

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

N°...../SNV/2021

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M<sup>elle</sup> Lazizi Sabah & M<sup>elle</sup> Ihadaden Sabrine

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE**

THÈME

**Effets biologiques de *Cyperus esculentus* L.**

Déposé le 06/07/2021

DEVANT LE JURY

Présidente M<sup>me</sup> Missoun F. Maître de conférences A. Univ. Mosta.

Directrice du mémoire M<sup>me</sup>. Ziar H. Maître de conférences A. Univ. Mosta.

Examineur Mr. Chaalal A. Maître de conférences A. Univ. Mosta.

Année universitaire : 2020/2021.

## Résumé

Dans le présent travail, nous explorons les effets biologiques de *Cyperus esculentus* L. ou Hab Elaziz sous sa préparation aqueuse telle que utilisée traditionnellement en Algérie. Un premier screening phytochimique a été effectué, suivi de l'analyse des teneurs en polyphénols totaux et de flavonoïdes. Deux propriétés biologiques « antioxydante et antimicrobienne » ont été évaluées *in vitro*. La composition phytochimique de l'extrait aqueux du souchet comestible a révélé la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des saponosides, des stérols et des terpénoïdes. La teneur en polyphénols telle que estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu était de l'ordre de  $1580 \pm 2.00$  mg EAG/100g MS et celle des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques était de l'ordre de  $289 \pm 1.53$  mg EQ/100g MS. L'activité antioxydante du souchet comestible était reliée à sa composition phénolique qui était aussi appréciable (25-32% dans le test de DPPH et 2.6 à 3 mmol EAA /mL dans le test de réduction ferrique FARP) quand il est testé à 100 ou 200  $\mu\text{g/mL}$  d'extrait aqueux. Les extraits hydrosolubles de souchet ont montré des activités antimicrobiennes contre *C. albicans*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* (2 à  $4 \pm 0.1$  à 100-200  $\mu\text{g/mL}$ ), tandis que le même extrait aqueux a montré une activité antimicrobienne maximale contre *Klebsiella pneumoniae* ( $8.1 \pm 1.2$  mm à 100  $\mu\text{g/mL}$ ). Cette première étude reste préliminaire, d'autres volets devraient être explorés, en l'occurrence, une analyse biochimique détaillée de la composition et une évaluation de ces activités biologiques sur un modèle animal.

**Mots clefs :** *Cyperus esculentus* L., extrait aqueux, screening phytochimique, polyphénols, flavonoides, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## **Abstract**

In the present work, we explore the biological effects of *Cyperus esculentus* L. or Hab Elaziz under its aqueous preparation as traditionally used in Algeria. A first phytochemical screening was performed, followed by the analysis of total polyphenols and flavonoids contents. Two biological properties "antioxidant and antimicrobial" were evaluated in vitro. The phytochemical composition of the aqueous extract of yellow nutsedge revealed the presence of polyphenols, flavonoids, saponosides, sterols and terpenoids. The content of polyphenols as estimated by the Folin-Ciocalteu method was in the range of  $1580 \pm 2.00$  mg EAG/100g DM and that of flavonoids in methanolic extracts was in the range of  $289 \pm 1.53$  mg EQ/100g DM. The antioxidant activity of yellow nutsedge was related to its phenolic composition which was also appreciable (25-32% in the DPPH test and 2.6 to 3 mmol EAA /mL in the FARP iron reduction test) when tested at 100 or 200  $\mu\text{g/mL}$  aqueous extract. The water-soluble extracts of yellow nutsedge showed antimicrobial activities against *C. albicans*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* (2 to 4  $\pm 0.1$  at 100-200  $\mu\text{g/mL}$ ), while the same aqueous extract showed a maximum antimicrobial activity against *Klebsiella pneumoniae* (8.1  $\pm 1.2$  mm at 100  $\mu\text{g/mL}$ ). This first study remains preliminary, other aspects should be explored as a detailed biochemical analysis of the composition and an evaluation of these biological activities on an animal model.

**Key words:** *Cyperus esculentus* L., aqueous extract, phytochemical screening, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

## *Dédicace*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,  
leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de  
mes études.*

*A mes chères sœurs, Saadia, Samra, Mbarka,  
Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien  
moral.*

*A mes chers frères, Mohamed, Abde Alkader, Abde Alhadí,  
pour leur appui et leur encouragement.*

*J'adresse aussi mes dédicaces à mes amis (Nouria ; Hasna ;  
Souad ...)*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant  
allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

**Sabah**

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui : pour le goût à l'effort qu'elle a suscité en moi.*

*Que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

*A vous mes frères et sœurs qui m'aviez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études. A mes amies et mes camarades. Sans oublier tout les professeurs de l'enseignement supérieur.*

*Sabrine*

# *Remerciements*

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le clément et le Miséricordieux de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

Nous exprimerons nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à,  
Mme le docteur Ziar H. (maître de conférences A) à l'Université de

Mostaganem

pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury d'avoir nous honoré en acceptant d'examiner la qualité de notre travail. Merci pour votre présence.

Nous remercions toute l'équipe LMBAFS du laboratoire des micro-organismes bénéfiques, aliments fonctionnels et de la santé sous la direction du professeur Riazi et sa laborantine Madame Djahira, pour l'accueil, l'aide matérielle et morale.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour mener à bien ce travail.

*« Merci »*

## Liste des abréviations

**FRAP:** The Ferric Reducing/ Antioxidant Potential

**TCA :** Acide trichloroacétique

**DPPH:** 2,2-dipheyl-1-picrylhrazyl

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxydes d'hydrogène

**K<sub>3</sub>Fe(CN) 6:** Ferricyanure de potassium

**AlCl<sub>3</sub>:** Trichlorure d'Aluminium

## Liste des tableaux et des figures

### 1- Liste des tableaux

N°	Titre	Page	Chapitre où se trouve
01	Classification de la plante de souchet (Dodet, 2006)	5	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
02	Analyse nutritionnelle de la farine de souchet (Oladele et Aina, 2007).	15	<u>CHAPITRE II</u> : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.
03	Composition chimique des tubercules séchés de souchet comestible (Oladele et al., 2007)	16	<u>CHAPITRE II</u> : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.
04	Teneur en minéraux des tubercules souchet (mg/100g) (Oladele et al., 2007)	18	<u>CHAPITRE II</u> : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.
05	Les souches pathogènes testées.	25	CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES
06	Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de farine de <i>Cyperus esculentus</i> .	32	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.

## 2- Liste des figures

N°	Titre	Page	Chapitre où se trouve
01	Champ de <i>Cyperus esculentus</i> ( <b>Anonyme, 2017</b> ).	4	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
02	Tubercules de souchet ( <b>Anonyme, 2017</b> ).	5	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
03	Multiplication des tubercules de souchet ( <b>Bohren et Wirth, 2013</b> )	7	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
04	Plante de <i>Cyperus esculentus</i> ( <b>Follak et al., 2016</b> ).	9	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
05	Morphotype 1 ( <b>Bado et al., 2015</b> )	12	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
06	Morphotype 2 ( <b>Bado et al., 2015</b> )	12	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
07	Morphotype 3 ( <b>Bado et al., 2015</b> )	12	<u>CHAPITRE I</u> : Généralités botaniques sur le souchet.
08	Schéma illustrant les différentes étapes par lesquelles passent les tubercules du souchet comestible en biotechnologie de lait, boisson (1) et farine (2).	13	<u>CHAPITRE II</u> : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.
09	Tubercules bruns utilisés dans cette étude.	25	<u>CHAPITRE III</u> : Matériels et Méthodes
10	Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.	27	<u>CHAPITRE III</u> : Matériels et Méthodes
11	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	34	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.
12	Le contenu en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux du souchet comestible.	34	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.
13	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux	35	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.

14	Le contenu en flavonoïdes dans l'extrait méthanoïque du souchet comestible.	36	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.
15	Activité antioxydante du souchet comestible telle que exprimée par la méthode de DPPH. La quercétine était prise comme référence.	37	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.
16	Activité antioxydante du souchet comestible telle que exprimée par la méthode de FRAP.	38	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.
17	Action antimicrobienne (zone en mm) de la solution aqueuse de souchet comestible à l'égard des souches pathogènes : La propolis et le fenugrec testés aux mêmes concentrations ont été pris comme témoins.	40	<u>CHAPITRE IV</u> : Résultats et discussion.

# Sommaire

Résumé

Abstract

Dédicace

Remerciements

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux et des figures

Introduction.....01

## Chapitre I : Généralités botaniques sur le souchet.

I.1. Historique .....03

I.2. Origine du souchet .....03

I.2. Description botanique du souchet .....04

I.4. Classification.....05

I.5. Culture .....06

I.6. Cycle de vie .....06

I.7. Distribution géographique .....08

I.8. Caractéristiques morphologiques .....08

I.8.1. Morphologie du tubercule de *Cyperus esculentus* L. ....08

I.8.2. Anatomie du tubercule .....10

I.9. Production mondial du souchet .....	10
I.9.1. Facteurs influençant le développement et la production du souchet .....	11
I.10. Caractéristiques physiques .....	11

## **Chapitre II : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.**

II.1. Utilisation industrielle .....	13
II.1.1. Tubercules .....	14
II.1.2. Lait du souchet .....	14
II.1.3. Huile du souchet .....	14
II.1.4. Farine du souchet .....	15
II.2. Caractéristiques nutritionnelles et composés bioactifs du souchet comestible. ..	16
II.3. Sécurité et qualité microbiologique .....	18
II.4. Recherches futures sur les boissons et aliments fonctionnels .....	19
II.5. Les effets du souchet comestible sur la santé humaine .....	19
➤ <i>Activité hépato-protectrice</i> .....	20
➤ <i>Action anti-sickling</i> .....	20
➤ <i>Potentiel aphrodisiaque</i> .....	20
➤ <i>Effet antioxydant</i> .....	21
➤ <i>Action antimicrobienne</i> .....	22
➤ <i>Activité anti-athérosclérotique</i> .....	22
➤ <i>Action anti-inflammatoire et antiarthritique</i> .....	23
➤ <i>Action de vasodilatation</i> .....	23

➤ <i>Action anticancéreuse</i> .....	23
--------------------------------------	----

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

III.1. Matériels .....	25
III.1.1. Matériel biologique .....	25
III.1.2. Matériel non biologique .....	26
III.2. Méthodes.....	26
III.2.1. Analyse phytochimique .....	27
➤ Les polyphénols .....	28
➤ Les flavonoïdes.....	28
➤ Stérols et les poly terpènes.....	28
➤ Les tannins .....	28
➤ Les saponines .....	29
III.2.2. Dosage des Polyphénols totaux .....	29
III.2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux.....	29
III.2.4. Dosage de l'activité anti radicalaire par le test au DPPH (2, 2'- diphenyl-1-picrylhydrazyle).....	30
III.2.5. Pouvoir réducteur du fer.....	30
III.2.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31

## **CHAPITRE IV : Résultats et discussion.**

IV.1. Analyse phytochimique.....	32
IV.2. Les teneurs en polyphénols totaux dans le souchet comestible.....	33
IV.3. Les teneurs en flavonoïdes dans le souchet comestible.....	35
IV.4. Les activités biologiques du souchet comestible.....	36
IV.4.1. Le pouvoir antioxydant.....	36
IV.4.1.1. Le piégeage au DPPH.....	36
IV.4.2. Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux du souchet comestible.....	39
<b>Conclusion</b> .....	41

### **Références bibliographiques**

# **INTRODUCTION**

## Introduction

L'être humain s'est toujours appuyé sur la nature pour subvenir à ses besoins de base dont l'alimentation. Celle-ci est de plus en plus variée et joue plusieurs rôles tant sur le plan nutritionnel que sanitaire. En effet, elle doit, au quotidien, répondre aux besoins nutritionnels de l'organisme humain et participer à sa protection contre les agressions externes, notamment les maladies et le vieillissement précoce. Mais si l'on insiste sur les mets à éviter, on oublie souvent de parler de ceux à privilégier : les fruits, les légumes et les plantes médicinales. Ces dernières sont riches en de nombreuses molécules biologiquement actives (nutriments, antioxydants). L'ingestion des antioxydants tels que les composés phénoliques, par l'intermédiaire de l'alimentation pourrait permettre à notre organisme de renforcer ses moyens de défense contre les processus d'oxydation qui menacent quotidiennement nos cellules. Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules à activités biologique et pharmacologique très variées. Ces molécules ont la capacité de piéger les radicaux libres qui sont générés en permanence par notre organisme ou formés en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infections,...).

Parmi ces plantes médicinales, nous avons sur toutes les étagères des épicerie algériennes, le souchet comestible, connu sous l'appellation « Hab Elaziz ».

C'est une plante généralement sous-utilisée dans de nombreuses régions du monde où le souchet pousse surtout comme une mauvaise herbe. Toutefois, il est apprécié dans certains pays méditerranéen comme l'Espagne, et dans les pays africains où il est consommé pour son goût sucré et laiteux, sans que la plupart des consommateurs de ces régions, soient conscients de ses avantages nutritionnels et sanitaires. Le niveau de sensibilisation à l'importance de cette plante merveilleuse et très enrichissante est, en effet, très faible.

La consommation de souchet est considérée dans certains pays comme le Ghana, comme étant un traitement contre la dysenterie, l'indigestion, les flatulences et les aphtes. En outre, les consommateurs Algériens de Hab Elaziz le prennent en tant que boisson issue de la macération à froid de quelques tubercules séchés dans l'eau. Ils affirment que sa consommation régulière les protège de nombreuses complications de santé ; telles que : le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'hyperlipidémie, le cancer de la prostate, le cancer du côlon, les hernies, les fibroses et les menstruations douloureuses. Il améliore également la fertilité des hommes et des femmes.

Dans ce travail, nous explorons la plante sous sa préparation traditionnelle pour son contenu biochimique actif. Un premier screening phytochimique sera effectué, suivi de l'analyse des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes et nous explorons, en fin, ces deux propriétés biologiques « antioxydante et antimicrobienne » *in vitro*.

# **CHAPITRE I : Généralités botaniques sur le souchet.**

## CHAPITRE I : Généralités botaniques sur le souchet.

### I.1. Historique

*C. esculentus* était l'une des plus anciennes plantes cultivées de la préhistoire et de l'Égypte ancienne, où elle était un aliment important. Des racines de Chufa sauvage ont été trouvées à Wadi Kubbaniya, au nord d'Assouan, datant d'environ 16 000 ans avant JC. (Sanderson, 2005).

Les tubercules secs apparaissent également plus tard dans les tombes de la période prédynastique, autour de 3000 avant JC. Pendant ce temps, les tubercules de *C. esculentus* étaient consommés bouillis dans de la bière, torréfiés ou sous forme de bonbons à base de tubercules moulus avec du miel (Moshe, 1992).

Les tubercules étaient également utilisés en médecine, pris par voie orale ou sous forme de pommade ou de lavement ou bien encore utilisés comme des fumigeants désodorisants pour adoucir l'odeur des maisons ou des vêtements (Defelice, 2002).

La tombe du Vizir Rekhmire du 15<sup>ème</sup> siècle avant notre ère, montre des paysans préparant et mesurant des noix de tigre. Le nom moderne des noix de tigre en Egypte est حب العزيز (*Hab el Aziz = grains d'Al-Aziz*) du nom du dirigeant fatimide qui en était réputé amateur.

### I.2. Origine du souchet

L'origine du souchet diffère selon les auteurs (Keller et al., 2012), le souchet a été découvert pour la première fois en Suisse (Bohren et al., 2013). Le souchet comestible qui se multiplie par ses tubercules hypogés est originaire des régions subtropicales. Selon (GEOMAR international, 2002), la culture du souchet s'est étendue à partir de l'Égypte vers l'Ouest, dans le nord de l'Afrique, jusqu'à son arrivée en Sicile et à la péninsule Ibérique, avec les vagues migratoires islamiques du Moyen Âge. Cet avis ne semble pas faire l'unanimité entre les auteurs.

Les raisons qui pourraient justifier l'implantation de la culture du souchet en Egypte seraient d'une part, l'interdiction de consommer le vin par la religion islamique et, d'autre part, la connaissance de ses propriétés médicinales. Il est généralement admis que cette plante est originaire de la Méditerranée et de l'Afrique.

### I.3. Description botanique du souchet

Le nom scientifique du souchet est : *Cyperus esculentus* var *sativus* (L. 1753). Il appartient à l'ordre des Poales, à la famille des Cypéracées, au genre *Cyperus*, à l'espèce *esculentus* et à la variété *sativus*. Dans la langue française, les synonymes du souchet sont, entre autre le pois sucré, le souchet tubéreux, l'amande de terre, le souchet sultan. En espagnol, il est désigné sous le terme de « *Chufa* ». Egalement en anglais, plusieurs termes tels que *yellow nutsedge*, *tigernut* ou *earthalmond*, désignent le souchet en référence, soit à sa ressemblance avec les graminées, soit au caractère comestible de ses tubercules (**Dodet, 2006**). Au Burkina Faso, le souchet est communément appelé « tchogon » en dioula.

La plantule de *Cyperus esculentus* présente une préfoliation pliée à section triangulaire. Le limbe est déplié et glabre. La plante atteint une hauteur variant entre 20 et 70 cm. Les feuilles sont très allongées, minces, larges de 4 à 8 mm et pointue (**Dodet, 2006**). Elle est reconnaissable à la section du limbe qui forme un large V et à sa couleur verte jaunâtre. À partir de sa base poussent sept (7) rayons. Les épillets sont allongés, acuminés, d'aspect paillé et possèdent plusieurs fleurs (**GEOMAR international, 2002**). Les racines sont fasciculées, de longueur réduite et d'un diamètre approximatif d'un millimètre. Elles possèdent des rhizomes à l'extrémité desquels se forment des tubercules de forme sphérique, ovale ou allongée. Le souchet est cultivé pour ses rhizomes tubérisés. Ses tubercules sont de couleur ocre à brun, à la chair blanche, légèrement farineuse et sucrée. Les figures 1 et 2 ci-dessous illustrent cette Description.



**Figures 1:** Champ de *Cyperus esculentus* (Anonyme, 2017).



**Figures 2:** Tubercules de souchet (Anonyme, 2017).

#### I.4. Classification

L'arbre taxonomique de la plante de souchet se présente comme suit :

**Tableau 1:** Classification de la plante de souchet (Dodet, 2006)

<b>Domaine</b>	Biota
<b>Règne</b>	Végétale
<b>Embranchement</b>	Spermatophyte
<b>Sous-embranchement</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	Liliopsida (Equisetopsida)
<b>Sous classe</b>	Commelinidae (magnoliidae)
<b>Super-ordre</b>	Lilianae
<b>Ordre</b>	Cyperales (Poales)
<b>Famille</b>	Cyperaceae
<b>Sous famille</b>	Scirpoideae
<b>Genre</b>	Cyperus
<b>Espèce</b>	esculentus

On distingue cinq (05) variétés de *Cyperus esculentus* qui sont : La variété *esculentus* Linnée, la variété *heermannii* Britton, la variété *leptostachyus* Boeckeler, la variété *macrostachys* Boeckeler et la variété *sativus* Boeckeler (**Fournet, 2002**).

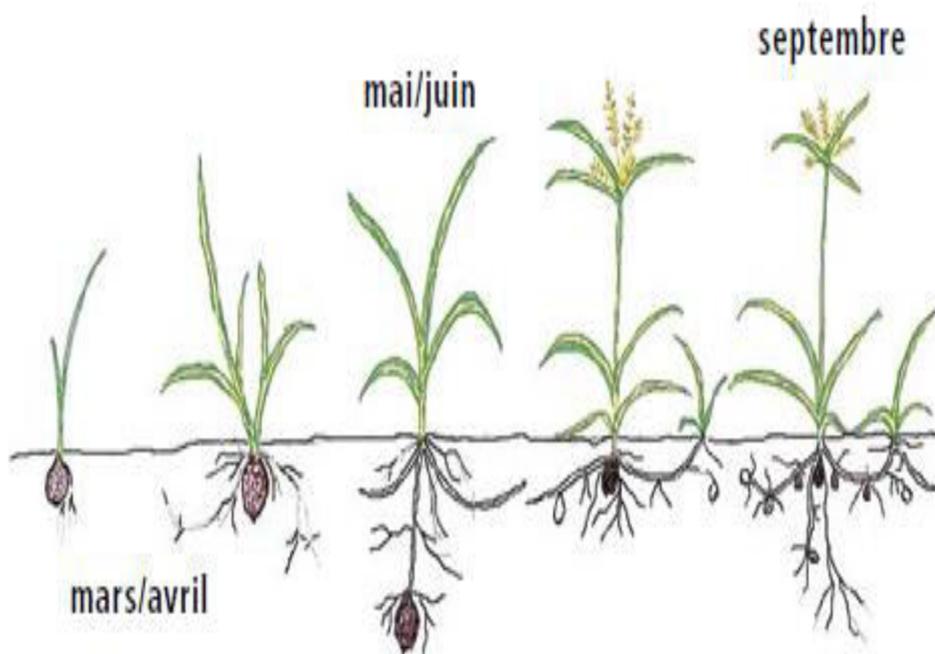
### I.5. Culture

Le souchet est une plante de la famille des Cyperaceae, Ordre des Cyperales ou Graminales (**Takhatajah, 1992**). La plante est plus fréquemment trouvée dans les marais mouillés, les bords de ruisseaux et étangs (**Saxena, 2001**). Cette plante comestible n'est pas cultivée à grande échelle, ses vertus étant méconnues. Ses rhizomes jaunes forment de petits tubercules qui virent au brun-jaunâtre à maturité. Crus ou secs, ce sont ces derniers qui sont utilisés. Ils ont la forme et la taille d'une noisette (**Arafat et al., 2009**). La plante est extrêmement difficile à enlever complètement des pelouses et jardins, où elle est parfois considérée comme une plante invasive. Cela est dû à un système racinaire stratifié et en couches, avec des tubercules et des racines interconnectées à une profondeur supérieure ou égale à 50 cm (**Lisan, 2014**). Les tubercules sont reliés par des racines fragiles qui sont sujettes à claquer lorsqu'il est tiré, ce qui rend le système racinaire difficile à retirer intact. La plante peut se régénérer rapidement si un seul tubercule est laissé en place. De plus elle se propage rapidement par agochorie (Croissance indépendante) quand les bulbes se collent à des véhicules ou à des machines (**Zobary et Hopf, 2000**).

### I.6. Cycle de vie

Le souchet comestible hiverne comme tubercule dans le sol. Le tubercule est une partie enflée du rhizome, qui compte un maximum de douze yeux et peut subsister environ 10 ans. Le souchet comestible germe à partir de début mai lorsque la terre commence à se réchauffer, et de préférence en terre aérée (**Bohren et Wirth, 2013**). A partir de l'oeil se développe un rhizome. Juste en dessous de la surface du sol, un épaissement prend naissance : le tubercule de base. A partir de ce tubercule de base se crée une nouvelle plante. La plante forme des feuilles, latéralement apparaissent après un temps très court des racines et horizontalement des rhizomes. Ceux-ci forment à nouveau des tubercules de base qui à leur tour refont des rhizomes et des plantes ou des nouveaux tubercules. Au fur et à mesure de la saison, la progression du développement des tiges ralentit, tandis que la formation des tubercules s'amplifie (**Bobren et Wirth, 2013**). La littérature indique des informations très diverses quant au nombre de tubercules formés : cela varie de 365 à 20 000, et plus de 6900

par plante par année, sachant que le rythme de formation de tubercules est plus élevé en conditions humides (Tumbleson et Kommedahl, 1961; Li *et al.*, 2001; Ransom *et al.*, 2009). Le souchet comestible fleurit de juillet (figure 3) à octobre et on le trouve surtout sur les terres plus humides et dans les endroits ensoleillés. A partir du tubercule de base, pousse alors une hampe avec au bout une inflorescence de type jonc. Sous certaines conditions climatiques habituelles, la graine n'est ni germinative ni vivace. Ainsi, après une première gelée nocturne, la plante épigée meurt mais les tubercules souterrains peuvent très bien résister au gel (Bobren et Wirth, 2013).



**Figure 3** : Multiplication des tubercules de souchet (Bobren et Wirth, 2013)

## I. 6. Distribution géographique

Le souchet est une plante cosmopolite mais se trouve davantage dans les régions humides ou marécageuses des zones subtropicales, tempérées et subarctiques (Heywood, 1996). Originaire de l'Est du Bassin méditerranéen, *C. esculentus* s'est répandue sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique, le plus souvent dans les régions chaudes (Mabberley, 1997). Mais depuis la moitié du XX<sup>ème</sup> siècle environ, l'espèce semble gagner les climats les plus froids des zones tempérées, jusqu'au 50<sup>ème</sup> parallèle dans l'hémisphère nord (Dodet *et al.*, 2007).

*C. esculentus* est présente dans toute l'Afrique. Au Cameroun, le souchet est produit exclusivement dans la partie septentrionale bien qu'il se retrouve en vente sur toutes les marchés locaux du pays. Cette culture est pratiquée dans les villages frontaliers du Nigeria dont les plus concernés par cette activité sont: Guili, Mayo-oulo, Meme, Dourbey, Bockla, Boudoumdjerek, Hina, Gamboura, Bourha, Djoumdjoug (Abdoulaye, 1997). Le taux de production est encore mal connu. Néanmoins, il a été estimé à 27 000 tonnes dans la partie septentrionale du Cameroun (Minader, 2009).

Les tubercules camerounais sont consommés le plus souvent à l'état sec comme aliment de grignotage; certaines populations l'utilisent pour la production d'un gâteau traditionnel appelé «Naman gal» qui est un mélange de farine de souchet et de pâte d'arachide. Cette plante a attiré très peu d'attention scientifique et technologique au niveau du Cameroun, mise à part les études sur son huile réalisées par Mbofung *et al.* (1997).

## I. 7. Caractéristiques morphologiques des tubercules de souchet

Le souchet produit à maturité des tubercules, définis comme des organes renflés de nature caulinaires, généralement souterrains, appartenant à un végétal vasculaire, et au niveau desquels la plante stocke des réserves (Boullard, 1988).

### I.7.1. Morphologie du tubercule de *Cyperus esculentus* L.

Les tubercules de *Cyperus esculentus* L. résultent de l'épaississement, sur plusieurs entre-nœuds, de l'extrémité distale de certains stolons (figure 4). Ces stolons sont des sortes de rhizomes blanchâtres ou brunâtres de 5-20 cm de longueur qui se différencient soit en tubercule soit en plantule; ils brunissent avec l'âge. Sur un même pied, les formes et les dimensions de ces tubercules sont des plus variables tantôt sub-sphériques, tantôt allongées et

elliptiques de 5 à 17 mm de diamètre; les paysans africains les classent en tubercules mâles (formes allongées) et en tubercules femelles (formes sphériques). Etant frais, ils ont les formes régulières, mais sèches, sous l'effet de l'entassement des cellules, il se crée des anfractuosités dans lesquelles se logent de nombreux micro-organismes et débits (**Arranz et al., 2006**).

De nombreux auteurs classent le souchet comestible en deux variétés : la variété noire et la variété brune. La variété noire serait *Cyperus esculentus* var. *esculentus*, elle est sauvage alors que la variété brune serait *Cyperus esculentus* var. *sativus* est cultivée (**Negbi, 1992**). La plupart des auteurs ont adopté la dénomination *Cyperus esculentus* L. pour désigner les variétés cultivées et sauvages. Selon (**Negbi, 1992**), les deux variétés sont relativement semblables, la couleur des tubercules n'est pas un caractère exceptionnel. En Afrique de l'Ouest, la variété noire est appelée « fanti » et la variété brune est appelée « kwahu ». Les espagnols quant à eux, distinguent deux variétés de tubercules de souchet : la variété « Ametlla » qui est composée de tubercules ronds ou sphériques et la variété « Largueta » dont les tubercules sont allongés (**Pascual et al., 2000**).

Un tubercule de souchet adulte comprend deux parties : le corps de tubercule lui-même, qui est généralement forme de 3 à 4 entre-nœuds bourrés de réserves et une partie distale, « le cône apical » qui comprend un certain nombre d'entre-noeuds particulièrement télescopes les uns dans les autres et dont les écailles foliaires persistent sous forme d'un cône coiffant le tubercule (**Onovo et Ogaraku, 2007; Salma et al., 2006**).



**Figure 4** : Plante de *Cyperus esculentus* (**Follak et al., 2016**).

(a) la plante en fleurs; (b) des tubercules matures; (c) épillet; (d1) achene: vue dorsale; (d2) achene: vue Ventrale; (e) les détails de la fleur

### I.7.2. Anatomie du tubercule

Sur une coupe transversale, le tubercule de *Cyperus esculentus* L. comprend deux parties essentielles :

- ✓ La zone corticale limitée à l'extérieur par un épiderme aux cellules allongées tangentiellement et doublée d'une couche cuticule relativement épaisse ; elle comprend de l'extérieur vers l'intérieur, un manchon fibro-collenchymateux et une zone parenchymateuse. Les fibres corticales forment un manchon protecteur de 3 à 5 assises de cellules à lumen très réduit. Sous cette couche scléreuse se trouve un collenchyme de 2 à 3 assises de cellules dont les parois sont épaisses ; la zone collenchymateuse sous-jacente est formée de grosses cellules polyédriques.
- ✓ Le cylindre central très réduit, est séparé de la zone corticale par un a trois assises de petites cellules allongées tangentiellement et dont les parois radiales sont épaisses. Il est formé de parenchyme fondamental identique au parenchyme cortical ; les faisceaux libéro-ligneux du cylindre central sont très réduits en nombre et en importance ; dans ces faisceaux sans formation scléreuses, le bois est central et entouré d'un liber aux éléments peu développés.

Les radicelles prennent naissance à partir de l'assise des petites cellules qui sépare la zone corticale du cylindre central, zone des réserves glucidiques. Les inclusions lipidiques se retrouvent dans toutes les cellules parenchymateuses, à des degrés variables ; leur densité décroît suivant deux directions : de la périphérie vers le centre et des deux extrémités vers le centre. Les réserves protéiques quand elles sont enchâssées dans la zone corticale (**Follak et al., 2016**).

### 1.8. Production mondiale du souchet

Le souchet est beaucoup cultivé en Espagne, dans une zone confinée près de la ville de Valence. Le but premier de cette récolte est d'extraire, à partir des tubercules, une boisson sans alcool appelée « Horchata » (lait du pois sucré). Le souchet est également produit aux Etats-Unis, en Amérique du Sud, en Australie et en Chine.

En Afrique le souchet est produit au Burkina Faso, au Nigeria, au Niger, et au Mali. Le Burkina Faso et le Mali représentent plus de 80% du marché d'exportation du souchet en Afrique de l'Ouest (**GEOMAR international, 2002**).

### **I.8.1. Facteurs influençant le développement et la production du souchet**

#### **- Types de sols**

Il est conseillé de cultiver le souchet sur des sols légers (sableux, sablo-limoneux, ...) qui ont la particularité de faciliter l'enracinement, la formation des tubercules et la récolte. Les sols lourds (argileux, limoneux) et les sols gravillonnaires ou caillouteux sont à proscrire (**Kambire et al, 2017**).

#### **- Lumière**

La photopériode joue un rôle important dans la croissance, la détermination et la différenciation des rhizomes. La tubérisation a lieu en régimes de photopériodes courtes. On y observe un raccourcissement des entrenœuds rhizomateux, accompagné de leur grossissement dû à une accumulation de réserves (**GEOMAR international, 2002**).

#### **- Pluie**

Le souchet peut être cultivé dans des zones où la pluviométrie est égale au moins à 600mm. Au Burkina Faso, les aires traditionnelles de culture du souchet sont situées dans la zone soudanaïenne dont la pluviométrie annuelle est comprise entre 900 et 1200 mm, principalement dans les provinces du Noumbiel, de la Bougouriba, du Poni (Région du Sud-ouest) ; Comoé, Léraba (Région des Cascades) et KénéDougou (Région des Hauts Bassins) (**Kambire et al, 2017**).

#### **- Maladies et ravageurs du souchet**

Le souchet est une culture rustique qui présente peu de problèmes phytosanitaires. Il peut cependant être attaqué par les mineurs de souchet, qui sont des lépidoptères creusant des galeries à l'intérieur des plantes. Selon (**Tanni, 2013**), compte tenu de la période d'installation de la culture, de la densité de semis, le souchet n'est pas concurrencé par les mauvaises herbes et ne demande donc pas de sarclage.

### **I.9. Caractéristiques physiques**

Les tubercules de *Cyperus esculentus* offrent une variabilité dans la forme, les dimensions et la couleur (**Koffi et al., 2005**). Au Burkina Faso, on distingue trois morphotypes collectés dans cinq (05) localités ; Loropéni, Mangodora, Ouéléni, Tangora et Tiéfora. Ces trois morphotypes, les teneurs en eau sont similaires (teneur en eau > 0,05). Les longueurs varient de  $0,98 \pm 0,06$  à  $1,31 \pm 0,06$  cm. La largeur du tubercule ainsi que le poids du tubercule séché varient respectivement de  $0,90 \pm 0,08$  à  $1,19 \pm 0,05$  cm et de  $598,00 \pm$

115,00 à 1 044,00  $\pm$  394,60 g. Le morphotype 2 présente des tubercules qui sont considérablement plus courts que ceux des morphotypes 1 et 3 (**figures 5 et 7**). Les morphotypes 1 et 3 sont légèrement plus grands que la longueur moyenne approximative (0,63 à 1,21 cm) comparativement aux tubercules trouvés dans d'autres pays (**Coskuner *et al.*, 2002**). La largeur du tubercule du morphotype 2 (**figure 6**) est considérablement inférieure à celle du morphotype 3.



**Figure 5:** Morphotype 1 (**Bado *et al.*, 2015**)



**Figure 6:** Morphotype 2 (**Bado *et al.*, 2015**)



**Figure 7:** Morphotype 3 (Bado *et al.*, 2015)

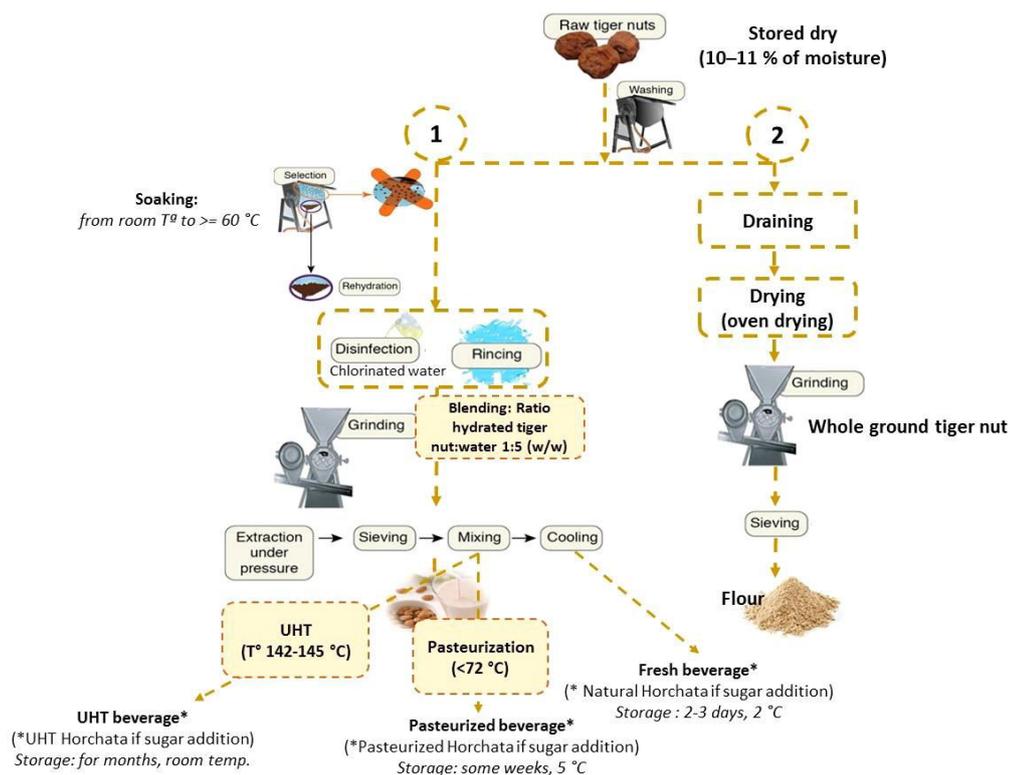
## **CHAPITRE II :**

**Utilisation industrielle,  
composition nutritionnelle et  
effets santé du souchet  
comestible.**

## **CHAPITRE II : Utilisation industrielle, composition nutritionnelle et effets santé du souchet comestible.**

### **II.1. Utilisation industrielle**

La composition nutritionnelle des tubercules du souchet comestible présente des caractéristiques uniques comparés à d'autres tubercules et noix (Sánchez-Zapata et al., 2012). La teneur en amidon du souchet est très proche de celle du manioc, tandis que les teneurs en lipides et en fibres ressemblent à celles des amandes ou des pistaches. Sa composition et les avantages pour la santé qui lui sont associés offrent à ce tubercule un énorme potentiel pour le développement de produits. Aujourd'hui, les tubercules sont consommés crus, grillés ou après transformation en boisson ou en farine (**figure 8**).



**Figure 8:** Schéma illustrant les différentes étapes par lesquelles passe les tubercules du souchet comestible en biotechnologie de lait, boisson (1) et farine (2).

La boisson est obtenue après plusieurs étapes de lavage pour éliminer les poussières et les tubercules de mauvaise qualité, trempage du jour au lendemain des tubercules secs dans l'eau, désinfection à l'eau chlorée, mélange avec de l'eau, pressage et filtrage (**figure 8**).

Les boissons obtenues par ce procédé sont appelées improprement lait de noix de tigre ou jus (**Oa, 2016**). En Espagne, c'est une boisson très populaire appelée "Horchata", supplémentée avec un minimum de 10% de sucre. La transformation de ce produit est réglementée : un minimum de 12°Brix, 1,9% d'amidon, 2% de graisses, des sucres totaux exprimés en saccharose à 10%, et un pH supérieur à 6,3 (**Codina et al., 2016**). L'horchata peut être produite fraîche, pasteurisée, stérilisée, concentrée ou même en poudre. Lorsque des traitements thermiques sont appliqués, une étape amylolytique est nécessaire avant d'appliquer une température supérieure à 75°C pour éviter la gélatinisation de l'amidon.

La noix tigrée entière moulue et la farine sont également commercialisées. La fermentation de la boisson dérivée du souchet ou l'ajout de cultures probiotiques ont été évalués dans plusieurs études, donnant lieu à des yaourts au souchet (**Maduka et Njoku, 2017**). De plus, le processus de production de l'Horchata donne lieu à plusieurs sous-produits, comme l'eau de drainage, qui peut être utilisée pour d'autres applications (**Sánchez-Zapata et al., 2012**).

### **II.1.1. Tubercules**

Dans de nombreux pays d'Afrique, le tubercule du souchet est consommé cru, cuit ou même grillé. Selon **Koffi et al. (2005)**, les tubercules de souchet sont utilisés pour soigner l'indigestion et permettent de renforcer le système de défense de l'organisme contre les infections.

### **II.1.2. Lait du souchet**

Le lait du souchet est un lait végétal qui constitue une alternative au lait de vache et de soja (**Tanni, 2013**). L'utilisation du lait de souchet est particulièrement recommandée en cas de dyspepsie (mauvaise digestion), d'inflammation intestinale (colite) ou de diarrhées (**Kambire, 2015**).

### **II.1.3. Huile du souchet**

C'est une huile de haute qualité extraite grâce à un procédé à froid, afin de s'assurer qu'elle conserve toutes les qualités nutritives uniques du souchet lui-même. C'est une huile de couleur marron doré qui possède une riche saveur de fruits secs. En plus, c'est un produit avec

des propriétés nutritives uniques pour la cosmétique et pour suivre une alimentation saine. L'huile est utilisée en cuisine pour les fritures et les assaisonnements (**Umerie et al., 1996**). Au Nigeria, elle participe à la production du biocarburant. Elle sert de lubrifiant dans les appareils fins, et est enfin utilisée pour l'imperméabilisation des fibres (**Foid et al., 1996**).

D'une saveur douce et légère, l'huile de souchet est très utilisée pour ses propriétés thérapeutiques et cosmétiques. Elle préserve l'élasticité de la peau et prévient sa déshydratation. Sa teneur en vitamine E et en phytostérols lui offre des vertus anti oxydantes protégeant ainsi la peau du vieillissement prématuré, réduisant les inflammations et possédant des actions cicatrisantes et réparatrices exceptionnelles (**Ejoh et al., 2005**). Elle possède une concentration élevée en acide oléique et une faible acidité (**Kambire, 2015**).

#### II.1.4. Farine du souchet

La farine de souchet peut s'ingérer sans aucune préparation. Elle peut également être utilisée pour la confection de gâteaux et de la pâtisserie de tout genre. Idéale pour les diabétiques (**tableau 2**). Elle peut constituer une alternative à la farine du blé (**Kambire, 2015**).

**Tableau 2:** Analyse nutritionnelle de la farine de souchet (**Oladele et Aina, 2007**).

ANALYSE	VALEURS(%)
<b>Energie</b>	1343
<b>Glucides</b>	46,99
<b>lipides</b>	32,13
<b>Protéines</b>	7,15
<b>Fibre</b>	6,26
<b>Humidité</b>	3,50

## II.2. Caractéristiques nutritionnelles et composés bioactifs du souchet comestible

La valeur énergétique du tubercule du souchet varie entre 400 et 413,8 kcal/100g (Sánchez-Zapata *et al.* 2012). Les principaux composants du souchet sont les hydrates de carbone qui représentent 43,3 g/100g. La teneur en amidon 29,9% (en matière humide) est similaire à celle du manioc et environ deux fois supérieure à celle de la pomme de terre. La teneur en fibres alimentaires (tableau 3) de 8,81 g/100g, est beaucoup plus élevée que les autres tubercules qui contiennent 0,66-2,55 g/100g mais se situe dans les fourchettes propres aux noix. Elle est constituée de fibres alimentaires insolubles à 99,8%. La teneur en saccharose, 13,03 g/100g, est également beaucoup plus élevée que dans les autres tubercules dont la teneur est beaucoup moins inférieure et varie de 0,31 à 4,77 g/100g.

Le souchet comestible contient 22% à 45% (MS), selon l'origine des tubercules (Rosello-Soto *et al.*, 2018). En matière humide et en raison d'une teneur en humidité plus élevée d'environ 26%, la teneur en lipides est plus faible que dans les noix.

**Table 3:** Composition chimique des tubercules séchés de souchet comestible (Oladele *et al.*, 2007)

Constituant	Variété jaune (%)	Variété brune (%)
<b>Humidité</b>	3,50	3,78
<b>Matière grasse</b>	32,13	35,43
<b>Protéine</b>	7,50	9,70
<b>Cendre</b>	3,97	4,25
<b>Carbohydrates</b>	46,99	41,22
<b>Fibres</b>	6,26	5,62
<b>Valeur énergétique (kj)</b>	1343,00	1511,00

L'examen de la structure des graisses dans les huiles de graines obtenues à partir du souchet comestible a montré que les lipides neutres, dominés par les triacylglycérols, constituent la majeure partie des lipides et représentent 65,9% des lipides totaux, tandis que les glycolipides et les phospholipides représentent 5,6-6,9% et 1,4-3,1%, respectivement. La caractéristique structurale est cohérente avec la plupart des huiles végétales, avec des acides monoinsaturés trouvés en plus grande quantité en position sn-2, et une prévalence plus faible d'acides gras saturés, situés en positions sn-1 et sn-3 (Yeboah *et al.*, 2012). Les principaux acides gras sont les acides oléique 56 à 85%, palmitique 10 à 20%, linoléique 8 à 12% et stéarique 0,3 à 5,3% (Rosello-Soto *et al.*, 2018), tandis que les acides mineurs sont les acides linoléiques et palmitoléique (Kim *et al.*, 2007). La composition du souchet en acides gras monoinsaturés est en accord avec celle de l'huile d'olive. Le profil des acides gras étant utilisé comme un possible marqueur d'authenticité géographique. Le souchet contient naturellement un certain nombre de composants stérols dont la composition est différente de celle trouvée dans l'huile d'olive. Le  $\beta$ -sitostérol a été trouvé comme le principal composé ( $\approx$ 49-60 mg/100g), suivi du stigmastérol, du campe stérol, des  $\alpha$  et  $\beta$ -tocophérols (López-Cortés *et al.*, 2013).

La teneur en protéines du souchet (5,04-6,67% de matière humide) est supérieure à celle des autres tubercules, mais inférieure à celle des noix. Par exemple, la teneur en protéines des tubercules varie de 0,66% pour la patate douce à 2,55% pour l'igname, alors que les pignons et les arachides contiennent respectivement 13,7% et 25,8% de protéines (Sánchez-Zapata *et al.*, 2012).

La fraction protéique prédominante (82-91%) correspond à la fraction hydrosoluble de l'albumine et de l'azote non protéique. L'analyse de ces fractions par électrophorèse a présenté une grande diversité de poids moléculaires polypeptidiques, mis en évidence à 20, 25, 37, 55, 75 et  $\sim$ 106 kDa. Les autres fractions solubilisées de globulines (1,11-3,96 %), de prolamines (0,91-3,45 %) et de glutélines (0,63-1,98 %) ont présenté un profil avec moins de polypeptides de poids moléculaires différents (Codina-Torrella *et al.*, 2015).

Le profil des acides aminés montre, par ordre décroissant, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la leucine, l'alanine et l'arginine (Arafat *et al.*, 2009). Outre l'anabolisme des protéines, la L-Arginine présente un intérêt particulier car elle est le principal précurseur de l'oxyde nitrique (NO), un neurotransmetteur non adrénérgique et non cholinérgique impliqué dans de nombreux processus physiologiques et de signalisation, avec une forte action vasodilatatrice. Les tubercules de souchet présentent des teneurs élevées en calcium et en phosphore (Arafat *et al.*, 2009). D'autre part, le magnésium, le manganèse, le fer, le zinc et le cuivre sont également présents, mais à des niveaux plus faibles (tableau 4).

**Table 4:** Teneur en minéraux des tubercules souchet (mg/100g) (**Oladele et al., 2007**)

Constituant	Variété jaune	Variété brune
<b>Calcium</b>	155,00	140,00
<b>Sodium</b>	245,00	235,00
<b>Potassium</b>	216,00	255,00
<b>Magnésium</b>	51,20	56,30
<b>Manganèse</b>	33,20	38,41
<b>Phosphore</b>	121,00	121,00
<b>Fer</b>	0,65	0,80
<b>Zinc</b>	0,01	0,01
<b>cuiivre</b>	0,02	0,01

Les phytates représentaient  $\approx 21,4$  mg/100g dans les tubercules crus, les oxalates  $\approx 13,1$  mg/100g, les alcaloïdes  $\approx 2,6$  mg/100g et les tanins  $\approx 2,4$  mg/100g. Les teneurs de tous ces composés diminuent après le trempage, avec un effet plus marqué lorsque le trempage s'effectue à 60°C/7h (**Adekanmi et al., 2009**).

L'analyse de la composition en acides phénoliques montre que l'acide *trans*-férulique, l'acide vanillique, la vanilline et l'acide *trans*-cinnamique sont les principaux composés phénoliques des huiles de souchet (**Ezeh et al., 2016**).

### II.3. Sécurité et qualité microbiologique

Dans une étude évaluant la présence de parasites dans des tubercules crus collectés auprès de vendeurs ambulants et sur des marchés au Ghana, plusieurs parasites ont été trouvés ; *Cryptosporidium parvum* étant le plus commun (**Adenowo et Kazeem, 2020**). Des entérobactéries et des *Staphylococcus* ont également été détectés. De plus, plusieurs espèces de moisissures productrices de mycotoxines, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium italicum* ont été trouvées dans des tubercules crus de souchet.

Le pH de la boisson au souchet se situe entre 6,3 et 6,8, ce qui ne limite pas la croissance des agents pathogènes d'origine alimentaire. Sur les échantillons de boisson au souchet, deux profils microbiologiques ont été observés en fonction du processus appliqué, industriel ou artisanal . Sur les produits industriels, qui ont subi un traitement thermique, aucun agent pathogène d'origine alimentaire n'a pu être détecté, et le nombre total de bactéries viables était inférieur au seuil de détection. En revanche, les produits artisanaux présentaient des numérations totales viables comprises entre 3,6 et 6,5 log CFU/mL, et sur certains échantillons, des entérobactéries, *Bacillus* sp. *Escherichia coli* et des levures et des moisissures (Adenowo et Kazeem, 2020).

#### II.4. Recherches futures sur les boissons et aliments fonctionnels

L'intérêt pour la fermentation lactique des boissons à base de plantes est né de la recherche de "substituts" au lait, en raison de son allergénicité ou de considérations végétaliennes. Dans les pays en développement, l'objectif de répondre aux besoins nutritionnels des personnes touchées par l'insécurité alimentaire est une autre raison majeure de ce type de recherche. La plupart de ces études ont mis en évidence l'intérêt de développer des goûts et des arômes caractéristiques, ainsi que d'augmenter la durée de conservation des produits périssables. Dans le cadre de cet objectif, le développement de produits fermentés à partir de boissons à base de souchet est particulièrement pertinent.

La nécessité de disposer de starters isolés d'une origine similaire est considérée comme un facteur clé pour une fermentation réussie (Fessard *et al.*, 2016). Lors du développement de nouvelles boissons fermentées d'origine végétale, il est recommandé de choisir des bactéries fermentaires sélectionnées à partir de plantes fermentées. De plus, la sélection de starters microbiens adaptés contribue à la sécurité des aliments et boissons fermentés sous deux aspects : i) la sécurité du starter lui-même, garantie par son statut GRAS et l'absence de production de composés toxiques, et ii) sa capacité à réduire les risques dans un aliment ou une boisson donnée (Capozzi *et al.*, 2017). Par conséquent, des recherches approfondies sur les ferments lactiques adaptés à la fermentation des boissons à base de souchet comestible sont encore nécessaires.

#### II.5. Les effets du souchet comestible sur la santé humaine

Plusieurs études ont rapporté de multiples potentialités pharmacologiques du souchet dans différentes conditions pathologiques.

- ***Activité hépato-protectrice***

Une étude a indiqué que le souchet comestible présentait une action hépato-protectrice potentielle chez des rats expérimentaux. L'hépatotoxicité a été induite chez les rats par l'administration intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone (CC14) entraînant des élévations remarquables des enzymes marqueurs du foie : aspartate et alanine transaminases, phosphatase alcaline ainsi que des peroxydes lipidiques. Le prétraitement des rats expérimentaux pendant vingt et un jours avant l'administration du CC14 a induit une réduction significative de la concentration des enzymes hépatiques sériques (**Oyedepo et Odoje, 2014**). Leur résultat suggère que *C. esculentus* pourrait fournir une protection contre les dommages au foie chez les rats. Ce résultat soutient l'affirmation folklorique selon laquelle le souchet est un puissant tonique hépatique.

De plus, l'activité antioxydant des polyphénols du souchet a été étudiée en comparaison avec les flavonoïdes dans une perspective chimio-protectrice. Une supplémentation à 25% de souchet entier dans le régime alimentaire des rats a montré des propriétés réno- et hépato-protectrices modérées contre la toxicité induite par l'acrylamide (**Hamdy et al., 2017**).

- ***Action anti-sickling***

L'évaluation *in vitro* de l'action anti-pétilante de *C. esculentus* a montré que les extraits méthanoliques et aqueux du souchet présentaient une inhibition significative de la gélification de l'hémoglobine-S (Hbs). Cependant, l'extrait de méthanol a montré une meilleure propriété anti-gélification. Cette étude a révélé que *C. esculentus* pourrait être pertinent dans la gestion thérapeutique basée sur la nutrition des patients drépanocytaires (**Monago et Uwakwe, 2009**). Cette activité anti-démangeaison pourrait être attribuée à la présence de minéraux essentiels tels que le fer et le phosphore ainsi que la présence de vitamine C et E dans la plante. Cette découverte étaye les affirmations traditionnelles que le lait de souchet est bon pour augmenter les niveaux de sang (**Adenowo et Kazeem, 2020**).

- ***Potentiel aphrodisiaque***

**Agbai et Nwanegwo (2013)** ont étudié l'effet de *C. esculentus* sur les hormones reproductives mâles et certains autres paramètres androgènes chez des rats mâles matures. L'administration d'un extrait méthanolique de souchet à des rats Wistar a provoqué une

augmentation significative du niveau plasmatique des hormones reproductives mâles ainsi que des paramètres androgéniques dans un modèle dépendant de la dose.

De même, le rapport d'**Essawe et Almashhadani (2010)** a établi un lien entre l'administration orale d'un extrait de souchet et la qualité du sperme chez des souris pré-pubères. Les souris expérimentales ont été traitées avec des extraits alcoolisés de souchet pendant six semaines, ce qui a entraîné une amélioration significative de la concentration et de la motilité des spermatozoïdes. Cette découverte est corroborée par l'étude d'**Oguike et al. (2008)**, dans laquelle l'extrait a induit un effet significatif sur le volume du sperme produit, le poids des testicules, la longueur et la circonférence des testicules, la longueur de l'épididyme ainsi que le poids global de l'appareil reproducteur de lapins expérimentaux matures auxquels on a administré l'extrait de la plante.

**Al-Shaikh et al. (2013)** ont également étudié l'influence de l'extrait de tubercules de *C. esculentus* sur les anomalies de la reproduction induites par l'administration intrapéritonéale d'acétate de plomb. Ils ont rapporté que l'extrait a relativement amélioré les anomalies histopathologiques dans les testicules des rats expérimentaux. Ils ont conclu que l'amélioration observée pourrait être due à l'effet de l'extrait agissant comme un antioxydant ou en provoquant des changements dans les hormones sexuelles.

Les résultats des études ci-dessus suggèrent que le souchet a un rôle vital à jouer dans le fonctionnement de la reproduction masculine, car il améliore les paramètres reproductifs masculins et les protège de toute agression. Cela peut être dû à la composition chimique et phytochimique du souchet qui confère une activité antioxydante aux tissus (**Adenowo et Kazeem, 2020**).

- **Effet antioxydant**

**Oloyede et al. (2014)** ont étudié l'action antioxydante de certains extraits de *C. esculentus*. L'extrait d'hexane et de méthanol ont montré une forte activité antioxydante qui est évidemment comparable aux agents antioxydants standards (acide ascorbique,  $\alpha$ -tocophérol et butylatedhydroxyanisole [BHA]). Ils ont estimé que l'action de piégeage des radicaux observée par la plante peut être liée à la présence de substances phytochimiques comme les flavonoïdes et les composés phénoliques dans la plante. Une étude similaire sur l'effet de l'huile de souchet du Xinjiang, en Chine, sur des souris expérimentales femelles a indiqué que l'huile présentait une action anti-radicalaire significative ainsi que l'activité

antioxydante (**Jing et al., 2013**). Récemment, l'accent a été mis sur l'importance des matières végétales dans la gestion des maladies liées au stress oxydatif, il est pertinent que des efforts soient faits pour la production d'agents nutraceutiques à partir du souchet et d'autres matières végétales après avoir confirmé de manière adéquate leur efficacité.

- **Action antimicrobienne**

**Adeniyi et al. (2014)** ont étudié l'efficacité antimicrobienne de la racine, de l'inflorescence et des pousses de *C. esculentus* en comparaison avec des médicaments antimicrobiens standards. L'extrait éthanolique était actif contre *Salmonella typhi* et le résultat obtenu était similaire à celui de la ciprofloxacine (standard). L'étude a montré l'activité antimicrobienne élevée de l'extrait de la plante et l'isolement des composés bioactifs de celui-ci pourrait conduire à l'avancement de nouveaux agents antibiotiques contre les infections de *Salmonella typhi*.

**Hasan et al. (2013)** ont également étudié l'effet de l'extrait éthanolique de tubercules de souchet sur l'endométrite induite par *Escherichia coli* chez des souris expérimentales. Après sept jours d'administration, les niveaux réduits des paramètres hématologiques ; le volume globulaire (PCV) et le niveau d'hémoglobine (Hb), associés à l'endométrite ont montré une amélioration significative par rapport aux valeurs lors de l'induction. Inversement, la concentration élevée de globules blancs (WBC) due à l'invasion bactérienne a également été réduite après le traitement avec l'extrait. Les résultats observés dans le groupe traité par l'extrait sont similaires à ceux obtenus dans le groupe traité par le médicament standard, la gentamicine (**Hasan et al., 2013**). Cela confirme l'utilisation des feuilles et des tubercules du souchet traditionnellement dans le traitement des infections gastro-intestinales.

- **Activité anti-athérosclérotique**

Une étude a examiné l'effet de la consommation d'un régime alimentaire complété par du souchet sur l'athérosclérose en utilisant des souris déficientes pour l'apolipoprotéine E (souris ApoE<sup>-/-</sup>). L'étude a révélé que l'alimentation des souris avec des aliments contenant du souchet a permis de réduire la croissance des lésions athérosclérotiques. Le résultat observé était lié à une réduction de la quantité de monocytes et de macrophages dans le sang (**Salem et al., 2005**). Ceci est une indication que la plante pourrait être impliquée dans la modulation de la quantité et de la viabilité des cellules inflammatoires associées à l'athérosclérose chez les souris expérimentales.

- ***Action anti-inflammatoire et antiarthritique***

Le potentiel anti-inflammatoire, anti-convulsion et antiarthritique de l'huile de *C. esculentus* a été étudiée sur des rats *albinos* suisses. L'administration de l'huile a provoqué un effet anti-inflammatoire dépendant de la dose sur l'œdème de la patte induit par la carragénine et une diminution de la phase d'extension, de la phase de clonus ainsi que de la phase de stupeur associée à la convulsion (convulsion induite chez les rats par un électrochoc maximal, MES). On a également constaté une diminution du gonflement de la patte arrière des rats dû à l'induction de l'arthrite (par injection de formaldéhyde) après traitement avec des doses d'huile ainsi qu'une réduction de la douleur chez le rat (déterminée par la somme totale du temps passé à lécher la patte injectée avec du formol) après administration de l'huile (**Biradar et al., 2010**). Le résultat de cette découverte appelle des recherches plus approfondies pour vérifier les affirmations selon lesquelles la consommation de souchet soulage les douleurs osseuses et articulaires.

- ***Action de vasodilatation***

Une supplémentation alimentaire en tubercules secs dégraissés de souchet chez des rats nourris avec un inhibiteur de la synthèse d'oxyde nitrique L-NAME (chlorhydrate d'ester méthylique de N $\omega$ -nitro-L-arginine) a présenté un effet sur le métabolisme du NO, empêchant la réduction de la production des marqueurs de synthèse de l'oxyde nitrique dans le sérum et le tissu pénien. Il a également empêché l'augmentation de l'activité d'enzymes comme l'acétylcholinestérase, l'arginase et l'adénosine désaminase, conduisant à l'inhibition de la production de NO, que ce soit dans le sérum, le cerveau ou le tissu pénien (**Olabiya et al., 2018**).

- ***Action anticancéreuse***

Bien que la teneur en acides gras de l'huile de souchet soit similaire à celle de l'huile d'olive, l'huile de souchet a une couleur jaune d'or distinctive, une forte teneur en insaponifiables, des phytostérols (seulement 0,2 % dans l'huile d'olive), en particulier le  $\beta$ -sitostérol, et un goût neutre. Il a été prouvé que le  $\beta$ -sitostérol inhibe la croissance des cellules cancéreuses du côlon humain HT- 29 et modifie les lipides membranaires de telle sorte qu'une réduction de 50 % de la sphingomyéline (SM) membranaire, des changements dans la phosphatidylsérine (PS) et le phosphatidylinositol (PI) avec des cellules cultivées dans du  $\beta$ -sitostérol.

Le profil lipidique de deux huiles de souchet et d'olive révèle leur contenance en acide oléique qui supprime la surexpression de Her-2/neu, et interagit donc de manière synergique avec l'immunothérapie anti-Her-2/neu en facilitant l'apoptose des cellules de cancer du sein avec une amplification de l'oncogène Her-2/neu.

Il est nécessaire d'étudier les mécanismes biochimiques et biologiques qui déclenchent les activités pharmacologiques observées. Cela peut se faire en déterminant l'effet du souchet sur l'expression des protéines et/ou des gènes associés aux activités pharmacologiques étudiées (**Adenowo et Kazeem, 2020**).

**CHAPITRE III :**  
**MATERIELS ET**  
**METHODES.**

### **CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES.**

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire des micro-organismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS, site II ex. INES de chimie), faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

#### **III.1. Matériels**

##### **III.1.1 Matériel biologique**

- **Le matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué de tubercules de souchet de couleur brune (**Figure 9**), procuré des épicereries de Mostaganem.



**Figure 9** : Tubercules bruns utilisés dans cette étude.

- **Les souches microbiennes utilisées**

Il s'agit des micro-organismes pathogènes décrits dans le **tableau 5** ci-après :

**Tableau 5** : Les souches pathogènes testées.

<b>Les souches microbiennes</b>	<b>Référence</b>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

### III.1.2. Matériel non biologique

La réalisation des expériences a fait appel à un matériel classique composé de verreries, d'équipement et d'appareillages. Ce matériel comprend aussi un ensemble de réactifs et produits chimiques.

**La solution de DPPH :** (1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil) est un radical libre stable de couleur violette intense. Il est employé dans la mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne).

**Méthanol :** Le méthanol est un composé chimique de formule :  $\text{CH}_3\text{OH}$ . C'est le plus simple des alcools. C'est un liquide léger, volatil, incolore, inflammable, toxique avec une odeur caractéristique.

**$\text{H}_2\text{O}_2$  :** Le peroxyde d'hydrogène est une solution aqueuse et est aussi appelée eau oxygénée. Elle est incolore et légèrement plus visqueuse que l'eau.

**Tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) :** Le tampon phosphate salin est une solution tampon couramment utilisée en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate mono potassique et un peu de chlorure de potassium. En général, la concentration de ces sels est celle du corps humain.

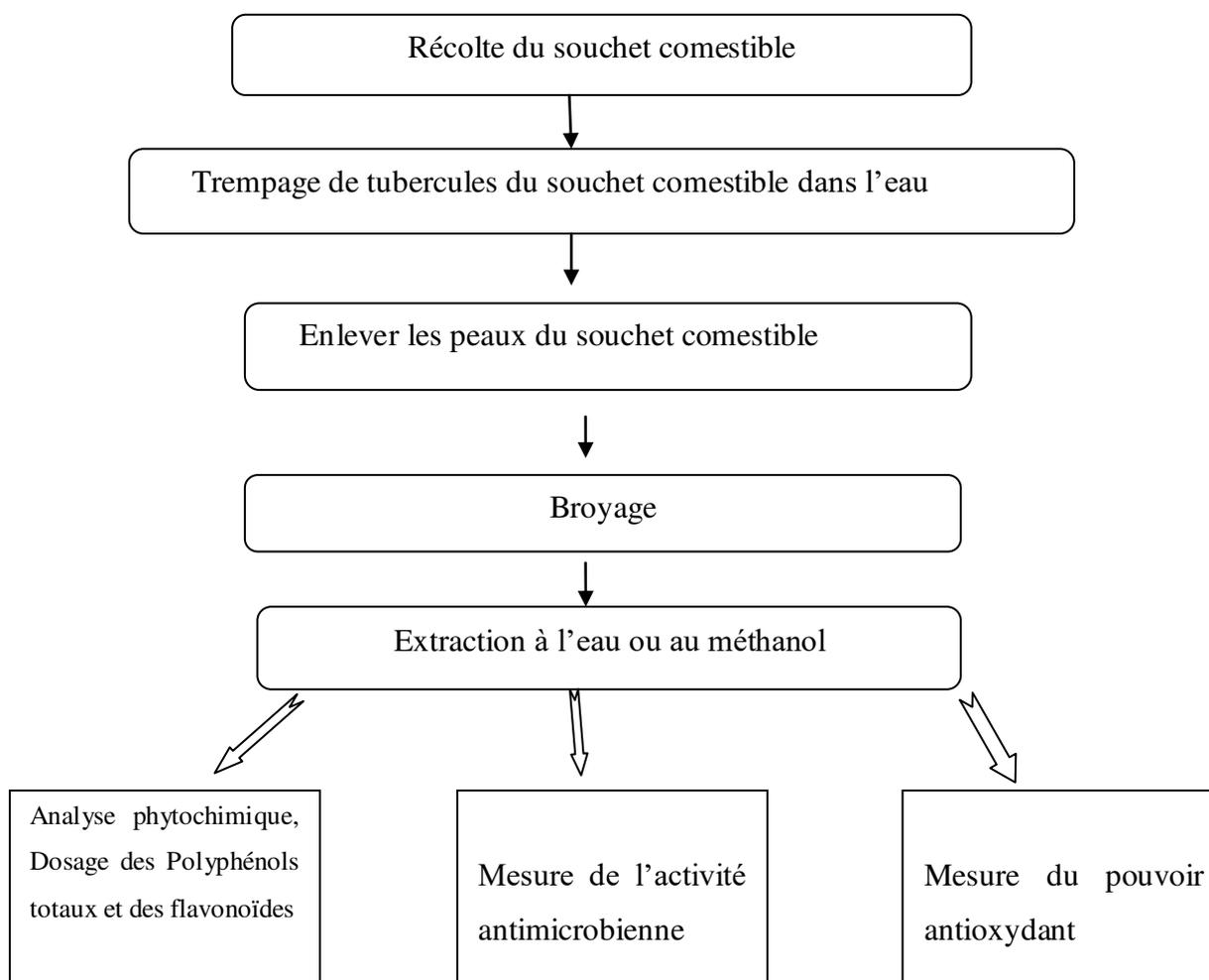
**Ferricyanure de potassium (( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) à 1%) :** Le ferricyanure de potassium aussi connu comme prussiate rouge, rouge de Prusse, ou hexacyanoferrate (III) de potassium, est un composé de coordination stable à la température et à la pression qui forme des cristaux rouge rubis. Il est soluble dans l'eau et ses solutions présentent une fluorescence jaune-vert.

**Acide trichloroacétique (TCA) (10%) :** L'acide trichloroacétique est un composé analogue de l'acide acétique dans lequel les trois atomes d'hydrogène du groupe méthyle ont été remplacés par trois atomes de chlore. C'est un acide fort et corrosif.

**Chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) (à 0,1%) :** Le chlorure de fer (III), également appelé chlorure ferrique ou perchlorure de fer, est un sel de fer de formule chimique  $\text{FeCl}_3$ . C'est un composé très hygroscopique, qui émet des vapeurs dans l'air humide sous l'effet de l'hydrolyse.

## III. 2. Méthodes

Le schéma général du travail est synthétisé et illustré dans le diagramme (**figure 10**) ci-après :



**Figure 10** : Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.

### III.2.1. Analyse phytochimique

Les différents groupes de composés (stérols, polyterpènes, tannins, polyphénols, flavonoïdes et saponines) contenus dans les extraits ont été mis en évidence selon les méthodes décrites par **Ronchetti et Russo (1971)**, **Hegnauer (1973)**, **Wagner (1983)**, et **Békro *et al.* (2007)**. Des extraits méthanoliques ou aqueux du souchet ont été préparés. Cette préparation est effectuée conformément à la méthode décrite par **Bidié *et al.* (2008)**. En effet,

cinquante grammes (50 g) de broyat de plantes ont été mélangés à 1,5 L d'eau distillée ou de méthanol à 96%.

### **1. Les polyphénols**

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a été utilisée. Ainsi, à 2 mL de chaque solution, est ajoutée une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée. Le témoin est effectué avec la solution alcoolique d'acide gallique.

### **2. Les flavonoïdes**

Pour mettre en évidence les flavonoïdes, la réaction dite à "la cyanidine" a été utilisée. Deux (2) mL de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué deux fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose-orangée ou violacée. L'addition de trois gouttes d'alcool isoamylique à intensifier cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes. Une solution alcoolique de quercétine a été utilisée pour servir de témoin.

### **3. Stérols et les polyterpènes**

Pour mettre en évidence les stérols et les polyterpènes, nous avons utilisé le réactif de LIEBERMANN. En effet, cinq (5) mL de chacun des dix (10) extraits a été évaporé à sec dans une capsule sur bain de sable ou bain-Marie. Le résidu est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique. Nous avons ajouté 0,5 mL d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre et violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive. Cet essai a été effectué avec une solution chloroformique témoin de cholestérol ou de sitostérol.

### **4. Les tannins**

Les tannins catéchiques sont identifiés par le réactif de STIASNY (Formol 30%, HCl concentré : 1/0,5). Cinq (5) mL de chaque extrait ont été évaporés à sec. Après ajout de 15 mL du réactif de STIASNY au résidu, le mélange a été maintenu au bain-Marie à 80 °C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérise les tanins catéchiques. Les tannins galliques sont identifiés par l'ajout de  $\text{FeCl}_3$ . En effet, nous avons filtré la solution précédente. Le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de

trois gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 2% provoque l'apparition d'une coloration bleu-noir intense dénotant la présence de tanins galliques. Une solution alcoolique d'acide gallique ou de catéchine est utilisée pour servir de témoin.

## 5. Les saponines

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 mL de chacun des extraits aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

### III.2.2. Dosage des Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux du souchet a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Mc Donald *et al.*, 2001). Un volume de 0,5 mL de chaque extrait (0,1 g/mL) ou d'acide gallique (0,1 mg/mL) est mélangé à 5 mL du réactif de Folin-Ciocalteu diluée au  $1/10^{\text{ème}}$  avec de l'eau distillée et 4 mL de carbonate de sodium (1 M). L'acide gallique est l'antioxydant de référence. Après 15 minutes d'incubation à la température ambiante (25 °C), l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 750 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions en utilisant une gamme (0- 250 mg/L) de solutions d'acide gallique préparée dans le méthanol. La teneur en phénols totaux des extraits du souchet est déterminée graphiquement et exprimée en termes d'équivalent d'acide gallique (mg/g de matière sèche).

### III.2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux

Les réactifs utilisés sont les solutions incolores de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) et de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ces réactifs. Elle entraîne la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm. La comparaison de la DO observée par rapport à celle obtenue par un étalon de quercétine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes. La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode spectrophotométrique décrite par Dewanto *et al.* (2002). Une prise de 250  $\mu\text{L}$  d'extrait diluée est additionnée de 75  $\mu\text{L}$  d'une solution de  $\text{NaNO}_2$  à 7%. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 150  $\mu\text{L}$  d'une solution fraîchement préparée d' $\text{AlCl}_3$  à 10% sont ajoutés au mélange. Après 5 min de repos à température ambiante, 500  $\mu\text{L}$  de soude ( $\text{NaOH}$ , 1M) sont apportés au mélange, le volume

final est ajusté 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 la quercétine à des concentrations de 0 à 400 µg/mL. Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligramme équivalent quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mgEQ/gMS).

#### **III.2.4. Dosage de l'activité antiradicalaire par le test au DPPH (2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle).**

La mesure de l'activité anti radicalaire des dix extraits de plantes a été effectuée par le test au 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon la méthode de **Parejo et al. (2000)**. Une gamme de concentrations (0-200 µg/mL) d'extrait ou de la Quercétine (antioxydant de référence) est préparée dans le méthanol. Un volume de 2,5 mL de cette solution, est mélangé à 2,5 mL de DPPH (100 µM) préparé également dans le méthanol. Après homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante (25 °C) à l'abri de la lumière. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 517 nm contre un « blanc » qui ne contient que du méthanol.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DO blanc})) \times 100.$$

#### **III.2.5. Pouvoir réducteur du fer**

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  fournit des ions Ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) qui seront réduits en Ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) par les antioxydants présents dans l'extrait végétal. Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

Cette méthode consiste à mélanger 0.5 mL de l'extrait à différentes concentrations avec 2.5 mL de tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 2.5 mL d'une solution de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1% (m/v). Le mélange obtenu est incubé pendant 30 minutes à 50°C. Ensuite, 1.25 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000× g pendant 10 min à température ambiante et 1.25 mL du surnageant sont additionnés

de 1.25 mL d'eau distillée et 1.25 mL de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0.1%. La lecture de l'absorbance a été mesurée à 700 nm contre un blanc. La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en mmol Equivalent Acide Ascorbique (EAA)/g d'extrait.

### III.2.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les différents extraits de plantes ont été testés sur trois bactéries et une levure pathogènes. Les souches ont été revivifiées et la turbidité a été ajusté à 0.5 McFarland, ce qui correspond à  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL pour les bactéries ( $\text{DO} = 0.08$  à  $0.1 / \lambda = 625\text{nm}$ ),  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL pour la levure *C. albicans* ( $\text{DO} = 0.12$  à  $0.15 / \lambda = 530\text{nm}$ ). Les cultures ont été diluées avec bouillon Mueller-Hinton pour les bactéries et bouillon Sabouraud pour *C. albicans* afin d'atteindre des densités optiques (DO) correspondantes pour chaque test.

- Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en disque

Les extraits aqueux de souchet ont été testés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en disques, selon le Comité national des normes du laboratoire Clinique (NCCLS, 2001) en utilisant 100  $\mu\text{L}$  de suspension de micro-organisme testé, contenant  $2 \times 10^8$  UFC/mL pour les bactéries,  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL pour *C. albicans*. Le milieu Mueller-Hinton gélosé, stérile et refroidi à 45-50°C, est coulé dans des boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre (15 mL). Les disques de papier filtre (6 mm de diamètre), ont été individuellement imprégné avec 3  $\mu\text{L}$  de l'extrait et ensuite placés sur la surface du milieu gélosé déjà inoculés avec le microorganisme pathogène à tester. Les boîtes de pétri ont été conservées à 4°C pendant 2 h et ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 30°C pendant 24 et 48 h pour *C. albicans*, respectivement.

Les extraits aqueux de fenugrec et de propolis aux mêmes concentrations ont été aussi testés à titre de comparaison.

# **CHAPITRE IV : Résultats et discussion.**

## CHAPITRE IV : Résultats et discussion.

### IV.1. Analyse phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physico-chimiques qui permettent d'identifier qualitativement et non quantitativement la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, ...etc.

Nos résultats relatifs aux différents groupes phytochimiques présents dans le souchet comestible sont reportés dans le **tableau 6**.

Le criblage phytochimique de la poudre de souchet comestible ôtée de sa peau a permis de mettre en évidence (**Tableau 6**) la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes, de saponosides, de tanins, de stérols et/ou terpénoïdes. Les saponosides ont été légèrement détectés, car révélés par un indice de mousse inférieur à 1 cm.

La caractérisation des flavonoïdes a été réalisée par le test de Shibata ou Shinoda. Après dégagement d'hydrogène par réduction des flavonoïdes aglycones en anthocyanes, on obtient une coloration rouge, indiquant une réaction positive dans les deux extraits de farine de souchet comestible, aqueux et méthanolique.

**Tableau 6 :** Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits de farine de *Cyperus esculentus*.

Principaux constituants chimiques	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Saponosides	Stérols-terpénoïdes
Extrait aqueux de la farine de souchet comestible	+++++	+++++	+ (mousse)	+++
Extrait méthanolique de la farine de souchet comestible	++++	+++++	/	+++++

La mise en évidence des polyphénols a été réalisée par la réaction au chlorure ferrique. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée a fait le signe de la présence de polyphénols. De plus, les tannins ont été détectés par l'ajout du réactif de Stiasny qui provoquerait l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, signe de la présence de tanins galliques.

Ces résultats qualitatifs du screening phytochimique nous ont permis de passer aux analyses spectrophotométriques quantitatives.

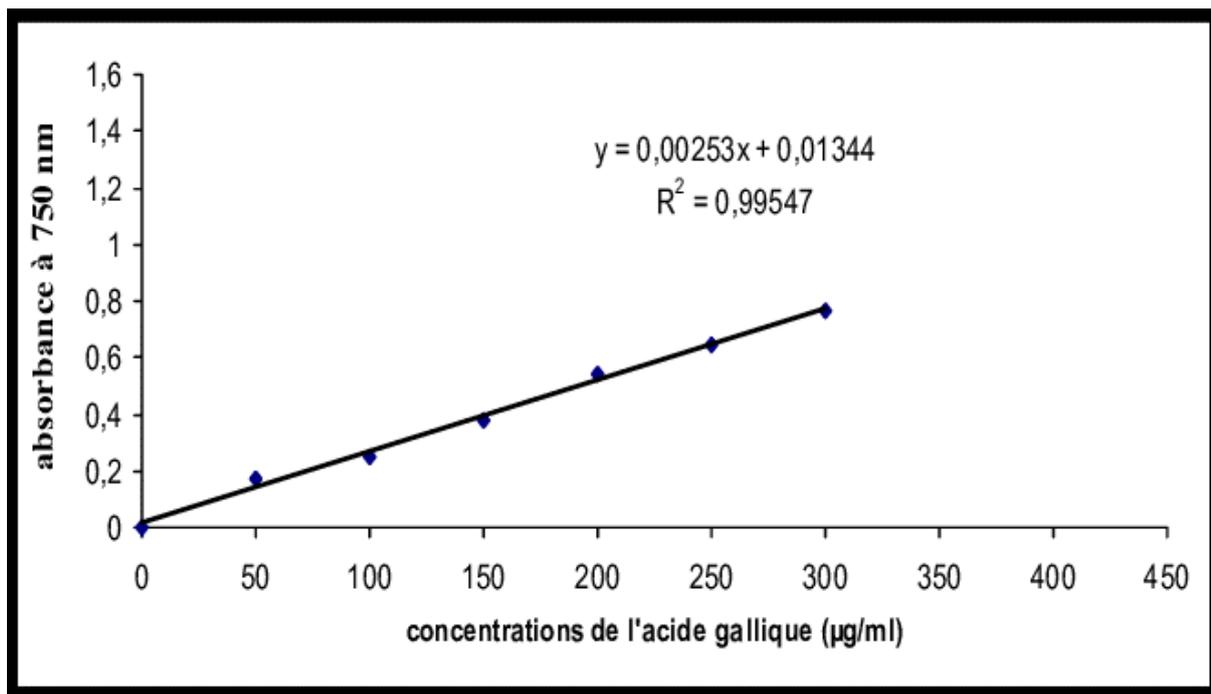
#### **IV.2. Les teneurs en polyphénols totaux dans le souchet comestible**

Tout le contenu phénolique dans les extraits de *Cyperus esculentus* utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est exprimé en termes d'équivalent d'acide gallique (l'équation de la courbe d'étalonnage est :  $y = 0.00253 x + 0.01344$  avec un  $R^2 = 0.9954$ ) (**figure 11**). Le résultat du contenu en polyphénols totaux est exprimé en mg EAG/100 g MS (**figure 12**). Le contenu en polyphénols dans les extraits examinés était de l'ordre de  $1580 \pm 2.00$  mg EAG/100g MS. Les concentrations étaient plus élevées dans les extraits aqueux comparés aux extraits méthanoliques.

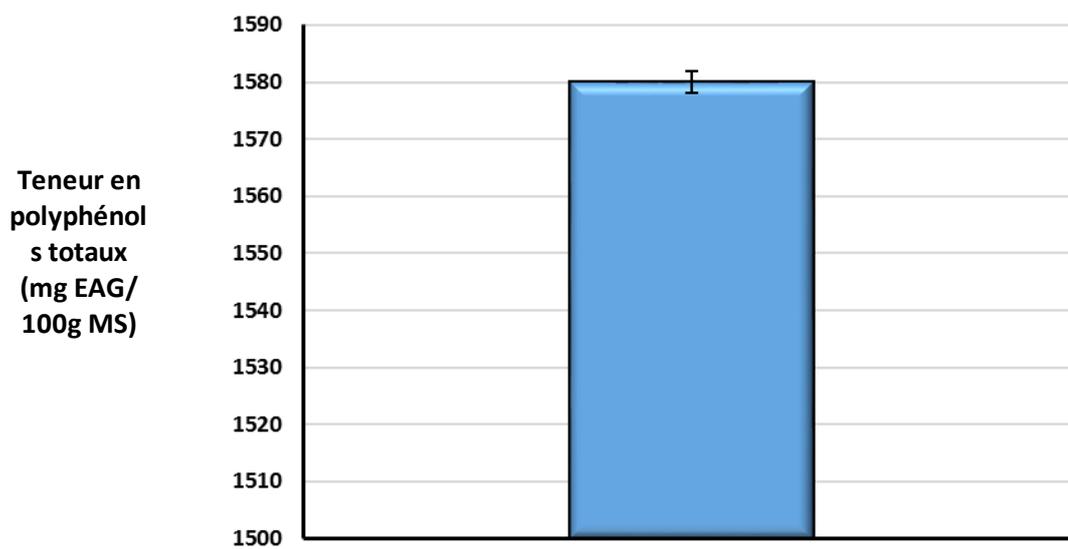
La solubilité élevée des polyphénols dans l'eau nous a orienté vers son choix dans le protocole l'extraction. Cette décision va de pair avec les résultats des travaux de **Willis et al. (2017)**. Dans cette étude, les auteurs ont extrait les polyphénols totaux des tubercules de souchet comestible crus et grillés (110-115°C/10 min) avec du méthanol et de l'eau. Il a été trouvé que le souchet comestible cru extrait avec de l'eau avait une teneur significativement plus élevée (1186.68 mg EAG /100g MS) par rapport aux extraits méthanoliques à 80% de farines brute ou grillée.

Apparemment, l'eau était capable d'extraire plus de composés phénoliques des tubercules par rapport au solvant organique ; ce qui suggère la présence de plus de substances phénoliques hydrosolubles dans la farine.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes, chargés de potentiels antioxydants et peuvent protéger contre plusieurs maladies dégénératives en agissant comme des piègeurs des radicaux libres et inhibiteurs des processus de médiation radicalaire (par exemple, la peroxydation lipidique) qui s'accumuleraient suite à un déséquilibre entre le système anti-oxydant et la formation d'espèces réactives de l'oxygène (**Khan et al., 2016**).



**Figure 11:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



**Figure 12:** Le contenu en polyphénols totaux dans l'extrait aqueux du souchet comestible.

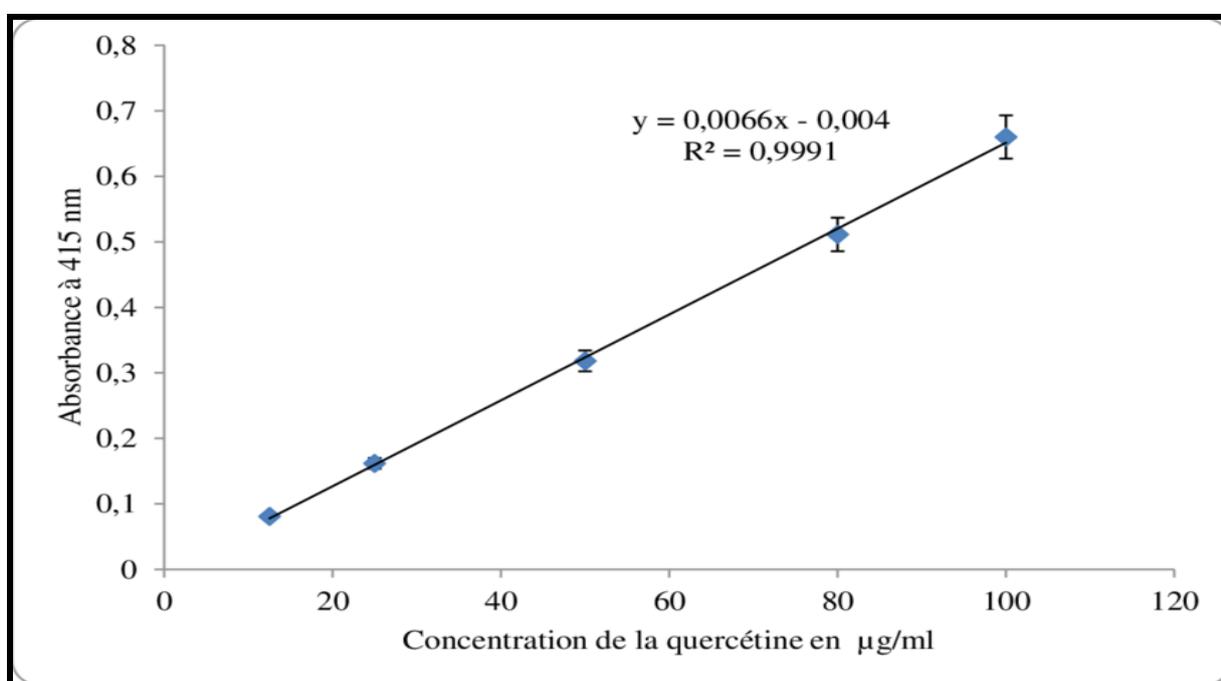
### IV.3. Les teneurs en flavonoïdes dans le souchet comestible

Le résultat du contenu en flavonoïdes est exprimé en mg équivalent gramme de quercétine/100 g d'extrait ses de souchet comestible. Le contenu des flavonoïdes a été exprimé en termes de mg équivalent de quercétine EQ/100g d'extrait, l'équation de la courbe d'étalonnage :  $y = 0.0066X - 0,004$  ;  $R^2 = 0,99$  (**figure 13**).

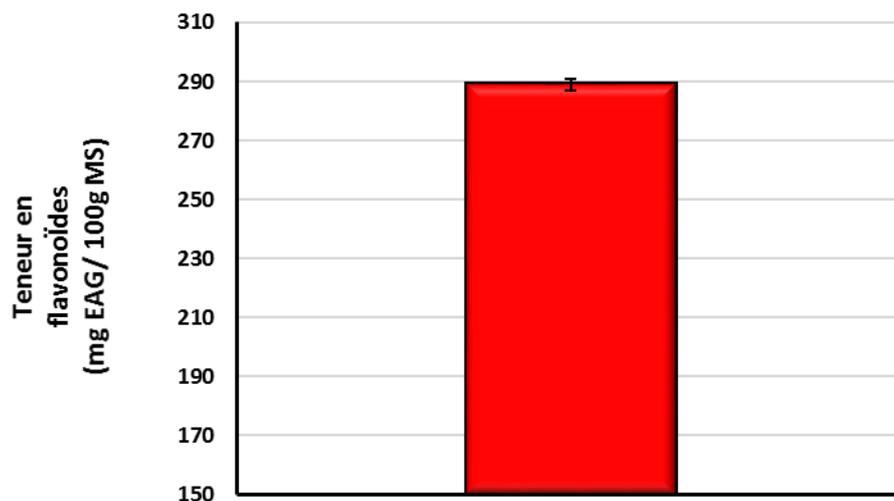
Le contenu en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques examinés était de l'ordre de  $289 \pm 1.53$  mg EQ/100g MS (**figure 14**).

En comparant nos résultats avec les travaux de **Willis et al. (2017)**, une teneur en flavonoïdes similaire de l'ordre de 220,68 mg E cathéchine/100g (en se référant à la cathéchine comme étalon) était trouvée dans l'extrait aqueux de farine de souchet comestible brute. Une valeur qui dépasse de loin tous les autres extraits (de farine crue ou grillée au méthanol).

Il est admis que la pulpe du souchet comestible est une riche source de composés phénoliques qui pourraient jouer un rôle protecteur contre le stress oxydatif (**Braca et al., 2018 ; Badejo et al., 2020**).



**Figure 13:** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux



**Figure 14 :** Le contenu en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique du souchet comestible.

#### IV.4. Les activités biologiques du souchet comestible

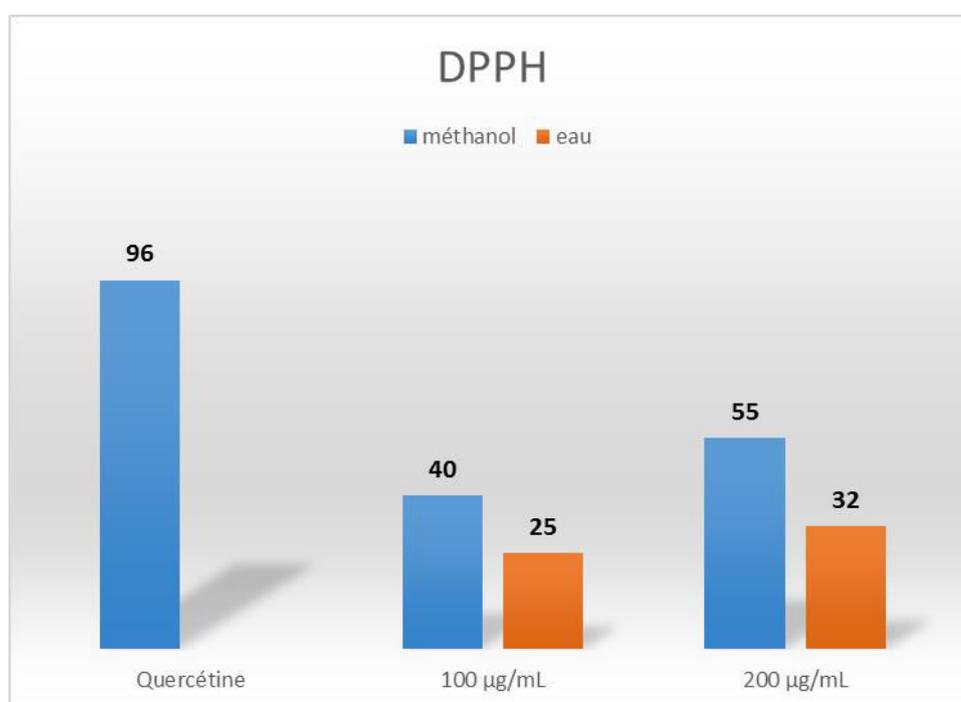
##### IV.4.1. Le pouvoir antioxydant

###### IV.4.1.1. Le piégeage au DPPH

Le DPPH est un radical libre stable dont l'absorption caractéristique diminue de manière significative lorsqu'il est exposé à un piègeur de radicaux. La décoloration du DPPH se produit lors de sa réaction avec les produits alimentaires, ce qui indique que l'échantillon contenait des récepteurs de radicaux protoniques.

L'activité antiradicalaire de l'extrait a été évaluée par son activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm.

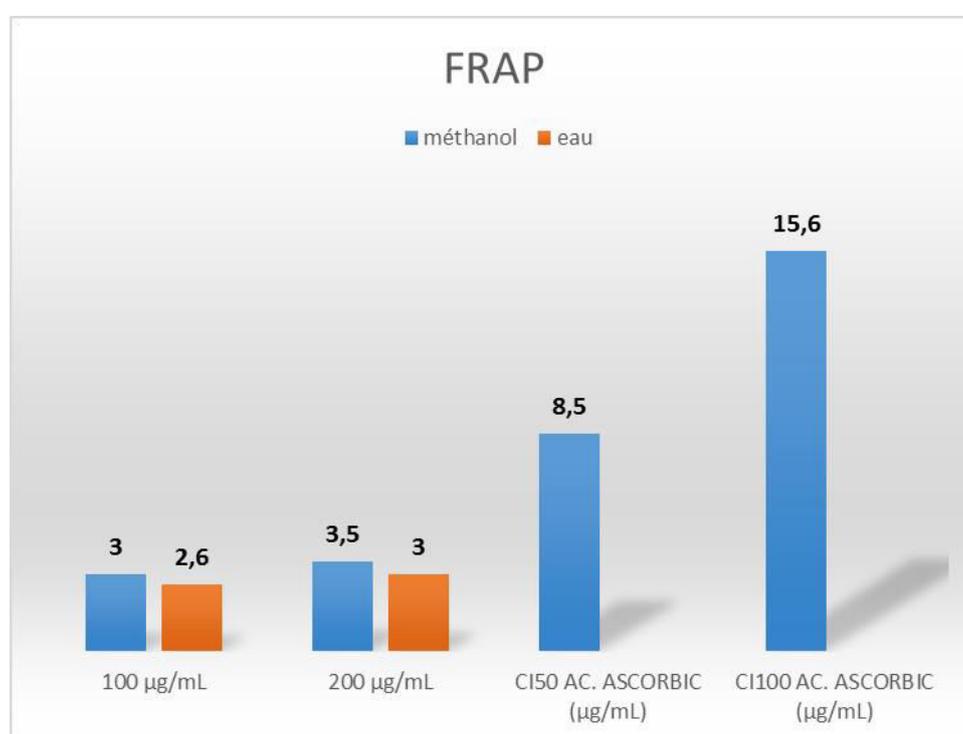
Les activités antiradicalaires des extraits de *Cyperus esculentus* ainsi que le standard sont illustrées dans les **Figures 15 et 16**. L'activité de piégeage du DPPH de l'extrait méthanolique de souchet comestible était comprise entre 40 et 55 %, respectivement aux concentrations de 100 et 200 µg/mL de poudre de souchet dans le méthanol (**Fig. 15**). Ces extraits aqueux avaient des activités de piégeage du DPPH de l'ordre de 25 et 32%.



**Figure 15 :** Activité antioxydante du souchet comestible telle que exprimée par la méthode de DPPH. La quercétine était prise comme référence.

**Owon *et al.* (2013)** ont trouvé des activités antioxydantes similaires de l'ordre de 43 et 60% dans les extraits éthanoliques de souchet aux mêmes concentrations testées.

Les résultats de la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power or Plasma) obtenus ont été illustrés graphiquement. D'après la **Figure 16**, l'extrait méthanolique donne une réduction significative des ions ferriques en ions ferreux de l'ordre de 3 à 3.5 ± 0.6 mmol EAA/g en confirmant les résultats du test de DPPH, suivi par l'extrait aqueux (2.6 ± 0.5 mmol EAA/g).



**Figure 16 :** Activité antioxydante du souchet comestible telle que exprimée par la méthode de FRAP. L'ac. ascorbique était pris comme référence. *CI50* (concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres), *CI100* (concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 100% des radicaux libres).

#### IV.4.2. Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux du souchet comestible

La **figure 17** exprime l'activité inhibitrice révélée par l'extrait aqueux du souchet comestible vis-à-vis de quatre pathogènes potentiels. Son activité a été comparée aux solutions aqueuses de fenugrec et de propolis. Ces deux dernières ont été choisies vues leurs spectres d'action très large et leurs effets santé multiples.

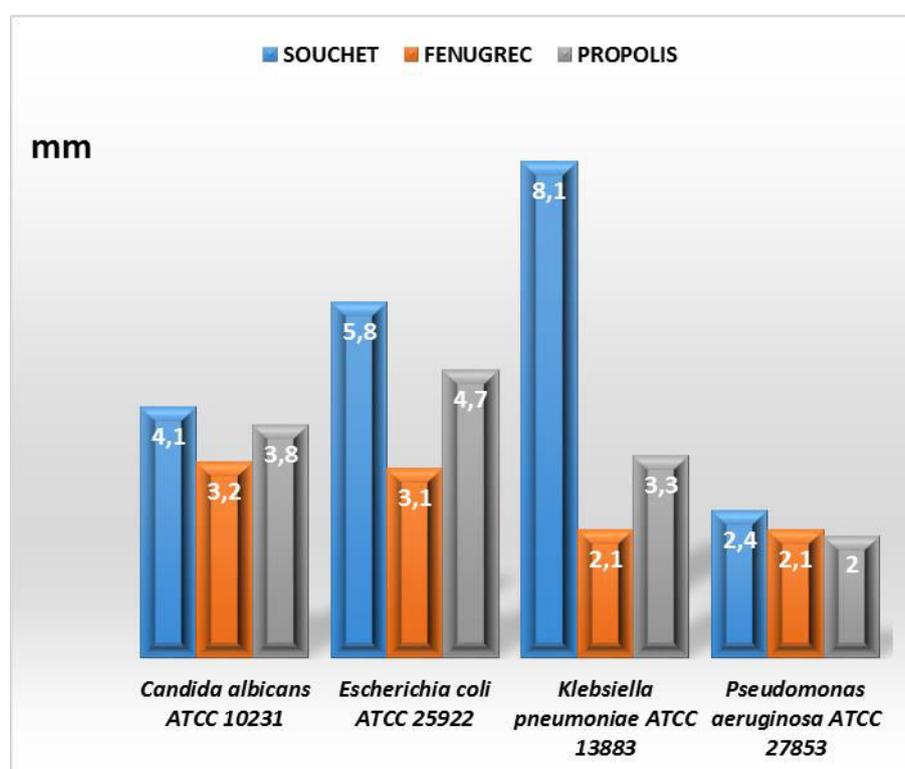
La propolis est une substance résineuse ambrée récoltée par les abeilles sur les bourgeons et l'écorce de certains arbres. La propolis est enrichie des sécrétions salivaires et de la cire d'abeille au cours de son élaboration. Elle sert de "mastic" pour tapisser l'intérieur de la ruche afin de l'isoler et l'aseptiser. Elle évite ainsi le développement des micro-organismes (bactéries, virus, moisissures). Les abeilles utilisent aussi la propolis pour réparer les rayons fissurés, ou encore embaumer les cadavres des intrus.

La propolis est composée de résines (50 %), d'huiles essentielles (5 à 10%), de cire (30 à 35%), de quelques grains pollens (5%). Elle est riche de plus de 300 molécules actives, dont des composés antiviraux, antibactériens, anti-tumoraux, qui lui confèrent un potentiel thérapeutique exploitable en médecine humaine. Selon ses origines, la propolis renferme des concentrations plus ou moins élevées de polyphénols, de flavonoïdes et d'artépilline C aux propriétés anticancéreuses remarquables. Les propolis ont toutes des effets antioxydant très puissants et ont une action ciblée sur les bactéries et les virus.

Le fenugrec est une semence à activités thérapeutiques diversifiées. Son succès est grandissant dans la régulation du diabète sucré, dans la production du lait (lactogène) et dans le soulagement des constipations.

Comparé à la propolis et le fenugrec en solutions aqueuses, le souchet comestible a exprimé de meilleures activités inhibitrices vis-à-vis de *Candida albicans*, d'*E. coli*, de *Pseudomonas aeruginosa* ; mais son effet était plus remarquable à l'égard de *Klebsiella pneumoniae* (une zone d'inhibition de 8.1 mm). L'extrait aqueux de souchet comestible est riche en monoterpènes. Ils sont reconnus comme étant des composés agissent au niveau du tube digestif comme stomachiques, eupeptiques et carminatifs, alors que d'autres sont cholagoques, cholérétiques et vermifuges. Ces composés possèdent aussi des propriétés antiseptiques, tant au niveau des voies respiratoires que des voies urinaires (**Koffi et al., 2005**).

Dans une étude publiée en 2015 sur différents extraits (eau, méthanol à 100%, éthanol à 70% et 100%) et de l'huile essentielle issus de cônes de *Tetraclinis articulata*, l'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque gélosé. Les auteurs ont trouvé que *K. pneumoniae* n'était pas sensible à l'extrait à 100 % de méthanol (Djouahria *et al.*, 2015). Cette propriété pourrait être attribuée à l'absence des monoterpènes oxygénés, ces composés sont solubles dans les milieux aqueux et causeraient des perturbations morphologiques et une rupture de la membrane plasmique des bactéries.



**Figure 17** : Action antimicrobienne (zone en mm) de la solution aqueuse de souchet comestible à l'égard des souches pathogènes : La propolis et le fenugrec testés aux mêmes concentrations ont été pris comme témoins.

# **Conclusion**

## Conclusion

L'industrie pharmaceutique a subi de nombreux scandales sanitaires et juridiques ces dernières années qui ont terni l'image du médicament allopathique. Que ce soit pour l'affaire du Médiator, des pilules contraceptives de 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> générations, ou plus récemment du Lévothyrox, les Algériens sont de plus en plus méfiants en ce qui concerne leur traitement. Parallèlement, un engouement pour les médecines alternatives et un retour aux thérapies «anciennes», plus naturelles et donc considérées plus douces s'est créé. Cet engouement s'inscrit dans un phénomène grandissant qu'est la recherche de la meilleure santé possible.

Les Algériens comme beaucoup d'autres dans le monde entier se sont remis de plus en plus vers la phytothérapie : ils y se tournent afin d'être en accord avec un mode de vie global tourné vers le naturel, l'écologie et le bien-être, ou veulent trouver une alternative efficace à des troubles et souhaitent réduire le recours aux médicaments allopathiques qui entraînent parfois des accoutumances, comme les hypnotiques.

Hab Elaziz est un tubercule à multifacette thérapeutique. Une préparation aqueuse de sa farine trempée une nuitée a été explorée dans ce travail :

La composition de l'extrait aqueux du souchet comestible a révélé une richesse en composés actifs telle que trouvée après une analyse phytochimique préliminaire. Les teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes étaient élevées dans les extraits aqueux et méthanoliques, respectivement. Son activité antioxydante était reliée à cette composition phénolique et était aussi appréciable (25-32% dans le test de DPPH et 2.6 à 3 mmol EAA /mL dans le test de réduction ferrique FARP) quand il est testé à 100 ou 200 µg/mL d'extrait aqueux.

Les extraits hydrosolubles de souchet ont montré des activités antimicrobiennes contre *C. albicans*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* (2 à 4 ±0.1 à 100-200 µg/mL), tandis que le même extrait aqueux a montré une activité antimicrobienne maximale contre *Klebsiella pneumoniae* (8.1 ±1.2 mm à 100 µg/mL). Les résultats obtenus dans cette étude ont clairement démontré une activité antibactérienne à large spectre de l'extrait aqueux de souchet sur trois souches responsables d'infections urinaires et une bactérie incriminée de complications nosocomiales. Cette action biologique peut être attribuée à la présence de composés phénoliques de type monoterpènes, principalement, et d'autres substances phytochimiques hydrosolubles. Ces résultats préliminaires confirment l'importance médicinale du souchet comestible car il contient une grande variété de composés bioactifs d'une grande importance pharmaceutique.

**REFERENCES**  
**BIBLIGRAPHIQUES**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Fessard, A.; Kapoor, A.; Patche, J.; Assemat, S.; Hoarau, M.; Bourdon, E.; Bahorun, T. Remize, F.** Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas. *Microorganisms* **2017**, 5, 23.

**Sánchez-Zapata, E.; Fernández-López, J.; Angel Pérez-Alvarez, J.** Tiger nut (*Cyperus esculentus*) commercialization: Health aspects, composition, properties, and food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2012**, 11, 366–377.

**Maduka, N.; Ire, F.; Njoku, H.** Fermentation of tigernut by lactic acid bacteria and tigernut-milk drink fermentation by lactic acid bacteria as a potential probiotic product. *Asian J. Sci. Technol.* **2017**, 8, 5167–5172.

**Capozzi, V.; Fragasso, M.; Romaniello, R.; Berbegal, C.; Russo, P.; Spano, G.; Capozzi, V.; Fragasso, M.; Romaniello, R.; Berbegal, C.; et al.** Spontaneous food fermentations and potential risks for human health. *Fermentation* **2017**, 3, 49.

**Moshe, N (1992).** "Une usine de sucrerie, une usine de parfum et leurs parents de mauvaise herbe: un chapitre dans l'histoire de *C. Esculentus* L. et *C. Rotundus* L.". *Botanique économique*. **46** : 64–71.

**Defelice, MS (2002).** "Yellow Nutsedge: *Cyperus esculentus* L. - Snack Food des Dieux<sup>1</sup>". *Technologie des mauvaises herbes*. **16** (4): 901–7.

**BOHREN C., et WIRTH J., 2013.** Souchet comestible (*Cyperus esculentus* L.):

Situation actuelle en Suisse. 8 pages.

**DODET M., 2006.** Diversité génétique et phénologie de *Cyperus esculentus* L.

(*Cyperaceae*) pour une gestion intégrée de l'espèce dans les cultures de haute lande.

226 pages.

**GEOMAR international., 2002.**Projet de diversification des filières et l'horticulture.

Diagnostic du pois sucré et du gombo. 155 pages.

**EJOH A.R., DJOMDI and NDJOUENKEU R., 2005.**Characteristics of *tigernut* (*Cyperus esculentus*) tubers and their performance in the production of a milky drink.

19 pages.

**KAMBIRE S.H., SAVADOGO A., Nana L., GUIRE A., 2017.** Guide technique pour la production du souchet au Burkina Faso. INERA, DGPV.

**KELLER M., TOTAL R., BOHREN C., et BAUR B., 2015.** Gestion du problème "Souchet comestible": repérage précoce, lutte à effets durables.5 pages.

**KOFFI L.B., NEMLIN G.J., LEFEVRE S, et KAMENAN A., 2005.** Caractérisation Physicochimique et potentialités thérapeutiques du pois sucre (*Cyperus esculentus L. Cyperaceae*).71 pages.

**TANNI S.P., 2013.** La culture du souchet : une source de revenus pour les femmes de la commune de Banfora. Mémoire de maitrise option géographie rurale, à l'université de Ouagadougou. 104 pages.

**Adenowo, A. F., &Kazeem, M. I. (2020).** Tiger Nut as a Functional Food, Pharmacological and Industrial Agent: A Mini Review. *Annals of Science and Technology*, 5(1), 31-38.

**Braca A, Sinisgalli C, De Leo M, Muscatello B, Cioni PL, Milella L, et al.** Phytochemical profile, antioxidant and antidiabetic activities of *Adansonia digitata* L. (baobab) from mali, as a source of health-promoting compounds. *Molécules*. **2018**. 23:3104. <https://doi.org/10.3390/molecules23123104>.

**Badejo, A. A., Duyilemi, T. I., Falarunu, A. J., & Akande, O. A. (2020).** Inclusion of Baobab (*Adansonia digitata* L.) Fruit Powder Enhances the Mineral Composition and Antioxidative Potential of Processed Tigernut (*Cyperus esculentus*) Beverages. *Preventive Nutrition and Food Science*, 25(4), 400.

**Chukwuma, E. R., Obioma, N., & Christopher, O. I. (2010).** The phytochemical composition and some biochemical effects of Nigerian tigernut (*Cyperus esculentus* L.) tuber. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(7), 709-715.

**Khan H, Jan SA, Javed M, Shaheen R, Khan Z, Ahmad A, et al.** Nutritional composition, antioxidant and antimicrobial activities of selected wild edible plants. *J Food Biochem*. **2016**. 40:61-70.

**Djouahria A., Boualema S., Boudarene L., Baaliouamer A.** Geographic's variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulate* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*. **(2015)**, 63, 138-146

**Owon, M. A., Osman, M. F., Salama, M. A., & Esmail, A. I. (2013).** Antioxidative And Antimicrobial Activities of Tigernut Tubers Phenolic Extract. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 4(6), 333-342.

**Dodet M. (2007).** soumis. Genetic variation of the invasive *Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae) at the local scale inferred from AFLP fingerprints. *Weed Research*.

**Selma, M.V.; Valero, M.; Fernandez, P.S.; Salmeron, C. (2006).** Adaptation of the system of risk analysis and identification and control of critical points (ARICPC) in the management of microbiological quality of tigernut milk. *Alimentation,- Equipos-y-Technologie*. 2006; 21(165): 83-89

**Pascual, B.; Maroto, J. V., Lopez-Galarza, S., Sanbautista, A. & Alagarda, J. (2000).** Chufa (*Cyperus esculentus* L. var. *sativus* Boeck.) : An unconventional crop. Studies related to applications and cultivation. *Economic botany* 54(4): 439-448.

**Oladele KA, Osundahunsi FO and AY Adebowale (2009).** Influence of Processing Techniques on the Nutrients and anti-nutrients of Tigernut (*Cyperus esculentus* L.). *World J. Dairy & Food Sci.*, 2009; 2: 88-93.

**Negbi, M. (1992).** A sweetmeat plant, a perfume plant and their weedy relatives—a chapter in the history of *Cyperus-esculentus* L and *C-rotundus* L. *Economic Botany*; 46, 64-71.

**Mbofung, C.M.F.; Kayem, G.J. & Kapseu, C. (1997).** Fatty acids and triglycerides of fruit oils from *Cyperus. Esculentus* and *Balanites a egyptiaca*. *Sciences des Aliments*, 17(5): 531-537.

**Mabberley D.J. (1997).** The Plant-Book: a portable dictionary of the vascular plants. 2nd ed. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 858p.

**Abdoulaye (1997).** Production d'une boisson sucrée: Le cas du souchet. Rapport de stage de fin d'étude. IRAD Garoua. 65 p.

**Coskuner, Y. ; Ercan, R. ; Karababa, E et Nazlcn, A. N. (2003).** Physical and Chemical l properties of chufa (*Cyperus esculentus* L.) tubers grown in the Cukurova region of Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

82(6): 625-631.

**Heywood V.H. (1996).** Pour l'édition française. Cyperales. In : Les plantes à fleurs - 306 familles de la flore mondiale. Nathan, pp 292-293.

**Onovo, J. C. and Ogaraku, A. O. (2007).** Studies on some microorganisms associated with exposed tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) milk. J. Biol. Sci., 7: 1548-1550.

**Umeri S.C., Enebeli J. N. (1996).** Malt caramel from tubers of *Cyperus esculentus*. Bioresource Technology, 215-216.

**Oa, O.** Determination of amino acids and physico-chemical properties of juice samples produced from five varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*). Chem. Res. J. **2016**, 1, 1–6.

**Codina, I.; Trujillo, A.J.; Farragut, V. Horchata.** In Traditional Foods; Springer: Boston, MA, USA, **2016**; pp. 345–356.

**Kim, M.; No, S.; Yoon, S.H.** Stereo specific analysis of fatty acid composition of Chufa (*Cyperus esculentus* L.) tuber oil. J. Am. Oil Chem. Soc. **2007**, 84, 1079–1080.

**Arafat, S.; Gaafar, A.; Basuny, A.M.; Nassef, S.** Chufa tubers (*Cyperus esculentus* L.) as a new source of food. World Appl. Sci. J. **2009**, 7, 151–156.

**Ezeh, O.; Niranjan, K.; Gordon, M.H.** Effect of enzyme pre-treatments on bioactive compounds in extracted tiger nut oil and sugars in residual meals. J. Am. Oil Chem. Soc. **2016**, 93, 1541–1549.

**López-Cortés, I.; Salazar-García, D.C.; Malheiro, R.; Guardiola, V.; Pereira, J.A.** Chemo metrics as a tool to discriminate geographical origin of *Cyperus esculentus* L. based on chemical composition. Ind. Crops Prod. **2013**, 51, 19–25.

**Codina-Torrella, I.; Guamis, B.; Trujillo, A.J.** Characterization and comparison of tiger nuts (*Cyperus esculentus* L.) from different geographical origin: Physico-chemical characteristics and protein fractionation. Ind. Crops Prod. **2015**, 65, 406–414.

**Adekanmi, O.K.; Oluwatooyin, O.F.; Yemisi, A.A.** Influence of processing techniques on the nutrients and ant nutrients of tigernut (*Cyperus esculentus* L.). World J. Dairy Food Sci. **2009**, 4, 88–93.

**Roselló-Soto, E.; Poojary, M.M.; Barba, F.J.; Koubaa, M.; Lorenzo, J.M.; Mañes, J.; Moltó, J.C.** Thermal and non-thermal preservation techniques of tiger nuts' beverage "horchata de chufa". Implications for food safety, nutritional and quality properties. *Food Res. Int.* **2018**, 105, 945–951.

**Olabiyi, A.A.; Carvalho, F.B.; Bottari, N.B.; Lopes, T.F.; da Costa, P.; Stefanelo, N.; Morsch, V.M.; Akindahunsi, A.A.; Oboh, G.; Schetinger, M.R.** Dietary supplementation of tiger nut alters biochemical parameters relevant to erectile function in L-NAME treated rats. *Food Res. Int.* **2018**, 109, 358–367.

**S. Follak et al.**, « Biological flora of Central Europe: *Cyperus esculentus* L. », *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, vol. 23, p. 33- 51, **2016**.

**Anonyme**, : « <http://www.deniaactu.com/horchata-espagne.html> », **sept. 2017**.

**S. Bado et al.**, « Physicochemical characteristics and composition of three morpho types of *Cyperus esculentus* tubers and tuber oils », *J. Anal. Methods Chem.*, vol. 2015, p. 1-8, **2015**.

**A. K. Oladele et J. O. Aina**, « Chemical composition and functional properties of flour produced from two varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*) », *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 6, no 21, p. 2473- 2,476, **2007**.

**T. Oyedepo et O. Odoje**, « Hepato-protective Activities of Tiger Nut (*Cyperus esculentus*) Against Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride in Rats », *Res. Rev. J. Pharmacol. Toxicol. Stud.*, vol. 2, no 4, p. 37- 41, **2014**.

**C. Monago et A. Uwakwe**, « Proximate composition and in vitro anti-sickling property of Nigeria *Cyperus esculentus* (tiger nut sedge) », *Trees Life J*, vol. 4, no 2, p. 1–6, **2009**.

**M. N. Al-Shaikh, T. Abdul Wahab, S. Abdul Kareem, et S. R. Hamoudi**, « Protective effect of chufa tubers (*Cyperus esculentus*) on induction of sperm abnormalities in mice treated with lead acetate », *Int J Drug Dev Res*, vol. 5, p. 387- 92, **2013**.

**KAMBIRE S.H.**, **2015**. Quelques rappels sur la culture du souchet au Burkina Faso. 53 pages.

**Fournet J. (2002).** Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique. Nouvelle édition revue et augmentée. CIRAD, Montpellier - Gondwana Editions, La Trinité. 2538 P.

**Li B., Shibuya T., Yogo Y., Hara T. et Yokozawa M. (2001).** Interclonal differences, plasticity and trade-offs of life history traits of *Cyperus esculentus* in relation to water availability. *Plant Species Biology*, volume 16 : 193-207.

**Lisant Benjamin (2014).** Les plantes invasives. Les plantes envahissantes en France, en Europe et ailleurs 60 P.

**Oladele A. K., Aina J. O. K. (2007).** Chemical composition and functional properties of flour from two varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*). *African Journal of Biotechnology*, volume 6 (21): 2473-2476.

**Saxena O. P. (2001).** Plant taxonomy, 3rd edition, Educational Publishers, Meerut, India. PP 505-506.

**Takhatajah A. (1992).** Angiosperms (the flowering plants) new encyclopedia Britannica, macropedia, volume 13 (15): 596-610.

**Zohary D. et Hopf M. (2000).** UICN: espèce *Cyperus esculentus* L., 1753 (en) (consulté le 2 juin 2015) Domestication of plants in the old world. New York: Oxford University Press). 316 P.

**Ransom C. V., Rice C. A. et Shock C. C. (2009).** Yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) growth and reproduction in response to nitrogen and irrigation. *Weed Science*, volume 57 : 21- 25.

**Hamdy, S.M.; Shabaan, A.M.; Abdel Latif, A.K.M.; Abdel-Aziz, A.M.; Amin, A.M.** Protective effect of hesperidin and tiger nut against acrylamide toxicity in female rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* **2017**, 69, 580–588.