

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

Mémoire

Présenté par : M^{elle} ISSAADI Ouarda

En vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Sciences Alimentaires
Option : Contrôle de Qualité des Aliments, Certification et Méthodes de
Validation

Thème

Etude comparative des activités antioxydantes de deux fruits : la mûre et l'arbose

Devant le jury :

Président : Mr KECHA M.	Maître de conférences (UAMB)
Rapporteur : M ^{elle} LOUAILECHE H.	Professeur (UAMB)
Examineurs : Mr AISSAT K.	Maître de conférences (UAMB)
Mr SOUALAH A.	Maître de conférences (UAMB)

Année universitaire 2009-2010

Remerciements

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à ma directrice de mémoire, le Professeur LOUAILECHE H., pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour sa disponibilité, ses nombreux conseils, son aide précieuse, et surtout pour ses qualités humaines et scientifiques. Je tiens aussi à la remercier en tant que mon enseignante de la graduation et de la post-graduation. Qu'elle trouve ici l'expression de mes profonds sentiments de gratitude.

Je remercie Monsieur le Docteur KECHA M., Maître de conférences, à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Bejaia, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Mes remerciements vont aussi à Messieurs les Docteurs AISSAT K. et SOUALAH A., Maîtres de conférences à l'université de Bejaia pour avoir accepté de donner de leur temps pour évaluer ce travail.

Je voudrais également remercier tous les membres du laboratoire de biochimie alimentaire en particulier Mr OUCHMOUKH S. pour ses conseils fructueux.

Mes remerciements vont aussi à Mr BEKDOUCHE F. pour m'avoir aidé à identifier les espèces de mûre et d'arbose étudiées.

Et enfin, je remercie toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*En guise de reconnaissance Je dédie ce modeste travail
A mes très chers parents. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude
pour leur soutien tout au long de mon parcours.*

A mes frères et sœurs bien aimés

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A toutes les mains qui m'ont été tendues...

Liste des abréviations

ABS	absorbance
DHA	acide déhydroascorbique
DPPH	2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl
HHDP	acide hexahydroxydiphénique
HPLC	high performance liquid chromatography
LDL	low density lipoprotein
LDL	low density lipoprotein
MF	matière fraîche
MS	matière sèche
PF	poids frais
RNS	reactive nitrogen species
ROS	reactive oxygen species

Glossaire

Alzheimer : maladie neurodégénérative à prédominance corticale qui touche en premier lieu les fonctions cognitives et se répercute sur le comportement et l'adaptation sociale des patients.

Angiogenèse : développement de vaisseaux capillaires à partir de capillaires préexistants (ce processus intervient notamment dans la cicatrisation, mais il pourrait jouer un rôle dans la formation des cancers).

Antiagrégante : substance qui s'oppose à l'agrégation des plaquettes dans les vaisseaux sanguins.

Antiathérogénique : substance qui agit contre le dépôt de plaques riches en cholestérol sur la paroi interne des artères, finissant par provoquer l'athérosclérose.

Anticarcinogène : anticancéreux

Artériosclérose : durcissement de la paroi des artères.

Arthrite rhumatoïde : maladie rhumatismale inflammatoire d'une ou plusieurs articulations.

Athérosclérose : affection dégénérative des artères, très répandue, associant les lésions de l'artériosclérose et de l'athérome (dégénérescence de la tunique interne des artères suite à un dépôt graisseux).

Carcinogenèse : cancérogenèse

Cataracte : maladie qui touche les yeux par formation d'une zone sombre ou opaque dans le cristallin troublant la vue.

Chimiothérapeutique : traitement par des substances chimiques, en cancérologie par exemple.

Diurétique : se dit d'une substance qui augmente la diurèse et qui peut éventuellement être utilisée contre l'hypertension artérielle ou contre les oedèmes et l'insuffisance cardiaque.

Hypolipidémique : substance qui diminue la concentration de l'ensemble des lipides dans le sang.

Isoprénique : relatif à l'isoprène qui est un hydrocarbure liquide incolore.

Laxatif : se dit d'une substance qui accélère le transit intestinal.

Maculaire : relatif à la macula qui est une dépression de la rétine, appelée aussi tache jaune.

Métastatique : relatif aux métastases qui sont des cellules cancéreuses ayant la propriété de se déplacer via la circulation sanguine et d'affecter les autres organes.

Parkinson : affection dégénérative du système nerveux central, de cause inconnue, caractérisée par un tremblement, une raréfaction, une lenteur des mouvements, et une rigidité musculaire.

Scavenger : terme anglo-saxon signifiant piègeur.

Vasorelaxante : substance qui provoque la relaxation des vaisseaux sanguins

Vasotonique : se dit d'un remède qui fortifie ou stimule l'activité des vaisseaux sanguins.

Selon le petit LAROUSSE 2003

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Classification botanique du genre <i>Rubus</i>	4
2	Structures des acides hydroxybenzoïques (a) et hydroxycinnamiques (b)	9
3	Structure de base des flavonoïdes	11
4	Structure des principales classes de flavonoïdes	12
5	Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes	13
6	Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me ⁿ⁺)	15
7	Structure des tannins hydrolysables et des acides associés	18
8	Structures de tannins condensés	20
9	Structure générale des anthocyanines	21
10	Teneur en composés phénoliques des extraits de fruits	31
11	Teneur en flavonoïdes des échantillons analysés	33
12	Teneur en flavonols des échantillons analysés	35
13	Teneur en tannins condensés des fruits analysés	36
14	Teneur en anthocyanines des fruits analysés	38
15	Teneur en caroténoïdes des fruits analysés	40
16	Pouvoir réducteur des échantillons analysés	41
17	Activité antiradicalaire des échantillons analysés	45
18	Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits de fruits	48
19	Inhibition de peroxyde d'hydrogène par les extraits de fruits	50

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Synthèse bibliographique

I. Description botanique et classification des fruits étudiés.....	3
I.1. L'arbose.....	3
I.2. La mûre.....	3
II. Composition chimique des fruits étudiés.....	4
II.1. L'arbose.....	4
II.2. La mûre.....	5
III. Effets bénéfiques des fruits étudiés.....	5
III.1. L'arbose.....	5
III.2. La mûre.....	5
IV. Le stress oxydatif.....	6
V. Les antioxydants des fruits étudiés.....	7
V.1. Les composés phénoliques.....	7
V.1.1. Les acides phénoliques.....	8
V.1.2. Les flavonoïdes.....	11
V.1.3 Les flavonols.....	16
V.1.4. Les flavanols.....	17
V.1.5. Les tannins.....	17
V.1.5.1. Les tannins hydrolysables.....	17
V.1.5.2. Les tannins condensés.....	18
V.1.6. Les anthocyanines.....	20
V.2. Les caroténoïdes.....	23
V.3. L'acide ascorbique.....	25

Matériel et méthodes

I. Echantillonnage.....	26
II. Dosage des antioxydants.....	26
II.1. Les composés phénoliques.....	26
II.1.1. Préparation des extraits.....	26
II.1.2. Les polyphénols totaux.....	26
II.1.3. Les flavonoïdes et les flavonols	27
II.1.4. Les tannins condensés.....	27
II.1.5. Les anthocyanines.....	27
II.2. Les caroténoïdes.....	28
III. Activité antioxydante.....	28
III.1. Pouvoir réducteur.....	28
III.2. Activité antiradicalaire.....	28
III.3. Inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique.....	29
III.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène.....	29
IV. Analyse statistique.....	29

Résultats et discussion

I. Les antioxydants.....	30
I.1. Les composés phénoliques	30
I.2. Les flavonoïdes.....	32
I.1.2. Les flavonols.....	34
I.1.3. Les tannins condensés (proanthocyanidines).....	36

I.1.4. Les anthocyanines.....	37
I.2. Les caroténoïdes.....	39
II. Activité antioxydante.....	40
II.1. Pouvoir réducteur	40
II.2. Activité antiradicalaire	43
II.3. Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique.....	47
II.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène	49
Conclusion.....	52
Références bibliographiques.....	54
Annexes.....	63

Introduction

Introduction

L'oxygène, molécule essentielle à la vie pour les organismes aérobies, est à l'origine de la formation de composés peu stables mais hautement réactifs et toxiques : les espèces oxygénées réactives (ROS). L'organisme évolue dans un environnement oxygéné, il génère en permanence de ROS capables d'oxyder de nombreuses molécules dont les protéines, les acides nucléiques ou encore les lipides (Girotti-Chanu, 2006 ; Pincemail *et al.*, 2007).

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production de ROS et les systèmes de défenses antioxydantes (Pincemail *et al.*, 2002). Un stress oxydant se définira lorsqu'il y aura un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers (Berger, 2006; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2002 ; De Moffarts *et al.*, 2005 ; Pincemail *et al.*, 2002). Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation de systèmes enzymatiques, d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, etc.). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (Pincemail *et al.*, 2002).

Le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, ou encore des affections neurologiques dégénératives.

Pour se protéger contre cet oxygène toxique, notre organisme dispose d'un réseau antioxydant très complexe, composé d'enzyme, de protéines transporteuses du fer et du cuivre, de vitamines, etc. La plupart de ces antioxydants se retrouvent dans les fruits et légumes (Pincemail *et al.*, 2007).

Des études épidémiologiques ont montré qu'une alimentation riche en fruits et légumes est associée à une diminution des risques de maladies chroniques (Zhao, 2007), de cancers, de maladies cardiovasculaires (Shui et Leong, 2004).

Les fruits et particulièrement les baies ont des effets protecteurs importants grâce à leur teneur élevée en antioxydants (Vangdal et Slimestad, 2006).

Le but de notre étude est l'évaluation de l'apport en substances à activité antioxydante (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols, ...) et la détermination du potentiel antioxydant (activité antiradicalaire, pouvoir réducteur, inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, inhibition de peroxyde d'hydrogène) d'extraits aqueux et d'extraits éthanoliques de deux fruits : l'arbose et la mûre.

Synthèse Bibliographique

I. Description botanique et classification des fruits étudiés

I.1. L'arboise

L'arbousier est un arbre de 12 m de hauteur. Ses feuilles sont dentées, simples, de couleur vert foncé. La floraison et la fructification de l'arbousier s'étendent d'octobre à février ; la maturation des fruits dure une année (Celikel *et al.*, 2008 ; Mereti *et al.*, 2002).

L'arbousier appartient à l'ordre des Ericales qui contient 8 familles et environ 4000 espèces. La plus grande famille est celle des Ericaceae (Wiart, 2006); c'est une famille cosmopolite représentée par 124 genres dont *Arbutus*.

L'arbousier appartient au genre *Arbutus* qui inclut environ 20 espèces et à la sous famille Vaccinioideae. Dans les régions méditerranéennes, il y a seulement quatre espèces dont *Arbutus unedo L.* (Torres *et al.*, 2002).

Les fruits sont sphériques, rugueux de couleur rouge orangé avec un diamètre de 2 à 3 cm. Ces fruits sont comestibles à l'état frais ou après transformation en confiture, gelée, etc.

I.2. La mûre

Les mûres sont divisées en deux catégories : la sarmenteuse et l'érigée. La sarmenteuse présente de fortes racines plongeantes. Le collet est garni de bourgeons qui se développent au printemps. Ils donnent naissance à des turions cylindriques ou anguleux, garnis d'épines plus ou moins nombreuses. Les organes floraux sont soit très développés, soit partiellement atrophiés. Dans ce dernier cas, les fruits sont déformés et dépourvus de semences.

L'érigée est caractérisée par des racines traçantes et pourvues d'abondants bourgeons adventifs. Les tiges atteignent 3 m, leur nature cannelée leur assurant une grande rigidité. Le feuillage souvent ornemental est trilobé ou pentalobé, lisse ou tomenteux, aigu ou arrondi. Les baies sont rondes ou allongées, noires, les drupéoles luisantes ou pubérulentes (Duperrex, 1977).

La mûre appartient à la famille des Rosaceae du genre *Rubus* et au sous genre *Eubatus* (figure 1) qui est très complexe en termes de conditions de culture et de nombre d'espèces (Duperrex, 1977).

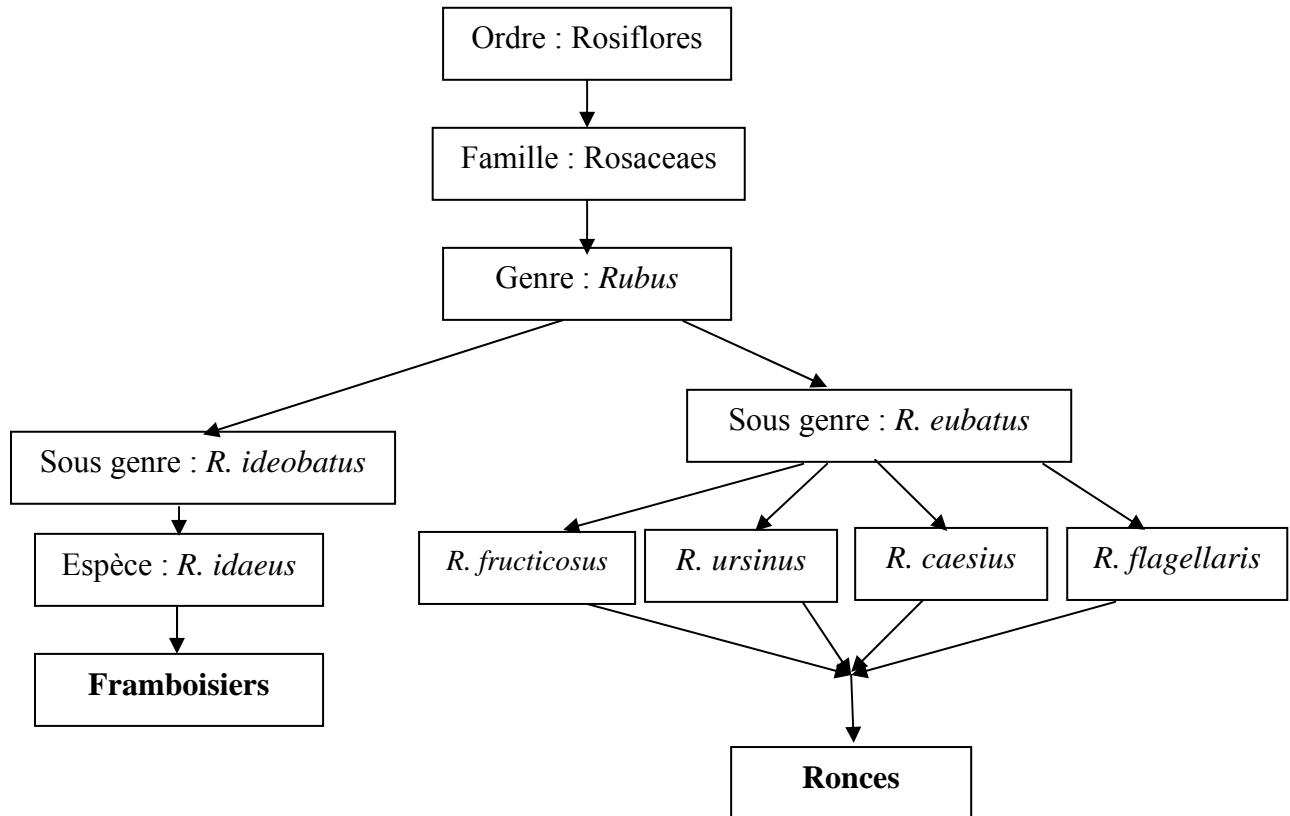


Figure 1 : Classification botanique du genre Rubus (Duperrex, 1977)

II. Composition chimique des fruits étudiés

II.1. L'arboise

Les fruits d'arbousier contiennent une concentration élevée en glucides qui s'étend de 42 % à 52 %. Ils sont caractérisés par un rapport sucres/acides élevé et une teneur importante en caroténoïdes, en flavonoïdes (flavonols), en acides phénoliques (dérivés des acides gallique, protocatéchique, gentsique, p-hydroxybenzoïque, vanillique et m-anisique) et en terpénoïdes. Ces fruits sont aussi riches en sels minéraux et spécialement en calcium (Özcan et Haciseferoğullari, 2007), et en vitamines C et E (Oliveira *et al.*, 2009).

L'arboise est une bonne source d'acides organiques dont les acides lactique, malique, subérique et fumarique qui favorisent la stabilité de l'acide ascorbique et des anthocyanines (Zhao, 2007).

II.2. La mûre

La mûre est une source nutritive importante de vitamines (provitamine A, vitamines B), et de minéraux (calcium). Elle contient une teneur élevée en composés aromatiques (acides phénoliques). Sa valeur nutritive se situe aussi dans sa teneur en glucides, en fibres alimentaires et en polyphénols (Zhao, 2007).

III. Effets bénéfiques des fruits étudiés

III.1. L'arbose

L'arbose est largement utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement de l'hypertension, la diarrhée, et comme antiseptique, laxatif, antirhumatismal, et il est utilisé aussi dans les infections urinaires. Les extraits obtenus à partir des feuilles d'arbousier ont des propriétés vasorelaxantes, diurétiques, anti-hyperglycémiques et antiagrégantes, sans montrer aucun effet toxique aigu.

Un régime riche en arbose réduit le risque des maladies cardiovasculaires, cancer et autres maladies dues au stress oxydatif. Des propriétés hypolipidémiques et antiathérogéniques ont été attribuées aux antioxydants de l'arbose. Ces antioxydants sont suspectés d'avoir une activité antioxydante et antivirale, des effets protecteurs contre le cancer de poumon, de l'œsophage et du colon (Pallauf *et al.*, 2008).

III.2. La mûre

Les extraits de mûre ont montré de différentes activités incluant la protection contre les dommages du myocarde et le dysfonctionnement endothélial. *In vitro*, ces extraits atténuent les dommages provoqués par les lipopolysaccharides des bactéries à Gram négatif, tel que un choc endotoxique chez les rats et manifestent des effets cytotoxiques au niveau de la prostate.

Les mûres ont aussi des propriétés anti-inflammatoires, et leurs extraits inhibent la mutagenèse (Tate *et al.*, 2006). Par comparaison à d'autres fruits, les mûres ont une forte activité antiradicalaire contre le radical peroxyde (ROO[·]), le superoxyde (O₂^{·-}), le peroxyde d'hydrogène, l'hydroxyle (OH[·]) et l'oxygène singulet (¹O₂), et jouent ainsi un rôle bénéfique dans la santé humaine, tel que la réduction de risque de cancer, de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies (Mertz *et al.*, 2007).

Les anthocyanines de mûres sont utilisées pour plusieurs objectifs thérapeutiques incluant le traitement de diabète et les troubles de la vision. Ce sont aussi des agents protecteurs contre les radiations, des agents vasotoniques, et peuvent agir contre le tétrachlorure de carbone qui induit la lipoperoxydation.

La cyanidine 3-glucoside une anthocyanine principale des mûres présente des activités chimiopréventives et chimiothérapeutiques (Wang *et al.*, 2008).

IV. Le stress oxydatif

L'organisme produit quotidiennement des radicaux libres, composés très réactifs et nécessaires à des mécanismes vitaux (protection contre les micro-organismes pathogènes, de diverses voies de signalisation cellulaire tel que l'induction enzymatique et hormonale) (Jensen *et al.*, 2008 ; Milane, 2004).

Le stress oxydant provoqué par les radicaux libres (Thériault *et al.*, 2006) est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme (Barouki, 2006 ; Gülçin, 2006), d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire.

Un radical libre est une substance chimique (atome ou molécule) qui possède un électron célibataire, ce qui lui confère une grande instabilité. Les radicaux libres les plus courants sont le radical superoxyde, le radical hydroxyle et le monoxyde d'azote (NO[•]). D'autres molécules comme le peroxyde d'hydrogène et l'ion peroxydite (ONOO⁻), sont des substances oxygénées réactives non radicalaires; ce ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres (Ré *et al.*, 2005).

Les radicaux libres sont produits de manière endogène (chaîne respiratoire, phagocytose) ou de manière exogène (pollution de l'air, tabagisme, toxines et radiations ionisantes) (Naithani *et al.*, 2006 ; Stangeland *et al.*, 2009). Ils sont responsables des dommages des acides nucléiques, protéines et lipides (Grotewold, 2006 ; Ramawat et Mérillon, 2008); ils sont aussi impliqués dans différentes pathologies telles que les maladies cardiovasculaires (athérosclérose) (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2002), la cataracte, le cancer, le vieillissement (Roussel et Ferry, 2002), les maladies inflammatoires (asthme, arthrite rhumatoïde, allergies), et les

maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer) (Girard-Lalancette *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2001).

Des systèmes protecteurs efficaces contrôlent ces effets délétères *in vivo*. Il existe des « piègeurs occasionnels » de radicaux libres. Ce sont des molécules endogènes qui captent les électrons célibataires, comme par exemple les acides gras insaturés, les fonctions thiols de protéines, et l'ADN. Les autres principaux piègeurs sont les antioxydants tels que les caroténoïdes, l' α -tocophérol, la vitamine C et les flavonoïdes (Milane, 2004).

V. Les antioxydants des fruits étudiés

V.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes durant le développement et en réponse aux conditions de stress (infection, blessures, radiations UV, etc.) (Vattem *et al.*, 2005). La définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés, comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupements hydroxyles libre (s) ou engagé (s) dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Ils constituent l'un des groupes chimiques les plus nombreux et les plus répandus dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures.

Les composés phénoliques incluent, les acides phénoliques (dérivés des acides benzoïque et cinnamique), les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignanes et les lignines (Naczk et Shahidi, 2004). La grande majorité des polyphénols, sont hydrosolubles et sont séquestrés dans des vacuoles sous forme glycosylée, tandis que certains sont lipophiles (flavones, esters méthyliques de flavonols) (Barberà et Gil, 2008).

➤ Propriétés antioxydantes

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes dues à la présence des groupements hydroxyles et des noyaux aromatiques qui leur permettent de neutraliser les radicaux libres ($-R\cdot$) (Villaño *et al.*, 2006) par chélation de l'oxygène singulet et triplet ou décomposition des peroxydes (Djeridane *et al.*, 2006) par transfert

d'un atome d'hydrogène (-RH) ou d'un électron (-R⁻), en chélatant des ions métalliques dans des solutions aqueuses et en se liant et précipitant les protéines (Proestos *et al.*, 2006).

V.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent environ un tiers des composés phénoliques consommés; ils peuvent être liés par des liaisons ester, éther ou acétal à d'autres composés. Ils se présentent rarement sous forme libre, car les groupements carboxyliques sont très actifs et ils se transforment facilement en esters ou amides quand ils sont combinés aux alcools aliphatiques et les phénols ou les composés aminés (Lozano, 2006).

Les baies dont la mûre et l'arbose contiennent une large variété d'acides phénoliques divisés en deux sous groupes :

- ✓ Les acides hydroxybenzoïques : acides gallique, p-hydroxybenzoïque, protocatechique, vanillique et syringique, qui ont en commun la structure C₆-C₁ (figure 2).
- ✓ Les acides hydroxycinnamiques : composés aromatiques, avec une chaîne de trois atomes de carbone (C₆-C₃), incluant les acides caféique, férulique, p-coumarique et sinapique qui sont les plus abondants dans les végétaux (Balasundram *et al.*, 2006).

Les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques se présentent généralement sous forme conjuguée avec des esters ou des glycosides. Ils peuvent être présents dans la vacuole sous forme soluble (libre) ou insoluble (liée aux polysaccharides de la paroi cellulaire) (Zhao, 2007).

Les formes liées des acides hydroxybenzoïques sont des dérivés glycosylés ou des esters des acides quinique, shikimique et tartarique. L'acide caféique et l'acide quinique se combinent pour former l'acide chlorogénique. L'acide caféique soit sous forme libre ou estérifiée est généralement le plus abondant des acides phénoliques dans la majorité des fruits; il représente 75 % à 100 % de la teneur totale des acides hydroxycinnamiques (Manach *et al.*, 2004).

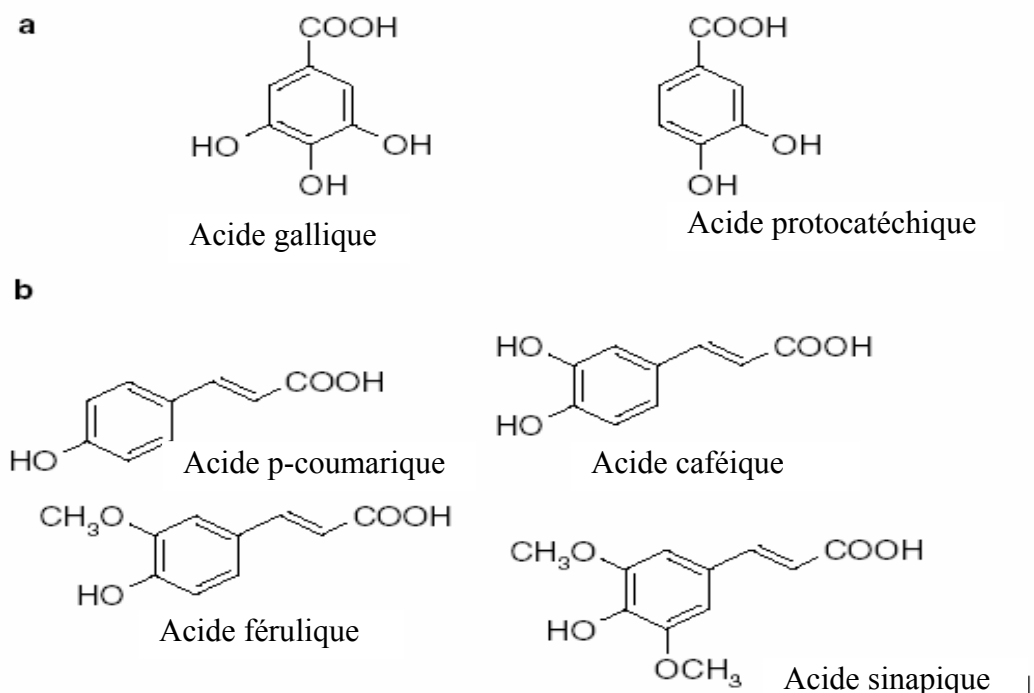


Figure 2 : Structures des acides hydroxybenzoïques (a) et hydroxycinnamiques (b)

Tableau I : Dérivés des acides hydroxycinnamiques des mûres (Belitz *et al.*, 2004)

Composé	Teneur (mg/Kg de poids frais)
Acide caféoylquinique	45-53
Acide p-coumaroylquinique	2-5
Acide féruloylquinique	2-4
Caféoyl-glucose	3-6
p-coumaroyl-glucose	4-11
Féruloylglucose	2-6
Acide caféique-4-O-glucose	ND
Acide p-coumarique-O-glucoside	2-5
Acide férulique-O-glucoside	ND

ND : Non Déterminé

➤ Propriétés antioxydantes

Les acides phénoliques sont des antioxydants puissants. Leur activité antioxydante dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements fonctionnels carboxyliques. Elle augmente avec le degré d'hydroxylation. Cependant la substitution de groupements hydroxyles à la position 3 et 5 avec les groupements méthoxyles (acide syringique) réduit l'activité antioxydante (Aberoumand et Deokule, 2008 ; Balasundram *et al.*, 2006).

Les acides hydroxycinnamiques exercent une activité antioxydante plus élevée que celle des acides hydroxybenzoïques ; ceci est dû au groupement $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, qui assure une meilleure capacité de transfert d'hydrogène et de stabilisation des radicaux libres, que le groupement $-\text{COOH}$ dans les acides hydroxybenzoïques (Balasundram *et al.*, 2006). Ils inhibent l'oxydation des lipoprotéines à basse densité (LDL) *in vitro* (Kähkönen *et al.*, 1999).

Les hydroxycinnamates et les dérivés de l'acide gallique agissent en tant que récepteurs de radicaux libres et montrent des propriétés antioxydantes élevées (Rice-Evans et Packer, 2003).

L'acide chlorogénique est un acide phénolique le plus abondant dans les extraits de baies (mûre et arboise), il est également un antioxydant actif. A la concentration de $1,2 \times 10^5$ M, cet acide inhibe plus de 80 %, l'oxydation de l'acide linoléique.

La capacité antioxydante de l'acide caféique est supérieure à celle des acides p-coumarique et férulique dans l'inhibition de l'oxydation des LDL et le piégeage de l'oxygène singulet. Les formes conjuguées des acides chlorogénique et caftarique sont de puissants antioxydants (Gülçin, 2006). L'activité antioxydante de l'acide caféique sous forme libre est supérieure à celle des esters de l'acide quinique, alors qu'elle est faible pour l'acide férulique. L'estérification des acides p-coumarique et férulique augmente la capacité d'inhiber l'oxydation des LDL. La présence de groupements hydroxyles en position ortho augmente l'activité antioxydante (Rice-Evans et Packer, 2003).

V.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (flavus « jaune ») sont des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de végétaux. Ce sont des diphenylpropanes ($C_6-C_3-C_6$) dérivant de la même structure de base (figure 3), l'enchaînement benzo- γ -pyrone ou de flavane (2-phenolbenzo-dihydropyrane). Ils ont en commun la structure de flavane à 15 atomes de carbone, constituée de deux noyaux aromatiques A et B et d'un noyau central pyranique. Chacun des deux cycles aromatiques contient un groupement hydroxyle lié par trois atomes de carbone sous forme d'un hétérocycle.

Les flavonoïdes constituent la classe des polyphénols la plus importante avec environ 6500 composés identifiés. L'arrangement des groupements hydroxyles, méthyles, des unités glycosidiques et la conjugaison entre les cycles A et B (Ribéreau-Gayon, 1968) définissent les différentes classes de flavonoïdes (figure 4) (Manach *et al.*, 2004). Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou d'hétérosides. Les plus abondants dans les mûres sont la quercétine (1,03 mg/100 g), le kaempferol (0,08 mg/100 g), l'épicatchine (18,08 mg/100 g) et la catéchine (0,66 mg/100 g) (Benbrook, 2005). La teneur des mûres en 4-oxo-flavonoïdes est de 50 mg/kg de poids frais (Milane, 2004). La diversité et la complexité des flavonoïdes des baies dépendent au moins de deux facteurs : la diverse variété d'aglycones et le nombre élevé des glycosides, parfois de la forme acylée et la condensation en molécules complexes (Vattem *et al.*, 2005).

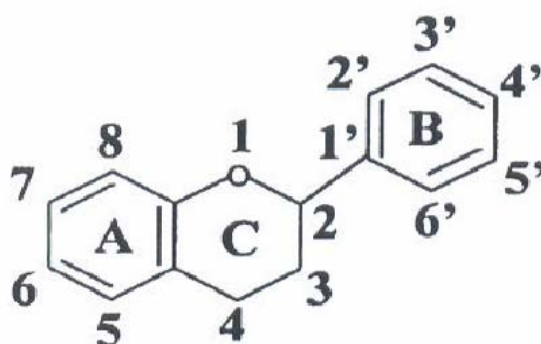


Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes (Fine, 2000)

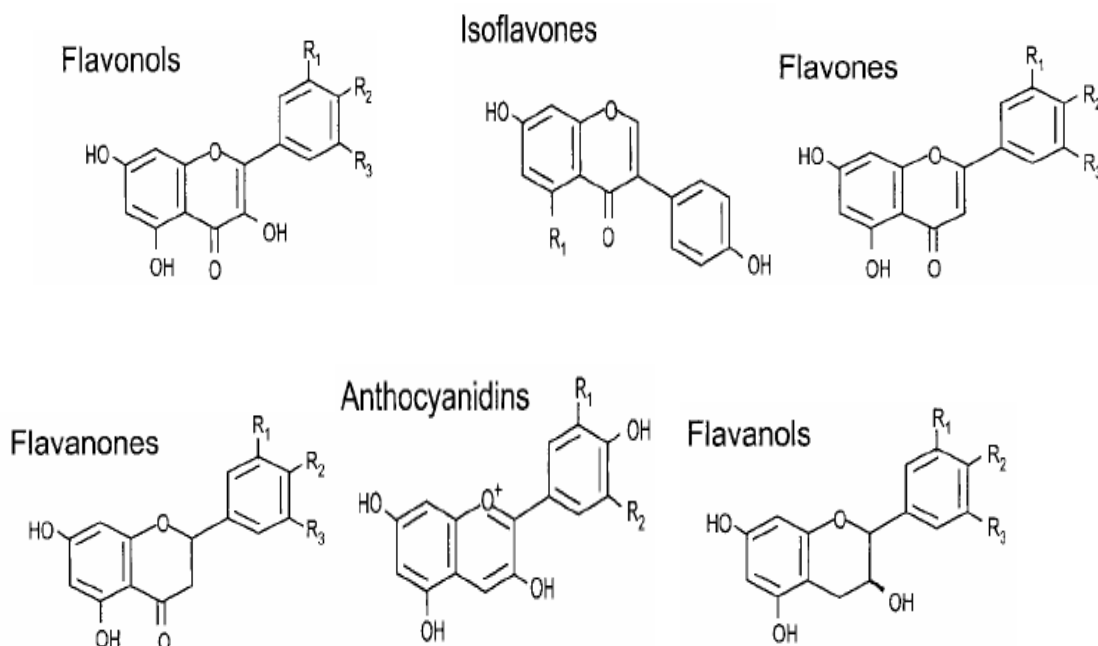


Figure 4 : Structure des principales classes de flavonoïdes (Manach *et al.*, 2004)

➤ Propriétés antioxydantes

La propriété fondamentale des flavonoïdes est leur caractère antioxydant, attribué à leur capacité à piéger une large gamme d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et d'espèces réactives d'azote (RNS), à chélater les ions métalliques, à activer les enzymes antioxydantes et à inhiber les enzymes pro-oxydantes (Grotewold, 2006). En outre, les flavonoïdes maintiennent leur capacité à piéger les radicaux libres après la formation des complexes avec des ions métalliques (Lugasi *et al.*, 2003). Les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

- 1- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- 2- La double liaison C₂-C₃ en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- 3- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C₂-C₃

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à ces trois critères, par conséquent, elle est un flavonoïde actif (figure 5) (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes aglycones sont plus efficaces que leurs formes conjuguées (la quercétine comparé à ses conjuguées : quercétine-3-glucoside) (Hiramatsu *et al.*, 2006). La conversion de 3', 4'-dihydroxyphenyl en 3', 4', 5'-trihydroxyphenyl

augmente l'activité antioxydante pour les anthocyanidines mais diminue l'activité des catéchines (Balasundram *et al.*, 2006).

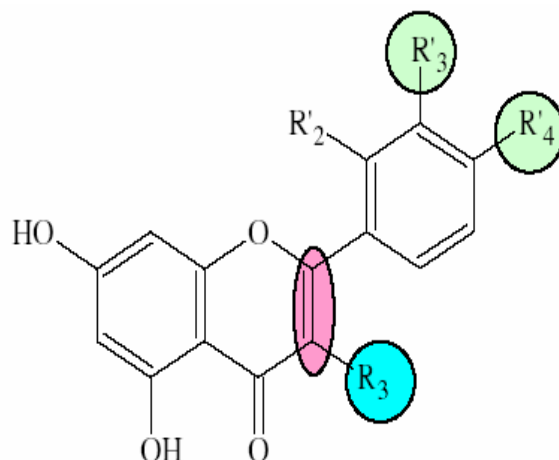


Figure 5 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (Marfak, 2003)

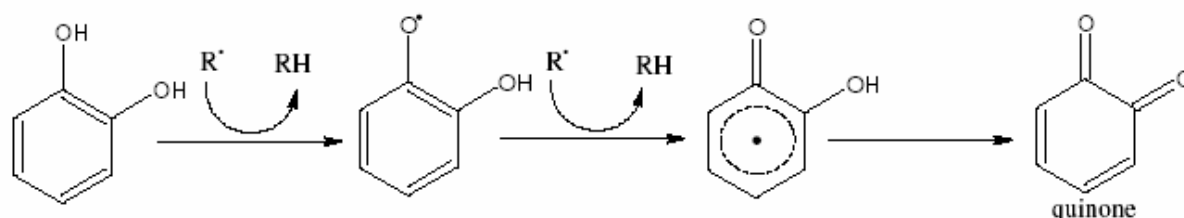
• Piégeage des radicaux libres

En raison de leur faible potentiel redox, les flavonoïdes (Fl-OH) peuvent thermodynamiquement réduire les radicaux libres très oxydés comme les anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$), les radicaux peroxydes, l'alkoxyde ou les radicaux hydroxyles (OH^{\cdot}) par transfert d'hydrogène (Marfak, 2003), grâce à leur groupement hydroxyle (C_3 -OH) fortement réactif en inactivant et en stabilisant les radicaux libres (Ghedira, 2005), selon la réaction suivante :



où R^{\cdot} représente l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle.

Le radical flavonoxy ($Fl-O^{\cdot}$) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable :



Le radical flavonoxy peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet pro-oxydant des flavonoïdes (Marfak, 2003).

La capacité des flavonoïdes d'agir comme antioxydants dépend non seulement du potentiel redox du couple Fl-O[•]/Fl-OH mais aussi de la réactivité du radical flavonoxy.

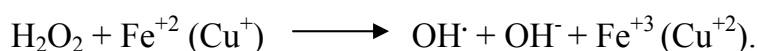
Les catéchines sont d'excellents donneurs d'électrons et des fixateurs efficaces de radicaux libres tel que les anions superoxydes, l'oxyde nitrique et le peroxyde nitrite.

L'effet scavenger de différentes molécules de catéchines est lié au nombre de groupements O-dihydroxyl et O-hydroxyketol, à la concentration, solubilité, et l'accessibilité de groupements actifs aux oxydants. Plusieurs mécanismes importants de fixation de radicaux libres incluent la délocalisation des électrons, formation d'intra et d'inter liaisons hydrogène, réarrangements de molécules et la chélation de métaux (catalyseurs) qui peuvent être impliqués dans l'oxydation.

Le groupement O-trihydroxylé et l'ester 3-gallate dans la catéchine semblent jouer un rôle important dans l'activité antioxydante (effet scavenger) et préviennent l'oxydation de composés biologiques (Watson, 2009).

• Chélation des ions métalliques

Les ions Fe⁺² et Cu⁺ sont essentiels, pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs de différentes enzymes du système de défense antioxydant (Fe pour la catalase, Cu et Zn pour la superoxyde dismutase). Cependant, ils sont aussi responsables de la production des radicaux hydroxyles très toxiques, par la réduction du peroxyde d'hydrogène qui réagit avec le radical superoxyde (en présence de fer) (Lhuillier, 2007 ; Marfak, 2003), selon la réaction suivante :



Cette réaction, appelée réaction de Fenton, est inhibée par certains flavonoïdes (quercétine), par chélation du fer (Lhuillier, 2007), en réduisant ainsi leur capacité à former ces espèces réactives (Halliwell, 2007).

Les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques sont:

- 1- un noyau catéchol sur le cycle B
- 2- les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C
- 3- les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (figure 6) (Marfak, 2003).

• Inhibition d'enzymes

Les flavonoïdes affectent l'activité de nombreux systèmes enzymatiques *in vitro* mais également *in vivo*. Ils inhibent la xanthine oxydase, source biologique importante du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Lhuillier, 2007). Certains flavonoïdes ont la capacité d'inhiber des enzymes clés de la respiration mitochondriale, en particulier la NADH oxydase impliquée dans la génération de ROS.

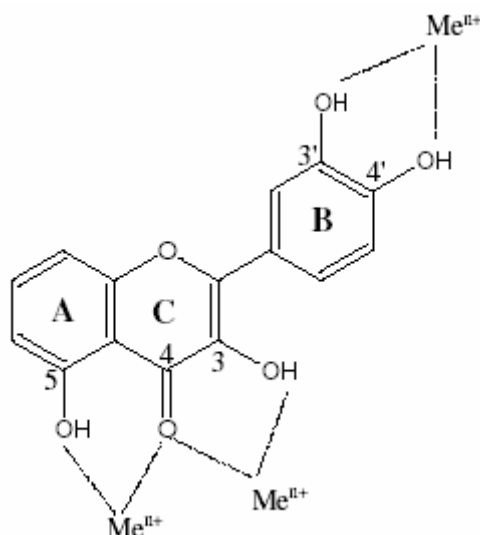


Figure 6: Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me^{n+}) (Marfak, 2003)

Les biflavones inhibent l'activité de la phosphodiesterase adipocytaire (enzyme importante dans le processus lipolytique) (Girotti-Chanu, 2006).

Les flavonoïdes sont également connus par l'inhibition d'autres enzymes impliquées dans la génération de ROS telles que les mono-oxygénases microsomiales.

• Inhibition de la peroxydation lipidique

Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique (Diallo, 2005), puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés. Ils forment des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Milane, 2004).

V.1.3. Les flavonols

Les flavonols sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle à la position 4 (cétone), une double liaison entre C₂ et C₃ et un groupement hydroxyle (C₃). Les flavonols se présentent généralement sous forme de O-glycosides. Le sucre associé est le plus souvent le glucose et le galactose mais d'autres sucres peuvent également être impliqués (xylose, arabinose, rhamnose). Les sucres des flavonols de baies peuvent être acylés avec divers acides (acétique, glutarique, glucuronique, oxalique et caféique) (Yang *et al.*, 2009 ; Zhao, 2007). La fraction glucidique est le plus souvent reliée à la position 7.

Les aglycones flavonoliques les plus répandus dans les baies sont la quercétine, la myricétine et le kaempferol (Seeram, 2006 ; Zhao, 2007), qui diffèrent dans le nombre et la position (C₃-C₅) de groupement OH sur le noyau B.

La composition des flavonols de mûres est très complexe ; elle est constituée de 9 fraction de quercétine et 3 dérivés de kaempferol identifiés, incluant deux composés acylés, quercétine 3-[6-(3-hydroxy-3-méthyl glutaroyl)]-β-galactoside et la quercétine 3-oxalylpentoside. La teneur en flavonols totaux de mûres est faible; elle varie de 102 mg/Kg de matière fraîche pour la variété Chickasaw à 160,2 mg/Kg pour la variété Apache. La variété Thornless contient des teneurs variables de la quercétine (5 à 35 mg/Kg de matière fraîche) et du kaempferol (1 à 3 mg/Kg de matière fraîche) (Zhao, 2007).

➤ Propriétés antioxydantes

La double liaison 2, 3 en relation avec la fonction 4-oxo dans le noyau C de flavonols permet la délocalisation d'électron de noyau B. Par conséquent, elle manifeste un potentiel antioxydant important. La quercétine a une structure semblable à celle de la cyanidine dans les noyaux A et B (les substituants 3, 4-dihydroxy dans le noyau B et la conjugaison entre les noyaux A et B) et elles ont le même nombre et arrangements de cinq groupes d'hydroxyles. Ceci suggère que la quercétine peut contribuer de manière significative au potentiel antioxydant car sa structure satisfait efficacement la stabilisation du radical aryloxy en donnant un atome d'hydrogène (Zhao, 2007).

V.1.4. Les flavanols

Les flavanols existent sous formes monomérique (catéchine) et polymérique (proanthocyanidines). La catéchine et l'épicatchine sont les flavanols principaux des baies, contrairement à d'autres classes de flavonoïdes, les flavanols sont une classe non glycosylée (Manach *et al.*, 2004 ; Seeram, 2006).

V.1.5. Les tannins

Les tannins sont souvent polymérisés; avec des poids moléculaires très élevés (300-20000 Daltons) contenant des groupes hydroxyles suffisants qui permettent la formation des liaisons réticulaires (crosslinks) stables (Kumbasli, 2005); ayant ainsi la propriété de précipiter les protéines (Igor, 2002). Les tannins sont divisés en 4 groupes principaux :

- 1- Les tannins hydrolysables
- 2- Les tannins condensés (les proanthocyanidines)
- 3- Les oxytannins
- 4- Les bêta-tannins et les prototannins

Les oxytannins, les bêta-tannins et les prototannins ont des poids moléculaires faibles ; ils peuvent être considérés comme étant les précurseurs de molécules tanniques plus importantes. Les deux principaux groupes sont les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Kumbasli, 2005).

V.1.5.1. Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables ou tannoïdes, appartiennent à la famille des hétérosides (Igor, 2002); ce sont des polyesters phénoliques de dérivés de sucre. L'unité glycosidique la plus commune est le glucose; ce dernier est estérifié par des acides hydroxyphénoliques principalement les acides gallique et éllagique (ou acide hexahydroxydiphénique) dans les gallotannins et les éllagitannins (figure 7). L'acide gallique est l'unité de base des gallotannins tandis que l'hexahydroxydiphénol plus l'acide gallique sont les sous unités des éllagitannins. L'acide éllagique appartient aux acides hydroxybenzoïques, la teneur la plus élevée de cet

acide est présente dans les ellagitannins des baies. Cependant, sous forme libre, il se présente en faible concentration (Barberà et Gil, 2008).

La variation structurale entre les différentes molécules est causée par la nature du couplage oxydatif entre les unités d'acide gallique ou par l'oxydation des noyaux aromatiques. Les tannins hydrolysables sont hydrolysés par les acides doux, les bases, ou certaines enzymes (tannase) pour libérer du glucose ou un autre alcool polyhydrique, de l'acide gallique ou l'acide phénolique correspondant.

Les éllagitannins des baies sont composés de glucose estérifié avec de l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP). La teneur des mûres en éllagitannins varie de 51,1 à 68,2 mg/100 g ; cette teneur diminue avec la maturation (Zhao, 2007).

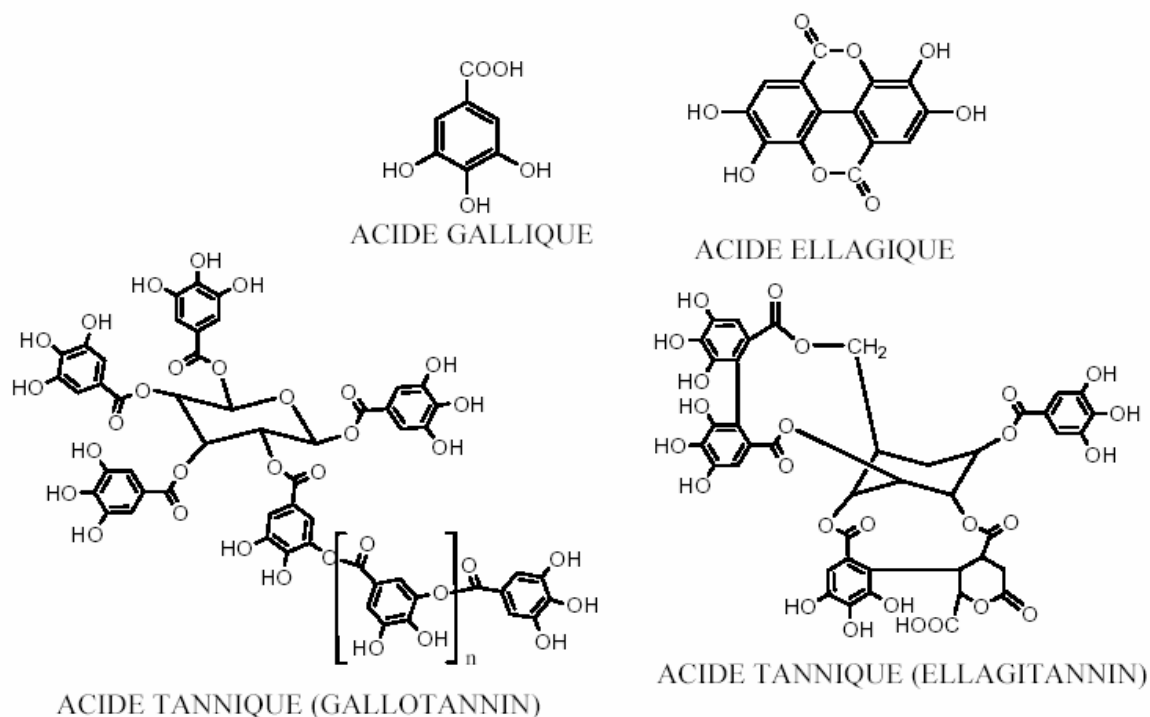


Figure 7 : Structure des tannins hydrolysables et des acides associés

V.1.5.2. Les tannins condensés

Les tannins condensés sont également appelés proanthocyanidines (figure 8), car ils produisent des anthocyanidines quand ils subissent un traitement thermique en présence d'un acide (Peronny, 2005). Ils dérivent des catéchols et des proanthocyanidols par condensation des molécules. Ce sont des polymères de flavan-3-ols (ou catéchines) et de flavan-3,4-diols (ou leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux. Ils ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont hydrolysés

ni par les acides, ni par les tannases, mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges appelées phlobaphènes (dérivés de flavane) (Igor, 2002). Les proanthocyanidines se distinguent par le nombre d'unités monomériques et le type de liaisons les reliant entre-elles. Ainsi, une trentaine de proanthocyanidines dimériques, trimériques et tétramériques ont été identifiées dans les végétaux. Les monomères sont liés entre eux par des liaisons inter-flavonoïdes C₄-C₈, et aussi par des liaisons C₄-C₆ (Abi Azar, 2007).

Les proanthocyanidines des baies incluent les procyanidines, composées exclusivement des unités d'épicatéchine, et les propelargonidines composées exclusivement des unités épiafzelechine. Les procyanidines des mûres sont constituées exclusivement des unités d'épicatéchine. La teneur en proanthocyanidines des mûres est de 27 mg/100 g PF. Elles contiennent une teneur plus élevée d'épicatéchine (1 à 18 mg/100 g PF) que de catéchine (moins de 1 mg/100 g) (Zhao, 2007).

➤ **Propriétés antioxydantes**

Les tannins ont des capacités antioxydantes importantes dues à leurs noyaux phénoliques. Ils sont plus efficaces que les phénols simples. Les tannins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation des lipides (Aouissa, 2002 ; Diallo, 2005 ; Judith, 2005).

Des essais *in vitro* sur différents extraits montrent que les activités antioxydantes varient selon les composés ; vu la richesse des tannins hydrolysables en groupements hydroxyles, ils sont ainsi des antioxydants puissants (Watson, 2009) et de bon piègeurs de radicaux libres. Ils inhibent également l'auto-oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate, et la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes (Aouissa, 2002 ; Judith, 2005).

Les éllagitannins contiennent un grand nombre d'hydroxyles phénoliques groupés dans la position ortho, en vertu de laquelle ils montrent une activité antioxydante élevée. Ces composés contribuent également à l'activité antioxydante des mûres (Daayf et Lattanzio, 2008).

Les proanthocyanidines oligomériques (deux à sept résidus) sont plus efficaces que les monomères. Les polymères sont actifs aussi, mais peuvent présenter des effets indésirables liés à leur capacité à précipiter les protéines (Abi Azar, 2007). *In vitro*, les proanthocyanidines manifestent un effet «scavenger» sur le radical hydroxyle. En plus, ils inhibent la xanthine oxydase, génératrice majeure des radicaux libres.

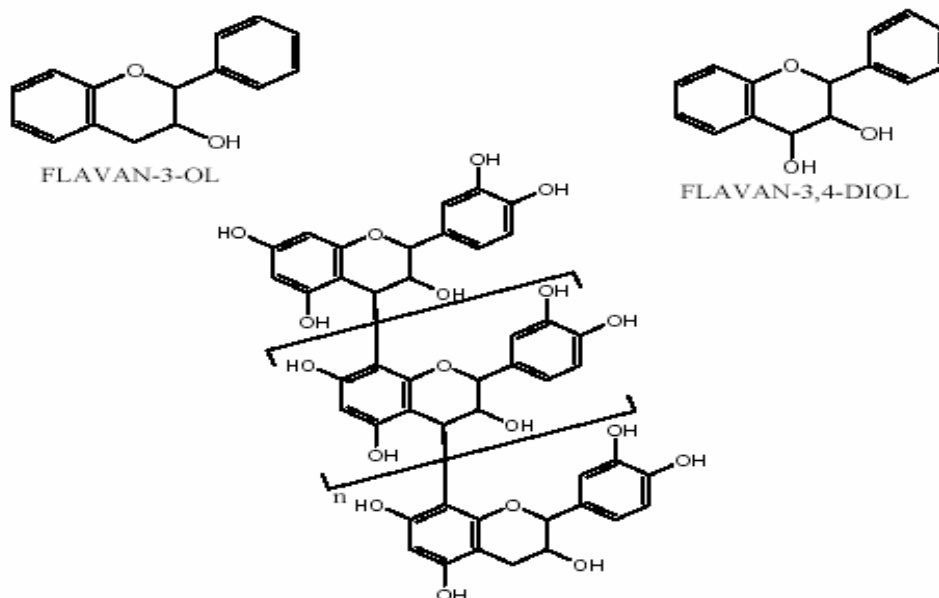


Figure 8 : Structures de tannins condensés

V.1.6. Les anthocyanines

Les anthocyanines (du grec antho = fleurs et kyanos = bleu) sont des pigments hydrosolubles, responsables de la plupart des couleurs, rouges, bleues et pourpres des tissus végétaux. Ils diffèrent aussi des flavonoïdes par leur capacité à former des structures de résonance par des changements de pH. Ils existent sous 4 formes moléculaires dans une solution aqueuse, leur couleur relative dépend du pH (Bagchi *et al.*, 2004). Les anthocyanines sont des dérivés glycosylés polyhydroxylés ou polyméthoxylés des sels de 2-phénylbenzopyrylium ou de flavylium (figure 9) (Galvano *et al.*, 2007 ; Pergola *et al.*, 2006 ; Zhao, 2007).

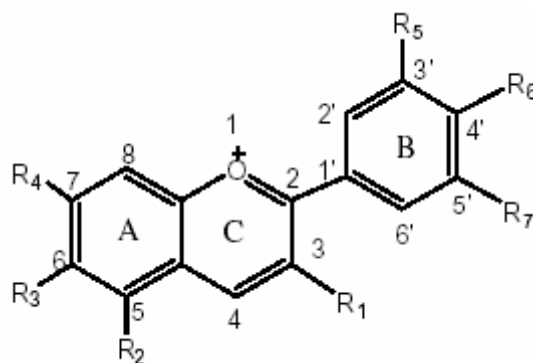


Figure 9 : Structure générale des anthocyanines.

Les anthocyanines comportent 2 ou 3 parties : la base aglycone (ou anthocyanidine), les sucres et souvent des groupements acylés (Zhao, 2007). Les anthocyanidines ont en commun une hydroxylation de l'ion flavylum aux positions C₃, C₅, et C₇, tandis qu'elles diffèrent entre elles par le degré de substitution des groupements hydroxyles et/ou des groupements méthoxyles sur le noyau B (Lohachoompol *et al.*, 2008 ; Meskin *et al.*, 2008).

Généralement, la glycosylation se produit avec l'hydroxyle sur la position C₃, bien que les groupements hydroxyles sur C₅ et C₇ puissent également être glycosylés. Les oses liés aux anthocyanidines incluent le rhamnose, le glucose, le galactose et l'arabinose. Dans beaucoup de cas, les résidus d'oses sont acylés avec des acides aromatiques (acides p-coumarique et caféique) (Bureau *et al.*, 2009). Les oses des anthocyanines des baies peuvent être acylés avec des acides aliphatiques tels que les acides acétique, malonique, succinique et oxalique. La variation de substitutions glycosidiques et aliphatiques produit un large spectre de couleur dans les fruits (les baies) (Zhao, 2007).

Une augmentation du nombre de groupements hydroxyles produit des couleurs bleues plus foncées, tandis qu'un plus grand nombre de groupements méthoxyles produit une couleur rouge foncée (Meskin *et al.*, 2008). Les anthocyanines sont beaucoup plus stables que les anthocyanidines (Zhao, 2007). La glycosylation et l'acylation des sucres augmentent la stabilité des anthocyanidines (Meskin *et al.*, 2008). En outre, les anthocyanines sont plus stables par la formation des complexes avec d'autres flavonoïdes (copigmentation).

Les baies sont une source particulière d'anthocyanines. La teneur de l'arbose en ces composés est de 1,01mg/g (Pallauf *et al.*, 2008). Les mûres renferment aussi une teneur importante d'anthocyanines qui varie de 67,4 à 230 mg/100 g de poids frais (Wang et Xu, 2007). La cyanidine-3-O-glucoside représente environ 85 % des anthocyanines de ce fruit (Serraino *et al.*, 2003).

➤ Propriétés antioxydantes

Les composés qui sont plus faciles à s'oxyder sont souvent les meilleurs antioxydants (les molécules qui peuvent céder un électron libre ou des atomes d'hydrogène aux radicaux libres réactifs). Les anthocyanidines et les anthocyanines ont manifesté une activité antioxydante plus élevée que les vitamines C et E. Ces composés peuvent piéger les radicaux libres par le transfert d'hydrogène, d'où leur activité anti-carcinogène.

Les anthocyanines inhibent l'oxydation de l'acide ascorbique par la chélation des ions métalliques et finalement par la formation d'un complexe acide ascorbique-ion métallique-anthocyanine (Jaldappagari *et al.*, 2008). Cependant cette complexation avec les métaux, réduit la capacité antioxydante de l'anthocyanine, car l'atome d'oxygène est lié à l'ion métallique, pour former un complexe tel que Al-anthocyanine.

Les anthocyanines inhibent la dégradation du désoxyribose par les radicaux hydroxyles, en agissant principalement comme chélateurs des ions de fer. *In vitro*, l'oxydation enzymatique et non enzymatique des acides gras polyinsaturés est significativement inhibée par les anthocyanines. Leurs effets ont été expliqués par plusieurs mécanismes dont le transfert d'hydrogène, la chélation de métaux et la liaison aux protéines (enzymes génératrices de ROS) (Jaldappagari *et al.*, 2008).

La cyanidine 3-glucoside, une anthocyanine existant dans les mûres a une capacité antioxydante élevée (Tiwari *et al.*, 2009a ; Tiwari *et al.*, 2009b) ; elle possède un effet scavenger contre les peroxy-nitrites et elle a des effets protecteurs *in vitro* contre le dysfonctionnement endothélial induit par les peroxy-nitrites. L'activité antioxydante exercée dans la membrane liposomique par différents glycosides de la cyanidine (arabinoside, rutinoside, galactoside et glucoside) est supérieure à celle du

trolox (analogue de la vitamine E) dans le cas de l'oxydation de liposome induit par le fer. La cyanidine 3-glucoside et la cyanidine 3-rutinoside sont les deux anthocyanines qui ont montré une bonne capacité antioxydante contre les radicaux peroxydes, peroxy-nitrites, et les radicaux hydroxyles.

Dans un test *in vitro* sur des fibroblastes humains, la cyanidine 3-glucoside réduit significativement la production des espèces radicalaires et prévient les dommages de l'ADN génomique dus à l'ochratoxine A.

L'exposition de la cyanidine ou du DNA aux radicaux hydroxyles (OH^\cdot), cause des dommages oxydatifs graves. Cependant, la formation du complexe cyanidine-ADN avant l'exposition aux radicaux hydroxyles protège l'ADN et même la cyanidine contre ces dommages oxydatifs. Basé sur ces faits, la complexation cyanidine-ADN pourrait être un mécanisme de défense contre les dommages oxydatifs de l'ADN et pourrait avoir des fonctions physiologiques normales *in vivo* (Jaldappagari *et al.*, 2008).

La glycosylation et l'acylation peuvent également affecter la capacité antioxydante. L'acylation avec les acides cinnamiques augmente la capacité antioxydante des anthocyanines (Zhao, 2007).

V.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles et sont des constituants membranaires des chloroplastes (Aouissa, 2002). Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de huit unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins dix doubles liaisons conjuguées). Les caroténoïdes contribuent à la prévention de différentes maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, différents types de cancer, la dégénérescence maculaire, renforcent le système immunitaire et ils ont un effet protecteur contre l'artériosclérose, comme ils ont aussi des fonctions antioxydantes (diminuent les dommages de l'ADN, réduisent la peroxydation lipidique, et inhibent la prolifération des cellules cancéreuses).

➤ Propriétés antioxydantes

a) Piégeage de l'oxygène singulet

Les caroténoïdes ont un effet scavenger sur les espèces réactives oxygénées en particulier l'oxygène singulet (El-Agamey *et al.*, 2004), composé généré par des réactions photochimiques ou enzymatiques ou par le processus de la peroxydation lipidique des biomembranes (Di Mascio *et al.*, 1991). Les caroténoïdes interagissent avec l'oxygène singulet par un mécanisme de piégeage physique, dont lequel l'excès d'énergie est transféré de l'oxygène singulet vers la molécule de caroténoïde, qui le disperse sous forme de chaleur.

b) Piégeage des radicaux libres

Les caroténoïdes réagissent avec les radicaux libres de trois manières principales :

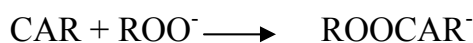
- **Transfert d'électron** : les caroténoïdes peuvent céder un électron aux radicaux libres pour former un radical caroténoïde cationique (El-Agamey *et al.*, 2004)



- **Transfert d'hydrogène** : les caroténoïdes peuvent inhiber les radicaux libres par transfert d'un atome d'hydrogène

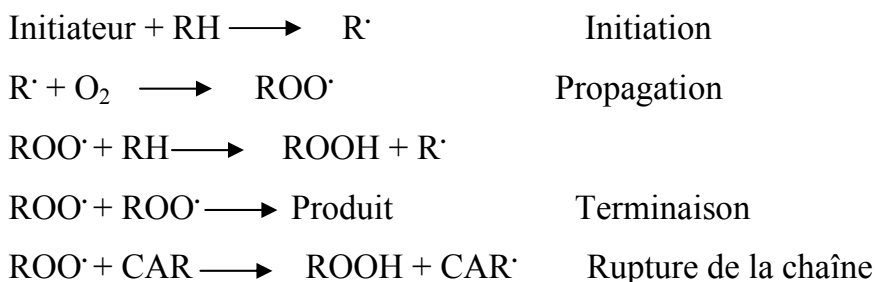


- **Addition**: les caroténoïdes neutralisent les radicaux libres



L'efficacité de ces trois réactions dépend d'un nombre de facteurs incluant la nature des radicaux libres et la structure de caroténoïde (El-Agamey *et al.*, 2004).

Les caroténoïdes peuvent inhiber la peroxydation lipidique par un piégeage rapide et efficace des radicaux peroxydes qui se manifeste dans des réactions en chaîne :



Le dérivé de l'antioxydant résultant (CAR[·]) perturbe ainsi la réaction en chaîne par le transfert d'un atome d'hydrogène (El-Agamey *et al.*, 2004).

Les caroténoïdes peuvent piéger les radicaux libres en diminuant le taux de formation de méthyle linoléate hydroperoxyde (Di Mascio *et al.*, 1991).

V.3. L'acide ascorbique

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est l'un des métabolites végétaux. Plusieurs baies sont connues par leur teneur élevée en cet acide. La teneur des mûres est de 21 mg/100 g PF (Zhao, 2007). L'acide ascorbique a des propriétés réductrices dues à sa structure énediol, qui est conjuguée avec le groupement carbonyle dans le noyau lactone. En présence de l'oxygène, l'acide ascorbique est dégradé en acide déhydro-ascorbique (DHA), qui maintient encore son activité vitaminique. Cependant avec d'autre oxydation, le noyau lactone de DHA est détruit, ayant pour résultat la formation de l'acide 2, 3 diketogulonique et perte de l'activité vitaminique (Wildman, 2007).

Des recherches ont démontré le rôle de l'acide ascorbique dans la prévention de maladies tel que le cancer, les maladies cardiovasculaires, la stimulation de système immunitaire et la cataracte (Cemeli *et al.*, 2008 ; Wildman, 2007). La prévention de ces maladies chroniques pourrait être attribuée à sa fonction réductrice (Wildman, 2007) en favorisant par exemple l'activité de l'oxydase par la réduction de O-quinone en O-diphénolique (Zhao, 2007). L'acide ascorbique possède une activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxydes, superoxydes, peroxydites, le peroxyde d'hydrogène ainsi que contre le dioxygène singulet (Ré *et al.*, 2005 ; Tsivgoulis *et al.*, 2004). A l'extérieur de la cellule, l'acide ascorbique fonctionne en synergie avec la vitamine E (Cemeli *et al.*, 2008 ; Pham-Huy *et al.*, 2008) présente dans les membranes lipidiques, en piégeant les radicaux libres et prévient ainsi la peroxydation des lipides. De cette manière la vitamine C protège les lipoprotéines de basse densité de l'oxydation qui pourraient être les facteurs majeures de l'athérosclérose. Une étude a montré que la consommation de la vitamine C après 2 à 4 heures, manifeste une protection de l'ADN (isolé des lymphocytes) contre le peroxyde d'hydrogène (Cemeli *et al.*, 2008).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Echantillonnage

Trois échantillons d'arbose et trois échantillons de mûre ont été sélectionnés pour notre étude (tableau II) ; ils ont été récoltés de manière aléatoire. Chaque échantillon mesurant environ 450 g est choisi sur la base de critères suivants : les fruits sélectionnés sont mûrs et ne présentent pas de blessure ou d'infection ; ils ont été conservés par congélation à -18°C.

Tableau II : Caractéristiques des fruits analysés

Fruit	Echantillon	Origine	Date de récolte	Nom scientifique	Caractéristiques
Arbouse	A1	Toudja	10/2008	<i>Arbutus unedo</i>	Grosses baies, globuleuses, pendantes, hérissées de tubercules pyramidaux, à la fin rouges, à loges contenant chacune 4-5 graines.
	A2	El-Kseur	11/2008		
	A3	Aokas	12/2008		
Mûre	M1	Oued-Ghir	10/2008	<i>Rubus ulmifolius</i>	Fruit charnu bacciforme, constitué de petites drupes (drupéoles) noires et rapprochées sur le réceptacle.
	M2	El-kseur	10/2008		
	M3	Aboudaou	11/2008		

II. Dosage des antioxydants

II.1. Les composés phénoliques

II.1.1. Préparation des extraits

0,5 g de fruit broyé sont homogénéisés avec 50 ml de solvant d'extraction (eau pure, eau + HCl 1%, éthanol 30%, éthanol pur). Après agitation pendant 40 min, le mélange est centrifugé à 3000 rpm à 10°C pendant 30 min. Le surnageant récupéré et filtré constitue l'extrait ; il est congelé à -18°C puis analysé.

II.1.2. Les polyphénols totaux

La méthode de Kähkönen *et al.* (1999) a été utilisée ; 200 µl d'extrait sont ajoutés à 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 minutes, 800 µl de carbonate de sodium à 7,5% ont été ajoutés ; l'absorbance est mesurée à 715 nm. Les teneurs en polyphénols

totaux sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (figure 1a, annexes); elles sont exprimées en mg d'acide gallique/100 g de matière sèche (MS).

II.1.3. Les flavonoïdes et les flavonols

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode décrite par Verzelloni *et al.* (2007) ; 1 ml d'extrait est mélangé avec 30 µl de nitrite de sodium (5%) et 30 µl de chlorure d'aluminium (10%). Après 5 minutes d'incubation, le mélange est additionné à 200 µl d'hydroxyde de sodium (1M) et à 240 µl d'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 510 nm après 10 minutes d'incubation. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent catéchine par 100 g MS, par référence à une courbe d'étalonnage (figure 1b, annexes).

Le dosage des flavonols est réalisé en utilisant le chlorure d'aluminium (2%) et l'acétate de sodium. Après 40 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 440 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée avec la quercétine (figure 1c, annexes); les résultats sont exprimés en mg/100 g MS.

II.1.4. Les tannins condensés

A 700 µl d'extrait sont additionnés 3 ml de vanilline (4%) et 1,5 ml d'acide chlorhydrique. Après 20 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 500 nm (Mélo *et al.*, 2006). Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine /100 g MS (figure 1d, annexes).

II.1.5. Les anthocyanines

0,5 g d'échantillon broyé sont additionnés à 10 ml d'acétone à 80% contenant 0,2% d'acide formique. Après agitation pendant 40 minutes, le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 30 minutes à 4°C. Deux dilutions d'extrait de fruit sont préparées, l'une avec une solution tampon de potassium à pH=1 et l'autre avec le tampon acétate de sodium à pH=4,5. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 510 et 700 nm. La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par 100 g MS en utilisant un coefficient d'extinction molaire (ϵ) de la

cyanidine-3-glucoside. Selon Elisia *et al.* (2007), la teneur en anthocyanines est calculée selon la formule suivante : $C \text{ (mg/l)} = A.MW.FD.1000 / \epsilon$
MW (poids moléculaire) = 449,2 g/ mole de cyanidine-3-glucoside.
 ϵ (coefficient d'extinction molaire) = 26900 l.mol⁻¹.cm⁻¹;

FD : Facteur de dilution

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}$$

II.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont déterminés selon la méthode de Sass-Kiss *et al.* (2005). 1 g de broyat de fruit est additionné à 10 ml du mélange n-hexane : acétone : éthanol (2 : 1 : 1). Après une agitation de 30 min, la phase supérieure (hexanique) est prélevée et la procédure est répétée. Les extraits obtenus sont mélangés et dilués jusqu'à un volume de 10 ml avec de l'hexane. L'absorbance est mesurée à 440 nm. Les résultats sont exprimés en mg de β -carotène/100g MS, en se référant à une courbe d'étalonnage (figure 1e, annexes).

III. Activité antioxydante

III.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits est mesuré selon la méthode décrite par Gülçin *et al.* (2002). 2,5 ml d'extrait sont additionnés à 2,5 ml d'une solution tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6) et de 2,5 ml de ferricyanure de potassium (1%). Après une incubation de 20 minutes à 50°C; 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 minutes d'incubation, 2,5 ml d'eau distillée et 500 μ l de chlorure ferrique (0,1%) ont été ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique /100 g MS (figure 1f, annexes).

III.2. Activité antiradicalaire

La capacité des extraits à fixer les radicaux libres est mesurée selon la méthode de Jakobek *et al.* (2007). 100 μ l d'extrait ont été ajoutés à 900 μ l de solution de DPPH (1millimole). Après une heure et 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Le pouvoir antiradicalaire est exprimé en pourcentage :

$$\text{Pouvoir antiradicalaire} = [(ABS \text{ témoin} - ABS \text{ échantillon}) / ABS \text{ témoin}] \times 100$$

III.3. Inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique

L'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique est évaluée selon Yen et Hsieh (1998). Dans des tubes à essai, 250 µl d'extrait sont mélangés avec 1,25 ml d'acide linoléique (2,51%) et 1 ml d'une solution tampon de phosphate (0,2 M, pH=7), ensuite, les tubes sont incubés à l'obscurité à 37°C. Chaque 24 h, un volume de 50 µl est transféré dans un tube à essai. 2,35 ml d'éthanol (75%) et 50 µl de thiocyanate d'ammonium (30%) sont ajoutés au tube successivement. Trois minutes après l'ajout de 50 µl du chlorure ferreux, l'absorbance est mesurée à 500 nm. Cette procédure est répétée jusqu'à ce que l'absorbance du témoin atteigne la valeur maximale. Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation est calculé comme suit :

$$I_{A.linoléique}(\%) = [1 - (ABS \text{ échantillon} / ABS \text{ témoin})] \times 100$$

III.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

Une aliquote de 1 ml d'extrait est additionnée à 0,6 ml d'une solution de peroxyde d'hydrogène (40millimole), préparée dans une solution tampon de phosphate à pH=7,4. Un blanc est préparé de la même façon mais sans H₂O₂. Après incubation pendant 10 minutes à température de laboratoire, l'absorbance est mesurée à 230 nm. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(At - Ae) / At] \times 100$$

où **At** est l'absorbance de témoin et **Ae** est l'absorbance de l'extrait (Atmani *et al.*, 2009).

IV. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. Pour la comparaison des résultats, l'analyse de la variance, (STATISTICA 5.5) est utilisée et le degré de signification de données est pris à la probabilité P<0,05.

Résultats et discussion

I. Les antioxydants

I.1. Les composés phénoliques

Pour comparer l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques de l'arbose et de la mûre, 4 solvants ont été utilisés : l'eau pure, l'eau acidifiée avec l'acide chlorhydrique (1%), l'éthanol 30% et l'éthanol 100%. Les teneurs en composés phénoliques des échantillons des deux fruits sont présentées sur la figure 10. Les 4 solvants utilisés ont donné des teneurs en composés phénoliques différentes selon le fruit; à l'exception des extraits éthanoliques 100%, les extraits de la mûre sont beaucoup plus riches que ceux de l'arbose.

Pour l'arbose, les teneurs présentent des différences significatives ($P < 0,05$) selon le solvant d'extraction. La teneur la plus élevée (2,13g/100g) est obtenue avec l'éthanol 100%, alors que les teneurs les plus faibles sont celles des extraits aqueux et des extraits aqueux acidifiés, sans différence significative (1,53 et 1,34 g/100g).

Pour la mûre, les extraits éthanoliques 100% ont la teneur la plus faible en composés phénoliques (1,66g/100g). Les teneurs des autres extraits ne présentent pas de différence significative ($P < 0,05$) selon le solvant (3,15 ; 3,27 ; 3,26 g/100g).

La variation des teneurs pour les différents extraits est attribuée à la polarité de polyphénols présents dans les fruits. La faible teneur des extraits aqueux de l'arbose en composés phénoliques pourrait être due à la polyphénol oxydase qui oxyde ces composés dans les extraits aqueux, alors que dans l'éthanol, l'enzyme est inactive. La teneur élevée en polyphénols des extraits éthanoliques 100% de l'arbose pourrait être attribuée à l'éthanol qui cause l'instabilité de la membrane cellulaire, facilitant ainsi l'extraction de ces substances.

Selon Jakopič *et al.* (2009), la teneur en composés phénoliques dépend fortement de type et de la concentration de solvant ; l'éthanol est plus efficace que l'eau pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la peau d'arachide et de l'enveloppe d'amande. Les solvants les moins polaires sont plus adéquats pour l'extraction des composés phénoliques lipophiles (Allothman *et al.*, 2009); par conséquent, la teneur élevée des extraits éthanoliques 100% de l'arbose en polyphénols par rapport aux autres extraits pourrait être due à sa richesse en composés phénoliques lipophiles.

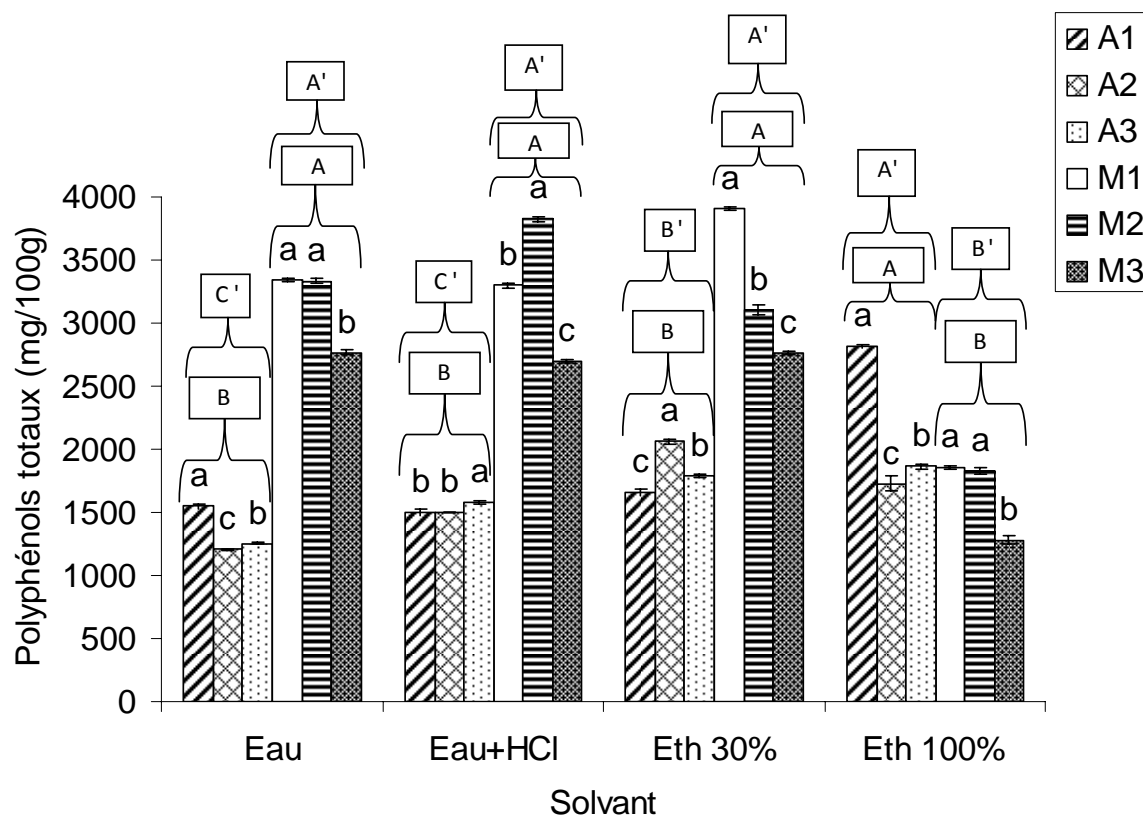


Figure 10 : Teneur en composés phénoliques des extraits de fruits

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a > b > c$)

A et B : effet du fruit ; A', B', C' : effet du solvant ; a, b et c : effet de l'échantillon pour chaque type de fruit

La faible teneur des extraits éthanoliques 100% indique que les polyphénols des mûres n'ont pas une affinité pour l'éthanol 100% et cela peut être expliqué par la faible solubilité des composés phénoliques polaires présents dans les extraits à l'éthanol 100% en raison de sa faible polarité par rapport aux autres solvants utilisés. Concernant la mûre, nos résultats concordent également avec ceux de Li *et al.* (2006) qui ont montré que lorsque la concentration de l'éthanol est supérieure à 85%, l'efficacité de l'extraction des polyphénols à partir des écorces d'agrumes diminue. Selon Alothman *et al.* (2009), la solubilité des composés phénoliques augmente avec la polarité du solvant ; ce qui est en accord avec les résultats obtenus pour la mûre.

➤ Composés phénoliques des extraits à l'éthanol 30%

Les teneurs en composés phénoliques des échantillons présentent des différences significatives ($P < 0,05$) au sein du même fruit; elles varient de 1,65 (A1 : Toudja) à

2,06 g/100g (A2 : El-Kseur), pour l'arbose et de 2,76 (M3 : Aboudaou) à 3,91 g/100g (M1 : Oued-Ghir) pour la mûre.

Pallauf *et al.* (2008) ont rapporté une teneur en composés phénoliques pour l'arbose de 1,46 g/100g MS. Concernant la mûre, nos résultats (546 à 991,51 mg/100g MF) confirment ceux de Zhao (2007) (114 à 1056 mg/100g MF).

Mertz *et al.* (2007) ont enregistré une teneur de 4250 mg/100g MS avec une espèce de mûres (*Rubus adenotrichus*) et une teneur de 6300 mg/100g MS avec une autre espèce (*Rubus glaucus*). Pantelidis *et al.* (2007) ont relevé des teneurs qui varient de 1703 à 2349 mg/100g MS (mûre) pour l'espèce *Rubus fruticosus*. Dai *et al.* (2009) ont constaté que les teneurs varient de 2291 à 2578 mg/100g MF (mûres). Selon Koca et Karadeniz (2009), la teneur des mûres sauvages en composés phénoliques varie de 264 à 379 mg/100g MF, et la teneur des mûres cultivées varie de 173 à 305 mg/100g MF. Soufi (2009) a obtenu des teneurs qui varient de 3,36 à 4,78 g/100g MS de mûres avec l'acétone 50%.

I.2. Les flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits présentent des différences significatives ($P < 0,05$) selon le fruit (la mûre est beaucoup plus riche que l'arbose), le solvant d'extraction et l'origine géographique ; les extraits éthanoliques 100% des deux baies ont des teneurs similaires à $P < 0,05$. L'éthanol 30% permet d'extraire plus de flavonoïdes que les autres solvants pour les deux fruits (figure 11).

Pour l'arbose, les extraits éthanoliques 30% et 100% ont donné des teneurs élevées sans différence significative (349,9 et 389,3 mg/100g respectivement). Les extraits aqueux présentent une teneur moyenne ; la plus faible teneur est obtenue avec l'eau acidifiée (155,63 mg/100g).

Pour la mûre, la teneur la plus élevée est obtenue avec l'éthanol 30% (910,8 mg/100g) et la plus faible avec l'éthanol 100% (504,2 mg/100g).

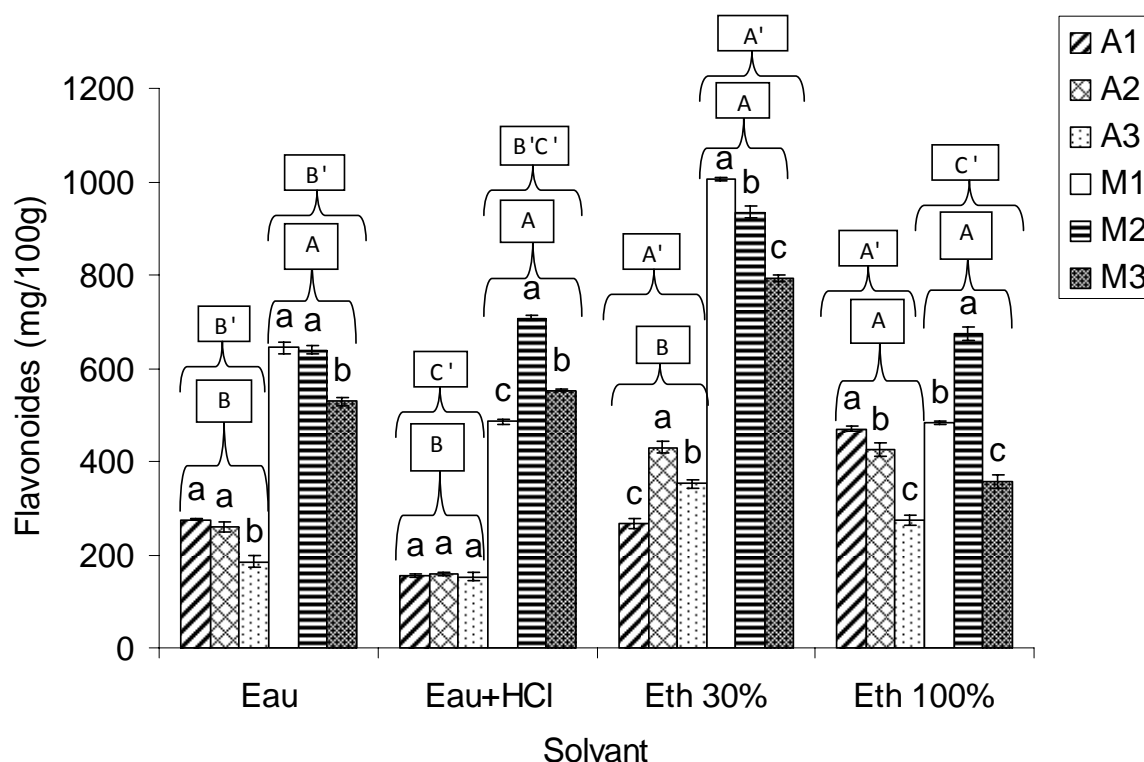


Figure 11 : Teneur en flavonoïdes des échantillons analysés

La faible teneur des extraits aqueux acidifiés de l'arboise pourrait être attribuée au pH de l'extrait qui n'est pas adéquat pour hydrolyser les flavonoïdes glycosides (Hurst, 2008). Selon Pompeu *et al.* (2009), l'acide chlorhydrique favorise la rupture des parois cellulaires des fruits à des faibles concentrations et extrait ainsi les composés phénoliques (flavonoïdes). L'addition d'eau à l'éthanol pur améliore l'extraction des flavonoïdes de la mûre. La faible teneur des extraits à l'éthanol 100% de mûre pourrait être due à sa faible polarité par rapport aux autres solvants, pour dissoudre les flavonoïdes présents dans ces extraits (Izadifar, 2009).

➤ Flavonoïdes des extraits à l'éthanol 30%

Les teneurs en flavonoïdes des échantillons analysés sont significativement différentes ($P < 0,05$) au sein de même fruit ; elles varient de 266,82 (A1 : Toudja) à 430,09 mg/100g (A2 : El-Kseur), pour l'arboise et de 792 (M3 : Aboudaou) à 1005,34 mg/100g (M1 : Oued-Ghir), pour la mûre.

Les résultats de Males *et al.* (2006) montrent que les teneurs en flavonoïdes de l'arbose varient de 0,1% à 0,29% MS. Les différences constatées pourraient être dues à plusieurs facteurs tels que le type du sol, les conditions microclimatiques, la position géographique, le site, l'âge et le stade de maturité des fruits.

Dans une analyse par chromatographie (HPLC) des mûres, Hassimotto *et al.* (2008) ont obtenu des teneurs en flavonoïdes comprises entre 123 et 213 mg/100g MF. Soufi (2009) a noté des teneurs qui varient de 785 à 1336 mg/100g MS de mûres (extraits à l'acétone 50%).

L'analyse statistique des résultats de la présente étude révèle l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits ($r= 0,82$) (figure 2, annexes).

I.1.2. Les flavonols

Les teneurs en flavonols des échantillons analysés varient significativement ($P<0,05$) selon le solvant, le fruit (la mûre est beaucoup plus riche que l'arbose) et l'origine géographique (figure 12). La teneur la plus élevée dans le cas de l'arbose (202,2 mg/100g) est obtenue avec l'éthanol 100%, alors que les teneurs les plus faibles sont celles des extraits aqueux acidifiés et des extraits éthanoliques 30%, sans différence significative (47,2 et 32,8 mg/100g). Pour la mûre, la teneur la plus élevée (380,3 mg/100g) est obtenue avec l'éthanol 100% et la plus faible (156,6 mg/100g) avec l'eau acidifiée. L'efficacité de l'extraction des flavonols dépend fortement de type de solvant et de la polarité de composés à extraire.

L'hydrolyse des flavonoïdes glycosides (acide chlorhydrique) peut être requise avant l'analyse. La faible teneur des extraits aqueux acidifiés de la mûre et de l'arbose pourrait être due au pH des extraits, inadéquat pour extraire les flavonols. La faible teneur des extraits éthanoliques 30 % de l'arbose pourrait être expliquée par la polarité de solvant.

Il n'existe pas un meilleur solvant pour l'extraction des antioxydants ; cela pourrait être attribué à la diversité des composés phénoliques de polarité très variable (aglycone, glycosylé, acétylé, estérifié, etc.). En plus, les flavonols peuvent être associés aux différentes structures cellulaires dont les protéines et les lipides.

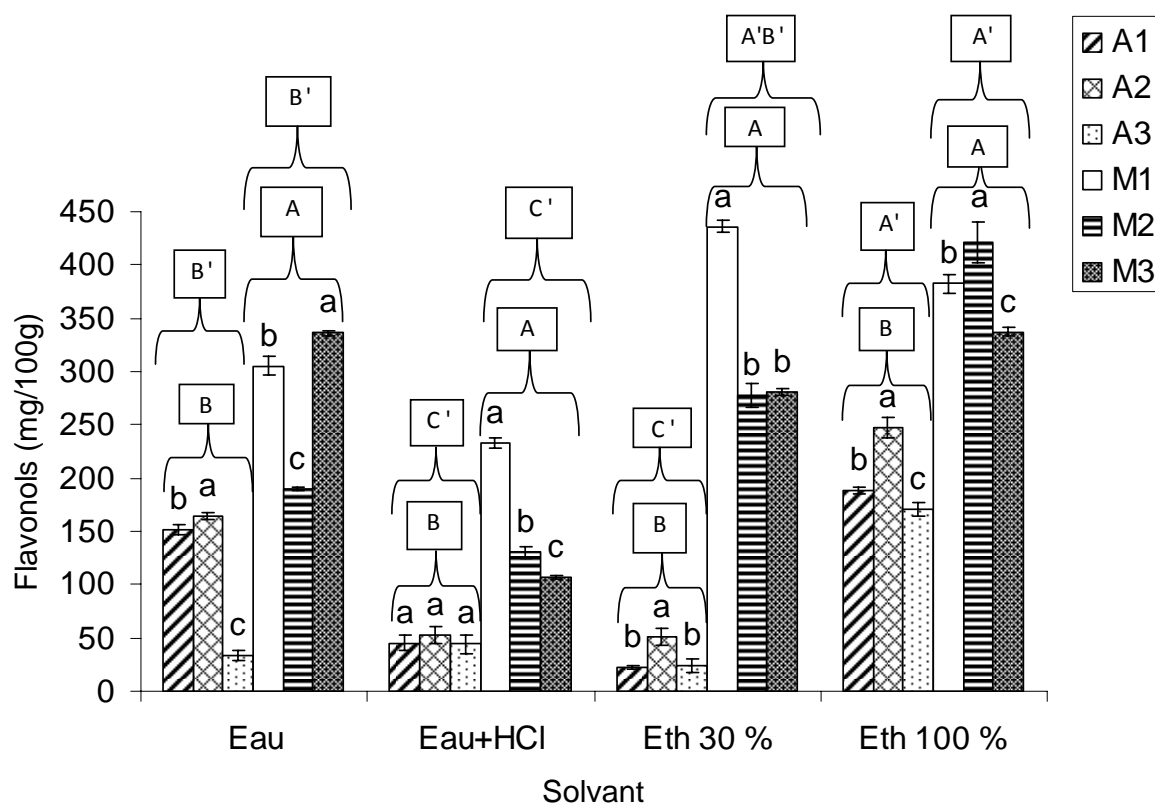


Figure 12 : Teneur en flavonols des échantillons analysés

➤ Flavonols des extraits éthanoliques 100 %

Les teneurs en flavonols des échantillons analysés sont significativement différentes ($P < 0,05$) au sein de même fruit ; elles varient de 170,8 (A3 : Aokas) à 247,2 mg/100g (A2 : El-Kseur) pour l'arbutus, et de 336,9 (M3 : Aboudaou) à 421,1 mg/100g (M2 : El-Kseur) pour la mûre. Pour l'arbutus, Zhao (2007) et Pallauf *et al.* (2008) ont enregistré des teneurs en flavonols de 4 à 30 mg/100g MF et de 1,14mg/100g MF, respectivement.

L'analyse statistique indique l'existence d'une bonne corrélation positive entre les teneurs en flavonols et en polyphénols totaux des extraits à l'éthanol 30% ($r = 0,98$) (figure 3A, annexes) et d'une faible corrélation des extraits de quatre solvants utilisés (0,39) (figure 3B, annexes). Cette étude a également montré l'existence de bonnes corrélations entre les teneurs en flavonols et en flavonoïdes des extraits à l'éthanol 30% ($r = 0,97$) (figure 3C, annexes) et des extraits de quatre solvants utilisés ($r = 0,67$) (figure 3D, annexes).

I.1.3. Les tannins condensés (proanthocyanidines)

Les teneurs en tannins condensés varient selon le fruit (la mûre est beaucoup plus riche que l'arbose), le solvant d'extraction et l'origine géographique (figure 13).

Les teneurs les plus élevées dans le cas de l'arbose (434,5 et 496,8 mg/100g) sont obtenues avec l'éthanol 30% et 100%, sans différence significative ; les teneurs les plus faibles (98 et 123,6 mg/100g) sont celles des extraits aqueux et des extraits aqueux acidifiés qui ne présentent pas de différence significative ($P < 0,05$).

Pour la mûre, les teneurs les plus élevées (2,72 et 2,66 g/100g) sont obtenues avec les extraits éthanoliques 30% et 100%, sans différence significative ($P < 0,05$), alors que la teneur la plus faible (309,8 mg/100g) est celle de l'eau acidifiée.

Les teneurs élevées des extraits éthanoliques 30% et 100% de l'arbose pourraient être attribuées au poids moléculaire important des tannins condensés, ce qui fait que ces tannins se dissolvent plus facilement dans les solvants moins polaires (éthanol) que les solvants polaires (eau). Ceci laisse suggérer que la plupart des tannins condensés de l'arbose sont d'une faible polarité.

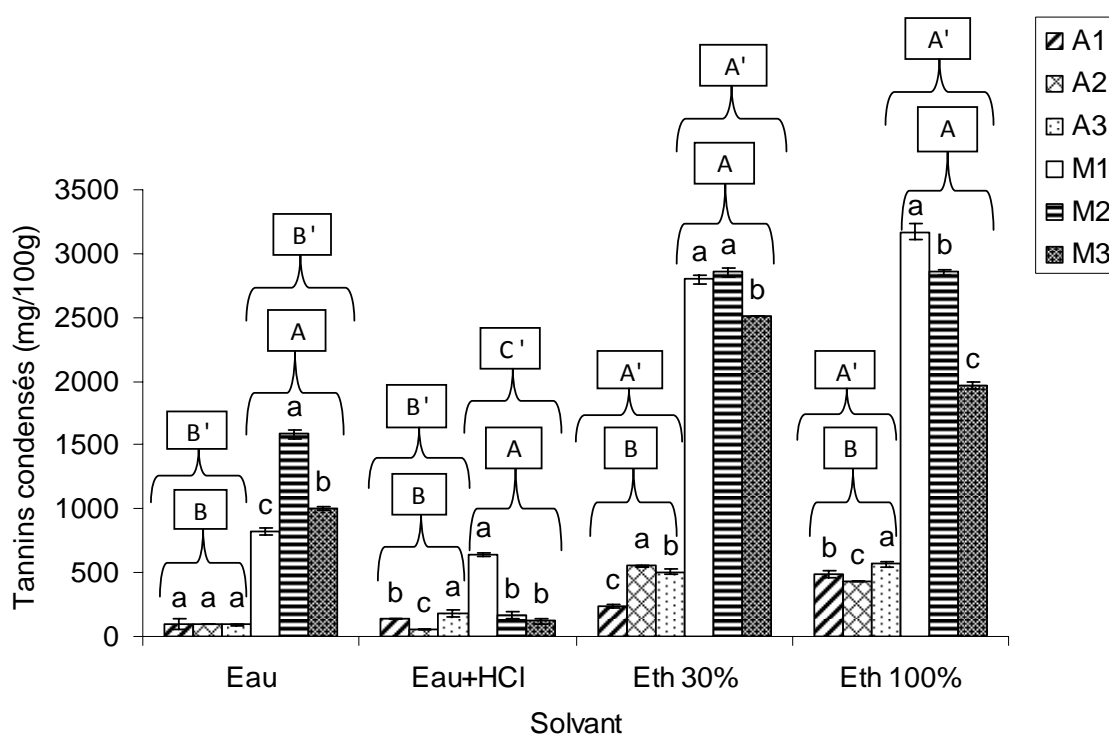


Figure 13 : Teneur en tannins condensés des fruits analysés

Selon Meskin *et al.* (2008), les molécules de poids moléculaire élevé (oligomères et polymères) sont plus difficiles à extraire, du fait qu'ils forment des liaisons hydrogène avec les peptides et les protéines. L'utilisation de l'alcool qui provoque l'instabilité de la membrane cellulaire, facilite l'extraction des composés phénoliques. Du fait que la majorité des proanthocyanidines des baies se trouvent au niveau des enveloppes des graines et précisément au niveau des vacuoles des cellules, ils sont plus difficiles à extraire avec l'utilisation de l'eau pure, ce qui explique les faibles teneurs des extraits aqueux et extraits aqueux acidifiés de l'arbose.

L'analyse de l'ensemble de nos résultats montre que les teneurs en tannins condensés des extraits éthanoliques 100% de mûres sont supérieures à celles des polyphénols totaux ; cela peut être dû à la sensibilité de la méthode de dosage adoptée.

➤ **Tannins condensés des extraits à l'éthanol 100%**

Les teneurs en tannins condensés des échantillons présentent des différences significatives ($P < 0,05$) ; elles varient de 434 (A2 : El-Kseur) à 570,4 mg/100g (A3 : Aokas) qui correspondent à 123,4 et 180,4 mg/100g MF pour l'arbose et de 1968,9 (M3 : Aboudaou) à 3167,3 mg/100g (M1 : Oued-Ghir) qui correspondent à 521,95 et 803,2 mg/100g MF pour la mûre.

Zhao (2007) a rapporté une teneur en proanthocyanidines de 27 mg/100g MF (mûre). Dans une analyse par chromatographie (HPLC) de l'arbose, Pallauf *et al.* (2008) ont obtenu une teneur de 27,46 mg/100g MF.

L'analyse statistique des résultats de la présente étude indique l'existence d'une bonne corrélation positive entre les teneurs en tannins et en polyphénols des extraits à l'éthanol 30% (0,92) (figure 4A, annexes) et d'une faible corrélation des quatre solvants utilisés ($r=0,3$) (figure 4B, annexes).

I.1.4. Les anthocyanines

Les teneurs en anthocyanines des échantillons analysés présentent des différences significatives ($P < 0,05$) selon le fruit et l'origine géographique pour la mûre. Les teneurs de la mûre sont nettement supérieures à celles de l'arbose (figure 14). Elles sont comprises entre 36,38 (A2 : El-Kseur) et 38 mg/100g (A3 : Aokas) qui

correspondent à 10,3 et 12 mg/100g MF pour l'arbose, et entre 702,9 (M2 : El-kseur) et 1347,1 mg/100g (M1 : Oued-Ghir) qui correspondent à 123,6 et 341,6 mg/100g MF pour la mûre.

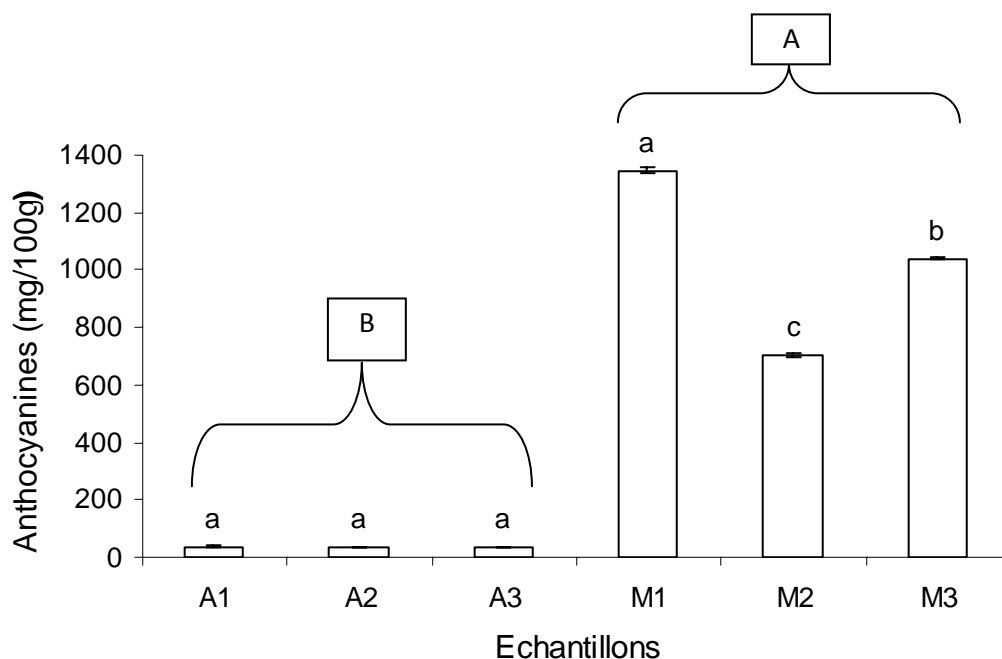


Figure 14 : Teneur en anthocyanines des fruits analysés

Jiao *et al.* (2005) ont enregistré une teneur de 4,974 g/100g de la teneur totale des pigments extraits à partir de la mûre. Zhao (2007) a rapporté des teneurs qui s'étendent de 31 à 256 mg/100g MF de mûres (dont 9 à 27 mg/100g de procyanidines). Hassimotto *et al.* (2008) ont obtenu des teneurs de 116 à 194 mg/100g MF de mûre. Pallauf *et al.* (2008) indiquent que l'arbose analysé par HPLC renferme une teneur moyenne en anthocyanines de 3,77 mg/100g MF. Wang *et al.* (2008) ont relevé des teneurs qui varient de 94,2 à 221,6 mg/100g MF pour la mûre analysée par HPLC. Soufi (2009) a obtenu des teneurs comprises entre 368 et 863 mg/100g MS de mûres.

Les teneurs en anthocyanines de nos échantillons sont relativement élevées ; ceci pourrait être expliqué par le stade de maturité à la récolte, car ces fruits peuvent être récoltés au dessus d'une longue période durant laquelle la biosynthèse des anthocyanines continue.

L'effet de l'origine géographique n'est pas observé dans les échantillons de l'arbose : A1 (36,8 mg/100g), A2 (36,4 mg/100g) et A3 (38 mg/100g). Par contre les

différences entre les teneurs des extraits de mûres des trois régions sont significatives ($P < 0,05$) : M1 (1347,05mg/100g), M2 (702,88mg/100g) et M3 (1041,2 mg/100g).

I.2. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Dans les cellules végétales, ils sont associés aux bicouches lipidiques membranaires grâce à leur forte hydrophobicité. Pour l'extraction de ces pigments, deux phases ont été utilisées ; une phase apolaire (hexane) qui permet de récupérer les caroténoïdes et une phase polaire (éthanol/acétone) pour éliminer les composés hydrophiles (polyphénols, flavonoïdes, ...).

Les teneurs en caroténoïdes des échantillons analysés présentent des différences significatives ($P < 0,05$) au sein du même fruit. L'arbose est nettement plus riche que la mûre (figure 15). Les teneurs varient de 13,3 (A3) à 26,9 mg/100g (A1) qui correspondent à 4,2 et 7,5 mg/100g MF pour l'arbose, et de 7,3 (M3) à 7,9 mg/100g (M1) qui correspondent à 1,94 et 2 mg/100g MF, pour la mûre. L'effet de l'origine géographique sur les teneurs en caroténoïdes est notable ; c'est le cas des échantillons de l'arbose A1 (26,9 mg/100g) et A3 (13,3 mg/100g). Pour la mûre, les teneurs de M2 (7,4 mg/100g) et M3 (7,3 mg/100g) sont semblables ($P < 0,05$).

Les données de la littérature sur la teneur en caroténoïdes des baies sont limitées. Pallauf *et al.* (2008) ont enregistré une teneur de 64 $\mu\text{g}/100\text{g}$ MF pour l'arbose par chromatographie (HPLC). Soufi (2009) a relevé des teneurs qui s'étendent de 3916 à 7260 $\mu\text{g}/100\text{g}$ MS (mûre).

L'exposition des caroténoïdes, à la chaleur, à la lumière, à l'oxygène mais aussi aux métaux pro-oxydants (fer et cuivre) peut provoquer des pertes.

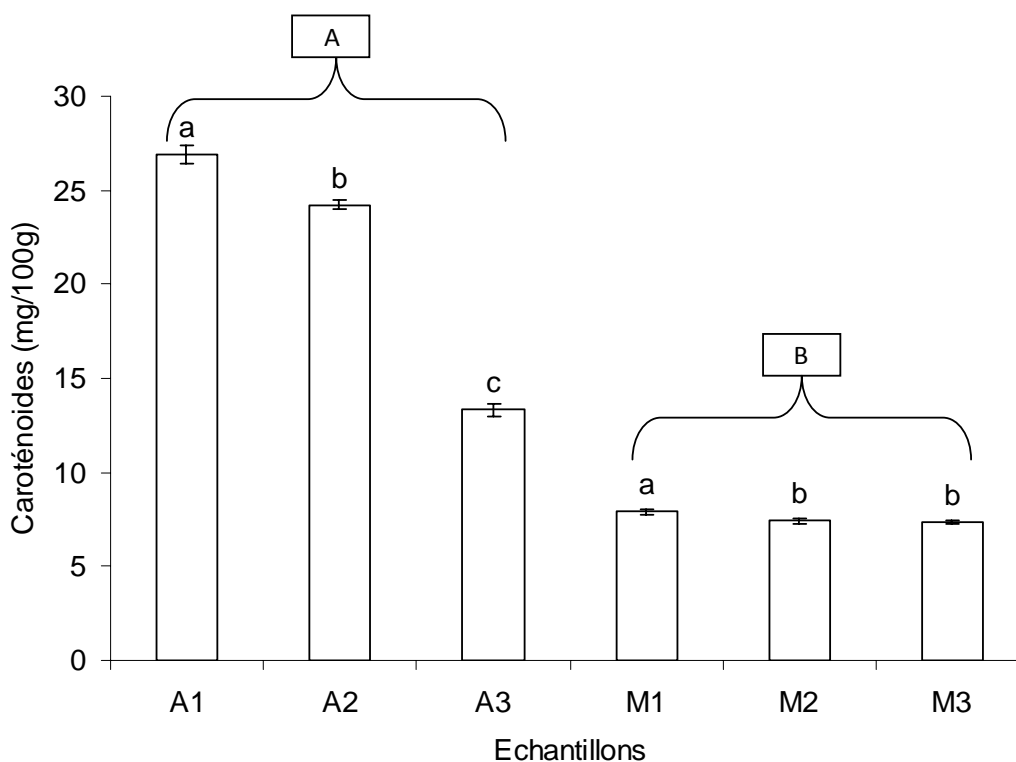


Figure 15 : Teneur en caroténoïdes des fruits analysés

Les teneurs des fruits analysés en antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés, anthocyanines et caroténoïdes) sont différentes par rapport à celles indiquées dans la littérature. Ceci est probablement dues aux facteurs environnementaux, le degré de maturité à la récolte, la différence de la méthode d'extraction et de dosage utilisée, la nature et la concentration du solvant, les variations génétiques (variété, espèce, etc.), la durée et les conditions de conservation, mais aussi à d'autres facteurs (la température, le type de sol, ... etc.).

II. Activité antioxydante

II.1. Pouvoir réducteur

La mesure de potentiel antioxydant des extraits dans cette méthode est basée sur l'estimation du pouvoir réducteur qui représente la capacité des extraits à transférer des électrons ou à céder des atomes d'hydrogène par la réaction de réduction des ions

métalliques (fer ferrique en fer ferreux). Par conséquent la capacité réductrice d'un composé peut servir comme indicateur de son activité antioxydante.

Le pouvoir réducteur des extraits de l'arbose et de la mûre est présenté dans la figure 16. Les résultats montrent des différences significatives ($P < 0,05$) selon le fruit ; le pouvoir réducteur de la mûre est meilleur que celui de l'arbose excepté pour les extraits éthanoliques 100% où l'arbose manifeste un pouvoir réducteur plus élevé que celui de la mûre.

Le pouvoir réducteur des extraits de fruits analysés présente des différences significatives ($P < 0,05$) selon le solvant utilisé au sein de même fruit. Les extraits d'éthanol 30% et d'éthanol 100% de l'arbose ont des pouvoirs réducteurs semblables : 1,30 et 1,43 g d'acide gallique/100g. L'extrait à l'eau acidifiée présente le pouvoir réducteur le plus faible (362,26 mg/100g).

Pour la mûre, le pouvoir réducteur le plus élevé est obtenu avec l'éthanol 30% (1,89 g/100g) alors que les pouvoirs réducteurs les plus faibles sont ceux de l'eau acidifiée et de l'éthanol 100% qui ne présentent pas de différence significative (0,87 et 0,83g/100g).

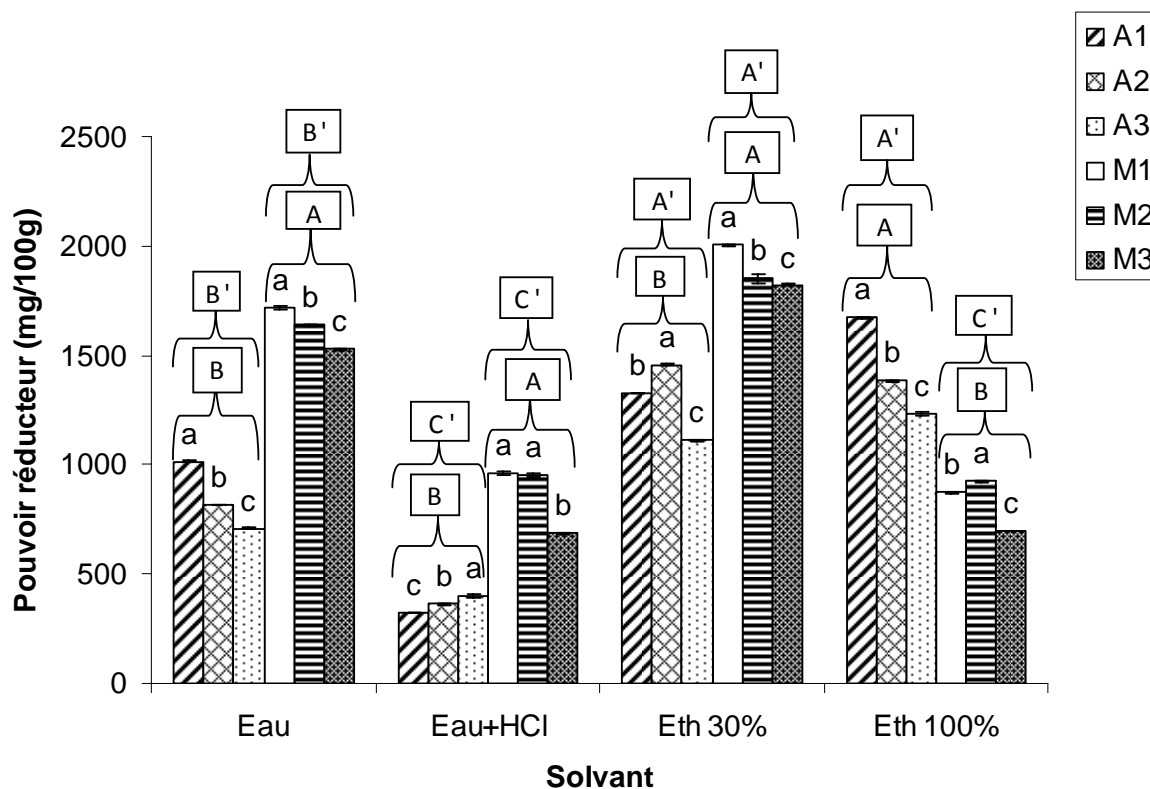


Figure 16 : Pouvoir réducteur des échantillons analysés

Nos résultats concordent avec la constatation de Hassimotto *et al.* (2008) : la teneur en anthocyanines est un caractère important pour prédire une capacité antioxydante des aliments d'origine végétale.

Dans le cas des extraits éthanoliques 100%, le faible pouvoir réducteur des mûres par rapport à celui de l'arbose est probablement dû aux faibles teneurs de ces extraits de mûres en composés phénoliques totaux spécialement les flavonoïdes. Ce faible pouvoir réducteur pourrait aussi être expliqué par la faible solubilité des anthocyanines de mûres qui ont un caractère polaire important dans l'éthanol 100%.

Les pouvoirs réducteurs élevés des extraits éthanoliques 30% et 100% pourraient être attribué au fait que la plupart des antioxydants de l'arbose (caroténoïdes, flavonoïdes, etc.) sont de caractère moins polaire et se dissolvent mieux dans l'éthanol que l'eau.

Le pouvoir réducteur le plus élevé qui est enregistré avec les extraits éthanoliques 30% pourrait être expliqué par le fait que ce solvant est favorable pour l'extraction des antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, anthocyanines) de mûres. Cela signifie que la polarité du solvant influence sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et affecte ainsi l'estimation de pouvoir réducteur.

L'utilisation de l'acide chlorhydrique est justifiée par le fait qu'il améliore l'extraction des antioxydants (polyphénols, flavonoïdes et autres) à partir de la matrice végétale. Cependant, les pouvoirs réducteurs faibles obtenus avec les extraits aqueux acidifiés de l'arbose et de la mûre pourraient être attribués à la concentration de cet acide (1%) qui n'est pas adéquate pour permettre une bonne extraction des antioxydants à partir des baies. Ce qui a influencé la capacité réductrice de ces extraits.

Les extraits éthanoliques 100% de mûres ont des faibles pouvoirs réducteurs. Ceci pourrait être expliqué par leur faible teneur en composés phénoliques.

➤ **Pouvoir réducteur des extraits d'éthanol 30%**

Le pouvoir réducteur des échantillons analysés présente des différences significatives ($P < 0,05$) au sein de même fruit (figure 16). Les pouvoirs réducteurs varient de 1,11 (A3) à 1,46 g/100g (A2) pour l'arbose et de 1,82 (M3) à 2 g/100g (M1) pour les mûres. Nos résultats concernant les mûres sont inférieurs à ceux obtenus par Soufi

(2009) : 2,68 à 5,7 g/100g pour les extraits d'acétone 50%. Cette différence pourrait être due au solvant d'extraction utilisé. Ceci est en accord avec les résultats de Al-Farsi et Lee (2008), qui ont indiqué que l'acétone 50% est le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols de noyaux de datte. La structure de ces composés est un caractère important qui détermine leur activité antioxydante. Dans le cas des acides phénoliques, l'activité antioxydante dépend de nombre et la position de groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyliques fonctionnels. Selon Zhao (2007), la glycosylation et l'acylation des anthocyanines peuvent influencer la capacité antioxydante. L'acylation avec des acides cinnamiques peut augmenter aussi la capacité antioxydante des anthocyanines.

La différence de pouvoir réducteur des échantillons pourrait être attribuée essentiellement à leur teneur en composés phénoliques.

Les données de la figure 16 indiquent que le pouvoir réducteur varie selon l'origine des échantillons: c'est le cas des échantillons A3 (1,11 g/100g) et A2 (1,46 g/100g) provenant de Aokas et El-Kseur respectivement, et des échantillons M3 (1,82 g/100g) et M1 (2 g/100g) provenant de Aboudaou et Oued-Ghir, respectivement. Cela vérifie la constatation de Zhao (2007) qui rapporte que les conditions environnementales peuvent largement influencer la synthèse des composés phénoliques responsables de l'activité antioxydante.

II.2. Activité antiradicalaire

La méthode au DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antiradicalaire des échantillons analysés. Le DPPH est un radical libre et stable, dont l'absorbance diminue lorsqu'il est réduit par un antioxydant (AH) : $\text{DPPH}^\bullet + \text{AH} \longrightarrow \text{DPPH-H} + \text{A}^\bullet$

DPPH: diphényl picryl-hydrazyl (forme oxydée)

DPPH-H : diphényl picryl-hydrazine (forme réduite)

La diminution de l'absorbance est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans les extraits à piéger les radicaux libres (Piljac-Žegarac *et al.*, 2009).

Les résultats illustrés dans la figure 17 montre que les activités antiradicalaires de l'arbose et de la mûre présentent des différences significatives ($P < 0,05$) selon le fruit et le solvant d'extraction ; l'activité antiradicalaire de la mûre est supérieure à celle de

l'arbose dans les extraits aqueux acidifiés et les extraits éthanoliques 30%. Dans les extraits aqueux, les activités antiradicalaires des deux fruits sont similaires ; quant aux extraits éthanoliques 100%, le pouvoir antiradicalaire de l'arbose est supérieur à celui de la mûre.

Pour l'arbose, les extraits éthanoliques 30% et 100% présentent les activités antiradicalaires les plus élevées sans différence significative (50,64% et 50,96% respectivement) ; l'activité antiradicalaire la plus faible (10,5%) est obtenue avec l'eau.

Pour la mûre, l'activité antiradicalaire la plus élevée est obtenue avec l'éthanol 30% (73,4%) et la plus faible avec l'eau (9,3%).

Les résultats de la présente étude sont similaires à ceux de Alothman *et al.* (2009) qui ont enregistré des activités antiradicalaires plus élevées pour les extraits éthanoliques de l'ananas et de la banane que celle des extraits aqueux. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'éthanol dégrade les parois et les membranes cellulaires qui sont non polaire et libère ainsi les composés phénoliques et d'autres antioxydants.

Pinelo *et al.* (2004) rapportent que les flavonoïdes tel que la quercétine a une activité antioxydante deux fois plus élevée lorsqu'elle est dissoute dans l'éthanol que dans d'autres solvants plus polaires (qui ont des groupements polaires importants tel que l'eau) ce qui est en accord avec nos résultats.

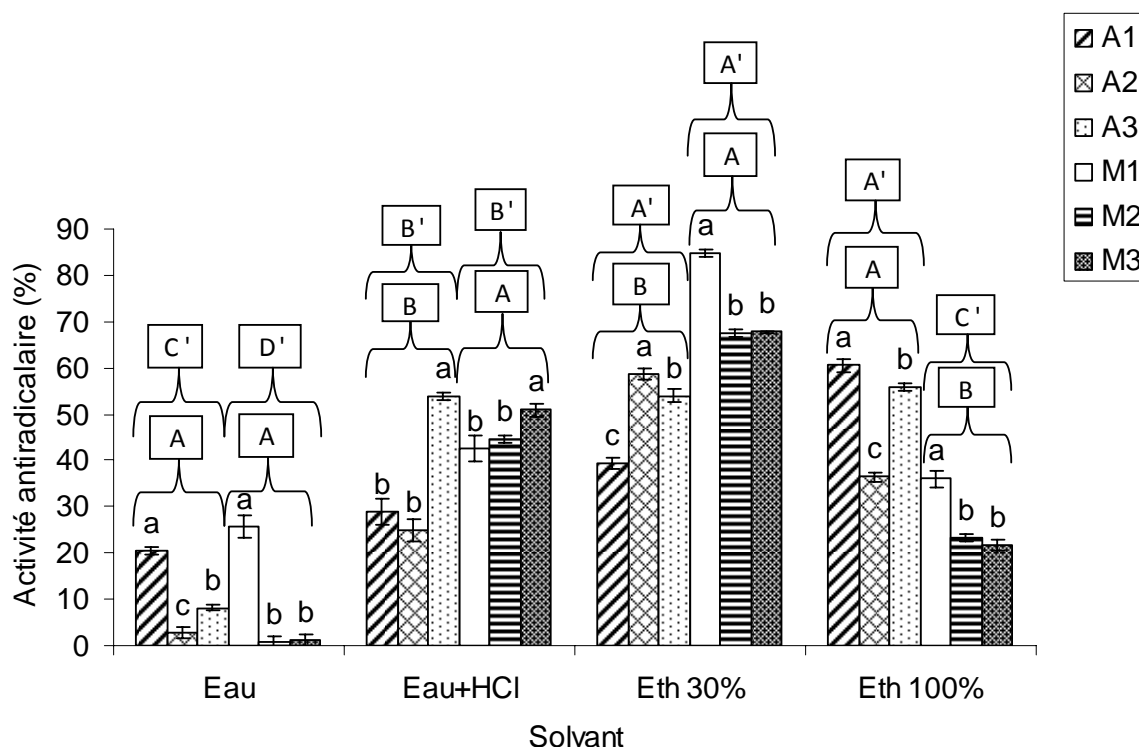


Figure 17 : Activité antiradicalaire des échantillons analysés

Les résultats de la présente étude sont aussi en accord avec ceux obtenus par Al-Farsi et Lee (2008) qui ont montré que l'activité antioxydante des extraits aqueux des noyaux de datte est faible par rapport à celle obtenue avec d'autres solvants. Ces auteurs ont expliqué ceci par le fait que ces composés présentent une faible solubilité dans l'eau. De plus, les autres antioxydants qui sont liposolubles (caroténoïdes) ou moins polaires qui contribuent à l'activité antioxydante sont plus solubles dans l'éthanol que dans l'eau.

D'après les données de la littérature sur la contribution de flavonoïdes et de caroténoïdes à l'activité antioxydante, et nos dosages de ces composés, ainsi que les résultats de la présente figure (figure 17), il résulte que les antioxydants majoritaires de l'arbose sont les flavonoïdes et les caroténoïdes.

La différence des activités antioxydantes obtenues avec le test de DPPH et le pouvoir réducteur des extraits aqueux pour les deux fruits (pouvoir réducteur est meilleur que avec le test de DPPH) pourrait être due aux effets synergiques des antioxydants présents dans le milieu (composés phénoliques, flavonoïdes,...etc.) aussi

bien que aux leurs différences de capacités à transférer des électrons ou à céder des atomes d'hydrogène dans les deux méthodes.

➤ **Activité antiradicalaire des extraits d'éthanol 30%**

Les activités antiradicalaires des échantillons analysés sont significativement différentes ($P < 0,05$) au sein du même fruit (figure 17). Elles varient de 39,4% (A1) à 58,6% (A2) pour l'arbose et de 67,5% (M2) à 84,8% (M1) pour la mûre.

Les activités antioxydantes de la mûre sont nettement supérieures à celles de l'arbose. Cela peut être attribué à la richesse de la mûre en anthocyanines et précisément à la cyanidine-3-O-glucoside qui est l'anthocyanidine majoritaire des mûres (Serraino *et al.*, 2003 ; Kafkas *et al.*, 2006 ; Tiwari *et al.*, 2008).

Selon Lohachoompol *et al.* (2008), l'activité antioxydante est largement influencée par la composition des composés phénoliques. Cela peut dépendre des structures des composés tel que le nombre et la position des groupements hydroxyles sur les noyaux (Lugasi *et al.*, 2003).

L'effet scavenger des flavonoïdes ou de d'autres composés phénoliques est attribué aux groupements hydroxyles actifs attachés aux noyaux. Les polyphénols (les acides phénoliques et particulièrement les flavonoïdes) piègent les radicaux libres par transfert d'un atome d'hydrogène. La capacité des composés phénoliques à céder un atome d'hydrogène dépend de leur structure chimique, de nombre de groupements hydroxyles et des interactions entre les différentes molécules de ces composés. En plus, l'efficacité antioxydante totale des antioxydants à piéger les radicaux libres est déterminée non seulement par leur réactivité avec les radicaux libres mais aussi par d'autres facteurs (la position dans le milieu, la nature des radicaux libres et les effets synergiques entre les antioxydants) (Packer, 2001).

L'effet de l'origine sur l'activité antiradicalaire des échantillons analysés présentent des différences significatives ($P < 0,05$), c'est le cas des échantillons de l'arbose A1 (39,4%) et A2 (58,6%). Les échantillons de mûres M2 (67,5%) et M3 (67,8%) ne présentent pas de différence significative ($P < 0,05$).

L'activité antioxydante des extraits de baies est influencée par la teneur en antioxydants, les variations génétiques (génotype), le degré de maturité à la récolte, les facteurs climatiques, les conditions de conservation, ... (Zhao, 2007).

Les deux méthodes de mesure de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité antiradicalaire) montrent de bonnes corrélations positives, avec un coefficient de corrélation de 0,84 dans les extraits d'éthanol 30% (figure 5, annexes), ce qui indique qu'il y a une similitude de mécanisme entre ces deux méthodes.

II.3. Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique

L'inhibition de l'oxydation des substrats lipidiques (acide linoléique) est à la base de plusieurs méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante. Ces méthodes se basent sur la quantification des produits primaires ou secondaires de l'oxydation des lipides. Le test utilisé mesure le taux de peroxydes formés lors de l'oxydation accélérée de l'acide linoléique sous l'effet de la température.

Les résultats présentés dans la figure 18 montrent que les taux d'inhibition des extraits d'arbose et de la mûre ne présentent pas de différence significative ($P < 0,05$) selon le fruit, excepté les extraits éthanoliques 100% où l'effet inhibiteur de l'arbose est supérieur à celui de la mûre. L'analyse statistique montre que les solvants utilisés pour déterminer l'effet inhibiteur de l'oxydation de l'acide linoléique à partir de l'arbose présentent des différences significatives ($P < 0,05$) excepté pour les extraits éthanoliques 30% et 100% où les taux d'inhibition qui sont les plus élevés ne présentent aucune différence significative (45,5% et 50,3%, respectivement). Le pourcentage d'inhibition le plus faible (12,5%) est obtenu avec l'eau acidifiée.

Les solvants utilisés pour la détermination de l'effet inhibiteur à partir des mûres ne montrent aucune différence significative ($P < 0,05$) (29,9%, 34,32% et 27,82%) excepté les extraits aqueux acidifiés ayant l'activité la plus faible (9%).

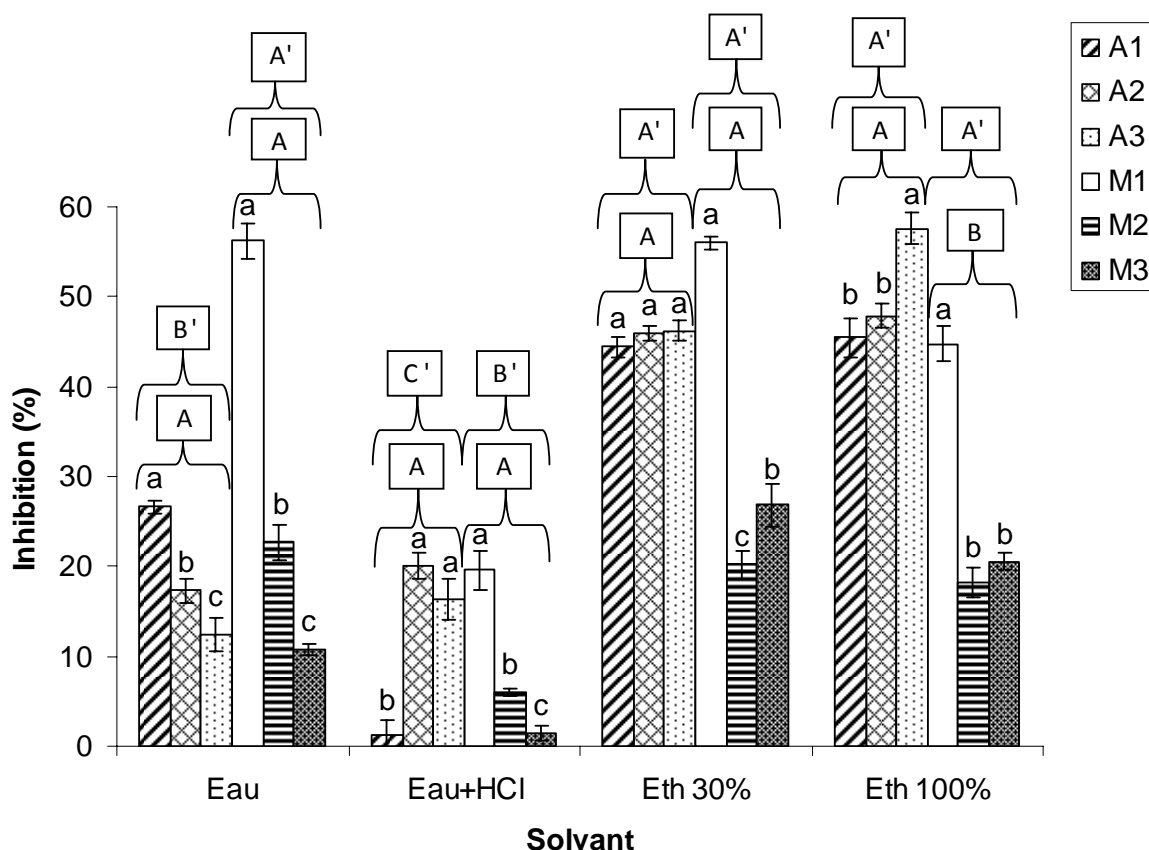


Figure 18 : Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique par les extraits de fruits

Les polyphénols agissent non seulement par le piégeage des radicaux libres, mais aussi par la chélation des ions métalliques grâce à leur structure O-dihydroxyphénolique. Le potentiel antioxydant et inhibiteur de la peroxydation lipidique des flavonoïdes se situe dans leur capacité à piéger les radicaux libres.

D'après Aouissa (2002) et Diallo (2005), les tannins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence d'inhiber la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique.

La teneur élevée en polyphénols et le faible pouvoir d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique des extraits aqueux acidifiés de mûres, pourrait être expliqué soit par la présence des antioxydants (polyphénols) qui n'ont pas une bonne activité antioxydante, ou à leur répartition dans un système hétérogène constitué de micelles, où les radicaux libres (peroxydes) sont à l'intérieur du corps lipophile. Ces micelles lipidiques constituent une vraie barrière aux antioxydants (polyphénols). Si ces

derniers ne passent pas à travers cette barrière ou à s'insérer à l'intérieur de la micelle, leur activité antioxydante sera diminuée.

La faible teneur en polyphénols et l'effet inhibiteur élevé des extraits éthanoli-ques 100% des mûres pourraient être attribués soit à la présence de composés non phénoliques ayant un pouvoir antioxydant ou à la présence de certains composés phénoliques ayant une très forte activité ou à l'effet synergique des composés présents dans ces extraits.

Le faible taux d'inhibition des extraits aqueux acidifiés de l'arbose pourrait être expliqué par la faible teneur en polyphénols extraits par ce solvant.

L'analyse de nos résultats qui concerne le pouvoir réducteur et l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique montre que les extraits aqueux acidifiés présentent des activités antioxydantes les plus faibles pour les deux fruits indiquant qu'il y a une similitude de mécanisme entre ces deux méthodes.

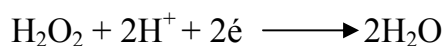
Des différences sont observées selon l'origine de l'échantillon; c'est le cas des échantillons de l'arbose pour les extraits aqueux A3 (12,35%) et A1 (26,68%), les extraits aqueux acidifiés A1 (1,23%) et A2 (20,03%). Dans le cas des mûres, les différences sont significatives : les extraits aqueux M3 (10,8%) et M1 (56,2%), les extraits aqueux acidifiés M3 (1,44%) et M1 (19,56%), les extraits éthanoli-ques 30% M2 (20,17%) et M1 (55,99%) et les extraits éthanoli-ques 100% M2 (18,15%) et M1 (44,78%).

➤ Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique des extraits d'éthanol 30%

Les effets inhibiteurs des échantillons de mûres sont significativement différents ($P < 0,05$); quant aux échantillons de l'arbose, les différences ne sont pas significatives (figure 18). Les taux d'inhibition varient de 44,38% (A1) à 46,22% (A3) pour l'arbose et de 20,17% (M2) à 55,99% (M1) pour la mûre.

II.4. Inhibition de peroxyde d'hydrogène

Ce test est basé sur le piégeage d'une espèce oxygénée réactive non radicalaire (le peroxyde d'hydrogène) par un antioxydant, ce qui entraîne sa décomposition en molécule d'eau selon la réaction suivante :



Les résultats illustrés dans la figure 19 montrent que les effets inhibiteurs des extraits analysés présentent des différences significatives ($P < 0,05$), selon le fruit et le solvant d'extraction ; l'activité inhibitrice des extraits aqueux de la mûre est supérieure à celle des extraits de l'arbose. Dans les extraits éthanoliques 30%, l'effet inhibiteur de l'arbose est nettement supérieur à celui de la mûre, par contre dans les extraits aqueux acidifiés et des extraits éthanoliques 100%, les activités inhibitrices des deux fruits sont similaires ($P < 0,05$).

Pour l'arbose, les extraits éthanoliques 30% et 100% ont des taux d'inhibition élevés sans différence significative (81,07% et 79,48%, respectivement). Les activités inhibitrices les plus faibles (65,09% et 65,73%) sont obtenues avec les extraits aqueux.

Dans le cas de la mûre, le taux le plus élevé est obtenu avec les extraits aqueux (83,77%) et le taux le plus faible avec les extraits aqueux acidifiés (60%). Ceci pourrait être expliqué selon Pulido *et al.* (2003) par le fait que les antioxydants polaires sont plus actifs dans des milieux aqueux tandis que les antioxydants non polaires sont plus actifs dans des milieux hydrophobes que dans des milieux aqueux.

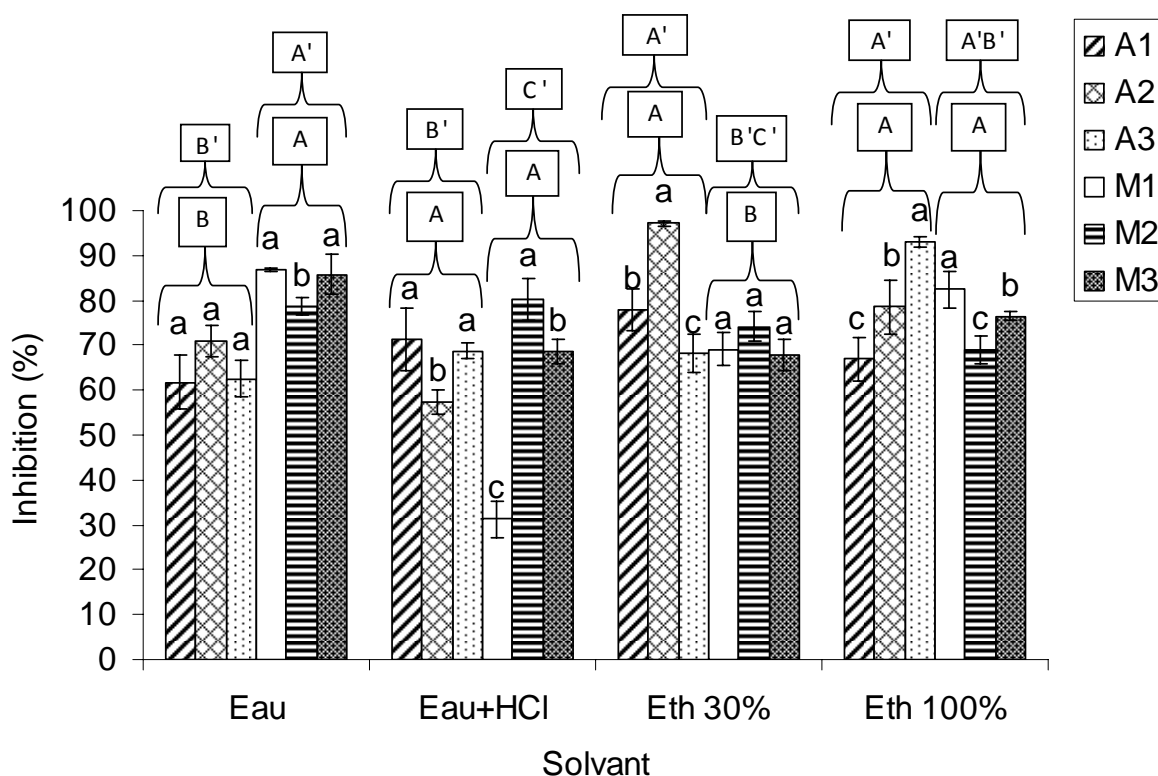


Figure 19 : Inhibition de peroxyde d'hydrogène par les extraits de fruits

Le faible effet inhibiteur des extraits aqueux acidifiés de mûres pourrait être attribué au pH de l'extrait qui n'est pas adéquat (Chirinos *et al.*, 2007) pour une bonne extraction des antioxydants.

➤ **Inhibition de peroxyde d'hydrogène des extraits d'éthanol 100%**

Les activités inhibitrices des échantillons analysés sont significativement différentes ($P < 0,05$) au sein du même fruit (figure 19). Elles varient de 66,98% (A1) à 92,98% (A3) pour l'arbose et de 68,91% (M2) à 82,44% (M1) pour la mûre.

Les différences des taux d'inhibition entre les échantillons pourraient être dues à la différence de structures des antioxydants présents dans chaque extrait aussi bien que aux effets synergiques des antioxydants (Hayouni *et al.*, 2007; Zhao, 2007).

La composition chimique et les structures des composés actifs de l'extrait sont des facteurs important modulant l'efficacité des antioxydants naturels, l'activité antioxydante ne doit pas être expliquée seulement en se basant sur leurs teneurs en composés phénoliques et caroténoïdes mais aussi de caractériser ces composés.

Conclusion

Conclusion

La présente étude a permis, le dosage des principaux antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, anthocyanines, tannins condensés et caroténoïdes) de deux fruits l'arbose et la mûre d'une part et la détermination du pouvoir antioxydant d'autre part.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en antioxydants diffèrent selon le fruit, l'origine géographique, et le solvant d'extraction. La mûre est beaucoup plus riche que l'arbose en composés phénoliques totaux à l'exception des extraits éthanoliques 100%, en flavonols, en tannins condensés, en anthocyanines et en flavonoïdes à l'exception des extraits éthanoliques 100% où leurs teneurs sont similaires. Pour les caroténoïdes, l'arbose est nettement plus riche que la mûre.

Les résultats de mesure de l'activité antioxydante des extraits de fruits évaluée par les quatre méthodes indiquent que l'activité antiradicalaire de la mûre est supérieure à celle de l'arbose dans les extraits aqueux acidifiés et les extraits éthanoliques 30%. Dans les extraits aqueux, les activités antiradicalaires des deux fruits sont similaires, pour les extraits éthanoliques 100%, le pouvoir antiradicalaire de l'arbose est supérieur à celui de la mûre.

Le pouvoir réducteur de la mûre est meilleur que celui de l'arbose excepté pour les extraits éthanoliques 100%. Les résultats de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique pour les deux fruits sont similaires à l'exception des extraits éthanoliques 100%.

L'effet inhibiteur de peroxyde d'hydrogène de la mûre est supérieur à celui de l'arbose dans les extraits aqueux ; pour les extraits éthanoliques 30%, l'effet inhibiteur de l'arbose est nettement supérieur à celui de la mûre, par contre dans les extraits aqueux acidifiés et éthanoliques 100%, les activités inhibitrices des deux fruits sont similaire ($P < 0.05$).

Cette étude a également permis de montrer l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des échantillons analysés.

Le type de solvant affecte significativement les teneurs en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante des extraits de deux fruits. Pour l'arbose, l'éthanol

100% est le solvant le plus efficace pour extraire les composés phénoliques et les flavonols; l'éthanol 30% et 100% sont meilleurs pour l'extraction des flavonoïdes et des tannins condensés.

Quant aux mûres, l'éthanol 30% est le solvant le plus efficace pour l'extraction des flavonoïdes. Concernant les composés phénoliques, l'eau, l'eau acidifiée ainsi que l'éthanol 30% ont montré une efficacité d'extraction similaire. La teneur la plus élevée en flavonols a été obtenue avec l'éthanol 100% et pour les tannins condensés des teneurs élevées ont été obtenues avec l'éthanol 30% et 100%.

Les meilleures activités réductrices et antiradicalaires sont enregistrées dans les extraits éthanoliques 30% et 100%, pour l'arbose et dans les extraits éthanoliques 30% pour la mûre. Les effets inhibiteurs de la peroxydation lipidique, les plus élevés sont obtenus avec l'éthanol 30% et 100% pour l'arbose et avec l'eau, l'éthanol 30% et 100% pour la mûre. Concernant l'effet sur le peroxyde d'hydrogène, les taux d'inhibition les plus élevés sont obtenus avec l'éthanol 30% et 100% pour l'arbose et avec l'eau pour la mûre.

Les résultats montrent que l'extraction sélective à partir de deux fruits analysés, par des solvants appropriés, est importante pour l'obtention d'extraits ayant des activités antioxydantes élevées.

Les données de la présente étude confirment l'intérêt de la consommation de l'arbose et la mûre qui constituent une bonne source d'antioxydants (caroténoïdes, polyphénols, flavonoïdes, flavonols, anthocyanines et tannins condensés).

Comme perspectives, il est nécessaire d'approfondir et de compléter la présente étude :

- En augmentant le nombre d'échantillons afin d'analyser l'effet de l'origine géographique.
- En identifiant les différents antioxydants, en élucidant leur mécanisme d'action et en testant l'activité des extraits in vivo.
- En évaluant l'effet de la conservation
- En étudiant la biodisponibilité des composés phénoliques de fruits analysés, afin de prévoir leur effet sur la santé humaine
- En étudiant l'aspect technologique de ces fruits.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Aberoumand A. and Deokule S.S. (2008). Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (4): 582-585.

Abi Azar R.(2007). Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier, propriétés technologiques des coagulums obtenus. Thèse de doctorat. Ecole doctorale Abies. Agroparistech.

Al-Farsi M.A. and Lee C.Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry* 108: 977-985.

Alothman M., Bhat R. and Karim A.A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115: 785-788.

Aouissa I.W.R. (2002). Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica L.* (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. and Atmani D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry* 112: 303-309.

Bagchi D., Sen C.K., Bagchi M. and Atalay M. (2004). Anti-angiogenic, Antioxidant, and Anti-carcinogenic Properties of a Novel Anthocyanin-Rich Berry Extract Formula. *Biochemistry (Moscow)* 69 (1) : 75-80.

Balasundram N., Sundram K. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.

Barberà F.A.T. and Gil M.L. (2008). Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products. 1^{ère} edition *CRC press*. 560 pages.

Belitz H.D., Grosh W. et Shieberle P. (2004). Food Chemistry In "Fruits and Fruit Products". 3rd revised Edition Springer. (p806-860).

Benbrook C.M. (2005). Elevating Antioxidant levels in Food through organic farming and Food processing. The Organic Center for Education and Promotion. State of Science Review. 78 pages.

Berger M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 20 : 48-53.

Bonnefont-Rousselot D., Peynet J., Beaudoux J.L., Thérond P., Legrand A. and Delattre J. (2002). Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 : 260-267.

Bureau S., Renard C.M.G.C., Reich M., Ginies C. and Audergon J.M. (2009). Change in Anthocyanin Concentrations in Red Apricot Fruits During Ripening. *LWT-Food Science and Technology* 42: 372-377.

Celikel G., Demirsoy L. and Demirsoy H. (2008). The strawberry tree (*Arbutus unedo L.*) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae* 118: 115-119.

Cemeli E., Baumgartner A. and Anderson D. (2008). Antioxidants and the comet assay. *Mutation Research* xxx: xxx-xxx.

Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R. and Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz and pavon*) tubers. *Separation and Purification Technology* 55: 217-225.

Daayf F. and Lattanzio V. (2008). Recent Advances in Polyphenol Research. Volume 1. Edition: Blackwell Publishing Ltd. 393 pages.

Dai J., Gupte A., Gates L. and Mumper R.J. (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology* 47: 837-847.

De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J. and Lekeux P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd. Vét.* 149 : 1-9.

Di Mascio P., E Murphy M., and Sies H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clinique Nutrition.* 53: 194S-200S

Diallo A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités Biologiques de *Syzygium guineense* willd (Myrtaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654-660.

Duperrex H. (1977). La culture des petits fruits. Edition : Payot Lausanne la maison Rustique, Paris p : 11-105.

- El-Agamey A., Cantrell A., Land E.J., McGarvey D.J., and Truscott T.G. (2004).** Are dietary carotenoids beneficial ? Reactions of carotenoids with oxy-radicals and singlet oxygen. *Photochem. Photobiol. Science.* 3: 802-811.
- Elisia I., Hu C., Popovich D.G. and Kitts D.D. (2007).** Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry* 101: 1052-1058.
- Fine A.M. (2000).** Oligomeric proanthocyanidin complexes: History, structure, and phytopharmaceutical Applications. *Altern. Med. Rev.* 5 (2): 144-151.
- Galvano F., Fauci L.L., Vitaglione P., Fogliano V., Vanella L. and Felgines C. (2007).** Bioavailability, antioxidant and biological properties of the natural free-radical scavengers cyanidin and related glycosides. *Ann Ist. Super Sanita* 43 (4): 382-393.
- Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 4 : 162-169.
- Girard-Lancette K., Pichette A. and Legault J. (2009).** Sensitive cell-based assay using DCFH oxidation for the determination of pro and antioxidant properties of compounds and mixtures: Analysis of fruit and vegetable juices. *Food Chemistry* 115: 720-726.
- Girrotti-Chanu C. (2006).** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Thèse de doctorat. Lyon.
- Gülçin İ. (2006).** Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* 217: 213-220.
- Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu İ. and Aslan A. (2002).** Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 325-329.
- Halliwell B. (2007).** Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health? *Cardiovascular Research* 73: 341-347.
- Hassimotto N.M.A., Da Mota R.V., Cordenunsi B.R. and Lajolo F.M. (2008).** Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus sp.*) grown in Brazil. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 28 (3): 702-708.
- Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M. and Hamdi M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry* 105: 1126-1134.

Hiramatsu M., Yoshikawa T. and Packer L. (2006). Molecular Interventions in Lifestyle-Related diseases. Edition: *CRC press* (USA). 354 pages.

Hurst W.J. (2008). Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals. 2nd edition *CRC press*. 532 pages.

Igor A.E.S. (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de *Acacia nilotica* var *Adansonü*. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop , DAKAR.

Izadifar M. (2009). Radio Frequency Enhanced Extraction of an anti-cancer Compound from Porous Media. Thesis of doctorate. University de Saskatchewan (Canada).

Jakobek L., Šeruga M., Medvidovic-Kosanovic M. and Novak I. (2007). Antioxidant Activity and Polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72 (4): 301-306.

Jakopič J. Veberič R. and Štampar F.(2009). Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agriculturae Slovenica* 93 (1):11-15.

Jaldappagari S., Motohashi N., Gangeenahalli M.P. and Naismith J.H. (2008). Bioactive Mechanism of Interaction Between Anthocyanins and Macromolecules Like DNA and proteins. *Top Heterocycl Chem.* 15: 49-65.

Jensen G.S., Wu X., Patterson K.M., Barnes J., Carter S.G., Scherwitz L., Beaman R., Endres J.R. and Schauss A.G. (2008). In vitro and in vivo Antioxidant and Anti-inflammatory capacities of an Antioxidant-Rich fruit and Berry juice Blend. Resultats of a pilot and Randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *J. Agric. Food Chem.* 56: 8326-8333.

Jiao Z., Liu J. and Wang S. (2005). Antioxidant Activities of Total Pigment Extract From Blackberries. *Food Technol. Biotechnol.* 43 (1): 97-102.

Judith M.D. (2005). Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans vahl* (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali).

Kafkas E., Koşar M.,Türemis N. and Başer K.H.C. (2006). Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. *Food Chemistry* 97: 732-736.

Kähkönen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S. and Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Agric. Food Chemistry.* 47: 3954-3962.

- Koca I. and Karadeniz B. (2009).** Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the black sea region of Turkey. *Scientia Horticulturae* 121:447-450.
- Lee S.E., Ju E.M. and Kim J.H. (2001).** Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from smilax china root. *Exp. Mol. Med.* 33 (4): 263-268.
- Lhuillier A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook. f ex oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa Trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- Li B.B., Smith B. and Hossain Md.M. (2006).** Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technol.* 48: 182-188.
- Lohachoompol V., Mulbolland M., Srzednicki G. and Craske J. (2008).** Determination of Anthocyanins In Various Cultivars of Highbush and Rabbiteye Blueberries. *Food Chemistry* 111: 249-254.
- Lozano J.E. (2006).** Fruit manufacturing, scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance. Edition: Springer. 230 pages.
- Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V. and Biró L. (2003).** The role of antioxidant phyto-nutrients in the prevention of disease. *Acta Biologica Szegediensis* 47 (1-4): 119-125.
- Males Z., Plazibat M., Vundac V.B. and Zuntar I. (2006).** Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm.* 56: 245-250.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L. (2004).** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. Journal Clin. Nutrition.* 79: 727-747.
- Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- Mélo E.A., Lima V.L.A.G., Maciel M.I.S., Caetano A.C.S. and Leal F.L.L. (2006).** Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Braz. Journal Food Technol.* 9 (2): 89-94.
- Mereti M., Grigoriadou K. and Nanos G.D. (2002).** Micropropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L. *Scientia Horticulturae* 93: 143-148.
- Mertz C., Cheynier V., Günata Z. and Brat P. (2007).** Analysis of Phenolic Compounds in two Blackberry Species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by

High-Performance Liquid Chromatography, with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chemistry*. 55: 8616-8624.

Meskin M.S., Bidlack W.R. and Randolph R.K. (2008). Phytochemicals Aging and health. Edition: *CRC press*. 205 pages.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université : Louis Pasteur (Strasbourg I).

Naczk M. and Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatography A*, 1054: 95-111.

Naithani V., Nair S. and Kakkar P. (2006). Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International* 39: 176-181.

Oliveira I., Coelho V., Baltasar R., Pereira J.A. and Baptista P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology* xxx: xxx-xxx.

Özcan M.M. and Haciseferogullari H. (2007). The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering* 78: 1022-1028.

Packer L. (2001). Methods in Enzymology volume 335. In “Flavonoids and Other Polyphenols”. Edition: Academic press (California). 483 pages.

Pallauf K., Rivas-Gonzalo J.C., Del Castillo M.D., Cano M.P. and De pascual-Teresa S. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food composition and Analysis* 21: 273-281.

Pergola C., Rossi A., Dugo P., Cuzzocrea S. and Sautebin L. (2006). Inhibition of nitric oxide biosynthesis by anthocyanin fraction of blackberry extract. *Nitric oxide* 15: 30-39.

Pham-Huy L.A., He H. and Pham-Huy C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International. Journal Biomedical Science*. 4 (2): 89-96.

Piljac-Žegarac J., Valek L., Martinez S. and Belščak A. (2009). Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry* 113: 394-400.

Pincemail J. Bonjean K., Cayeux K. and Defraigne J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 : 233-239.

- Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N. and Defraigne J.O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 21 : 66-75.
- Pinelo M., Manzocco L., Nuñez M.J. and Nicoli M.C. (2004).** Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. *Food Chemistry* 88: 201-207.
- Pompeu D.R., Silva E.M. and Rogez H. (2009).** Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology* 100: 6076-6082.
- Proestos C., Sereli D. and Komaitis M. (2006).** Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chemistry* 95: 44-52.
- Pulido R., Hernández-García M. and Saura-Calixto F (2003).** Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition* 57: 1275-1282.
- Ramawat K.G. and Mérillon J.M. (2008).** Bioactive molecules and medicinal plants. Edition: springer (Berlin). 379 pages.
- Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L. and Had-Aissouni L. (2005).** Stress oxydatif cerebral : Les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 24 : 502-509.
- Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- Rice-Evans C.A. and Packer L. (2003).** Flavonoids in health and disease. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. (USA). 467 pages.
- Roussel A.M. and Ferry M. (2002).** Stress oxydant et vieillissement. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16: 285-291.
- Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M.M. and Toth-Markus M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International* 38: 1023-1029.
- Seeram N.P. (2006).** Berries In Nutritional Oncology, 2nd edition. Academic press: London, U.K., Chapter 37, pp 615-628.
- Serraino I., Dugo L., Dugo P., Mondello L., Mazzon E., Dugo G., Caputi A.P. and Cuzzocrea S. (2003).** Protective effects of cyanidin-3-O-glucoside from blackberry extract against peroxynitrite-induced endothelial dysfunction and vascular failure. *Life Sciences* 73: 1097-1114.

- Shui G. and Leong L.P. (2004).** Analysis of polyphenolic antioxydants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromat A*, 1022: 67-75.
- Soufi O. (2009).** Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de la mûre. Mémoire de magister. Université de Bejaia.
- Stangeland T., Remberg S.F. and Lye K.A. (2009).** Total antioxidant activity in 35 ugandan fruits and vegetables. *Food Chemistry* 113: 85-91.
- Tate P., Stanner A., Shields K., Smith S. and Larcom L. (2006).** Blackberry extracts inhibit UV-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA 100. *Nutrition Research* 26: 100-104.
- Thériault M., Caillet S. Kermasha S. and Lacroix M. (2006).** Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chemistry* 98 (3): 490-501.
- Tiwari B.K., O'Donnell C.P. and Cullen P.J. (2009a).** Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *J. Food Engineering* 93: 166-171.
- Tiwari B.K., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K. and Cullen P.J. (2008).** Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. *Innovative Food Science and emerging Technologies* xxx:xxx-xxx.
- Tiwari B.K., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K. and Cullen P.J. (2009b).** Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 70-75.
- Torres J.A., Valle F., Pinto C., Garcia-Fuentes A., Salazar C. and Cano E. (2002).** *Arbutus unedo* L. communities in southern Iberian Peninsula mountains. *Plant Ecology* 160: 207-223.
- Tsivgoulis G.M., Afroudakis P.A., and Ioannou P.V. (2004).** Preparation of dehydro-L-(+)-ascorbic acid dimer by oxidation of ascorbic acid with arsenic acid/iodine and formation of complexes between arsenious acid and ascorbic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry* 98: 649-656.
- Vangdal E. and Sliemstad R. (2006).** Methods to determine antioxidative capacity in fruit. *Journal of fruit and Ornamental Plant Research* 14 (2): 123-131.
- Vattem D.A., Ghaedian R. and Shetty K. (2005).** Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. *Asia Pac. Journal Clin. Nutrition*. 14 (2): 120-130.

Verzelloni E., Tagliazucchi D. and Conte A. (2007). Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry* 105: 564-571.

Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Moyà M.L., Troncoso A.M. and Garcia-Parrilla M.C. (2006). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds Towards DPPH free radical. *Talanta* xxx: xxx-xxx.

Wang S.Y., Bowman L. and Ding M. (2008). Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus sp.*) and promotes antiproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry* 107: 1261-1269.

Wang W.D. and Xu S.Y. (2007). Degradation Kinetics of Anthocyanins In Blackberry Juice and Concentrate. *Journal of Food Engineering* 82: 271-275.

Watson R.R. (2009). Complementary and Alternative Therapies in the Aging population An Evidence-Based Approach. Edition : Elsevier (USA). 597 pages.

Wildman R.E.C. (2007). Handbook of Nutraceuticals and functional foods. 2^{ème} edition *CRC press*. 541 pages.

Yang B., Halttunen T., Raimo O., Price K., and Kallio H. (2009). Flavonol glycosides in wild and cultivated berries of three major subspecies of *Hippophaë rhamnoides* and changes during harvesting period. *Food Chemistry* 115: 657-664.

Yen G.C. and Hsieh C.L. (1998). Antioxidant Activity of Extracts from Du-zhong (*Eucommia ulmoides*) toward Various Lipid Peroxidation Models in Vitro. *J. Agric. Food Chemistry*. 46: 3952-3957.

Zhao Y. (2007). Berry fruit Value-Added products for Health Promotion. In “Food science and technology”. Edition *CRC press*.430 pages.

Annexes

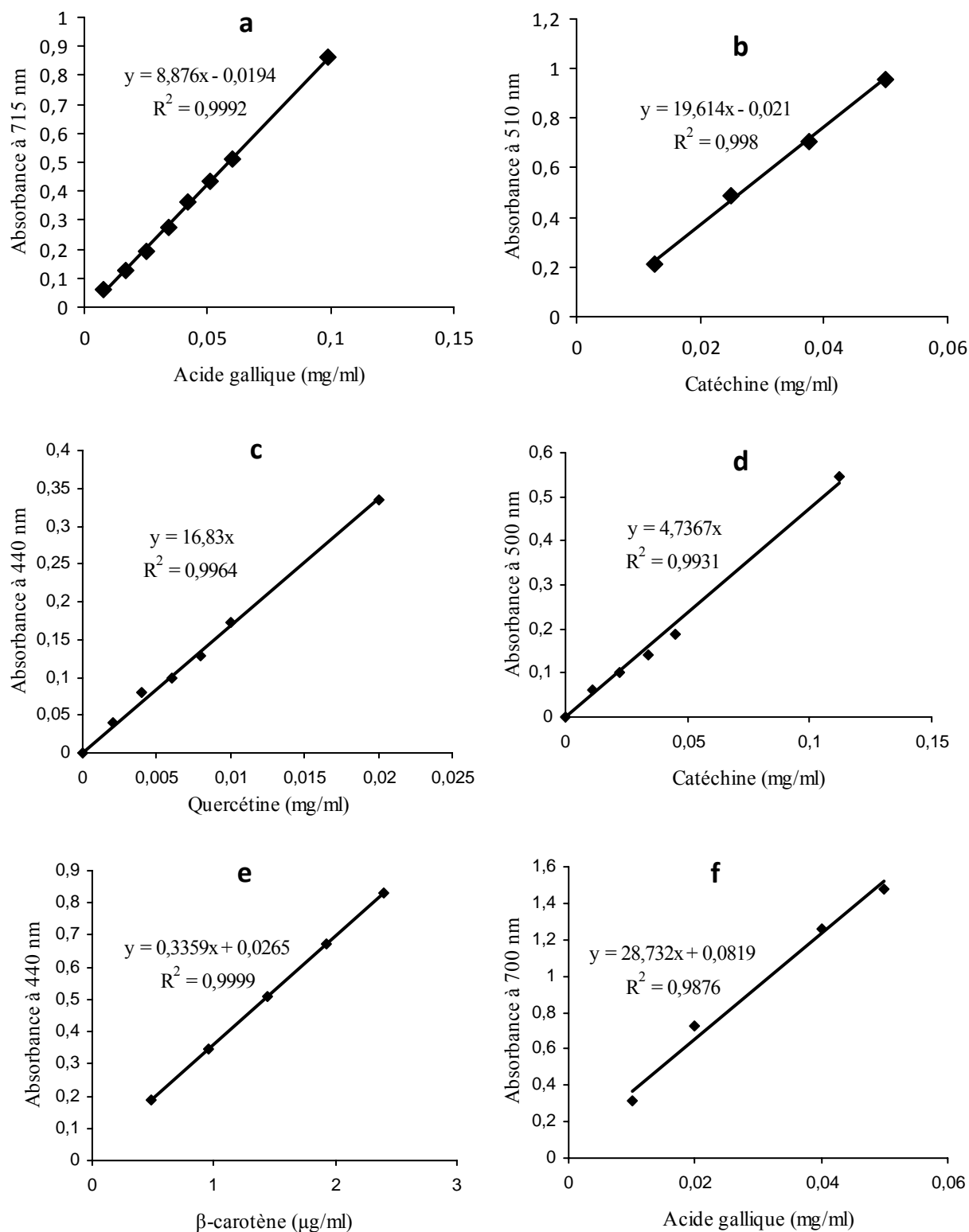


Figure 1 : Courbes d'étalonnage des composés phénoliques (a), des flavonoïdes (b), des flavonols (c), des tannins condensés (d), des caroténoïdes (e), et du pouvoir réducteur (f).

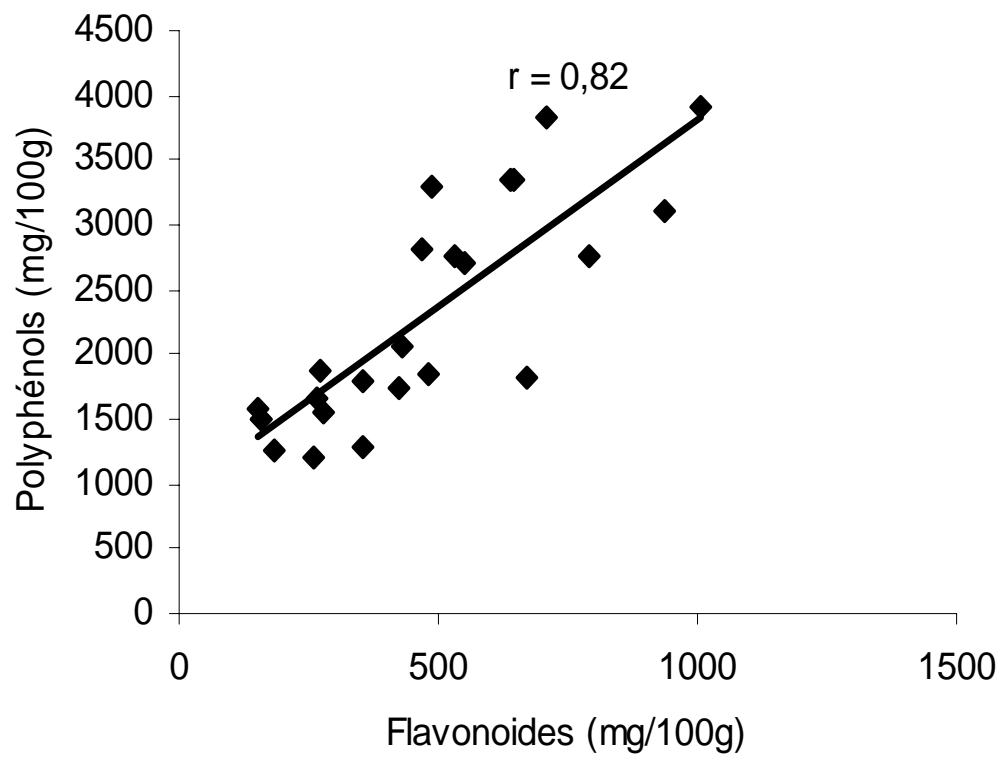


Figure 2 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits

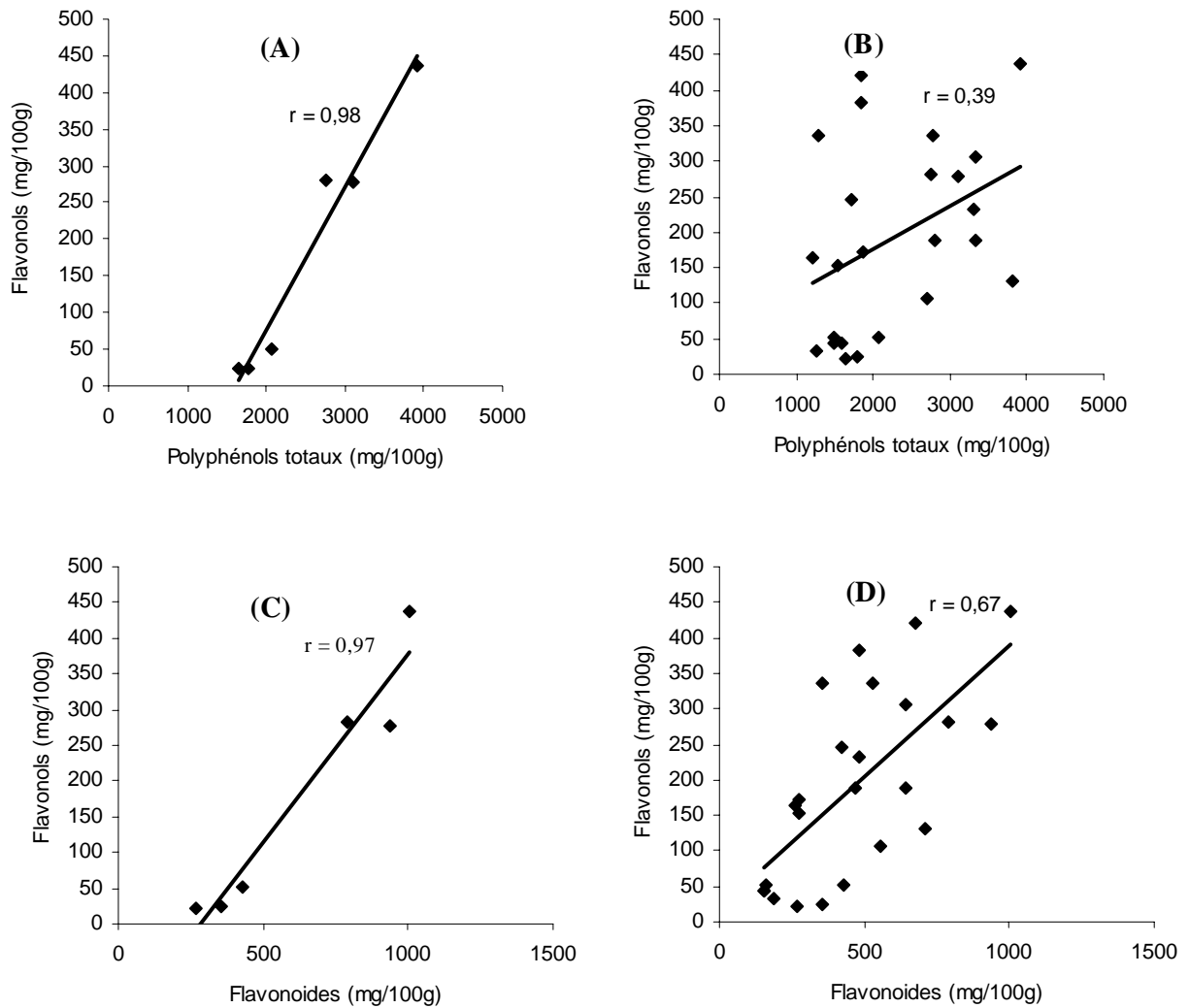


Figure 3 : Corrélation entre les teneurs en flavonols et polyphénols totaux des extraits d'éthanol 30% (A) et de quatre solvants utilisés (B), et entre flavonols, flavonoïdes des extraits d'éthanol 30% (C) et de quatre solvants utilisés (D)

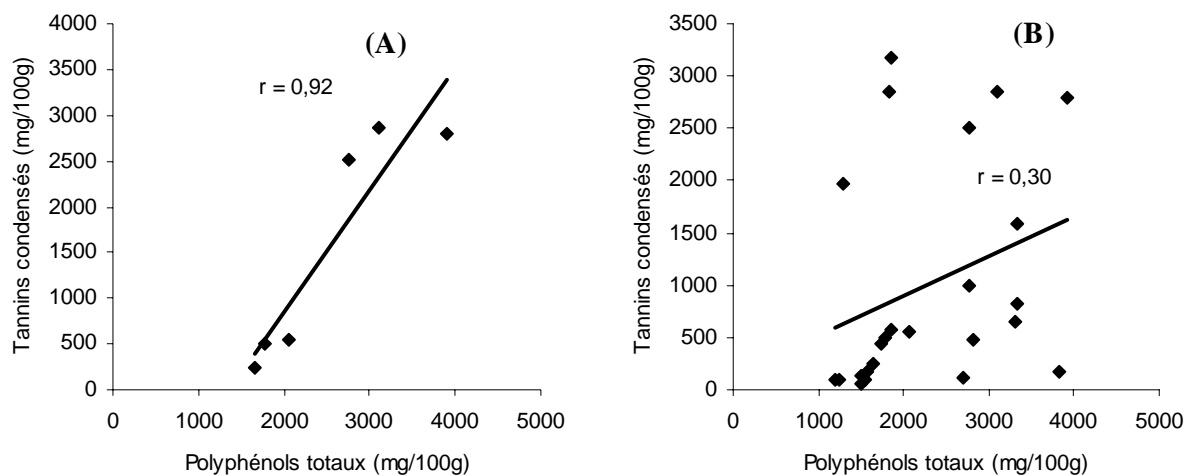


Figure 4 : Corrélation entre les teneurs en tannins condensés et en polyphénols totaux des extraits d'éthanol 30% (A) et de quatre solvants utilisés (B)

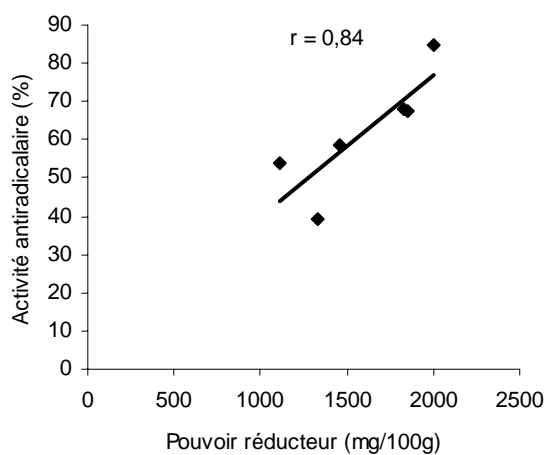


Figure 5 : Corrélation entre l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur des extraits d'éthanol 30%

Résumé : la présente étude nous a permis, d'une part de comparer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols, anthocyanines, tannins condensés et en caroténoïdes ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire, pouvoir réducteur, inhibition de peroxydation de l'acide linoléique et inhibition de peroxyde d'hydrogène) de deux fruits (l'arbose et la mûre) en utilisant quatre solvants (l'eau, l'eau acidifiée, l'éthanol 30% et l'éthanol 100%). Les résultats montrent que les teneurs en antioxydants varient en fonction de type de fruit, l'origine géographique, la nature et la concentration du solvant. Les résultats de dosages montrent que la mûre est plus riche que l'arbose en ces composés exception pour les caroténoïdes et pour certains extraits, par conséquent ; elle manifeste une activité antiradicalaire supérieure et un pouvoir réducteur plus élevé que celui de l'arbose à l'exception de certains extraits. Les effets inhibiteurs de peroxydation de l'acide linoléique et de l'inhibition de peroxyde d'hydrogène sont similaires pour les deux fruits dans la majorité des extraits. Les résultats obtenus indiquent aussi que le solvant d'extraction affecte significativement la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante ; l'éthanol 100% est plus efficace pour l'extraction des polyphénols de l'arbose tandis que avec les mûres l'eau, l'eau acidifiée ainsi que l'éthanol 30% sont les meilleurs. L'étude révèle que les extraits éthanoliques 30% et 100% de l'arbose sont plus efficaces pour inhiber le radical DPPH, alors que pour les mûres cette inhibition est faite avec l'extrait à l'éthanol 30%. Des teneurs élevées en composés phénoliques ainsi qu'une activité antioxydante importante ont été détectées. Par conséquent ces fruits peuvent être considérés comme des sources importantes d'antioxydants.

Mots clés : arbose, mûre, polyphénols, flavonoïdes, flavonols, anthocyanines, tannins condensés, caroténoïdes, activité antioxydante.

Abstract: This study allowed us, first to compare the levels of polyphenols, flavonoids, flavonols, anthocyanins, condensed tannins and carotenoids as well as antioxidant activity (radical-scavenging activity, reducing power, inhibition of peroxidation of the linoleic acid and inhibition of hydrogen peroxide) of two fruits (the arbutus and blackberry) using four solvents (water, acidified water, ethanol 30% and ethanol 100%). The results show that the contents of antioxidants vary according to the type, geographical origin, nature and concentration of the solvent. The results of the quantifying show that the blackberry is richer than the arbutus in these compounds except for carotenoids and certain extracts, therefore, it shows a higher antiradical activity and reducing power than that of the arbutus exception for some extracts. The inhibitory effects of peroxidation of linoleic acid and inhibition of hydrogen peroxide are similar for the two fruits in most extracts. The results showed that the extracting solvent significantly affected the content of phenolic compounds and antioxidant activity; ethanol 100% is more efficient for extraction of phenolic compounds from the arbutus; while for blackberry, water, acidified water and ethanol 30% are the best. The antiradical activity revealed that ethanol 30% and 100% extracts of arbutus are the most efficient for inhibit the DPPH radical, while for blackberry this inhibition is made with ethanol 30% extract. High content of phenolic compounds as well as a significant antioxidant activity have been detected in the two fruits. Therefore, these fruits can be considered as important sources of antioxidants.

Keywords: arbutus, blackberry, polyphenols, flavonoids, flavonols, anthocyanins, condensed tannins, carotenoids, antioxidant activity.