche en tannins condensés (1.9 mg EC/g MS). Concernant les activités antioxydantes, le macérât à l'éthanol (20%) a exhibé l'activité antioxydante totale la plus importante (11.80 mg EAG/g MS) et le macérât à l'éthanol pur a présenté la meilleure capacité à piéger les radicaux libres DPPH avec une CI₅₀ de 14.5 µg/mL ainsi qu'à réduire les ions ferriques avec une CI₅₀ de 500 µg/mL.

Mots clés : *Lepidium sativum*, graines, composés phénoliques, techniques d'extraction, activité antioxydante.



1. Introduction

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Le progrès fulgurant de la médecine synthétique a éclipsé la médecine traditionnelle pour plus d'un demi-siècle. Mais récemment, le retour à "la nature" est de plus en plus grand, soit à cause de l'inefficacité de plusieurs médicaments de synthèse face aux maladies déjà connues et supposées en être la cible, soit à l'incapacité de mettre terme aux maladies dites émergentes liées aux stress oxydant comme le diabète, les maladies inflammatoires et cardio-vasculaires, le cancer, etc. De plus, les effets néfastes des molécules synthétiques utilisées comme principes actifs des médicaments ou les additifs alimentaires, ont été augmentées au cours des dernières années d'où la nécessité de les substituer par des composés naturels issus de plantes aromatiques et médicinales traditionnellement connues pour leurs vertus. Actuellement, 60% des nouveaux anticancéreux et 70% des médicaments traitant les maladies infectieuses sont d'origine naturelle (Newman et al. 2003).

Une plante dite "médicinale" est une espèce qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse" (OMS, 2002). En raison de leur importance économique, sociale, médicale, écologique et culturelle, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) commencent, ces dernières années, à occuper une place de choix au niveau des différents secteurs notamment, celui de la recherche scientifique, de l'agriculture et de l'industrie pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire. Estimée à plus de 2150 espèces, la flore tunisienne est très riche traduisant la grande diversité des systèmes écologiques du pays. Les condiments, les aromates et les épices ont toujours été largement utilisés en Tunisie tant pour des préparations culinaires, qu'en médecine traditionnelle, ainsi que pour certains usages particuliers. Quelques-uns d'entre eux comme le cumin et le cresson, le carvi, l'anis sont en effet cultivés depuis un temps immémorial. L'étude ethnobotanique de la flore de la Tunisie réalisée par Le Floch (1983) fait ressortir 188 espèces qui présentent au moins un usage en Tunisie. En plus, une enquête réalisée par Boukef (1986) a permis d'identifier 191 plantes médicinales d'usage thérapeutique très répandu. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) représentent une source inépuisable de molécules d'intérêt appartenant majoritairement aux métabolites secondaires. Ces composés bioactifs présentent des activités antioxydante, antimicrobienne, anticancéreuse et anti-inflammatoire ainsi que des effets préventifs contre les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives (Ksouri et al. 2012). À l'échelle industrielle, l'extraction du végétal est incontournable et nécessaire, donc il est préférable de s'orienter vers l'Eco-extraction et de substituer les solvants toxiques par les agro-solvants notamment le bioéthanol et l'eau. En outre, d'autres techniques innovantes comme les micro-ondes, les ultrasons et le CO₂-supercritique sont plus efficaces en termes de rendement, d'énergie ainsi plus respectueuses de l'environnement (Chemat, 2011).

Ainsi, dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques tunisiennes, le présent travail a pour objectif spécifique d'étudier la variabilité des teneurs en composés phénoliques et des activités antioxydantes des graines de *Lepidium sativum* en fonction du ratio solvant/eau (éthanol à différentes proportions) et de la technique d'extraction (macération et extraction par micro-onde).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel Végétal

Le matériel végétal est constitué des graines de *Lepidium sativum* L. L'identification des échantillons de plantes a été réalisée au Laboratoire des Plantes Extrêmophiles du Centre de Biotechnologie de Borj Cédria. Les graines ont été broyées à l'aide d'un moulin à café.

2.2. Extraction des composés phénoliques

2.2.1. Extraction classique (macération) en utilisant des solvants "verts"

La macération consiste à faire passer les échantillons dans un solvant par immersion prolongée. Dans ce travail, 10 g de poudre fine des graines de *Lepidium sativum* L. a été ajoutée à différents solvants ou mélanges de solvants (eau, éthanol à 20, 50 et 80% et éthanol pur). Par la suite, le mélange est agité pendant 30 min, puis gardé pendant 24 h à 4°C et à l'obscurité. Le lendemain, le mélange est filtré sous vide puis conservé à 4°C.

2.2.2. Extraction par micro-ondes

En gardant les mêmes conditions opératoires que l'extraction par macération (quantité de poudre/volume de solvant), les extraits ont été mis dans une micro-onde pendant 1 min.

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Une prise de 125 µL de l'échantillon convenablement dilué est additionnée de 500 µL d'eau distillée et de 125 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après agitation vigoureuse et un repos pendant 3 min, un volume de 1250 µL d'une solution de $\text{CO}_3(\text{Na})_2$ à 7% est additionné au mélange qui sera ajusté par la suite à 3000 µL avec de l'eau distillée. Après 90 min de repos à la température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La gamme étalon est préparée avec l'acide gallique à des concentrations de 50 à 400 µg/mL. Les teneurs sont exprimées en mg d'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS). Pour s'assurer que les résultats soient fiables, le dosage a été effectué trois fois (Singleton and Rossi, 1965).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Une prise de 250 µL de l'extrait convenablement diluée est additionnée de 75 µL d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 150 µL d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 6 H_2O , 10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 min de repos à la température ambiante, 500 µL de soude (NaOH , 1 M) sont apportés au mélange, et le volume final est porté à 2500 µL avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée à 510 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine (0 à 400 µg/mL) (Dewanto et al. 2002). La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de graines analysées, est exprimée en milligramme (mg) équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

2.3.3. Dosage des tanins condensés

Une aliquote de 50 µL d'extrait méthanolique est ajoutée à 3 mL de vanilline à 4% et 1500 µL d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à la température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée contre un blanc contenant du méthanol pur. Les teneurs en tanins condensés sont déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine de 0 à 400 µg/mL (Sun et al. 1998). Comme pour les flavonoïdes, les teneurs en tanins condensés sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

2.4. Evaluation des activités antioxydantes

2.4.1. Evaluation du potentiel antiradicalaire (test DPPH)

L'activité antiradicalaire est évaluée selon la méthode de Hatano et al. (1988). Une prise de 250 µL d'une solution de DPPH (0,2 mM) est ajoutée à 1000 µL d'extrait préparé à différentes concentrations (de 7 à 1000 µg/mL). Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 517 nm contre un témoin (sans extrait).

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la formation du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$PI = \frac{(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{témoin}}} \times 100$$

2.4.2. Mesure de la capacité antioxydante totale

Une prise de 100 µL d'extrait est combinée dans un tube avec 1000 µL de solution composée d'acide sulfurique (0,6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après un repos à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant de l'acétone à 80 % à la place de l'extrait. L'activité antioxydante totale est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS) selon Prieto et al. (1999).

2.4.3. Mesure du pouvoir réducteur

Deux cents microlitres de différentes concentrations de chaque extrait (de 250 à 3000 µg/mL) sont introduits dans des tubes à hémolyse, suivis de l'addition de 500 µL d'une solution $K_3Fe(CN)_6$ (1%) et 500 µL de solution tampon phosphaté (0.2 mM, pH = 6.6). Les solutions ont été secouées immédiatement, puis ils sont maintenus dans un bain-marie pendant 30 min à une température de 50°C. En suite, 500 µL d'acide trichloracétique (TCA 10%) sont ajoutés. Après centrifugation à 650 rpm pendant 10 min, 500 µL du mélange sont ajoutés à 500 µL de l'eau distillée et 100 µL de solution de $FeCl_3$ (0.1%). L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm contre un blanc (Oyaizu, 1896). L'évolution de l'activité antioxydante des extraits est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) et cela en traçant une courbe d'étalonnage de ce dernier allant de 10 à 100 µg/mL.

3. Résultats

3.1. Rendements des extraits bruts

L'extraction des composés phénoliques par des solvants non toxiques « verts » des graines de *Lepidium sativum* a été réalisée selon deux méthodes d'extraction, l'une conventionnelle (ou classique) comme la macération et la seconde non conventionnelle (ou innovante) telle que l'extraction par micro-ondes (Tableau 1). Les résultats relatifs aux rendements sont significativement différents en fonction du ratio éthanol/eau (Tableau 1). Les meilleurs rendements ont été observés avec l'extrait à l'éthanol 50% (8.84%), suivi par l'extrait à l'éthanol 80% (7.08%), l'extrait à l'éthanol 20% (4.14%) et enfin l'eau (2.38%). Cependant, les rendements obtenus par micro-onde ont montré que l'éthanol 80% est le meilleur solvant d'extraction de biomolécules (10.5 %) suivi par l'éthanol 50% (9.71%), l'éthanol 20% (8.97%) et l'eau (3.78%). En outre, l'extrait obtenu par micro-onde a donné le meilleur rendement (éthanol 80%, R=10.5%).

Tableau 1. Rendements des extraits bruts des différents extraits des graines de *Lepidium sativum*

	Macération	Micro-ondes
éthanol pur	1.48	–
éthanol 80%	7.08	10.5
éthanol 50%	8.84	9.71
éthanol 20%	4.14	8.97
Eau	2.38	3.78

3.2. Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et tannins

3.2.1. Contenu des graines en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées par la méthode de Folin- Ciocalteu à partir d'une courbe étalon en utilisant l'acide gallique (AG) comme standard. Ces teneurs sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage présente une reproductivité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisée dans la gamme étalon ($R^2= 0.9985$).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits des graines de *L. sativum* (Tableau 2) présentent des variations importantes en fonction du ratio solvant/eau et de la technique d'extraction (Figure 1). La comparaison des extraits obtenus par macération et ceux obtenus par micro-onde montre que la macération a exhibé les plus fortes teneurs (extrait aqueux, 13.8 mg EAG/g MS) par comparaison à la micro-onde (éthanol à 50%, 11 mg EAG/g MS). En outre, la plus importante teneur en polyphénols totaux a été observée chez l'extrait aqueux sans ajout d'éthanol.

Tableau 2. Teneurs en polyphénols totaux des graines de *Lepidium sativum* (mg EAG/g MS)

	Extraction par macération	Extraction par micro-ondes
éthanol	3,1	–
éthanol 20%	8,3	8,9
éthanol 50%	7,8	11
éthanol 80%	8,2	9,22
eau	13,8	7,9

3.2.2. Teneurs en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et elle est rapportée en mg équivalent de catéchine /g de matière sèche. Les extraits des graines de *L. sativum* présentent aussi des teneurs variables en flavonoïdes en fonction du solvant et de la technique d'extraction (Tableau 3). Quand l'extraction est réalisée par macération, la valeur la plus importante a été affichée par l'extrait aqueux (2.24 mg EAG/g MS), suivie de l'extrait à l'éthanol 80% (2.1 mg EAG/g MS), puis les extraits à l'éthanol 50% et l'éthanol pur (1.6 mg EC/g MS chacun) et enfin l'extrait à l'éthanol 20% (1 mg EC/g MS). Cependant, lorsque l'extraction est réalisée par micro-ondes, l'extrait à l'éthanol 50% a été le plus riche en flavonoïdes (2.9 mg EC/g MS) et celui à l'eau (1 mg EC/g MS) a été le plus faible. Ceci montre la supériorité de la micro-onde par rapport à l'extraction par macération.

Tableau 3. Teneurs en flavonoïdes des graines de *Lepidium sativum* (m EC/g MS)

	Extraction par macération	Extraction par micro-ondes
éthanol	1,6	–
éthanol 20%	1	2,33
éthanol 50%	1,6	2,93
éthanol 80%	2,1	1,43
eau	2.24	1

3.2.3. Teneurs en tannins

Les teneurs en tannins condensés (proanthocyanidines) sont faiblement présentes dans les graines de *L. sativum* par rapport aux autres fractions phénoliques et ont été significativement différentes selon le solvant utilisé et la méthode d'extraction (Tableau 4). Ces teneurs sont de loin plus importantes quand l'extraction est réalisée par micro-onde. La valeur la plus élevée a été observée chez l'extrait éthanol à 20% avec une valeur de 1.9 mgEC/gMS, qui est 4 fois plus importante de la valeur du macérât (0.4 mg EC/g MS). En revanche l'extrait aqueux est dépourvu de tannins condensés, ceci quel que soit la technique employée.

Tableau 4. Teneurs en tannins des graines de *Lepidium sativum* (mgEC/gMS)

	Extraction par macération	Extraction par micro-ondes
éthanol	0,95	–
éthanol 20%	0,4	1,91
éthanol 50%	0,22	0,85
éthanol 80%	0,62	0,38
eau	0	0

3.3. Estimation des capacités antioxydante des différents extraits de *Lepidium sativum*

3.3.1. L'activité antioxydante totale

Comme pour les composés phénoliques, l'activité antioxydante totale est variée en fonction des 2 facteurs appliqués (Tableau 5). Indépendamment de la méthode d'extraction, les extraits obtenus à partir des mélanges (éthanol/eau) ont montré les activités les plus importantes avec des valeurs de l'ordre de

11.80 mg EAG/g MS pour le macérât à l'éthanol (20%) et de 10.5 mg EAG/g MS pour l'extrait éthanol à 50% (micro-ondes). De ce fait, la macération est légèrement plus efficace que la micro-onde.

Tableau 5. Activité antioxydante totale des graines de *Lepidum sativum* en fonction du ratio éthanol/eau et la méthode d'extraction (mg EAG/g MS).

	Extraction par macération	Extraction par micro-ondes
éthanol		–
éthanol 20%	11,8	7,5
éthanol 50%	8.5	10,5
éthanol 80%	7,6	5
eau	4,3	2,4

3.3.2. Capacité de neutraliser le radical libre DPPH

L'activité anti radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition ou la CI_{50} correspond à la valeur de la concentration à 50% d'inhibition. La valeur de la CI_{50} la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. Les principaux résultats montrent que tous les extraits de *Lepidum sativum* ont la capacité de dégrader le radical synthétique DPPH• (Tableau 6). En outre, comme pour l'activité antioxydante totale, cette activité anti-radicalaire a été significativement influencée par le ratio (solvant/eau) et la méthode d'extraction appliquée. En effet, le macérât éthanolique (éthanol pur) a affiché la meilleure capacité ($CI_{50} = 14.5 \mu\text{g/mL}$) suivi par les extraits polaires (éthanol à 50 et 80%) et puis les extraits les plus polaires comme l'éthanol (20%) et l'eau.

Tableau 6. Variation de la capacité à neutraliser le radical DPPH, exprimé en CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) en fonction du ratio éthanol/eau et de la méthode d'extraction.

	Macération	Micro-ondes
éthanol pur	14,5	-
éthanol 80%	59	64,5
éthanol 50%	62	44
éthanol 20%	1300	900
eau	1000	1200

3.3.3. Etude du pouvoir réducteur du fer

Les résultats sont exprimés en concentration efficace (CE_{50} , $\mu\text{g/mL}$), qui est la concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5. Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont une activité réductrice des ions ferriques. Cette activité est dose dépendante. En effet, si on compare les extraits obtenus par macération et ceux de la micro-onde, on remarque que l'activité des macérats a été plus intéressante que les extraits obtenus par micro-onde (Tableau 7). En outre, la valeur la plus importante a été présentée par le macérât éthanolique ($CI_{50} = 500 \mu\text{g/mL}$) suivi par l'eau ($CI_{50} = 1000 \mu\text{g/mL}$).

Tableau 7. Variation du pouvoir réducteur du fer, exprimé en CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) en fonction du ratio éthanol/eau et de la méthode d'extraction

	Macération	Micro-ondes
éthanol pur	500	-
éthanol 80%	1100	1380
éthanol 50%	1400	1400
éthanol 20%	1300	2150
eau	1000	1200

4. Discussion

Dans ce travail, la variabilité des teneurs en composés phénoliques et de l'activité antioxydante (3 tests d'évaluation) des graines du Cresson alénois "*L. sativum*", a été étudiée. L'extraction a été faite par deux solvants (éthanol et eau) non toxiques et écologiques à différents ratios et en utilisant deux méthodes d'extraction, l'une conventionnelle (macération) et la deuxième non conventionnelle et innovante, la micro-onde.

Indépendamment de la technique d'extraction employée, l'extraction a été effectuée par un mélange des 2 solvants (éthanol et eau) à différentes proportions. Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une variabilité entre les différents extraits aussi bien pour les activités antioxydantes que pour le contenu en composés phénoliques des graines, ceci en fonction du rapport éthanol/eau. En effet, l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols totaux (13.8 mg EAG/g MS), l'extrait à l'éthanol (50%) est le plus riche en flavonoïdes (2.24 mg EC/g MS), alors que l'éthanol pur contient les teneurs les plus élevées en tannins condensés (1.9 mg EC/g MS). Ceci est en accord avec plusieurs travaux, qui ont montré que la solubilité des composés phénoliques est sensiblement affectée par la polarité du solvant d'extraction (Mahmoudi et al. 2013). En effet, la forte polarité de l'eau a permis l'obtention de la majorité des composés phénoliques dans l'extrait aqueux. Cependant, les extraits à l'éthanol pur et dilué à 50% avec de l'eau sont plus sélectifs des deux fractions phénoliques (flavonoïdes et tannins condensés). Il est à noter que l'éthanol pur est le meilleur solvant pour l'extraction de différentes fractions en composés phénoliques selon les travaux de Ferreira-Dias et al (2003). L'éthanol solubilise correctement les molécules moyennement polaires et peut entraîner aussi des substances lipophiles résiduelles. L'addition de l'eau au système d'extraction fait améliorer le rendement en composés phénoliques glycolyses et les phénols ayant un degré de polymérisation élevée comme les pro- anthocyanidines (Poncet-Legrand et al. 2003). De ce fait, l'utilisation d'un mélange solvant-eau (v/v; 50/50) est conseillée pour obtenir les plus fortes concentrations en composés phénoliques ainsi que les différentes fractions en ces molécules phénoliques. D'autre part, l'utilisation d'un extrait aqueux n'est pas recommandable pour l'extraction des composés phénoliques, vu que l'eau peut extraire en grande quantité les composés majoritaires du matériel végétal comme les glucides et les protéines susceptibles de se polymériser avec les composés phénoliques en diminuant leurs activités biologiques et leurs purifications (Poncet-Legrand et al. 2003).

En outre, l'activité antioxydante a été évaluée par 3 tests tels que l'activité antioxydante totale, l'efficacité du composé à piéger les radicaux libres (test DPPH) et le pouvoir réducteur des ions ferriques. Les principaux résultats ont montré aussi une variabilité en fonction du solvant.

En effet, la meilleure activité antioxydante totale a été affichée par le macérât à l'éthanol 80% (11.5 mg EAG/g MS). La meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres (DPPH) et à réduire les ions ferriques a été observée avec le macérât éthanolique. Les CI_{50} sont respectivement 14.5 et 500 μ g/mL.

Ces extraits contiennent des teneurs importantes en composés phénolique, ce qui laisse penser que ces molécules sont responsables du pouvoir antioxydant des graines du Cresson d'alénois. Selon Hsu et al. (2007), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules anti-radicalaires et antioxydantes. Par ailleurs, n'Guessan et al. (2007) ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antioxydante. En plus, les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres, ce qui explique leur pouvoir antioxydant très puissant (Chen and Ho, 1995). Dans ce travail, la corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et l'importance de l'activité antioxydante n'est pas toujours évidente. En effet, les teneurs élevées en composés phénoliques dans l'extrait eau ne reflète pas l'activité antioxydante trouvée. Ceci est fort probablement dû, à la qualité de ces molécules dans cet extrait, à l'interaction entre les différentes molécules existantes (encombrement stérique) et l'activation de l'enzyme PPO (polyphénol oxydase) qui est responsable de la dégradation des composés phénoliques.

Généralement les méthodes conventionnelles d'extraction des composés bioactifs à partir des espèces végétales sont la macération, l'extraction par Soxhlet et l'entraînement à la vapeur (molécules volatiles). En dépit de leur efficacité, ces processus sont souvent longs, consomment beaucoup d'énergie et d'importants volumes de solvants. Ces inconvénients peuvent être évités en utilisant des techniques d'extraction alternatives et innovantes comme les ultrasons, les micro-ondes et le CO_2 supercritique, etc (Desai et al. 2014). Les résultats ont montré que les teneurs des polyphénols totaux, flavonoïdes, tannins condensés ainsi que les activités antioxydantes ont été très différentes en fonction de la méthode

d'extraction. En effet, l'extrait obtenu par micro-onde a donné le meilleur rendement avec l'éthanol 80% (R=10.5%). En outre, la supériorité de l'extraction par micro-onde était claire au niveau des teneurs obtenues en flavonoïdes et en tannins condensés. Cependant, les teneurs en composés phénoliques totaux ont été les plus importantes par macération en comparaison au micro-onde. Ceci suggère qu'il n'existe pas de méthode uniforme pour l'extraction des molécules bioactives et que l'optimisation est nécessaire pour chaque étape de l'extraction (solvant, matière végétale, temps d'extraction, technique d'extraction, etc.). En outre, l'extraction par la micro-onde est une bonne alternative pour extraire les composés phénoliques notamment la famille des flavonoïdes et du pro- anthocyanidines (Zhang et al. 2013; Naima et al. 2015). Concernant, l'évaluation des activités antioxydantes par différents systèmes, les résultats ont montré la supériorité de l'extraction par macération en comparaison avec la micro-onde. Cependant, l'extraction par cette technique non conventionnelle paraît prometteuse, puisque l'activité antioxydante totale des graines ont été très proches (10.5 mg EAG/g MS pour l'extrait éthanol à 50% contre 11.80 mg EAG/g MS pour le macérât à l'éthanol 20%). En outre, pour les deux autres activités antioxydantes (test DPPH et pouvoir réducteur), l'extraction par cette technique innovante (micro-onde) à donner des résultats satisfaisants avec l'éthanol à 50%. Cette technique reste à optimiser notamment au niveau du temps d'extraction et la puissance de l'appareil.

5. Conclusion

A l'issue de ce travail, l'étude a montré que *Lepidium sativum* exhibe une bonne activité antioxydante mise en évidence via différents systèmes. De plus, la plante s'est avérée riche en composés phénoliques principalement des flavonoïdes. Notre étude a révélé que la micro-onde est la méthode adéquate pour extraire les composés antioxydants de cette plante. Des travaux sont nécessaires pour isoler et identifier les composés responsables de cette activité.

6. Références

- Boukef M K (1986)** Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de Coopération Culturelle et Technique I. S. B. N. 92-9028-085-9. p 350.
- Chemat F, Abert Vian M, Cravotto G (2011)** Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles Int. J. Mol. Sci 13 13(7), 8615-8627.
- Chen C W, Ho CT (1995)** Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. J. Lipids. 2: 35-46.
- Desai M, Parikh J, Parikh P A (2010)** Extraction of natural products using microwaves as heat source. Sep Purif Rev, 39 (1): 1-32.
- Dewanto V, Wu X, Adom K, Liu R (2002)** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J Agric Food Chem 50: 3010- 3014.
- Hsu CY, Chan Y P, Chang J (2007)** Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. Biol Res 40: 13-21.
- Ksouri R, Megdiche Ksouri W, Jallali I, Debez A, Magné CH, Hiroko I, Abdelly CH (2012)** Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. Crit Rev Biotechnol 1-38.
- Le Floche E (1983)** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publ. Sc. Tunisiennes. Programme "Flore et végétation tunisiennes". Imprimerie officielle de la République Tunisienne: p 402.
- Maghrani M, Zeggwah N A, Michel J B, Eddouks M (2005)** Antihypertensive effect of *Lepidium sativum* in spontaneously hypertensive rats. J Ethnopharmacol 100: 193-197.
- N'guessan J D, Zirihi G N, Kra A K M, Kouakou K, Djaman A J, Guede-Guina F (2007)** Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. Ijonas 4: 425-429.
- Oyaizu M (1986)** Studies on products of the browning reaction: antioxidative activities of browning reaction. Jpn J Nutr 44(66): 307-315.
- Poncet-Legrand C, Cartalade D, Putaux J L, Cheynier V, Vernhet A (2003)** Flavan-3-ol Aggregation in Model Ethanolic Solutions: Incidence of Polyphenol Structure, Concentration, Ethanol Content, and Ionic Strength. Langmuir 19 (25): 10563-10572.
- Singleton V, Rosi J (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. Am. J. Oenol. Vitic 16: 144-158.

Sun B, Richardo-da-Silvia J, Spranger I (1998) Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food. Chem* 46: 4267-4274.

Zhang H.F, Zhang X, Yangb X.H, Xue Qiu N, Wang N, Wang Z.H (2015) Microwave assisted extraction of flavonoids from cultivated *Epimedium sagittatum*: Extraction yield and mechanism, antioxidant activity and chemical composition. *Industrial Crops and Products* 70, 245–252.