

## Etude des propriétés antidrepanocytaires et de la thermo dégradation des colorants extraits de *Hibiscus Sabdariffa*, plante légumière à vertu thérapeutique

### [ Survey of anti drepanocytary properties and thermo degradation of dyes extracted from *Hibiscus Sabdariffa*, an edible plant with therapeutic vertues ]

MULUNGULUNGU N. Déogratias and BADIBANGA M. Liévin

Département de Chimie,  
Faculté des Sciences, Université de Lubumbashi,  
Lubumbashi, RD Congo

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** In Lubumbashi and its hinterland, some food plants which are generating natural colourings used in traditional medicine were found

This is the case of *Hibiscus Sabdariffa* from which some analyses have been completed in this study namely:

- Moisture and total ash determination in leaves and flowers,
- Chemical matter research,
- Colouring extraction in water, methanol and ethanol
- Biological test of extracted colourant and thermodegradation of colourants.

However, the thermodegradation assessment has been studied by exposition of different extracts got from study at different temperatures and moments, and the absorbance reading done successively at 262nm for aqueous extracts and at 268nm for both methanolic and ethanol extracts

**KEYWORDS:** *Hibiscus Sabdariffa*, Extract, Anti-Sickling, Thermodegradation.

**RESUME:** A Lubumbashi et dans son hinterland l'on rencontre des plantes alimentaires sources des colorants naturels et utilisées en médecine traditionnelle. C'est le cas de *Hibiscus Sabdariffa* qui a fait l'objet de cette étude.

La détermination dans les feuilles et les fleurs de l'humidité et de la cendre totale, ainsi que la recherche des substances chimiques, l'extraction des colorants dans l'eau, dans le méthanol et dans l'éthanol, l'évaluation des propriétés antidrepanocytaires de ces colorants et de leur thermo dégradation ont été effectuées au cours de cette étude.

La thermo dégradation a été étudiée en exposant les différents extraits obtenus à l'étuve à différentes températures et à différents temps et la lecture de l'absorbance faite à 262 nm pour les extraits aqueux et à 268 nm pour les extraits méthanoliques et éthanoliques.

**MOTS-CLEFS:** *Hibiscus Sabdariffa*, Extraits, Activité antifalcémiant, Thermo dégradation.

## 1 INTRODUCTION

L'alimentation est un besoin vital de l'homme. Une nutrition et une alimentation adéquates et variées sont indispensables pour l'approvisionnement en énergie utile pour le maintien, la construction et le métabolisme basal de l'organisme.

A Lubumbashi, il se constate dans plusieurs ménages que les légumes constituent un aliment largement consommé et se vendent à un prix accessible à toutes les couches de la population [1-2].

Sources de minéraux et de fibres alimentaires, les légumes traditionnels sont aussi utilisés comme sources des colorants ou comme substances thérapeutiques en médecine traditionnelle [3-4]. L'activité biologique de certaines de ces plantes serait due à ces pigments notamment aux anthocyanes [4]. Provenant des végétaux comestibles, les pigments y contenus peuvent à priori être utilisés comme colorants dans l'industrie agro-alimentaire[5]. Toutefois ils sont sensibles à la chaleur, la lumière [], le P<sup>H</sup>[3-6] alors qu'ils sont généralement exposés au soleil ou cuites à des hautes températures et la décoction est souvent utilisée comme mode de préparation. La cuisson de *Hibiscus Sabdariffa* (Oseille) se fait dans l'eau et l'ébullition dure en moyenne trente minutes.

L'engouement à la consommation de *ce légume-feuille*, sa potentialité comme source de colorants alimentaires et l'intérêt thérapeutique qu'il présente nous conduisent dans cette étude à effectuer le screening chimique de la plante, à évaluer l'activité antifalcémiant des extraits, ainsi que l'influence de la chaleur sur ces derniers.

## 2 MATERIELS

### 2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal est constitué des feuilles et des jeunes fleurs de *Hibiscus Sabdariffa* récoltées en décembre 2013 à la ferme Mimbulu, ferme située à 15 km de la ville de Lubumbashi sur la route Kipushi, et identifiées à l'herbaniarium de la Faculté des Sciences de l'Université de Lubumbashi.

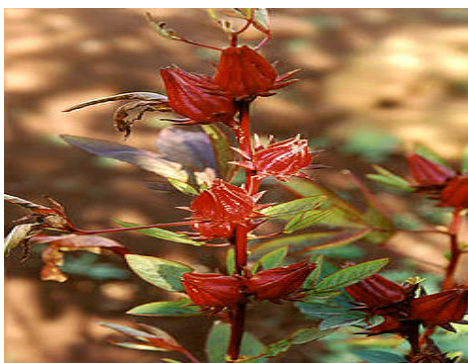


Figure 1: *Hibiscus Sabdariffa*

### 2.2 MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le sang utilisé pour tester l'activité antifalcémiant des extraits la plante a été obtenu des sujets SS fréquentant le Centre de Dépistage et de Prise en Charge des Drépanocytaires (CDPCD) de l'hôpital général de référence Janson SENDWE de Lubumbashi âgés de 10 à 18 ans. Le sang prélevé était conservé au réfrigérateur à 4°C pour une durée ne dépassant pas 10 jours en utilisant le citrate de sodium comme anticoagulant [9].

## 3 MÉTHODES

### 3.1 HUMIDITÉ ET CENDRES TOTALES

La teneur en humidité a été déterminée par la perte jusqu'à poids constant de 5g de matériel végétal dans une étuve de marque Memmert réglée à 105 ± 2°C pendant 12h00.

La teneur en matières minérales a été déterminée en calcinant 5g de matériel végétal exempt d'humidité dans un four isotherme de marque Nabertherm réglé à 550°C pendant 24 heures.

### 3.2 EXTRACTION ET CONCENTRATION DES COLORANTS

Les feuilles et les jeunes fleurs récoltées le matin ont été séchées à la température du laboratoire à environ 27°C, à l'abri de la lumière pendant environ 20 jours puis pilées dans un mortier en agathe et tamisées au tamis de 250 micromètres de dimension de maille.

L'extraction des colorants consistait à macérer m grammes de matériel végétal séché et pulvérisé dans 20×m millilitres de solvants en l'occurrence l'eau, l'éthanol et le méthanol pendant 72 heures.

Les extraits obtenus ont été concentrés à pression réduite à 35 degrés Celsius à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le séchage des extraits concentrés s'est poursuivi à l'étuve à la même température. Ces extraits séchés ont servi pour la détermination de l'activité antifalcémiant et l'étude de la thermo dégradation.

### 3.3 SCREENING CHIMIQUE

Le screening chimique a été effectué en exploitant les modes opératoires connus repris par HARBORNE, LUMBU et SOFOWARA et LUMBU [7-8-9] utilisant les réactifs spécifiques de coloration et de précipitation suivants :

Réactifs de coloration :

- acide chlorhydrique, acide sulfurique, soude caustique et copeaux de magnésium pour les anthocyanes et les flavonoïdes ;
- soude caustique 1% pour les quinones ;
- acide cyanhydrique pour les hétérosides cyanogènes ;
- acide acétique anhydre et acide sulfurique concentré pour les stéroïdes ;
- réactif de HIRCHSON ou acide trichloroacétique pour les térapénoïdes ;
- acide sulfurique 1N et  $K_2Cr_2O_7$  10% pour les saponines ;
- Chlorure ferrique pour les tanins.

Réactifs de précipitation:

- Réactifs de Dragendorff, de Mayer, de Wagner, de Sonneschein, de Hager et de Bertrand pour les alcaloïdes.

### 3.4 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFALCÉMIANTE

L'évaluation de l'activité biologique sur les drépanocytes a été réalisée en utilisant le test d'Emmel [10] résumé comme suit : Prélever 5 mg de sang du drépanocytaire et le mélanger avec 10 ml d'eau physiologique (NaCl 0,9%) puis tester quelques gouttes de cette solution avec les extraits obtenus dans les conditions hypoxiques sur des lames.

Les images microscopiques ont été prises à l'aide d'un microscope optique de marque MOTIC et un appareil numérique FUJI a permis de numériser les micrographies.

### 3.5 EFFET DE LA CHALEUR

L'influence de la chaleur sur les colorants extraits a été évaluée en étuvant les solutions des colorants extraits dans une étuve de marque Memmert aux températures allant de 40 à 95°C et des temps d'étuvage allant de 0 à 300 minutes [11].

Un spectrophotomètre UV-visible DRELL 5000 a été utilisé pour la lecture des absorbances des solutions. Les résultats des recherches des absorbances maximales retenues avec les différents solvants étudiés en variant les longueurs d'ondes se présentent comme suit :

Solvant	longueur d'onde (nm)	Absorbance
Eau	262	0,013
Méthanol	268	0,063
Ethanol	268	0,045

## 4 RESULTATS

### 4.1 HUMIDITÉ ET CENDRES TOTALES

Les résultats sont repris dans le tableau I ci dessous

**Tableau I : Taux en humidité et en cendres totales**

Paramètre	Taux(%)
Humidité	87,7
Cendres totales	7,3

De ces résultats il se dégage l'Hibiscus sabdariffa contient beaucoup d'eau et des matières minérales.

### 4.2 PRINCIPES ACTIFS CONTENUS DANS L'HIBISCUS SABDARIFFA.

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

**Tableau II : Groupes des substances chimiques identifiées.**

Espèce végétale	Alc	Flavonoïdes					Leu	Tanins totaux		Qui	Sap	Sté	Terp	Hen	Résultats positifs
		Ant	Fnes	Foles	Fones	Iso		Tan C	Tan G						
Oseille (feuilles et fleurs)	+++	+++	++	++	-	+	+++	+	+	+	-	-	-	+	10/14
Pourcentage	16	16	11	11	0	6	16	6	6	6	0	0	0	6	

De ce tableau il se dégage que les alcaloïdes, les anthocyanes et leuco anthocyanes sont prédominants dans l'échantillon analysé.

Il importe de signaler que les résultats du screening chimique sont présentés en signe et en chiffres pour illustrer leur proportion.

**Légende:** Alc : Alcaloïdes ; Ant : Anthocyanes ; Fnes : Flavones ; Fones : Flavonones ; Foles : Flavonols ; Iso : Isoflavones ; Leu : Leuco anthocyanes ; Tan G : Tanins Galliques ; Tan C : Tanins catéchiqes ; Sap : Saponines ; Sté : Stéroïdes ; Terp : Terpenoïdes et Hcn : Hétérosides cyanogénétiques.

**Signes :** - : Absence de la substance  
 + : Présence de la substance ou substance moins abondante  
 + + : Substance abondant + + + : Substance très abondant

### 4.3 EXTRACTION DES COLORANTS

La macération dans le méthanol, l'éthanol et l'eau des échantillons de l'*Hibiscus sabdariffa* (feuilles et fleurs) a conduit aux résultats repris dans le tableau III

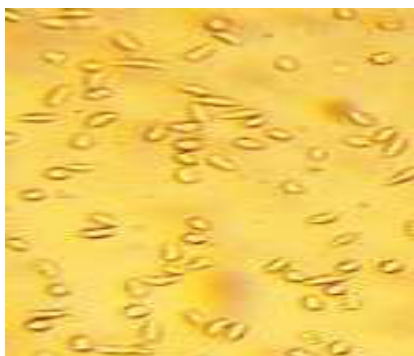
**Tableau III : Rendement de l'extraction**

Plante	Types d'extraits	Rendement (%)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Extraits aqueux séchés	31,6
	Extraits éthanoliqes séchés	10,7
	Extraits méthanoliques séchés	31,3

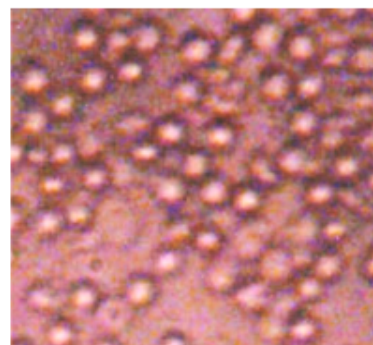
Les valeurs présentées dans ce tableau montrent que l'eau et le méthanol donnent les meilleurs rendements d'extraction.

#### 4.4 ACTIVITÉ ANTIFALCÉMIANTE DES EXTRAITS

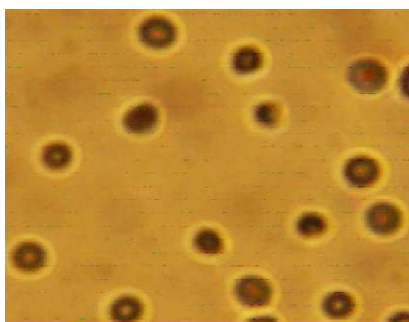
Les figures 2, 3, 4 et 5 ci dessous reprennent les micrographies du sang SS non traité et du sang SS en présence des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques.



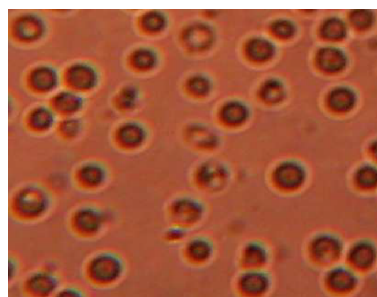
*Fig.2 : morphologie des drépanocytes du sang SS non traité*



*Fig. 3: morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits aqueux de Hibiscus sabdariffa*



*Fig. 4 : morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits éthanoliques de Hibiscus sabdariffa*



*Fig. 5 : morphologie des drépanocytes du sang SS traité avec les extraits méthanoliques de Hibiscus sabdariffa*

Les figures ci haut illustrent que les différents colorants extraits de l'Hibiscus Sabdariffa ont montré une activité remarquable sur la falciformation.

#### 4.5 THERMO DÉGRADATION DES EXTRAITS COLORÉS

Les essais de thermo dégradation ont été conduits en variant la température et en maintenant le temps de 30 minutes, durée maximale habituelle de cuisson lors de la préparation de S d'hibiscus.

Les essais à 40 degrés Celsius ont permis d'apprécier la dégradation initiale lors de la concentration et le séchage des extraits.

Les tableaux IV, V et les figures 6 et 7 ci-dessous montrent l'influence de la chaleur sur les extraits colorés en fonction de la température et du temps d'étuvage.

Tableau IV : Résultats de la variation de l'absorbance des extraits étuvés à différentes températures pour un temps d'étuvage de 30 minutes à  $\lambda=275\text{nm}$ .

	Types d'extraits	Température d'étuvage (°C)											
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95
Absorbances	Aqueux	1.85	0.675	0.625	0.625	0.587	0.512	0.47	0.421	0.367	0.333	0.309	0.306
	Methanolique	0.809	0.742	0.681	0.561	0.5	0.432	0.369	0.363	0.36	0.358	0.356	0.356
	Ethanolique	0.782	0.741	0.623	0.472	0.45	0.401	0.324	0.263	0.222	0.206	0.173	0.136

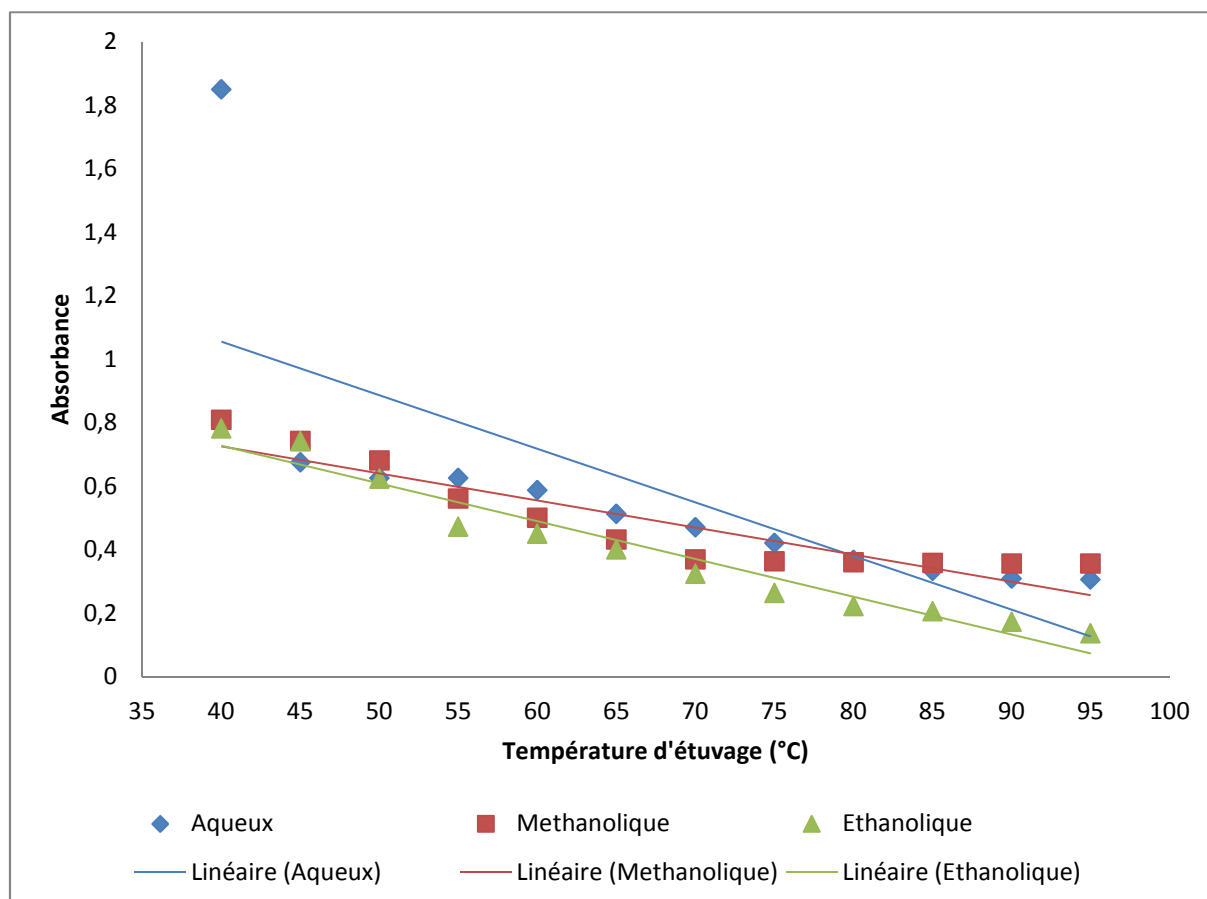


Fig. 6 : Influence de la chaleur sur les colorants extraits en fonction de la température d'étuvage pour un temps de 30 minutes

Tableau V : Résultats de la variation de l'absorbance des extraits étuvés à 40°C à différents temps d'exposition.

	Types d'extraits	Temps d'étuvage (Minutes)												
		0	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250	275	300
Absorbances	Aqueux	2,957	2,759	1,653	1,188	1,123	0,754	0,587	0,422	0,371	0,302	0,253	0,252	0,251
	Methanolique	1,922	1,859	1,84	1,823	1,809	1,712	1,524	1,392	1,126	1,111	0,923	0,618	0,524
	Ethanolique	1,387	1,382	1,361	1,323	1,269	1,112	0,857	0,652	0,609	0,536	0,519	0,492	0,491

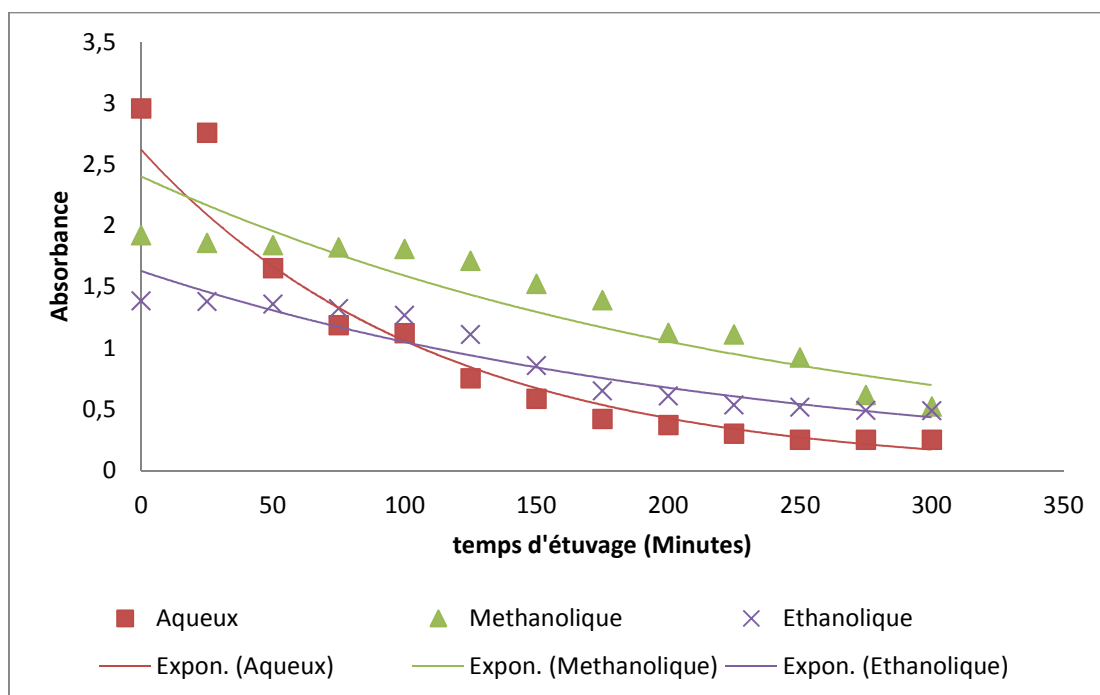


Fig. 7 : Influence de la chaleur sur les colorants extraits en fonction du temps d'étuvage.

Les figures 6 et 7 ont été tracées à partir des tableaux IV et V

La figure 6 montre que le  $R^2$  des extraits éthanoliques est supérieur au  $R^2$  des extraits méthanoliques qui lui aussi est supérieur au  $R^2$  des extraits aqueux.

L'allure des courbes de tendance exponentielle montre une grande décroissance de l'absorbance pour les extraits aqueux, moyenne pour les extraits méthanoliques et faible pour les extraits éthanoliques (Fig. 7).

## 5 DISCUSSION

La teneur en humidité de *Hibiscus Sabdariffa* (87,91%) prouve qu'il se situe dans la catégorie des légumes du fait que sa teneur en eau est supérieure à 70% [12] et sa teneur en cendres totales de 7,25%.

*Hibiscus Sabdariffa* contient 10 groupes de substances chimiques sur les 14 recherchés parmi lesquels les Alcaloïdes, les Anthocyanes et les Leuco anthocyanes sont les plus abondants.

Ces rendements d'extraction élevés prouvent que *Hibiscus Sabdariffa* est une bonne source des colorants. L'eau et le méthanol donnent des rendements meilleurs que l'éthanol du fait de leur polarité.

La figure 2 révèle que la majorité des érythrocytes ont la forme falciforme, mais en présence des différents extraits (figures 3, 4 et 5) il se dégage que les érythrocytes prennent la forme normale. Cette modification de la forme des drépanocytes a été remarquée en présence des extraits aqueux (grande), et méthanoliques (moyenne) éthanoliques (faible) de *Hibiscus Sabdariffa* et dépend donc de la nature des extraits.

Les colorants étant connus pour leur instabilité vis-à-vis de la chaleur, il a été utile d'évaluer l'influence de la température sur la dégradation des pigments extraits.

Il ressort encore de la figure 6 que la thermo dégradation après étuvage à différentes températures pour un même temps est plus rapide pour les extraits aqueux, moyenne pour les extraits méthanoliques et faible pour les extraits éthanoliques.

En effet, il est établi que les colorants végétaux sont sensibles à l'oxydation photochimique. Ils sont d'autant plus détruits que les traitements sont sévères et leur concentration élevée [6-13]

L'allure de la décroissance de différentes droites de tendance linéaire de ces différents extraits illustre ce phénomène

Les extraits aqueux présentent un  $R^2$  supérieur par rapport au  $R^2$  des extraits méthanoliques et enfin les extraits éthanoliques présentant un  $R^2$  faible comme le montre la figure de la cinétique de dégradation après étuvage à différents temps pour une même température (Fig. 7). Les points expérimentaux, nous servant à tracer les droites et les courbes, ont été traités avec le programme Excel.

Sur les graphiques, ils sont en accord avec le modèle linéaire : pour les courbes à tendances linéaires, on a pour les extraits aqueux :  $y = -0,016x + 1,73$  ; les extraits méthanoliques :  $y = -0,008x + 1,066$  et les extraits éthanoliques :  $y = 0,011x + 1,203$  alors que pour les courbes à tendance exponentielle, on a pour les extraits aqueux :  $y = 2,622e^{-0,00x}$  ; pour les extraits méthanoliques :  $y = 2,403e^{-0,00x}$  et pour les extraits éthanoliques :  $y = 1,631e^{-0,00x}$ . Les valeurs des coefficients de corrélation sont très bonnes (comprises entre 0,5 et 1,0 : pour les courbes linéaires, on a comme valeurs de  $R^2$  : 0,530 pour les extraits aqueux, 0,835 pour les extraits méthanoliques et 0,943 pour les extraits éthanoliques alors que pour les courbes à tendances exponentielle, on a : 0,958 pour les extraits aqueux, 0,846 pour les extraits méthanoliques et 0,926 pour les extraits éthanoliques) et montre que la plupart des points expérimentaux ne s'écartent pas trop verticalement des droites ou courbes ajustées des moindres carrés. Néanmoins, la précision et le nombre des mesures étant limités, l'unicité des paramètres décrivant bien ces dernières n'est toujours pas assurée. Il y a parfois plusieurs points de dispersion relatifs de la fonction choisie pour caractériser l'écart droite calculée / expérience.

## 6 CONCLUSION

*L'Hibiscus Sabdariffa* est une plante très utilisée dans l'alimentation quotidienne et dans la médecine traditionnelle à Lubumbashi contre la drépanocytose. Ainsi, connu comme légume et étant donné qu'elle est utilisée aussi à des fins thérapeutiques, le screening chimique a été fait en vue de déterminer les principes actifs y contenus.

Les essais d'extraction des colorants par trois solvants polaires en l'occurrence l'eau, le méthanol et l'éthanol ont montré que l'eau reste un meilleur extractant.

L'activité antifalcémiant de cette plante a été confirmée in vitro et elle serait due aux groupes des substances chimiques que contient la plante. Elle est d'une manière générale grande pour les extraits aqueux, moyenne pour les extraits méthanoliques et petite pour les extraits éthanoliques.

Les tests de sensibilité à la chaleur ont montré que les colorants contenus dans *L'Hibiscus Sabdariffa* sont thermo dégradables. Ainsi une exposition à de températures élevées pendant longtemps diminuerait leur activité antifalcémiant.

Ce légume alicament étant consommé après cuisson, il importe d'étudier les paramètres et de mettre au point un mode de préparation préservant ses vertus thérapeutiques.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier les professeurs Pius MPIANA, Jean-Claude MUZOMWE, le Dr Michel SHENGO et le Chef de travaux Erick KITWA K pour leur implication.



## REFERENCES

- [1] F. Malaise: *Se nourrir en forêt clair Africain*, éd. A-RCC, Bruxelles, p. 84, 89, 1997
- [2] N. Mulungulungu, et K. Kunkadi, *Sciences et Technologies des Aliments (STA), Propriétés fonctionnelles et organoleptiques de quelques légumes consommés au Katanga*, 03 (2) : 15-31, 1999
- [3] J. Bruneton, *J. pharmacopée, photochimie, plantes médicinales*, 4<sup>ème</sup> éd. Lavoisier, Paris, p. 366-424, 441-466, 2009
- [4] P.T. Mpiana, E.K. Kitwa, A.B. Kanangila *Influence de la photo dégradation sur l'activité antifalcémiant des anthocyanes extraits de quelques plantes de Lubumbashi, R.D. Congo*, Ann. Fac. Sci. 1 : 45-53 , 2009/2009.
- [5] M. Moll et N. Moll, *Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques*, 2<sup>ème</sup> éd. DUNOD, Paris, p.20-39 ,1998
- [6] E. Antonot, et R. Marchal, *Chromatographie (stage MAFPEN)*, éd. Lycée Louis Vincent, p.26-28. 1998
- [7] J. Harborne , *"Méthodes phytochimiques : Un guide pour des techniques d'analyses des plantes"*, Ed. Chapman, Londres, p.271, 1973
- [8] S. Lumbu, K.M. Mbayo et K. Kahumba, *"Analyse semi-quantitative de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi et ses environs"*, Ann. Méd.Vét. ; PUL, XVII, 1, 8-12, 2005.
- [9] A. Sofowara, *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*, éd. Karthala, Paris, p. 6, 1996
- [10] P.T. Mpiana, E.K. Kitwa, B. Kanangila, D.S.T. Tshibangu et J.B. S. Lumbu, *Activité antifalcémiant de quelques plantes médicinales de Lubumbashi, R. D. Congo*, Ann. Fac. Sci. Unikin.
- [11] P.T. Mpiana, *Biophysique Medicale*, Tome 1, Ed. Academic Express, Kinshasa 2006.
- [12] M. MONTIGIAC, (1992), *Je mange donc je maigris des denrées alimentaires*, éd. Berne, volume 2 Tome I, chap. 25, p. 5.
- [13] J.C. Cheftel, H. Cheftel, P. Besancon. *Introduction à la Biochimie et à la technologie des aliments Vol 1 Editions techniques et documentation 11 Rue Lavoisier 75008 Paris, p147-236 ,1983*