

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA BEJAIA**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**

# Mémoire

*Réalisé par : M<sup>elle</sup> SOUFI Ouahiba*

En vue de l'obtention du Diplôme de magister en Biologie  
Option : Contrôle de Qualité des Aliments, Certification, et  
méthodes de validation

## *Thème*

# *Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de la mûre*

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	M <sup>f</sup> IGUER-OUADA M.	M. Conférences (UAMB).
<b>Rapporteur :</b>	M <sup>elle</sup> LOUAILECHE H.	Professeur (UAMB).
<b>Examineurs :</b>	M <sup>f</sup> KECHA M.	M. Conférences (UAMB).
	M <sup>f</sup> REZGUI F.	M. Conférences (UAMB).

**Année universitaire : 2008/2009**

## **Remerciements**

*Au terme de ce travail, il m'est agréable de remercier tous ceux qui de près ou de loin m'ont aidé ;*

*Je remercie en premier lieu madame le professeur LOUAILECHE H. pour avoir accepté d'être ma directrice de mémoire, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et encouragements. Je la remercie aussi en tant que mon enseignante de la graduation et de la post-graduation, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Je remercie Mr IGUER-OUADA 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 juger le travail et présider le jury.*

*Mes remerciements vont aussi aux docteurs REZGUI F. et KECHA M. pour avoir accepté de donner de leur temps pour évaluer ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier Mr BEKDOUCHE F. de m'avoir aidé à identifier les espèces de mûre utilisées dans cette étude.*

*Je voudrais également remercier tous les membres du laboratoire de biochimie alimentaire.*

*Je suis particulièrement reconnaissante à M<sup>elle</sup> MOUHOUBI Z. pour son aide, soutien moral, et ses nombreux conseils.*

## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant est enfin achevé ce travail, lequel je dédie*

*à toutes les personnes qui me sont chères*

*A ceux à qui mon cœur depuis sa naissance, n'a éprouvé qu'amour et  
reconnaissance*

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation  
digne de confiance*

*A ceux qui m'ont soutenu nuits et jours, et durant tout mon parcours*

*A vous très chers parents je vous dis merci*

*A la mémoire de mes très chers grands-parents*

*A ma grand-mère*

*A mes frères et sœurs*

*A mon adorable nièce Nour-Elhouda*

*A mes oncles et tantes*

*A mes cousins et cousines*

*A tous mes amis*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.*

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Caractéristiques morphologiques de la mûre.	<b>3</b>
<b>2</b>	Classification botanique du genre <i>Rubus</i> .	<b>4</b>
<b>3</b>	Structure de quelques caroténoïdes.	<b>8</b>
<b>4</b>	Structure des acides phénoliques rencontrés dans la mûre.	<b>12</b>
<b>5</b>	Structure de base des flavonoïdes.	<b>14</b>
<b>6</b>	Structure des anthocyanidines.	<b>15</b>
<b>7</b>	Structure des principaux flavonols des mûres.	<b>16</b>
<b>8</b>	Structure des principaux flavanols.	<b>16</b>
<b>9</b>	Structures favorisant le potentiel antioxydant et antiradicalaire.	<b>17</b>
<b>10</b>	Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes.	<b>18</b>
<b>11</b>	Catéchine et épigallocatechine, exemples de précurseurs monomériques des proanthocyanidines.	<b>21</b>
<b>12</b>	Structure des éllagitannins abondants dans les mûres.	<b>22</b>
<b>13</b>	Oxydation de l'acide L- ascorbique.	<b>24</b>
<b>14</b>	Teneur en caroténoïdes des échantillons de mûre.	<b>35</b>
<b>15</b>	Teneur en composés phénoliques des échantillons de mûre.	<b>37</b>
<b>16</b>	Teneur en flavonoïdes des échantillons de mûre.	<b>40</b>
<b>17</b>	Teneur en tannins des échantillons de mûre.	<b>42</b>
<b>18</b>	Teneur en anthocyanines des échantillons de mûre.	<b>44</b>

**Suite :**

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>19</b>	Pouvoir réducteur des échantillons de mûre	<b>46</b>
<b>20</b>	Effet de la concentration des extraits de l'échantillon E3 sur le pouvoir réducteur.	<b>47</b>
<b>21</b>	Activité antiradicalaire des échantillons de mûre	<b>49</b>
<b>22</b>	Corrélation entre l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur de l'extrait d'acétone 70%.	<b>51</b>
<b>23</b>	Corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins, et les anthocyanines.	<b>52</b>
<b>24</b>	Corrélation entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes, tannins, et en anthocyanines.	<b>53</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Production mondiale de la mûre en 2005	<b>6</b>
<b>II</b>	Composition et valeur nutritive de la mûre	<b>7</b>
<b>III</b>	Teneur en caroténoïdes de la mûre	<b>9</b>
<b>IV</b>	Dérivés d'acides hydroxycinnamiques dans la mûre	<b>13</b>
<b>V</b>	Origine des échantillons de mûre	<b>26</b>
<b>VI</b>	Paramètres physicochimiques des échantillons analysés.	<b>32</b>

## *Abréviations*

AT : Acidité Titrable.

BHA : Butyl hydroxy anisole.

BSA : Bovine Sérum Albumin.

DPPH : Radical 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl.

HPLC : High Performance Liquid Chromatography.

LDL : Low Density Lipoprotein.

MS-HPLC : Mass Spectrometry- High Performance Liquid Chromatography.

ORAC : Oxygen Radical Absorbing Capacity.

SDS : Sulfate Dodécyl Sodium.

SSC : Solid Soluble Content.

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

---

---

## *Synthèse bibliographique*

---

---

I. Description et classification de la mûre.....	3
I.1. Description de la mûre.....	3
I.2. Classification de la mûre .....	3
I.2.1. L'espèce sarmenteuse .....	4
I.2.2. L'espèce érigée .....	4
I.2.3. L'espèce semi-érigée .....	5
II. Production et mise en valeur de la mûre .....	5
III. Aspect thérapeutique de la mûre.....	6
IV. Composition et valeur nutritive de la mûre .....	7
V. Les antioxydants de la mûre .....	7
V.1. Les caroténoïdes .....	7
V.2. Les composés phénoliques.....	11
V. 2.1. Les acides phénoliques .....	11
V. 2.2. Les flavonoïdes .....	14
V.2.2.1. Les anthocyanines.....	15
V.2.2.2. Les flavonols .....	16
V.2.2.3. Les flavanols .....	16
V.2.3. Les tannins .....	20
V.2.3.1. Les tannins condensés ou proanthocyanidines .....	20
V.2.3.2. Les tannins hydrolysables .....	21
V.2.4. Les stilbènes et les lignines .....	23
V.3. L'acide ascorbique .....	24

---

---

## *Matériel et méthodes*

---

---

I. Echantillonnage .....	26
II. Paramètres physico-chimiques.....	26
II.1. Taux d'humidité .....	26



II.2. pH et acidité titrable des fruits .....	27
II.3. Solides solubles .....	27
III. Dosages des antioxydants .....	27
III.1. Les caroténoïdes.....	27
III.2. Les composés phénoliques.....	27
III.2.1. Préparation des extraits.....	27
III.2.2. Dosage.....	28
III.2.2.1. Les composés phénoliques totaux .....	28
III.2.2.2. Les flavonoïdes .....	28
III.2.2.3. Les tannins .....	28
III.2.2.4. Les anthocyanines.....	29
IV. Activité antioxydante.....	29
IV.1. Pouvoir réducteur.....	29
IV.2. Activité antiradicalaire .....	30
V. Analyse statistique .....	30

---



---

## ***Résultats et discussion***

---



---

I. Paramètres physico-chimiques .....	31
I.1. Taux d'humidité .....	31
I.2. pH et acidité titrable des fruits.....	31
I.3. Solides solubles .....	31
I.4. Indice de maturité .....	33
II. Dosage des antioxydants .....	34
II.1. Les caroténoïdes.....	34
II.2. Les composés phénoliques .....	35
II.2.1. Les composés phénoliques totaux.....	35
II.2.2. Les flavonoïdes .....	39
II.2.3. Les tannins .....	41
II.2.4. Les anthocyanines .....	44
III. Activité antioxydante .....	45

III.1. Pouvoir réducteur.....	45
III.2. Activité antiradicalaire.....	48
IV. Relation activité antioxydante et teneurs en composés phénoliques.....	51
Conclusion .....	55
Références bibliographiques .....	57
Annexes.	

## *Introduction*

La perturbation de l'équilibre endogène entre les radicaux libres et les anti-oxydants provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru, nommé stress oxydant (Berger, 2006). De nombreux travaux indiquent que le stress oxydant est à l'origine de plusieurs pathologies (maladies cardio-vasculaires, cancer, diabète, arthrite rhumatoïde,...) suite à l'oxydation de molécules biologiques dont les lipides, les protéines et les acides nucléiques par les radicaux libres dans l'organisme vivant (Pincemail *et al.*, 2002).

Plusieurs études épidémiologiques et cliniques confirment le rôle incontestable de la consommation régulière de fruits dans la réduction du risque des cancers et des maladies chroniques, notamment les affections cardiovasculaires; cette relation est souvent attribuée aux antioxydants présents dans les fruits (la vitamine C, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les acides phénoliques,...) qui préviennent l'oxydation des molécules biologiques, par les radicaux libres (Liu, 2003; Pincemail *et al.*, 2007; Talvas *et al.*, 2008). Ces constats semblent d'autant plus importants que la prévention de ces pathologies est devenue une stratégie extrêmement intéressante.

Les mûres attirent depuis quelques années, l'attention des scientifiques en tant qu'agents protecteurs contre diverses maladies dont les maladies cardio-vasculaires et le cancer. Les composés bioactifs présents dans les mûres possèdent en effet, de fortes capacités anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Beattie *et al.*, 2005; Seeram, 2008).

Les mûres sont une bonne source d'antioxydants ; en plus des vitamines et des minéraux, les extraits de mûre sont également riches en métabolites secondaires tels que les anthocyanines et les acides phénoliques (Wang et Lin, 2000, Moyer *et al.*, 2002 ; Wada et Ou, 2002). Les mûres présentent une forte capacité antioxydante en comparaison à d'autres fruits (fraise, prune, pomme, poire, kiwi, grenade, abricot, raisin, figue, etc.). Elles ont montré une activité antiradicalaire élevée vis-à-vis des espèces réactives générées chimiquement (radicaux peroxydes, superoxydes, peroxyde d'hydrogène, etc). Elles sont efficaces dans l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) humaines (Jiao et Wang, 2000 ; Garcia-Alonso, 2004; Wang *et al.*, 2008).

Les composés phénoliques sont une classe diversifiée de molécules phytochimiques de structures variées; ils sont souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides,...) (Monpon *et al.*, 1996). Par conséquent, leur extraction est particulièrement problématique ; ce qui rend très difficile le développement de procédures standardisées pour l'extraction simultanée de tous les composés phénoliques (Naczk et Shahidi, 2006).

Une méthode d'extraction adéquate doit permettre une extraction complète des composés phénoliques et éviter les modifications chimiques. Les composés phénoliques solubles sont en général extraits au moyen des mélanges alcool-eau (Macheix *et al.*, 1990). Le solvant optimum de l'extraction des composés phénoliques doit satisfaire les critères suivants :

- La capacité à extraire la quantité la plus élevée en composés phénoliques.
- La capacité à extraire la quantité la plus faible en substances interférentes.

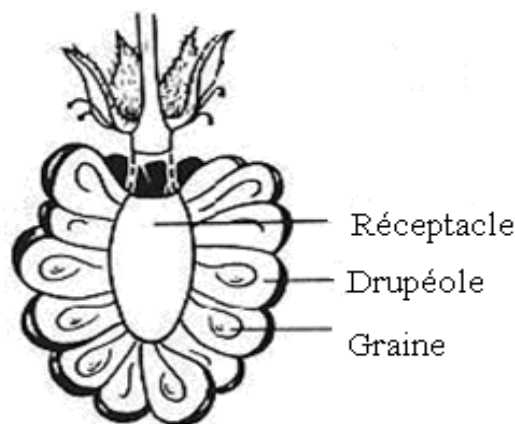
La présente étude a été consacrée à l'évaluation de l'effet de la nature et de la concentration du solvant (acétone, éthanol et eau) sur l'extraction des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins de cinq échantillons de mûre. Cette étude a été complétée par la comparaison de la capacité antioxydante (activité anti-radicalaire et pouvoir réducteur) des différents extraits.

## **I. Description et classification de la mûre**

### **I.1. Description de la mûre**

La ronce est originaire des régions tempérées d'Europe. C'est une plante vivace ayant des tiges ligneuses, couchées ou grimpantes, atteignant 5m de long et fortement armées d'aiguillons. Les fleurs sont blanches ou roses ayant 5 pétales. Les fruits composés noirs sont appelés mûres (Schauenberg, 1977; Bossard et Cuisance, 1986).

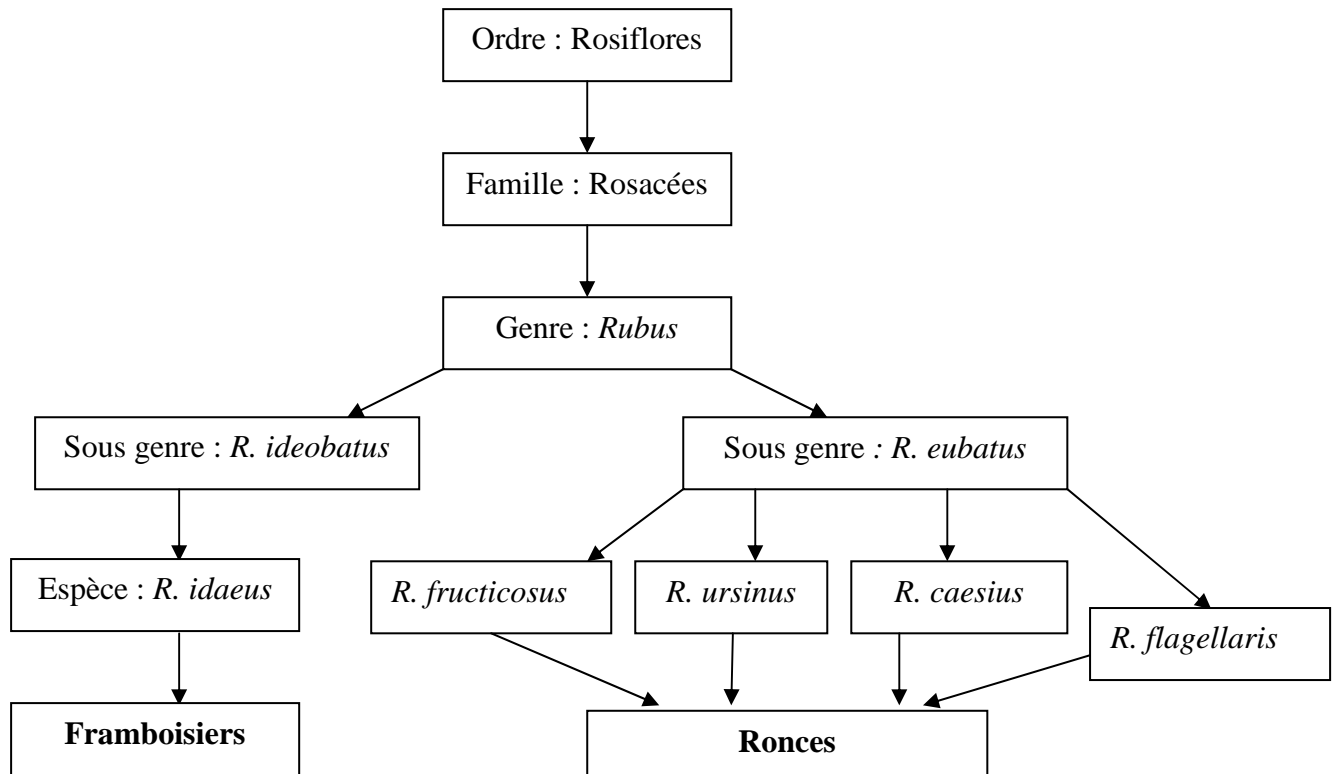
La mûre est un agrégat de drupéoles de 12 à 20 mm de diamètre agglutinées les unes aux autres, de couleur rouge, puis noire à maturité, charnues, juteuses, douces, et attachées au noyau central (réceptacle). Chaque drupéole contient une graine dure (figure 1) (Bruzzese, 1998). Les graines sont de couleur marron claire à marron foncé, ovales avec un diamètre de 2-3 mm; leur nombre dans le fruit varie considérablement avec les espèces. Il dépend également du climat, de la pollinisation, et de facteurs génétiques (Bruzzese, 1998).



**Figure 1 :** Caractéristiques morphologiques de la mûre.

### **I.2. Classification de la mûre**

Les mûres appartiennent à la famille des *Rosaceae* du genre *Rubus* et du sous-genre *Eubatus* (figure 2). A l'intérieur du sous-genre *Eubatus*, les taxonomistes identifient 8 sections, et de nombreuses espèces et sous-espèces (Duperrex, 1977). La classification des espèces et des sous-espèces est controversée étant donné les variations, hybridations et mutations qu'elles ont subit durant leur évolution. Cependant quelques généralités les regroupant peuvent en être dégagées (McGregor, 1998).



**Figure 2 :** Classification botanique du genre *Rubus* (Duperrex, 1977).

En se basant sur la morphologie des fruits, les mûres peuvent être regroupées en trois espèces :

### **I.2.1. L'espèce sarmenteuse**

Elle forme une souche aux fortes racines plongeantes. Le volume et la fermeté des baies sont variables. Certaines variétés produisent des fruits croquants, d'autres des fruits juteux. Les fruits sont plus petits et plus sucrés mais facilement abîmés que les variétés érigées. Les variétés appartenant à cette espèce sont : « Waldo », «Ollalie», «Silvan», «Siskiyou», « Marion » etc. Les fruits de ces variétés sont généralement assez moelleux et d'une excellente saveur. Leur arôme est abondant à pleine maturité. Ces fruits sont utilisés pour la confection des confitures et sirops.

### **I.2.2. L'espèce érigée**

Elle est caractérisée par des racines traçantes et pourvues d'abondants bourgeons adventifs. Les baies sont rondes ou allongées; les drupéoles sont luisantes ou pubérulentes. Les variétés appartenant à cette espèce sont : « Brazos »,

« Cherokee », « Choctaw », « Navaho », etc. Les fruits de ces variétés sont larges, assez grumeleux et avec des graines larges. Ce sont des fruits fermes avec une peau résistante les rendant adaptés à la commercialisation. La flaveur peut être très bonne mais n'est pas aussi aromatique que les mûres sarmenteuses.

### **I.2.3. L'espèce semi-érigée**

Parmi les plantes appartenant au genre *Rubus*, plusieurs sont apparues successivement avec des caractères nouveaux. Les produits des mutations et des hybridations ont été classés dans l'une ou l'autre espèce, selon les caractéristiques des fleurs et l'adhérence des drupéoles au réceptacle. Les drupéoles sont nombreuses et pourvues de longs poils. Les variétés appartenant à cette espèce sont : «Hull thornless», «Chester thornless», «Triple Crown», etc. Leurs fruits sont similaires à ceux des variétés érigées. Ces fruits sont essentiellement considérés comme fruit de dessert, et parfois mis en confiture, ou surgelés (Duperrex, 1977; Barclay-Poling et Gough, 1996; George, 2000).

## **II. Production et mise en valeur de la mûre**

Selon Quezel et Santa (1963), trois espèces sont décrites en Algérie mais aucune statistique n'est disponible. La surface cultivée dans le monde entier a augmenté d'environ 45% ces dernières années. La production mondiale des mûres en 2005 a été supérieure à 154000 tonnes avec une augmentation continue (tableau I). Les mûres sauvages, contribuent significativement à la production mondiale, on estime ainsi une production totale de 14,837 tonnes en 2005 (Strik *et al.*, 2007).

Les fruits sont souvent récoltés à la main. Ils peuvent également être récoltés à l'aide des machines. La récolte doit se faire tous les deux jours, car les fruits mûrissent rapidement. Les mûres doivent être cueillies seulement lorsqu'elles sont molles et qu'elles se détachent facilement, moment où elles sont peu acides et très sucrées. Les mûres rentrent dans la préparation de jus et de sirops. Elles colorent également bien les confitures et les sorbets (Duperrex, 1977; Zasada et Tappeiner, 1994).

**Tableau I :** Production mondiale de la mûre en 2005 (Strik *et al.*, 2007)

Région	Surface (ha)	Production (tonnes)
Europe	7,692	47.386
Amérique du nord	7,159	65.170
Amérique centrale	1,640	1.753
Amérique du sud	1,597	6.975
Asie	1,550	29.051
Océanie	297	4.023
Afrique	100	220
<b>Monde entier</b>	20,035	154.578

### **III. Aspect thérapeutique de la mûre**

Les mûres sont utilisées depuis des milliers d'années pour leurs propriétés médicinales (affections pulmonaires, métrorragies, angines,...). Le sirop du fruit est efficace contre les diarrhées, en particulier chez les enfants (Schauenberg, 1977 ; Valnet, 1985). Les mûres ont une action sur le tractus digestif ; elles peuvent être laxatives, dépuratives et hémostatiques (Duraffourd et Lapraz, 2002). Les mûres renferment des teneurs plus élevées en anthocyanines et autres antioxydants par rapport aux divers fruits (Halvorsen *et al.*, 2006 ; Moyer *et al.*, 2002; Pantelidis *et al.*, 2007). Ces anthocyanines participent à l'activité anti-inflammatoire des mûres, par suppression de la production de l'oxyde nitrique par la cyanidine-3-glucoside, principal anthocyanine des mûres, auquel est attribuée une activité chimiopréventive et chimiothérapeutique. Il présente également une activité antiradicalaire, protège contre le dysfonctionnement endothélial, et les dommages du myocarde (Pergola *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2007).

Seeram (2008) a montré que les extraits de mûre inhibent chez l'homme, la croissance des cellules cancéreuses (cancers de la prostate, du colon, du sein, du poumon), à des doses précises.



#### IV. Composition et valeur nutritive de la mûre

Les mûres présentent une composition diversifiée. Elles contiennent très peu de lipides et de protéines (tableau II); elles renferment une quantité appréciable de glucides, vitamines et minéraux. Les composés mineurs incluent les pigments, et les substances aromatiques qui contribuent à leurs caractéristiques organoleptiques (Belitz *et al.*, 2004).

**Tableau II:** Composition et valeur nutritive de la mûre (Souci *et al.*, 1994)

Composant (g)	Moyenne*	Intervalle	Densité nutritive** (g/MJ)
Eau	84,70	82,20 – 87,00	455,77
Protéines	1,25	1,20 – 1,30	6,46
Lipides	1,00	- - -	5,38
Sucres	6,24	- - -	33,58
Fibres alimentaires	3,16	- - -	17,00
Acides organiques	1,72	- - -	9,26
Minéraux	0,51	0,50 – 0,52	2,74

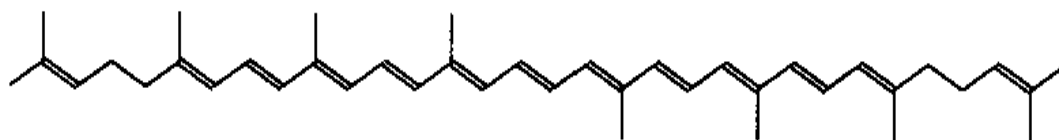
(\*) : Valeur moyenne par 100g de matière comestible ; (\*\*): La densité nutritive d'un composé nutritif d'un aliment est le rapport entre la teneur en ce composé (g) et l'énergie totale fournie par l'aliment (mégajoules).

#### V. Les antioxydants de la mûre

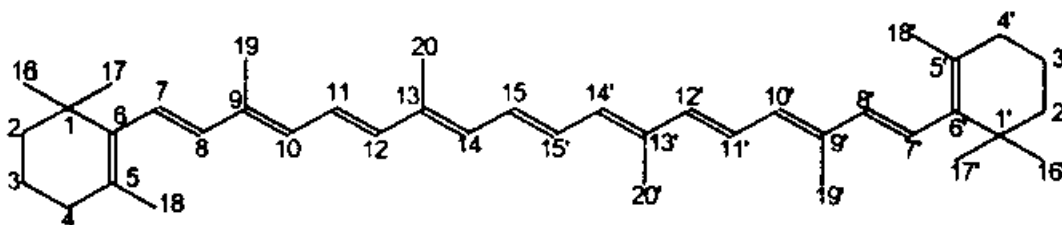
##### V.1. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes représentent un ensemble de pigments très répandus dans la nature. Le terme caroténoïde comprend deux classes de composés voisins : les carotènes, hydrocarbures insaturés, et leurs dérivés oxygénés, les xanthophylles.

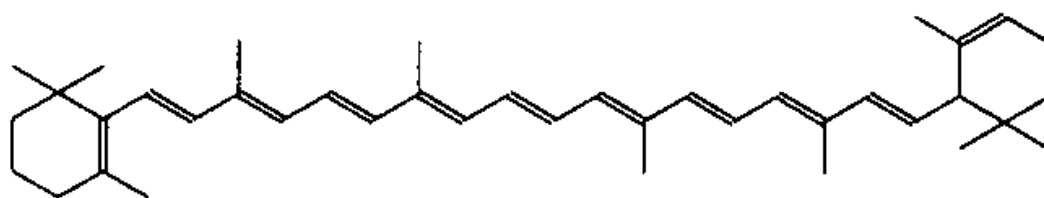
Les caroténoïdes dérivent chimiquement d'une structure de base formée par l'enchaînement linéaire de huit unités isopréniques. Cette structure (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>) avec de nombreuses doubles liaisons conjuguées, est le lycopène (figure 3); les autres caroténoïdes en dérivent par cyclisation et oxydation (Faure *et al.*, 1999 ; Stahl et Sies, 1999; Multon, 2002).



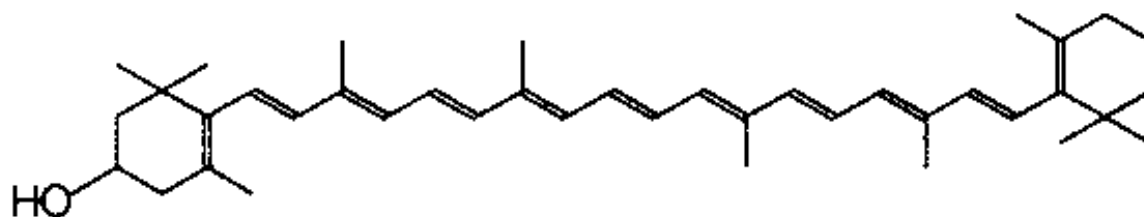
Lycopène



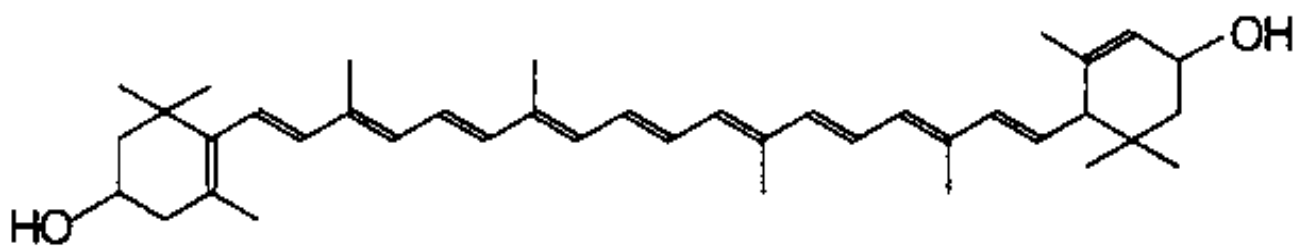
β-Carotène



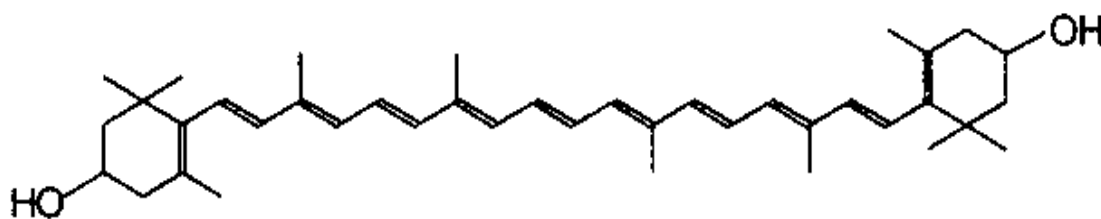
α-Carotène



β-Cryptoxanthine



Lutéine



Zéaxanthine

Figure 3 : Structure de quelques caroténoïdes (Rodriguez-Amaya, 2001).

Les données de la littérature sur la teneur en caroténoïdes des baies sont limitées. Une étude de la composition en caroténoïdes de baies (mûres, fraises, framboises, myrtilles, cassis, et groseille rouge), a révélé que la teneur la plus élevée est celle de la mûre; les caroténoïdes identifiés sont : le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -carotène, la  $\beta$ -cryptoxanthine, la zéaxanthine et la lutéine (tableau III) (Marinova et Ribarova, 2007).

**Tableau III** : Teneur en caroténoïdes de la mûre (Marinova et Ribarova, 2007)

<b>Caroténoïde</b>	<b>Moyenne (<math>\mu\text{g}/100\text{g}</math>)</b>
Lutéine	$270 \pm 33$
Zéaxanthine	$29 \pm 0,8$
$\beta$ -cryptoxanthine	$30 \pm 3,7$
$\alpha$ -carotène	$9,2 \pm 0,7$
$\beta$ - carotène	$100 \pm 13$
Caroténoïdes totaux	440

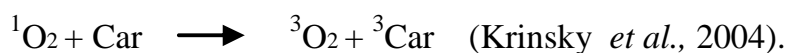
### ❖ Propriétés antioxydantes des caroténoïdes

Les caroténoïdes, grâce à leurs longues chaînes polyinsaturées, sont de bons piègeurs de radicaux libres, leur pouvoir réducteur (anti-oxydant) est par contre beaucoup moins évident puisqu'ils ne portent pas de groupement réducteur (Faure *et al.*, 1999).

#### ➤ Piégeage de l'oxygène singulet

Les caroténoïdes sont particulièrement efficaces contre l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ). L'activité anti- $^1\text{O}_2$  dépend du nombre de doubles liaisons et des substituants sur les cycles. Ce processus physique laisse intactes les molécules de caroténoïdes qui peuvent donc intervenir dans plusieurs cycles successifs du piégeage de l'oxygène singulet (Ames *et al.*, 1993; Faure *et al.*, 1999 ; Stahl et Sies, 1999). Le principal mécanisme responsable de ce phénomène implique le transfert direct de l'énergie de l'oxygène singulet vers une molécule de caroténoïde avec formation de l'oxygène

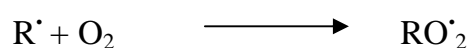
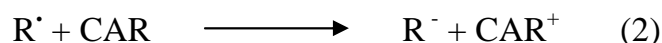
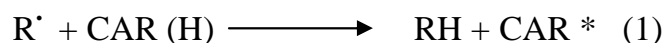
moléculaire triplet et d'une molécule de caroténoïde excitée qui revient à son état initial par perte de son énergie sous forme de chaleur selon la réaction suivante :



Le  $\beta$ -carotène et le lycopène désactivent l'oxygène singulet, état excité de l'oxygène intervenant dans la photo-oxydation (Cuvelier et Martel, 2002). Les doubles liaisons conjuguées du  $\beta$ -carotène sont principalement responsables de l'excellente capacité à piéger l'oxygène singulet. Les caroténoïdes ayant neuf (ou plus) doubles liaisons présentent la capacité maximale à piéger l'oxygène singulet (Machlin et Bendich, 1987; Dutta *et al.*, 2005).

### ➤ Neutralisation des radicaux libres

Les caroténoïdes (CAR) peuvent piéger les radicaux libres (R $\cdot$ ) par trois méca-nismes : transfert d'hydrogène (1), transfert d'électron (2) et addition (3) (Krinsky *et al.*, 2004) :



Les caroténoïdes sont capables de neutraliser les espèces oxygénées réactives (ERO) tels que les radicaux peroxydes et de protéger ainsi les systèmes cellulaires de l'oxydation. Les caroténoïdes ont un rôle de complémentarité ou de synergie avec d'autres antioxydants telles que les vitamines C et E (Amiot-Carlin *et al.*, 2007).

Les caroténoïdes comme le  $\beta$ -carotène sont très réactifs vis à vis des radicaux peroxydes mais moins avec les radicaux hydroxyle et l'anion superoxyde (Krinsky *et al.*, 2004). L'activité des autres caroténoïdes diminue avec la longueur de la chaîne et le nombre des doubles liaisons conjuguées (Mordi, 1992).

## **V.2. Les composés phénoliques**

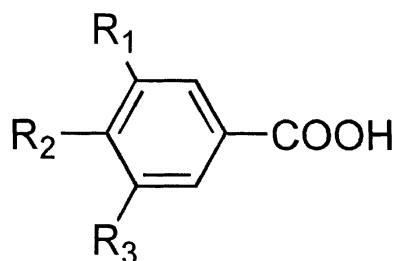
Les composés de ce groupe important de métabolites secondaires végétaux se reconnaissent par la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyle, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique. Souvent, les composés phénoliques sont liés à des glucides, surtout lorsqu'ils sont en solution dans le suc vacuolaire (Richter, 1993). Les composés phénoliques peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycle phénol et les éléments structuraux liés au cycle phénol. Les classes majeures des composés phénoliques des baies dont la mûre sont les flavonoïdes (anthocyanines, flavonols et flavanols), les tannins condensés (proanthocyanidines), les tannins hydrolysables (éllagitannins et gallotannins), stilbenoïdes, acides phénoliques, et les lignines (Seeram, 2006).

### **V.2.1. Les acides phénoliques**

Les acides phénoliques présents dans les mûres (formes libre, estérifiée et glycosidique) appartiennent à deux classes :

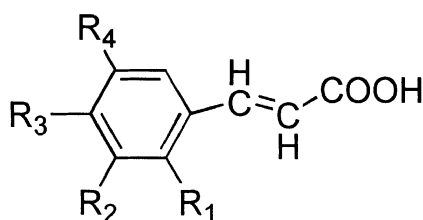
- ❖ **Les dérivés d'acides hydroxybenzoïques** : les acides protocatéchique, gallique, genti-sique, salicylique et vanillique.
- ❖ **Les dérivés d'acides hydroxycinnamiques** : les acides caféique, *m*-coumarique, *p*-coumarique et férulique; les formes ester de l'acide *m*-coumarique et 3,4-diméthoxycinnamique et hydroxycaféique sont prédominantes (figure 4) (Robards *et al.*, 1999 ; Zhao, 2007).

La teneur des mûres en acides hydroxybenzoïques est généralement très faible (8-27mg/100g de poids frais) et inférieure à celle des acides hydroxycinnamiques (200- 220 mg/100g). L'acide caféique est le plus abondant ; il représente 75% à 100% de la teneur en acides hydroxycinnamiques (Manach *et al.*, 2004). Les formes ester et glycoside représentent 53% et 43,6% des acides phénoliques totaux de la mûre, respectivement (Wu *et al.*, 2006).



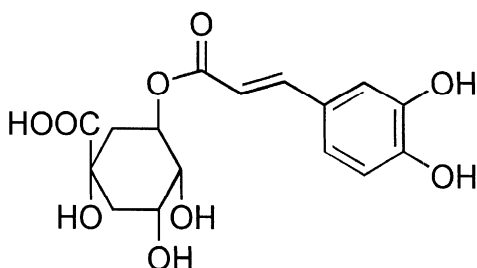
Acide gallique	$R_1=R_2=R_3=OH$
Acide protocatéchique	$R_1=H, R_2=R_3=OH$
Acide vanillique	$R_1=H, R_2=OH,$ $R_3=OCH_3$
Acide syringique	$R_2=OH,$ $R_1=R_3=OCH_3$

### Acides hydroxybenzoïques



Acide férulique	$R_1=R_2=H, R_3=OH,$ $R_4=OCH_3$
Acide <i>o</i> -coumarique	$R_2=R_3= R_4=H, R_1=OH$
Acide <i>p</i> -coumarique	$R_1=R_2= R_4=H, R_3=OH$
Acide caféique	$R_1=R_2=H, R_3= R_4=OH$
Acide sinapique	$R_1=H, R_3=OH,$ $R_2=R_4=OCH_3$

### Acides hydroxycinnamiques



Acide chlorogénique (acide 5-cafféoylquinique)
Acide coutarique (acide <i>p</i> -coumaroyltartrique)
Acide caftarique (acide cafféoyltartrique)

### Esters d'acide cinnamique

**Figure 4 :** Structure des acides phénoliques rencontrés dans la mûre (Robards, 2003).

Les acides phénoliques et leurs dérivés identifiés dans les mûres sont les acides chlorogénique, néochlorogénique, 3-*p*-coumaroylquinique, 3-féruoylquinique, les esters de glucose et d'acides caféique, *p*-coumarique, férulique et gallique, et les  $\beta$ -D-glucosides des acides *p*-coumarique, *p*-hydroxybenzoïque et protocatéchique (tableau IV) (Belitz *et al.*, 2004 ; Zhao, 2007).

Zadernowski *et al.* (2005) ont identifié plus de 14 acides phénoliques dont les plus abondants sont les acides *m*- et *p*-coumarique, 3,4-diméthoxy-cinnamique et hydroxycatéique qui constituent 18,3 ; 12,9 ; 15,4 et 16,1%, des acides phénoliques

totaux, respectivement. Les teneurs en acides férulique, gentisique, protocatéchique et vanillique n'excèdent pas 5mg/100g de matière sèche de mûre.

**Tableau IV :** Dérivés d'acides hydroxycinnamiques dans la mûre (Belitz *et al.*, 2004).

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

#### ❖ Propriétés antioxydantes des acides phénoliques

L'activité antioxydante des acides phénoliques dépend du nombre et de la position des groupements hydroxyles liés au groupement fonctionnel carboxyle. Ainsi, elle augmente avec l'augmentation du degré d'hydroxylation, comme dans le cas de l'acide gallique trihydroxylé qui montre une activité antioxydante élevée. Cependant, la substitution des groupements hydroxyles en position 3 et 5 avec les groupements méthoxyl comme dans le cas de l'acide syringique réduit l'activité. Les acides hydroxycinnamiques exercent une activité antioxydante plus élevée que celle des acides hydroxybenzoïques, ceci peut être dû au groupement  $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ , qui assure une grande capacité à céder des atomes d'hydrogène et une stabilisation du radical (Balasundram *et al.*, 2006).

Les acides phénoliques ont de bonnes propriétés antioxydantes dues à leur structure stabilisée par résonance. Les acides hydroxycinnamiques présents dans la mûre ont montré une inhibition de l'oxydation des LDL *in vitro* (Kahkonen *et al.*, 1999). Les capacités antioxydantes des acides hydroxycinnamiques *in vivo* (inhibition de l'oxydation des LDL) suivent l'ordre : acide caféique > acide férulique > acide *p* –

coumarique. Les acides hydroxycinnamiques piègent les espèces réactives azotées et protègent divers substrats de la nitration (Nichenametla *et al.*, 2006).

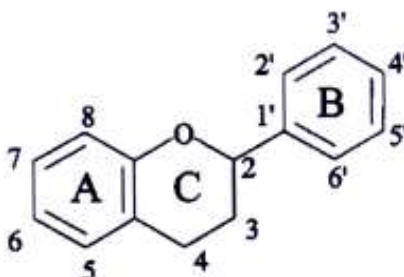
Les acides chlorogénique et caféique sont des antioxydants, qui peuvent inhiber la formation de composés mutagènes et carcinogènes N-nitrosés car ils inhibent la réaction de N-nitrosation *in vitro*. En plus, l'acide chlorogénique peut inhiber les dommages d'ADN *in vitro* (Tapiero *et al.*, 2002).

L'acide chlorogénique a montré une activité antioxydante plus faible que celle de l'acide caféique. L'acide vanillique a une activité antioxydante similaire à celle de l'acide *p*-coumarique (Zheng et Wang, 2003).

### V.2.2. Les flavonoïdes

Comme le laisse supposer sa dénomination (du latin, flavus : jaune), ce groupe très important comprend des composés de couleur jaune, mais aussi des composés de couleurs variées ou même incolores. Ils ont en commun la structure de flavane (figure 5) à 15 atomes de carbone, constituée de deux noyaux aromatiques 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 (Richter, 1993; Robards et Antolovich, 1997).

Les flavonoïdes représentent les composés phénoliques les plus abondants. Trois sous classes sont largement dominantes : les anthocyanines, les flavonols et les flavanols (Robards *et al.*, 1999; Manach *et al.*, 2004). Les baies, en particulier les mûres sont une bonne source en flavonoïdes ; elles renferment des teneurs élevées (312,86mg /100g de poids frais). Les flavonoïdes majeurs sont les anthocyanines, les flavonols et les catéchines (Kahkonen *et al.*, 1999; Sellapan *et al.*, 2002; Vатtem *et al.*, 2005).



**Figure 5** : Structure de base des flavonoïdes (Pietta, 2000).

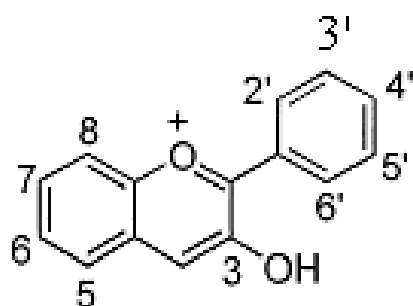


### V.2.2.1. Les anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments hydrosolubles, responsables des couleurs rouge, bleue et pourpre des fruits, légumes, fleurs et autres tissus végétaux. Chimiquement, ce sont des dérivés glycosylés polyhydroxylés ou polyméthoxylés des sels de 2-phénylbenzopyrylium ou de flavylium. Ces composés sont particulièrement abondants dans les baies (Felgines, 2003; Derbel et Ghedira, 2005). Les anthocyanines sont les anthocyanidines conjuguées. Elles forment des conjugués avec des glucides en particulier le glucose, le rutinose, le sophorose, le rhamnose, le galactose, l'arabinose et le xylose (figure 6) (Robards et Antolovich, 1997; Beattie *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2006). Les mûres renferment des quantités élevées d'anthocyanines : 100-400mg/100g de poids frais (Jiao *et al.*, 2005; Manach *et al.*, 2004).

Le dérivé de la cyanidine avec divers glucides attachés en position C3 (glucose, arabinose, rutinose et xylose) est prédominant dans les mûres. Les anthocyanines sont principalement présents sous forme non acylée (94%). Les anthocyanines existent souvent comme monoglycosides (90%) et diglycosides (10%) dans les mûres (Robards *et al.*, 1999; Beattie *et al.*, 2005).

Les anthocyanines identifiées dans les mûres sont principalement : la cyanidine aglycone, la cyanidine-3-*O*-glucoside (87,5%), la malvidine-3-*O*-acetylglucoside, la cyanidine-3-*O*-rutinoside, la cyanidine-3-dioxalyl-glucoside, la cyanidine-3-xyloside, la cyanidine-3-(6-malonyl) (Siriwoharn *et al.*, 2004 ; Reyes *et al.*, 2005; Elisia *et al.*, 2007; Zhao, 2007).

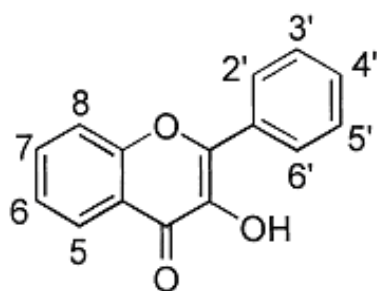


Pélagonidine	5=7=4'=OH
Cyanidine	5=7=3'=4'=OH
Péonidine	5=7=4'=OH, 3'=OCH <sub>3</sub>
Delphinidine	5=7=3'=4'==5'=OH
Pétunidine	5=7=4'=5'=OH, 3'= OCH <sub>3</sub>
Malvidine	5=7=4'=OH, 3'= 5'=OCH <sub>3</sub>

**Figure 6** : Structure des anthocyanidines (Robards, 2003).

### V.2.2.2. Les flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants; ils sont présents sous forme glycosylée (glucose ou rhamnose). D'autres substituants tels que le galactose, l'arabinose, le xylose et l'acide glucuronique peuvent également être impliqués. Les flavonols présentent des substitutions impliquant souvent l'hydroxylation du cycle A et/ou B en position 5 et 7 ou 3' et 4', respectivement (Robards *et al.*, 1999; Tapiero *et al.*, 2002). Ils constituent une fraction mineure (9,9mg/100g à 15mg/100g) qui représente 2,4 à 4% des composés phénoliques solubles totaux des mûres; les flavonols dominants sont la quercétine, le kœmpférol et leurs glycosides (Cho *et al.*, 2005). Cependant, des teneurs importantes en myricétine (figure 7) (6,68-9,99 mg/100g) ont été également détectées dans les mûres (Sellapan *et al.*, 2002).

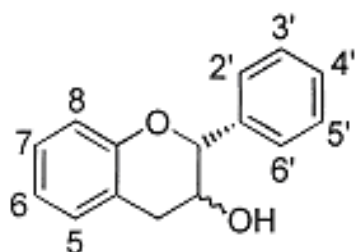


Quercétine	5=7=3'=4'=OH
Myricétine	5=7=3'=4'=5'=OH
Kœmpférol	5=7=4'=OH

**Figure 7:** Structure des principaux flavonols des mûres (Robards, 2003).

### V.2.2.3. Les flavanols

Les flavanols sont une classe des flavonoïdes non glycosylés. Ils existent sous formes monomérique (catéchine) et polymérique (proanthocyanidine) (figure 8). Parmi, ces composés, les catéchines et épicatechines qui sont les principaux flavanols présents dans les baies (Beecher, 1999; Robards *et al.*, 1999; Manach *et al.*, 2004).



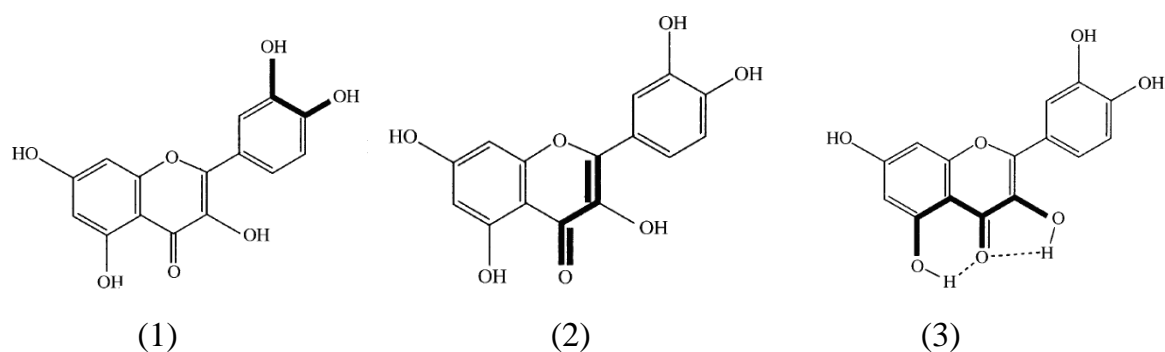
Catéchine	5=7=3'=4'=OH
Épicatéchine	5=7=3'=4'=OH
Épigallocatechine	5=7=3'=4'=5'=OH

**Figure 8 :** Structure des principaux flavanols (Robards, 2003).

### ❖ Propriétés antioxydantes des flavonoïdes

L'activité antioxydante des flavonoïdes est principalement attribuée à leur capacité à piéger l'oxygène, les radicaux hydroxyles, les espèces azotées actives et à chélater les métaux redox-actifs qui sont à l'origine de leur structure chimique (Shahidi, 1997; Oteiza, 2005). Les flavonoïdes sont caractérisés par la facilité à céder de l'hydrogène pour leur potentiel antioxydant et antiradicalaire efficace en raison des critères suivants :

- La structure O-dihydroxy dans le cycle B (1);
- La double liaison 2,3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo dans le cycle C (2) ;
- Et la présence des groupes 3 et 5-OH dans le cycle A et C (3) (figure 9) (Shi *et al.*, 2002).



**Figure 9** : Structures favorisant le potentiel antioxydant et antiradicalaire.

### ➤ Inhibition des enzymes

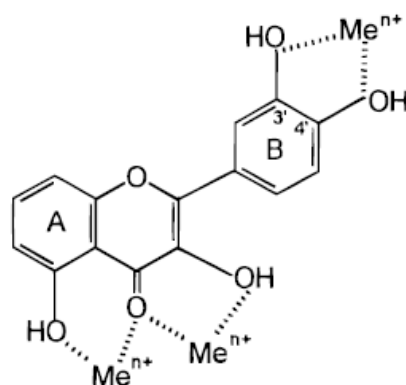
Les flavonoïdes sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoire, antiulcéreuses et même antitumorales significatives (Derbel et Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes inhibent les enzymes responsables de la production de l'anion superoxyde (xanthine oxydase). Ils inhibent également la cyclooxygénase, la lipoxygénase, la glutathion et la NADH oxydases, etc., enzymes impliqués dans la génération des espèces oxygénées réactives (Pietta, 2000). Les flavonols des baies inhibent l'activité des cyclooxygénase et lipoxygénase (Beattie *et al.*, 2005).

➤ **Chélation des métaux**

Plusieurs flavonoïdes peuvent agir comme antioxydants préventifs en chélatant efficacement les traces de métaux, tels que le fer et le cuivre (figure 10) qui sont des accélérateurs potentiels de la formation des espèces oxygénées réactives (Virgili *et al.*, 1999; Pietta, 2000).

Les flavonoïdes ont la capacité à former un complexe avec les ions  $\text{Cu}^{+2}$ . Lorsque ces métaux de transition sont présents à l'état libre dans les systèmes biologiques, ils peuvent catalyser la formation de radicaux libres ; le fer et le cuivre agissent comme catalyseurs dans la génération de radicaux hydroxyles (Rahman, 1988).



**Figure 10** : Chélation des métaux de transition par les flavonoïdes (Pietta, 2000).

La capacité des flavonoïdes à chélater les métaux est très importante pour leur activité antioxydante. Les complexes ferreux des flavonoïdes piègent facilement les radicaux superoxyde générés. Ainsi, les complexes  $\text{Fe}^{3+}$ -flavonoïdes sont plus efficaces que les flavonoïdes non complexés (Pietta, 2000 ; Moridani *et al.*, 2003). Les flavonoïdes ont généralement une activité supérieure à celle des acides phénoliques et des flavonols (Wang *et al.*, 1997).

Les propriétés antioxydantes des anthocyanines résultent de leurs structures chimiques, particulièrement de la présence des groupements hydroxyles en position 3 du cycle C et en position 3' et 4' du cycle B. La présence de groupements hydroxyles dans le cycle C permet la chélation des ions métalliques tels que le fer et le cuivre (Kowalczyk *et al.*, 2003).

➤ **Piégeage des radicaux libres**

Les flavonoïdes sont des molécules antioxydantes efficaces. Ils agissent comme piégeurs de radicaux libres en raison de leur capacité à céder un électron et/ou un atome d'hydrogène. Cependant, cette capacité dépend directement des potentiels de réduction de leurs radicaux et inversement des réactivités des molécules flavonoïdes avec l'oxygène (Rice-Evans, 1999; Virgili *et al.*, 1999).

En raison de leur potentiel redox faible ( $E = 700-540\text{mV}$ ), les flavonoïdes et leurs métabolites sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres hautement oxydés tel que les radicaux superoxyde, peroxyde, alkoxyde et hydroxyle (potentiels redox compris entre 2130-1000 mv) par le groupement donneur d'hydrogène (Pietta et Simonetti, 1999; Pietta, 2000).

Les flavonoïdes réagissent directement avec les radicaux hydroxyle et peroxyde ; ils forment ainsi des radicaux flavonoïdes qui sont stabilisés par délocalisation d'électron à l'intérieur de la molécule (Shi *et al.*, 2002).

Cho *et al.* (2005) ont montré que les fractions de flavonols glycosides des mûres fraîches exercent des activités antioxydantes vis-à-vis des radicaux peroxyde et anion superoxyde. Les flavonols (quercétine, myricétine et kœmpférol) ont montré une activité antioxydante élevée. Ceci suggère que la quercétine peut contribuer significativement au potentiel antioxydant car sa structure satisfait effectivement la stabilisation du radical aryloxyde en donnant l'atome d'hydrogène (Zheng et Wang, 2003).

Les catéchines peuvent agir comme antioxydants en cédant des atomes d'hydrogène, et comme des accepteurs de radicaux libres, en interrompant les réactions d'oxydation en chaîne par chélation de métaux. L'attachement des groupements hydroxydes aux molécules de catéchine est probablement le principal facteur responsable de leurs fortes propriétés antioxydantes (Gramza et Korczak, 2005).

Les anthocyanines sont des antioxydants qui préviennent la peroxydation lipidique et agissent comme piégeurs de l'anion superoxyde et du peroxyde nitrite (Wang *et al.*, 1997). Ces composés ont une activité antioxydante plus élevée que celle de la vitamine E, de l'acide ascorbique et du  $\beta$ -carotène (Kong *et al.*, 2003; Kowalczyk *et al.*, 2003).

Les mécanismes d'action des anthocyanines sont expliqués par le transfert d'hydrogène, la chélation des métaux et la liaison aux protéines. Ils peuvent également prévenir l'oxydation de l'acide ascorbique causée par les ions métalliques et formation d'un complexe anthocyanine -acide ascorbique, les anthocyanines peuvent également piéger les radicaux libres et l'oxygène singulet (Kong *et al.*, 2003 ; Nichenametla *et al.*, 2006). Comparé aux autres anthocyanines aglycones, la cyanidine montre une activité antioxydante élevée, et l'ordre de la capacité antioxydante suivant les valeurs d'ORAC est : cyanidine > delphinidine > malvidine = péonidine = pétunidine (Zheng et Wang, 2003).

La capacité de la cyanidine-3-glucoside à réduire la production des espèces oxygénées réactives (ROS) et à inhiber l'apoptose (cellule hépatique humaine tumorale) causée par l'aflatoxine B1 et l'ochratoxine A est élevée (Galvano *et al.*, 2007).

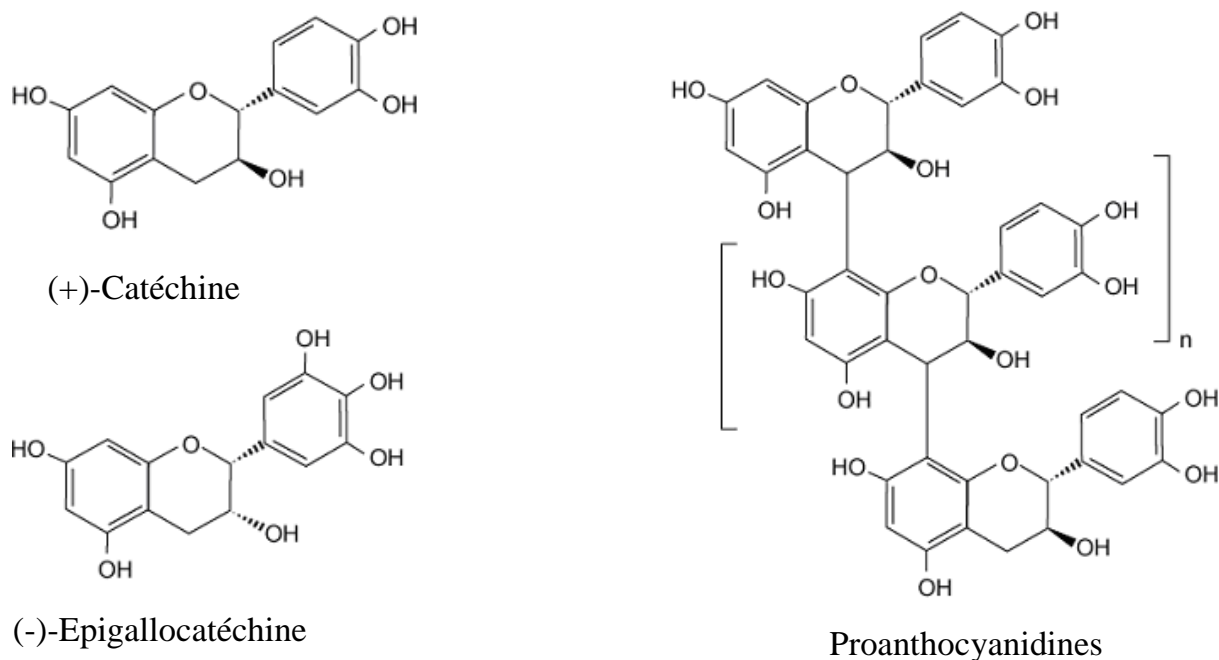
### **V.2.3. Les tannins**

Ce sont des substances naturelles ayant un poids moléculaire relativement élevé qui ont la capacité de se complexer fortement aux glucides et aux protéines. Chimiquement, les tannins résultent de la polymérisation de molécules élémentaires à fonction phénol (Galvez *et al.*, 1997 ; Scalbert, 2004).

#### **V.2.3.1. Les tannins condensés ou proanthocyanidines**

Ce sont des polyflavonoïdes, constitués de chaînes d'unités flavaniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et des flavan 3,4 diols. La classe la plus courante des proanthocyanidines sont les procyanidines qui sont constitués des chaînes de catéchine et/ou d'épicatechine liés par une liaison C-C pour former des dimères, des oligomères et des polymères (figure 11) (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Glavez *et al.*, 1997; Beecher, 1999).

Les proanthocyanidines des mûres sont constituées exclusivement d'unités d'épicatechine (procyanidine) et sont présents sous formes de monomères, dimères et trimères. La teneur des mûres en proanthocyanidines est de 27mg/100g de poids frais (Beattie *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2006; Zhao, 2007).



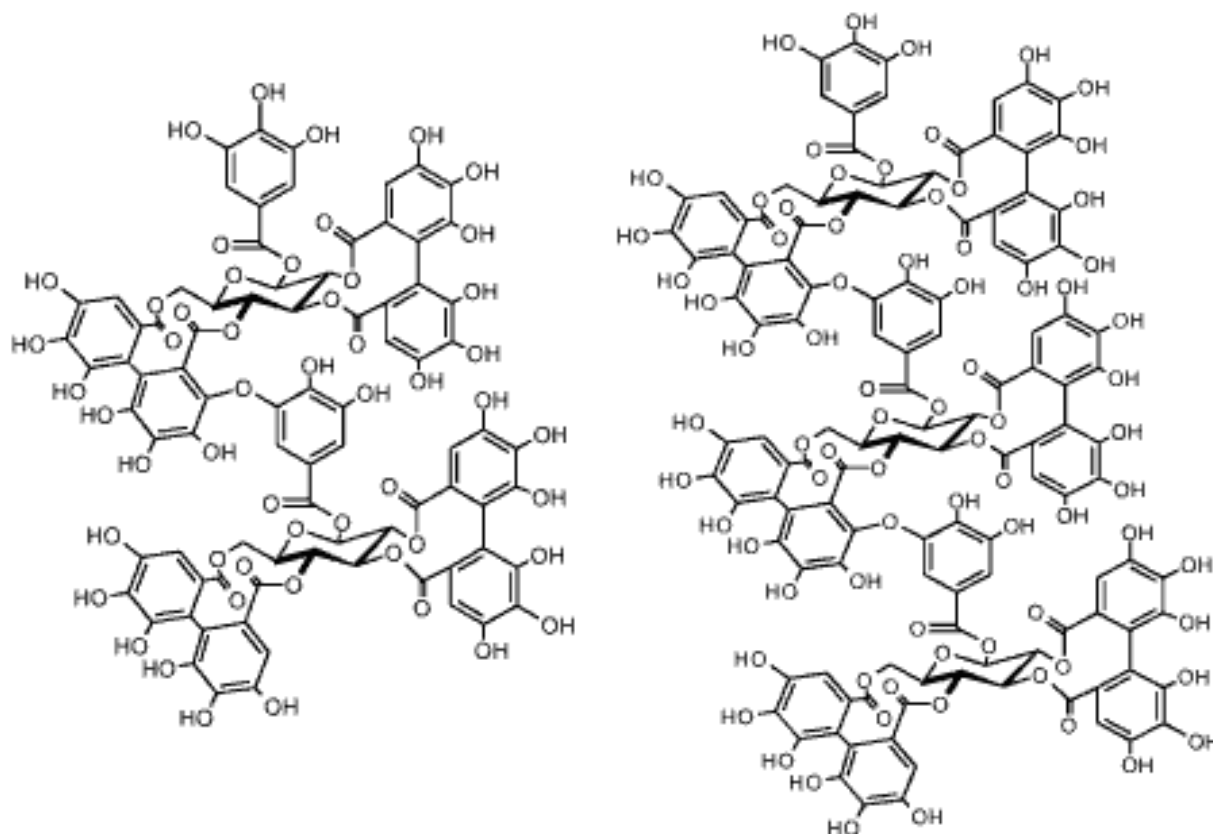
**Figure 11** : Catéchine et épigallocatechine, exemples de précurseurs monomériques des proanthocyanidines (Gessner et Steiner, 2005).

### V.2.3.2. Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters de sucres simples (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques. Par hydrolyse (acide, alcaline ou enzymatique), les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique ou l'acide éllagique, ce qui divise ces composés en deux sous classes : les tannins galliques (gallotannins) et les tannins éllagiques (éllagitannins) (Zimmer et Cordesse, 1996; Glavez *et al.*, 1997).

Les mûres sont une source riche en tannins hydrolysables, particulièrement les éllagitannins qui sont des composés phénoliques hydrosolubles de poids moléculaire élevé; leur hydrolyse produit l'acide hexahydroxydiphénique qui se transforme spontanément en acide éllagique. Onze éllagitannins ont été identifiés dans les mûres; les plus abondants sont la sanguine H-6 et la lambertianine C (figure 12) (Williner *et al.*, 2003; Zhao, 2007; Hager *et al.*, 2008).

Dans les mûres, les éllagitannins sont principalement présents dans les graines avec des teneurs comprises entre 51,1 à 68,2 mg/100g de fruit. La majorité de l'acide éllagique est présente dans les graines (88%), alors que seulement 12% est trouvée dans la pulpe. La teneur en éllagitannins diminue durant la maturation (Zhao, 2007).



Sanguine H-6

Lambertianine C

**Figure 12** : Structure des éllagitannins abondants dans les mûres (Zhao, 2007).

### ❖ Propriétés antioxydantes des tannins

Les tannins peuvent agir comme antioxydants. Cependant, la capacité anti-radicalaire des dimères et trimères de procyanidines est augmentée avec la galloylation et dans une moindre mesure avec la longueur de chaîne mais également influencée par la position des substituants galloyl (Cheynier, 2005; Gramza et Kolczak, 2005).

Les tannins agissent comme donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique. Ce sont de très bons capteurs de radicaux libres (Shahidi, 1997 ;Bossokpi, 2003).

Les éllagitannins sont des antioxydants efficaces ; la sanguine H-6 et la lambertianine C contribuent avec 40% et 12% respectivement à la capacité antioxydante totale des mûres (Zhao, 2007; McDougall *et al.*, 2008).

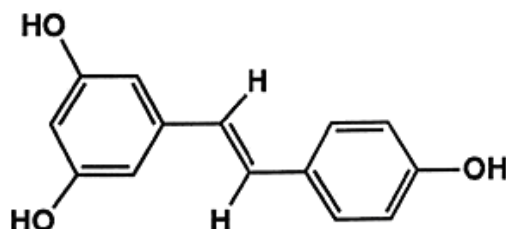


Selon Poudel *et al.* (2008), les procyanidines B1 forment des complexes stables avec les ions métalliques et les protéines, et sont de bons agents réducteurs. Ils protègent également contre l'oxydation des LDL, et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (Vermerris et Nicholson, 2006).

#### **V.2.4. Les stilbènes et les lignines**

Les stilbènes sont des composés organiques qui contiennent le 1,2-diphényléthylène comme groupement fonctionnel. Les baies sont une source alimentaire particulière de ces composés (Wang et Lin., 2000; Manach *et al.*, 2004). L'un de ces composés est le resvératrol auquel on attribue des effets anti-carcinogènes et des propriétés antioxydantes très élevées (Descheemaeker et Provoost, 2002).

Le resvératrol est doué de propriétés intéressantes dans la prévention des maladies cardiovasculaires ; il inhibe notamment l'agrégation plaquettaire et la formation de thromboxanes. Il agit contre la phase de prolifération du cancer. Ces propriétés sont rattachées à un pouvoir antioxydant supérieur à celui des tocophérols (Adrian *et al.*, 2003).



**Trans-resvératrol**

Les lignines sont formées de deux unités phénylpropane. Du point de vue chimique, les lignines sont des mélanges de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux, les alcools hydroxycinnamiques (*p*-coumarylique), coniférylique et sinapylique ; à ces phénylpropanes secondaires, s'ajoutent des petites quantités d'acide et d'aldéhyde cinnamiques (Monties *et al.*, 1980; Richter, 1993; Manach *et al.*, 2004).

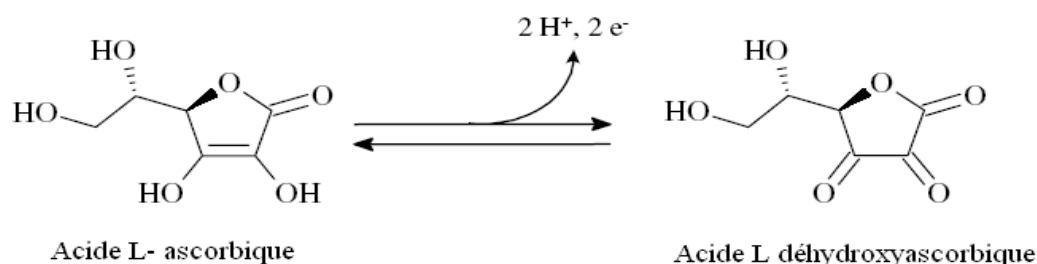
Les baies, particulièrement les mûres sont une bonne source de secoïsolari-cirésinol. Elles contiennent 3,72 mg/100g de matière sèche ; le matairesinol est présent dans les mûres à de très faibles concentrations (Zhao, 2007).

### V.3. L'acide ascorbique

L'acide ascorbique est abondant dans certains fruits et légumes ; la mûre fournit 12 à 20mg/100g de fruit (Beattie *et al.*, 2005; Badjakov *et al.*, 2008).

Chimiquement, la vitamine C, ou acide ascorbique, a une structure apparentée à celle des hexoses. Elle est constituée d'un cycle lactone portant une fonction ène-diol et de deux fonctions alcool.

L'élément fonctionnel important responsable des propriétés réductrices de l'acide L-ascorbique est la fonction ène-diol qui, par oxydation donne naissance à l'acide déhydroascorbique (figure 13). Cependant, ce dernier peut être réduit en acide ascorbique enzymatiquement ou chimiquement par un agent réducteur tel que la glutathion (Packer et Fuchs, 1997).



**Figure 13 :** Oxydation de l'acide L- ascorbique.

#### ❖ Propriétés antioxydantes de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est un antioxydant secondaire qui agit par piégeage de l'oxygène (Wang *et al.*, 1997). Il agit sur l'oxygène par oxydo-réduction grâce à sa fonction ènediol. Il présente toutefois le défaut de réduire le fer ferrique en fer ferreux, forme plus active pour initier les réactions d'oxydation par décomposition des hydroperoxydes en radicaux. L'acide ascorbique peut à la fois être antiradicalaire, régénérer les antioxygènes phénoliques et réduire l'oxygène (Multon, 2002).

Les fonctions biochimiques de l'acide ascorbique dérivent de ses propriétés chimiques : réductrice et chélatante. Un nombre d'études ont montré que cet acide peut diminuer l'oxydation des LDL (Harris, 1996).

La vitamine C est caractérisée par un très fort potentiel antioxydant. L'ascorbate piège les espèces réactives dérivées de l'oxygène tels que les radicaux hydroxyle et peroxyde, l'anion superoxyde, ainsi que les espèces réactives dérivées de l'azote, tel

que le peroxy-nitrite. L'ascorbate piège également l'oxygène singulet, et réduit le radical tocophéryle ; il régénère ainsi la vitamine E (Machlin et Bendich, 1987; Packer et Fuchs, 1997; Amiot-Carlin *et al.*, 2007).

Il a été démontré que l'acide ascorbique et le glutathion sont des agents réducteurs hydrosolubles et fonctionnent en synergie comme antioxydants. Malgré que l'acide ascorbique ne puisse pas piéger les radicaux lipophyloques, il agit comme un synergiste avec les tocophérols pour réduire les radicaux peroxydes lipidiques (Packer et Fuchs, 1997).

## I. Echantillonnage

Cinq échantillons de mûre (*Rubus fruticosus*) ont été récoltés en 2007; chaque échantillon mesure environ 400g. Les fruits sélectionnés sont mûrs et ne présentent pas de blessure ou d'infection; ils ont été conservés par congélation à -18°C.

**Tableau V** : Origine des échantillons de mûre

Echantillon	Caractéristiques	Origine
E1	Fruit charnu bacciforme, constitué de drupéoles noires et rapprochées sur le réceptacle. Plante sarmenteuse émettant des pousses (turions) armées d'aiguillons semblables, piquant, sensiblement égaux; fleurs rose vif.	Akbou
E2		Amizour
E3		Beni-Maouche
E4		Tala-Hamza
E5		Timzrit

## II. Paramètres physico-chimiques

### II.1. Taux d'humidité

L'humidité est déterminée selon la norme Européenne standardisée (2003) ; 2g d'échantillon ont été séchés dans l'étuve à  $105 \pm 5^\circ\text{C}$ . Les échantillons sont refroidis dans un dessiccateur, pesés, et la teneur en humidité a été calculée selon la formule :

$$\text{Humidité (\%)} = (M_b - M_c) \times 100 / (M_b - M_a)$$

Où  $M_b$  : la masse du creuset contenant l'échantillon (g);

$M_c$  : la masse du creuset contenant la matière sèche (g);

$M_a$  : la masse du creuset vide (g).

## **II.2. pH et acidité titrable des fruits**

L'acidité est déterminée par la méthode de Verma et Joshi (2000) ; 2 ml de jus de mûre sont dilués avec 10ml d'eau distillée puis titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,1N) jusqu'à pH 8,2. L'acidité est exprimée en g d'acide citrique/100g de fruit.

$$\text{Acidité} = N_b \cdot V_b \cdot M / V_a \cdot P$$

Où  $N_b$  : Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium ;

$V_b$  : Volume d'hydroxyde de sodium (ml) ;                       $V_a$  : Volume du jus (ml) ;

$M$  : Masse moléculaire de l'acide citrique (192,13) ;

$P$  : nombre de protons portés par l'acide citrique (3).

## **II.3. Solides solubles**

Le pourcentage des solides solubles est déterminé à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe à température ambiante (Verma et Joshi, 2000).

## **III. Dosage des antioxydants**

### **III.1. Les caroténoïdes**

L'échantillon broyé (1g) est mélangé avec 10 ml de solvant d'extraction (hexane/acétone/éthanol, 5/2,5/2,5). Après agitation pendant 3min, le mélange est additionné de 1ml d'hydroxyde de potassium (1M), puis incubé pendant 40min ; après séparation des deux phases, la phase supérieure a été récupérée (Soto-Zamora *et al.*, 2005).

La teneur en caroténoïdes est déterminée par la mesure de l'absorbance de l'extrait hexanique à 450nm. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -carotène par 100g de poids sec.

### **III.2. Les composés phénoliques**

#### **III.2.1. Préparation des extraits**

0,5g de fruits broyés sont homogénéisés avec 50ml du solvant d'extraction (eau pure, acétone pur, acétone 70%, acétone 50%, acétone 30%, éthanol 70%, éthanol

50%, éthanol 30%). Après agitation pendant 40min, le mélange est centrifugé à 4000 rpm (25min à 10°C) ; le surnageant récupéré et filtré constitue l'extrait.

### **III.2.2. Dosage**

#### **III.2.2.1. Les composés phénoliques totaux**

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode décrite par Kahkonen *et al.* (1999): 200µl d'extrait sont mélangés avec 1000µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange est agité pendant 3 minutes puis additionné de 800µl de carbonate de sodium (7,5%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 725nm. La teneur en composés phénoliques est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de poids sec, par référence à une courbe d'étalonnage.

#### **III.2.2.2. Les flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode décrite par Kim *et al.* (2003) ; 0,2 ml d'extrait sont mélangés avec 0,8 ml d'eau distillée, 0,06 ml de nitrite de sodium et 0,06 ml de chlorure d'aluminium. Après 5 minutes, le mélange est additionné de 0,4 ml d'hydroxyde de sodium (1M) et de 0,48 ml d'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 510 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100g de poids sec, par référence à une courbe d'étalonnage.

#### **III.2.2.3. Les tannins**

La teneur en tannins totaux est estimée par la méthode décrite par Hagerman et Butler (1978); 1ml d'extrait est additionné de 2ml de sérumalbumine bovine (1mg/ml). Le mélange est incubé pendant 24heures à 4°C, puis centrifugé à 3000rpm pendant 15minutes. Le surnageant est éliminé et le précipité est dissout dans 4 ml de solution SDS-triéthanolamine ; 1ml du chlorure ferrique est ajouté à la solution. Après 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 510 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide tannique/100g de poids sec.

### **III.2.2.4. Les anthocyanines**

Un gramme d'échantillon broyé est additionné de 10 ml d'acétone 70% contenant 0,2% d'acide formique ; après agitation pendant 40 min, le mélange est centrifugé à 5000 rpm (30min à 4°C). 5ml du solvant d'extraction sont ajoutés au culot ; la même opération est répétée, les surnageants sont rassemblés (Wang *et al.*, 2008).

Deux dilutions d'extrait de mûre sont préparées, l'une avec le tampon chlorure de potassium (pH1), l'autre avec le tampon acétate de sodium (pH 4,5). L'absorbance est mesurée à 510 et 700 nm après 15 min d'incubation. La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par 100g de poids sec en utilisant un coefficient d'extinction molaire ( $\epsilon$ ) de la cyanidine-3-glucoside (Jakobek *et al.*, 2007). La teneur en anthocyanines est calculée selon la formule :

$$C \text{ (mg/l)} = A \cdot MW \cdot FD \cdot 1000/\epsilon$$

Où:  $A = (A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}$ ;

**MW** (poids moléculaire) = 449,2g/mole de la cyanidine-3-glucoside;

**$\epsilon$**  (coefficient d'extinction molaire) = 26900 L/mole/cm

**FD**: Facteur de dilution.

## **IV. Activité antioxydante**

### **IV.1. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est estimé par la méthode de Gülçin *et al.* (2002); 250  $\mu$ l d'extrait sont mélangés avec 250  $\mu$ l de tampon phosphate (0,2M, pH6,6) et 250  $\mu$ l de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation, à 50°C/20min, 250  $\mu$ l d'acide trichloroacétique (10%) sont additionnés au mélange; après 5min, 0,2 ml de chlorure ferrique (0,1%) ont été ajoutés et l'absorbance est mesurée à 700nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique/100g de poids sec.

## **IV.2. Activité antiradicalaire**

La méthode au diphényl picryl hydrazyl est utilisée pour déterminer la capacité des extraits à céder des protons et/ou des électrons. La réduction du DPPH implique une baisse de l'absorbance; sous la forme radicalaire, le DPPH<sup>•</sup> absorbe à 515nm (Williams *et al.*, 1995).



300 µl d'extrait sont additionnés de 2700 µl de DPPH. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au témoin, contenant le DPPH et le solvant d'extraction, est mesurée à 516 nm (Turkmen *et al.*, 2006). L'activité antiradicalaire est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage et exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique/100g de poids sec.

## **V. Analyse statistique**

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



## **I. Paramètres physico-chimiques**

### **I.1. Taux d'humidité**

Le taux d'humidité des échantillons de mûre analysés (tableau VI) présente des différences significatives ; il varie de 75,73 (E2) à 83,89 % (E5). Ces valeurs sont similaires à celles rapportées par Belitz *et al.* (2004) et Wu *et al.* (2006). Cependant, elles sont inférieures à celles obtenues par Hassimoto *et al.* (2008). Ceci pourrait être le résultat des conditions environnementales différentes, ou du degré de maturité des échantillons, car la matière sèche diminue avec la maturation (Tosun *et al.*, 2008; Tural et Koca, 2008).

Selon Ercisli (2007), l'altitude est le principal facteur responsable de la variation de la matière sèche; ceci pourrait expliquer les différences constatées entre les échantillons de la présente étude.

### **I.2. pH et acidité titrable des fruits**

Le pH des échantillons analysés varie de 3,92 (E5) à 5,14 (E4) (tableau VI). Reyes *et al.* (2005) ont obtenu des valeurs de pH comprises entre 2,33 et 4,28. Les valeurs de pH relativement élevées des échantillons E1, E3 et E4 peuvent être attribuées à la dégradation des acides organiques dans le fruit car la maturation peut progresser à cause des dates ultérieures de récolte.

Les valeurs d'acidité des échantillons de mûre (tableau VI) présentent des différences significatives ; elles varient entre 1,12 % (E4) et 2,20 % (E5). Ces valeurs sont similaires à celles obtenues par Siriwoharn *et al.* (2004) et Reyes *et al.* (2005).

Les différences d'acidité entre les échantillons de la présente étude peuvent être attribuées aux variétés, à l'origine géographique (ensoleillement, fertilité du sol) et au degré de maturité des échantillons.

### **I.3. Solides solubles**

Les teneurs en solides solubles des échantillons de mûre présentent des différences significatives : elles varient de 11,23 % (E5) à 19,33 % (E4) (tableau VI). Ces résultats confirment ceux de Salunkhe et Kadam (1995), de Siriwoharn *et al.* (2004) et de Pantelidis *et al.* (2007) qui ont obtenu des teneurs de 10,2 à 19,7 % ; 10,09 à 18,75 % ; 6,1 à 16,5% respectivement.

Tableau VI : Paramètres physico-chimiques des échantillons analysés

Paramètre	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4	Echantillon 5
Taux d'humidité (%)	76,52 ± 0,05 <sup>d</sup>	75,73 ± 0,47 <sup>e</sup>	77,39 ± 0,36 <sup>e</sup>	81,26 ± 0,49 <sup>b</sup>	83,89 ± 0,46 <sup>e</sup>
pH (jus)	4,76 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,43 ± 0,03 <sup>e</sup>	5,12 ± 0,01 <sup>e</sup>	5,14 ± 0,01 <sup>e</sup>	3,92 ± 0,06 <sup>d</sup>
Acidité titrable (% d'acide citrique)	1,6 ± 0,34 <sup>e</sup>	2,08 ± 0,16 <sup>b</sup>	1,34 ± 0,12 <sup>d</sup>	1,12 ± 0,15 <sup>d</sup>	2,2 ± 0,10 <sup>e</sup>
Teneur en solides solubles (%)	17,93 ± 0,11 <sup>b</sup>	13,06 ± 0,28 <sup>e</sup>	18,16 ± 0,05 <sup>b</sup>	19,33 ± 0,28 <sup>e</sup>	11,23 ± 0,05 <sup>d</sup>
SSC/AT	11,52 ± 2,18 <sup>e</sup>	6,30 ± 0,43 <sup>d</sup>	13,63 ± 1,33 <sup>b</sup>	17,45 ± 2,09 <sup>e</sup>	5,11 ± 0,25 <sup>d</sup>

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

Les teneurs élevées des solides solubles des échantillons E1, E3 et E4 pourraient être expliquées par la décomposition des parois cellulaires qui mène à une augmentation du taux de composés hydrosolubles. Elles peuvent également être dues à l'augmentation de la teneur en acide galacturonique hydrosoluble par dégradation des substances pectiques, ou bien à l'hydrolyse de l'amidon (Reyes *et al.*, 2005; Ong *et al.*, 2006).

La teneur en solides solubles des mûres varie avec les variétés, les conditions climatiques, la date de récolte et la méthode de préparation de l'échantillon (Siriwoharn *et al.*, 2004; Reyes *et al.*, 2005; Kafkas *et al.*, 2006).

Selon Janickc (1992), la position du fruit sur l'arbre peut influencer la concentration en solides solubles; l'exposition des fruits à la lumière, induit une augmentation de la teneur en solides solubles.

#### **I.4. Indice de maturité**

La flaveur dérive de l'interaction du goût et de l'arôme de plusieurs constituants chimiques tels que les solides solubles (principalement les sucres), les acides et les composés astringents et aromatiques du fruit (Janickc, 1992; Wang *et al.*, 2009).

Le rapport sucre/acidité est considéré comme un indice de qualité utilisé pour indiquer l'aigreur des fruits et des jus. Ainsi, un rapport élevé en solides solubles (SSC)/acidité titrable (AT) est caractéristique d'un fruit ou d'un jus de fruit très sucré et peu aigre. Ce rapport augmente au cours de la maturation du fruit (Janickc, 1992; Ong *et al.*, 2006).

L'étude statistique montre l'existence d'une corrélation inverse entre la teneur en solides solubles et l'acidité titrable ( $r = 0,97$ ). Les valeurs du rapport SSC/AT présentent des différences significatives; elles varient de 5,11 (E5) à 17,45 (E4). Siriwoharn *et al.* (2004) et Wang *et al.* (2008) ont obtenu des valeurs similaires à celles de la présente étude.

La variation du rapport SSC/AT des échantillons analysés peut être attribuée à l'effet de variété, ou aux facteurs climatiques (lumière, altitude) liés à la zone géographique (localité).

Selon Albagnac *et al.* (2002), les différences des propriétés physico-chimiques des fruits sont fortement liées au degré de maturité en raison d'absence de méthode d'appréciation de la maturité autre que l'appréciation visuelle de la couleur.

## **II. Dosage des antioxydants**

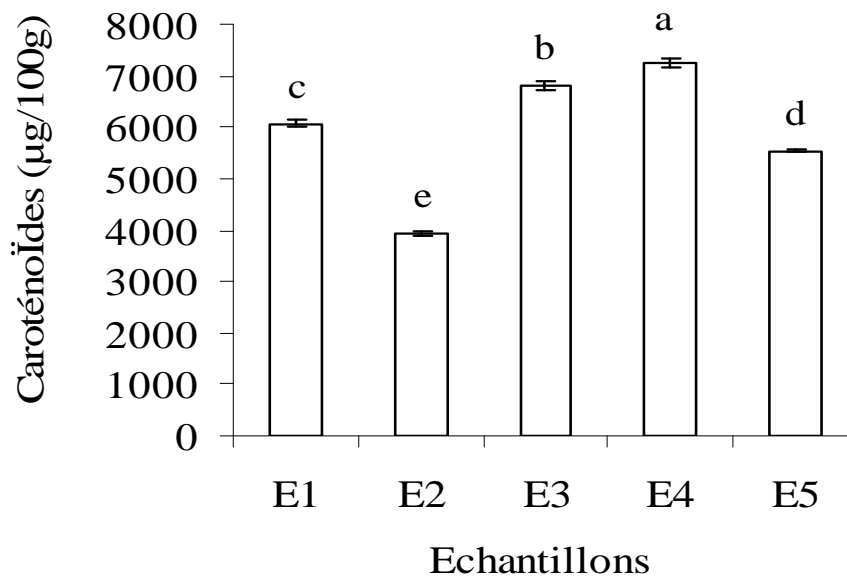
### **II.1. Les caroténoïdes**

La forte hydrophobicité des caroténoïdes conditionne leur répartition dans l'environnement cellulaire : les caroténoïdes sont associés aux bicouches lipidiques membranaires. Grâce à leur longue chaîne polyinsaturée, les caroténoïdes sont de bons piègeurs de radicaux libres (Faure *et al.*, 1999). Cependant, les données de la littérature sur la teneur en caroténoïdes des baies sont limitées.

Les teneurs en caroténoïdes des échantillons analysés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) ; elles sont comprises entre 3916 (E2) et 7260  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de matière sèche (E4) qui correspondent à 950 et 1360  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de poids frais (figure 14). Dans une analyse par chromatographie (HPLC), Marinova et Ribarova (2007) ont obtenu une teneur de 400  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de poids frais ; cette différence est probablement due à la sensibilité de la méthode de dosage, à l'origine géographique, variété, etc.

Les teneurs relativement élevées des échantillons de la présente étude pourraient être expliquées 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 caroténoïdes continue (Rodriguez-Amaya, 2001; Dutta *et al.*, 2005).

Les variations constatées entre les échantillons analysés seraient dues aux différences variétales, et/ou climatiques (température, lumière, pluviosité) qui affectent la caroténogénèse (Rodriguez-Amaya, 2001; Dutta *et al.*, 2005; Lima *et al.*, 2005).



**Figure 14:** Teneur en caroténoïdes des échantillons de mûre.

*Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents : a>b>c>d>e.*

## **II.2. Les composés phénoliques**

### **II.2.1. Les composés phénoliques totaux**

Les composés majeurs à activité antioxydante sont les composés phénoliques. Par conséquent, il est nécessaire de les extraire efficacement lorsque les activités antioxydantes sont mesurées. Huit solvants ont été choisis pour extraire les composés bioactifs (composés phénoliques, flavonoïdes et tannins) à partir des échantillons de mûre afin de mesurer leur activité antioxydante.

Les solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). La teneur la plus élevée (4139 mg/100g) est obtenue avec l'acétone 50% (figure 15), alors que les teneurs les plus faibles sont celles de l'acétone 100% et de l'eau qui ne présentent pas de différence significative (1816 et 1966 mg/100g).

La nature du solvant affecte l'extraction des composés phénoliques à partir des fruits (Cacace et Mazza, 2003). L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des composés phénoliques à partir des mûres présente l'ordre décroissant suivant : acétone 50%  $\geq$  acétone 30%  $\geq$  éthanol 50% = éthanol 30% > acétone 70% = éthanol 70% > eau = acétone 100% (figure 15).

Des observations similaires ont été obtenues par Al-Farsi et Lee (2008) qui ont prouvé que l'acétone 50% est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la datte.

Ces résultats concordent également avec ceux de Jayaprakasha et Patil (2007) qui ont montré que les extraits obtenus avec l'acétone 100% et l'eau présentent les teneurs les plus faibles en composés phénoliques du citron et de l'orange sanguine.

L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des polyphénols (Lapornik *et al.*, 2005; Liyana-Pathirana et Shahidi, 2005), mais l'addition importante d'eau conduit à une extraction concomitante accrue d'autres composés et ainsi aux concentrations faibles en composés phénoliques dans les extraits aqueux de mûre. L'eau pure comme solvant d'extraction mène à un extrait ayant une teneur élevée en impuretés (acides organiques, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques (Chirinos *et al.*, 2007).

Selon Lapornik *et al.* (2005), la faible teneur des extraits aqueux en composés phénoliques pourrait être due à la polyphénol oxydase qui oxyde les composés phénoliques dans les extraits aqueux, alors que dans l'éthanol, l'enzyme est inactive.

Les extraits d'acétone 100% ont une teneur moyenne en composés phénoliques de 1816 mg/100g. Cette teneur peut être expliquée par la faible solubilité des composés phénoliques polaires présents dans les extraits d'acétone 100% en raison de sa faible polarité par rapport aux autres solvants utilisés. De plus, les sucres ne sont pas solubles dans l'acétone 100%. Ainsi, les composés phénoliques glycosides ne peuvent pas être extraits (Kouri *et al.*, 2007).

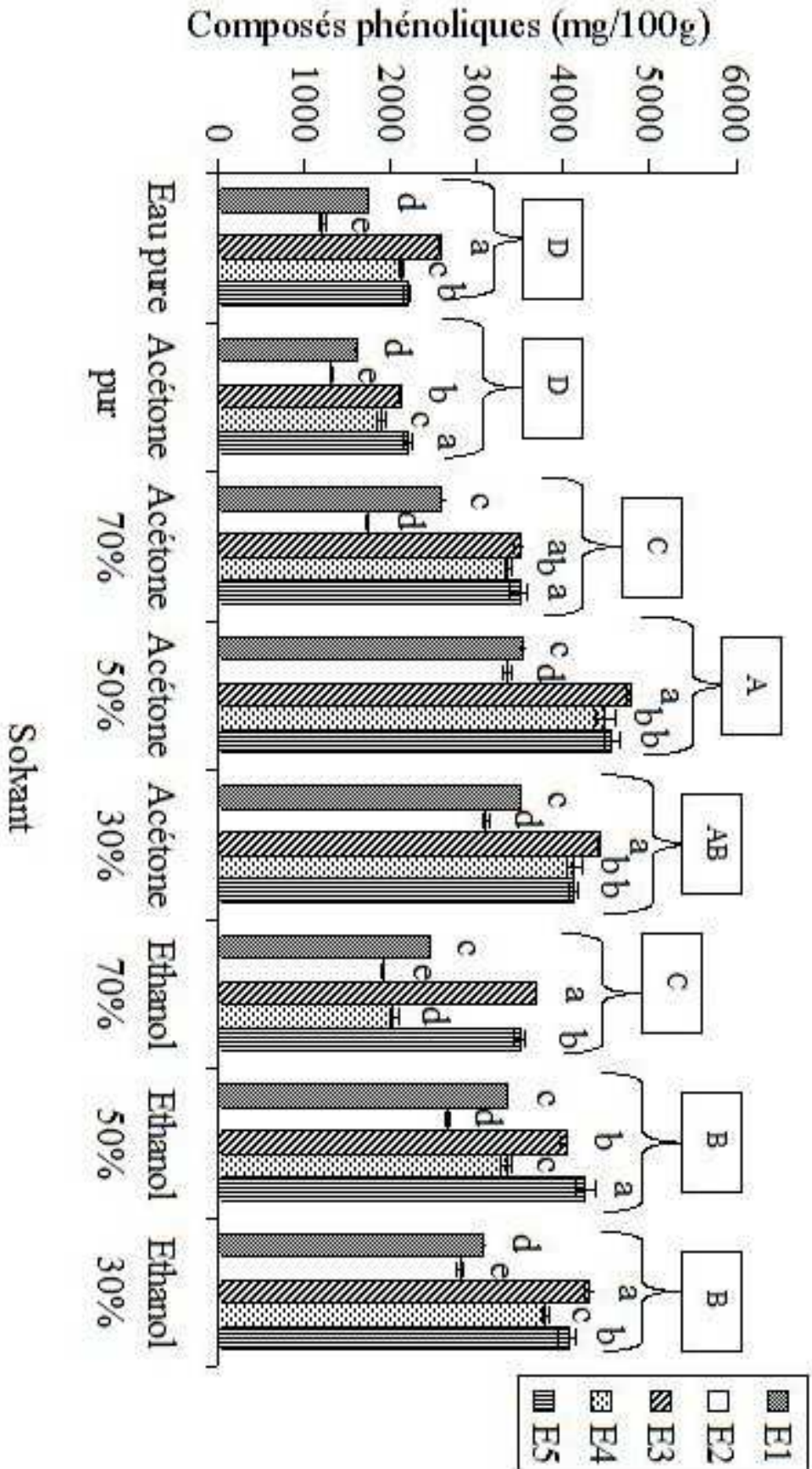


Figure 15: Teneur en composés phénoliques des échantillons de mûre

Les résultats qui portent des lettres différentes sont statistiquement différents (a>b<c>d>e).

(Lettres majuscules : effet du solvant ; Les tres minuscules : effet de l'échantillon.)

Selon Sripad *et al.* (1982), la faible solubilité des polyphénols dans l'acétone 100% peut être due à la force des liaisons hydrogènes entre les polyphénols et les protéines. D'autre part, l'augmentation dans la solubilité par l'addition d'eau aux solvants peut être due à la faiblesse des liaisons hydrogènes dans les solutions aqueuses.

Les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques purs ; les mélanges alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés, et les analytes moins polaires (dérivés d'acides phénoliques) ne sont pas isolés quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction (Cazes, 2005). Les solvants 40-60% permettent d'obtenir des extraits avec une teneur élevée en composés phénoliques (Zhao et Hall, 2008).

Les mélanges acétone/eau sont les meilleurs solvants pour l'extraction des anti-oxydants polaires ; ils sont très utilisés pour l'extraction des matrices protéiques, car ils permettent la dissolution des complexes composés phénoliques-protéines (Al-Farsi et Lee, 2008).

L'acétone doit être choisi parmi les autres solvants pour l'extraction des composés phénoliques car il minimise l'activité enzymatique et l'oxydation, particulièrement après décongélation ou broyage qui risque d'endommager le fruit (Moyer *et al.*, 2002).

#### ❖ **Composés phénoliques des extraits d'acétone 50%**

Les teneurs en composés phénoliques des échantillons analysés sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; elles varient de 3356 (E2) à 4778 mg/100g (E3) qui correspondent à 814 et 1080 mg/100g de poids frais (figure 15), confirmant ainsi les résultats rapportés par Siriwoharn *et al.* (2004) et Mertz *et al.* (2008). Les valeurs de la présente étude sont inférieures à celles obtenues par Vasco *et al.* (2008) (2167 mg/100g de poids frais). Ceci peut être expliqué par l'effet de variété, du climat et de la méthode d'extraction.

Dans une analyse par chromatographie (HPLC), Sellappan *et al.* (2002) ont obtenu des teneurs en composés phénoliques comprises entre 487,2 et 623,2 mg/100g



de poids frais ; Cho *et al.* (2005) ont enregistré une teneur de 446,4 mg/100g de poids frais en utilisant une analyse par HPLC couplée à la spectrométrie de masse. La différence de la teneur en composés phénoliques de nos échantillons avec ceux analysés par ces auteurs est probablement due à la sensibilité de la méthode de dosage.

Plusieurs études ont montré que les différences des teneurs en composés phénoliques totaux entre les échantillons peuvent être dues à la complexité de ce groupe de composés, aux méthodes d'extraction et d'analyse utilisées, au type et à la concentration du solvant (Siriwoharn *et al.*, 2004; Balasundram *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006).

La composition phénolique des fruits est influencée par les facteurs intrinsèques (espèce, variété) et extrinsèques (agronomiques, environnementaux) mais peut être également modifiée par les réactions oxydatives durant le stockage (Robards *et al.*, 1999).

### **II.2.2. Les flavonoïdes**

Les résultats indiquent que l'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des flavonoïdes à partir des mûres présente l'ordre suivant : acétone 70% = acétone 50% = acétone 30% = éthanol 50% > éthanol 70% = éthanol 30% = eau > acétone 100%.

L'étude statistique montre que les solvants utilisés pour l'extraction des flavonoïdes présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 16). Les extraits obtenus avec l'acétone 70%, l'acétone 50%, l'acétone 30% et l'éthanol 50% présentent une extraction similaire sans différence significative avec des teneurs élevées (1181 ; 1153 ; 1115 et 1063 mg/100g respectivement).

Les extraits à l'éthanol 70%, l'éthanol 30% et l'eau présentent des teneurs moyennes ; la plus faible teneur est obtenue avec l'acétone 100%.

Les résultats de la présente étude sont similaires à ceux obtenus par Jayaprakasha et Patil. (2007) et Al-Farsi et Lee (2008) qui ont montré que les teneurs les plus faibles en flavonoïdes ont été obtenues avec l'acétone 100% et les plus élevées avec l'acétone 50%, dans des études réalisées sur le citron, l'orange sanguine, et la datte, respectivement. La faible teneur de l'extrait d'acétone 100% pourrait être expliquée par la faible polarité de ce solvant étant donné le caractère polaire des

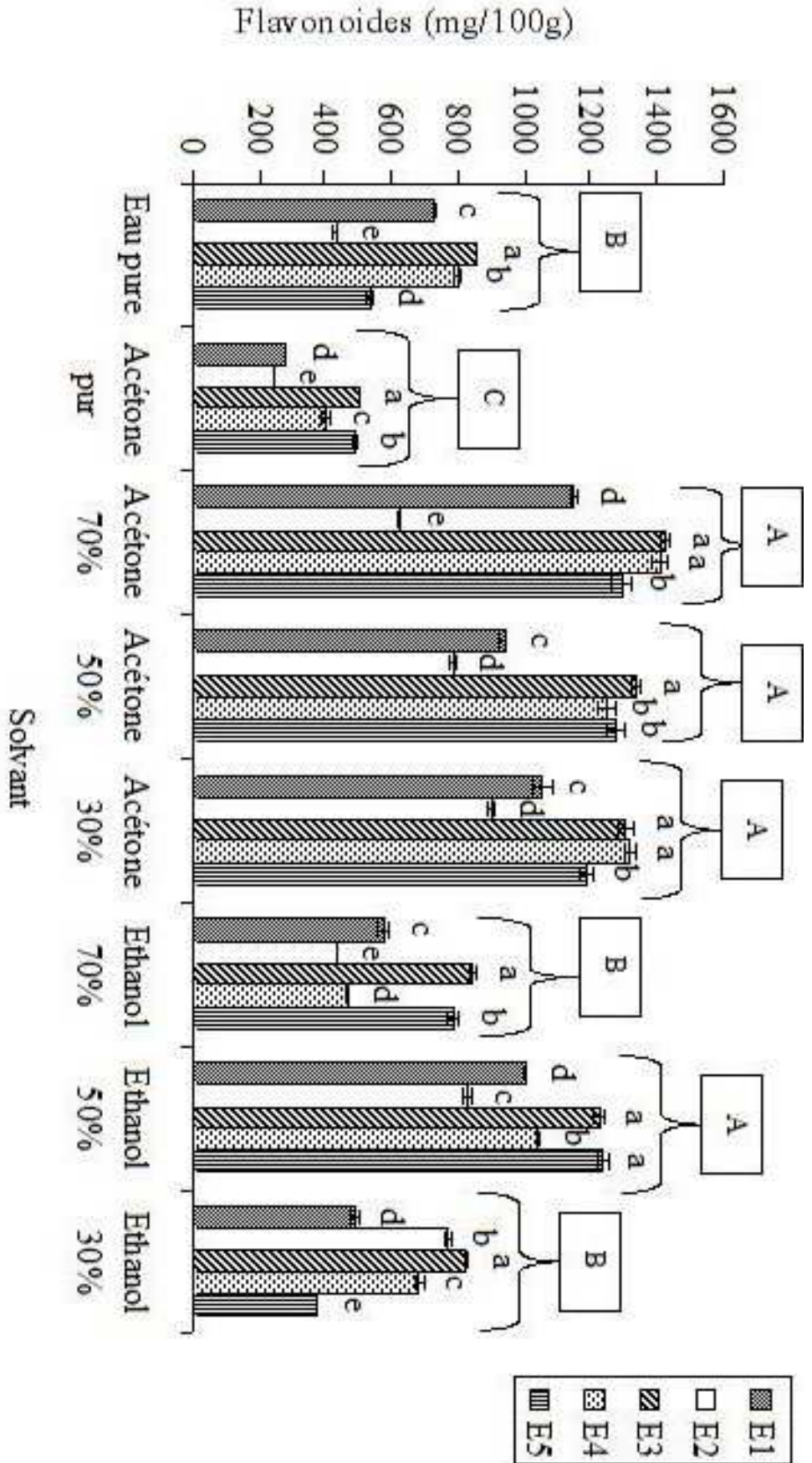


Figure 16: Teneur en flavonoïdes des échantillons de mûre

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

(Lettres majuscules : effet du solvant ; Lettres minuscules : effet de l'échantillon.)

flavonoïdes. De plus, la solubilité dépend du nombre, type et la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (Lapornik *et al.*, 2005).

### ❖ Flavonoïdes des extraits d'acétone 50%

Les teneurs en flavonoïdes des échantillons présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) ; elles varient de 785 (E2) à 1336 mg/100g de poids sec (E3) qui correspondent à 151 et 323 mg/100g de poids frais. Les échantillons E4 et E5 contiennent des teneurs semblables, 1246 et 1273 mg/100g, respectivement (figure 16). Sellappan *et al.* (2002) ont enregistré des teneurs allant de 254,3 à 321,5 mg/100g de poids frais.

Les différences observées entre les échantillons pourraient être dues aux conditions environnementales (ensoleillement), degré de maturité à la récolte, l'effet de variété, les conditions de culture du fruit (Lugasi, 2003; Harnly *et al.*, 2006; Elisia *et al.*, 2007) ou au taux d'humidité (Shin *et al.*, 2007).

### II.2.3. Les tannins

La méthode à la sérumalbumine bovine (BSA) est basée sur la capacité des tannins à se précipiter avec les protéines. Cette précipitation est affectée par le degré de polymérisation des tannins condensés. Le chlorure ferrique réagit avec les composés phénoliques pour former un complexe dont l'absorbance maximale dépend de la nature du phénol et du solvant (Hagerman et Butler, 1978).

L'efficacité des solvants utilisés pour l'extraction des tannins à partir des mûres présente l'ordre suivant : acétone 100% > acétone 70% > acétone 50% = acétone 30% ≥ éthanol 70% ≥ éthanol 50% = éthanol 30% = eau (figure 17). L'étude statistique montre que les solvants utilisés pour l'extraction des tannins présente des différences significatives ( $p < 0,05$ ); l'extrait à l'acétone 100% présente la teneur moyenne la plus élevée en tannins (1268 mg/100g), suivi par l'acétone 70% (977 mg/100g). Les teneurs les plus faibles sont obtenues avec l'éthanol 50%, l'éthanol 30% et l'eau qui ne présentent pas de différence significative.

La teneur élevée des extraits à l'acétone 100% pourrait être expliquée par le poids moléculaire élevé des tannins. Par conséquent, ils sont très solubles dans les solvants moins polaires tel que l'acétone 100%.

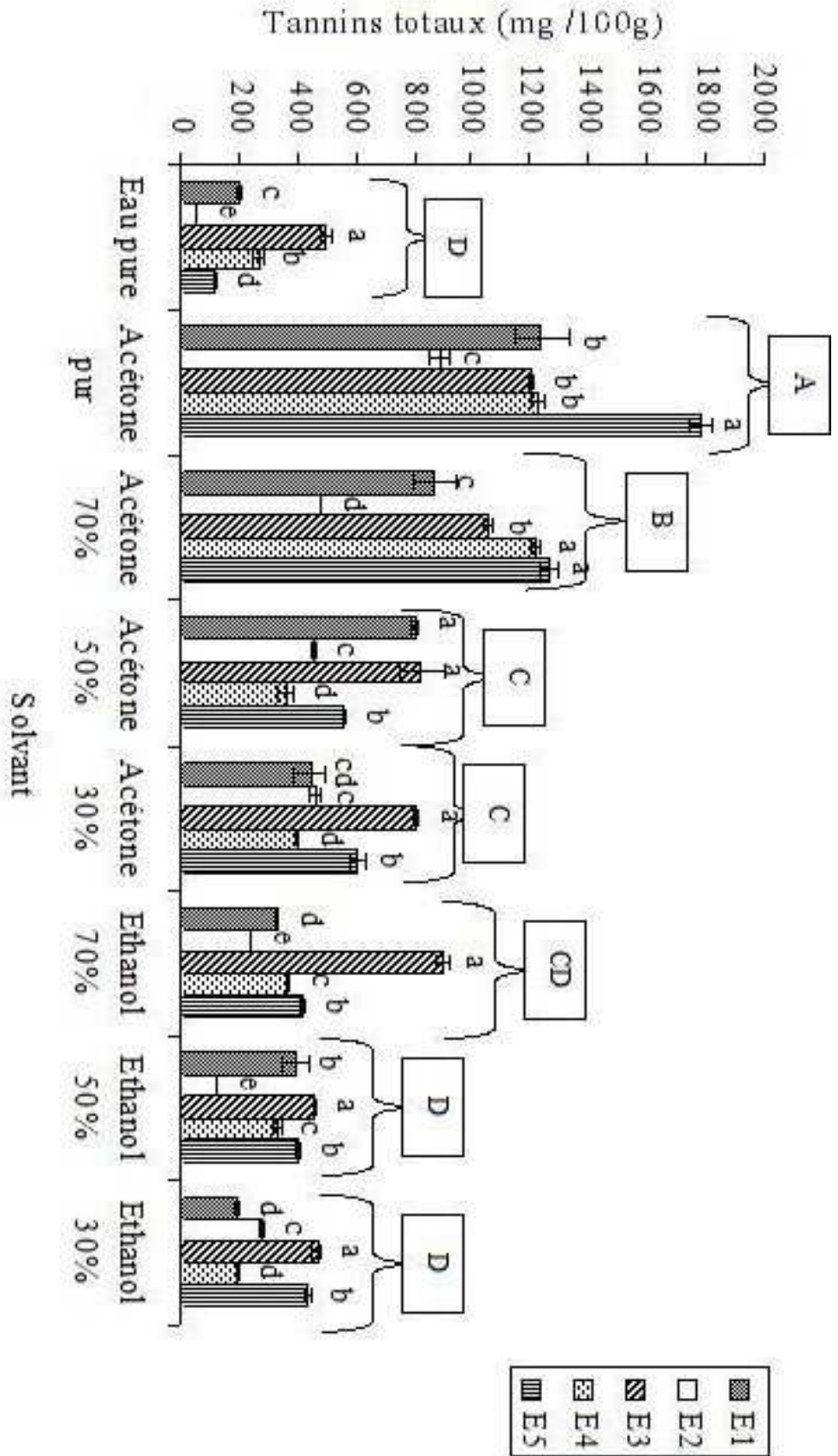


Figure 17: Teneur en tannins des échantillons de mûre

Les résultats qui portent sur les lettres différentes sont significativement différents (a>b>c>d>e).

Lettres majuscules : effet du solvant. Les lettres minuscules : effet de l'échantillon.

Ceci suggère que la plupart des tannins présents dans l'extrait sont d'une faible polarité confirmant ainsi les résultats de Beattie *et al.* (2005); Nandakumar *et al.* (2008) qui rapportent que la mûre renferme des quantités considérables en proanthocyanidines et qui sont souvent plus élevées que celles des monomères, dimères et trimères. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Liu et Yao (2007) qui ont montré que la teneur en proanthocyanidines d'extraits acétoniques d'orge est supérieure à celle des extraits éthanoliques.

Les teneurs faibles obtenues avec les extraits aqueux peuvent être expliquées par le fait que les tannins à poids moléculaire élevé diffusent plus faiblement que les oligomères dans l'eau (Bennick, 2002; Cheynier *et al.*, 2005).

#### ❖ **Tannins des extraits d'acétone 100%**

Les teneurs en tannins des échantillons analysés sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; elles varient de 889 (E2) à 1785 mg/100g (E5) qui correspondent à 117 et 238 mg/100g de poids frais (figure 17).

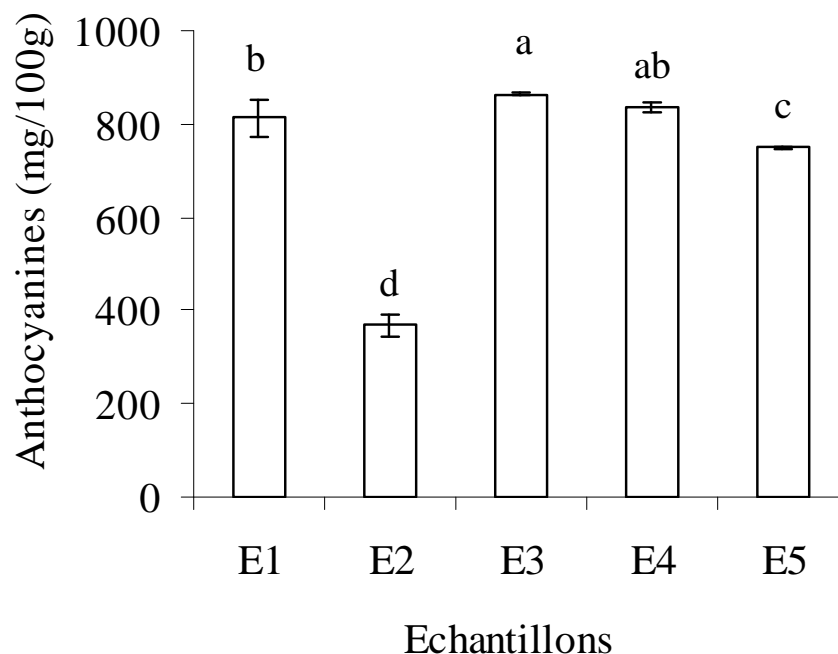
Beattie *et al.* (2005) ont rapporté une teneur en proanthocyanidines totaux de  $27 \pm 17$  mg/100g de poids frais. Cette différence pourrait être expliquée par la méthode de dosage utilisée dans la présente étude qui estime la teneur en tannins totaux, car la mûre renferme des quantités considérables en tannins hydrolysables qui participent ainsi à la teneur élevée des tannins totaux. Cette différence peut également être due au fait que les extraits utilisés sont obtenus après élimination des graines qui renferment une teneur élevée en flavanols, alors que les échantillons de notre étude sont entièrement broyés ; les éllagitannins des mûres sont principalement présents dans les graines (88%) (Garcia Alonso, 2004; Zhao, 2007). D'autres paramètres dont la maturité peuvent également influencer la teneur en proanthocyanidines (Siriwoharn *et al.*, 2004).

Les différences de teneurs en tannins constatées entre les échantillons analysés pourraient être dues à plusieurs facteurs tels que les facteurs génétiques (variété) et environnementaux (ensoleillement, fertilité du sol, etc.).

## II.2.4. Les anthocyanines

Les teneurs en anthocyanines des mûres analysées présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ); elles sont comprises entre 368 (E2) et 863 mg/100g (E3) qui correspondent à 89,3 et 195,0 mg/100g de poids frais (figure 18). Ces données confirment les résultats obtenus par Wang *et al.* (1997), Moyer *et al.* (2002), Sellappan *et al.* (2002) et Connor *et al.* (2005).

Moyer *et al.* (2002) ont montré que la teneur des mûres en anthocyanines est influencée par plusieurs facteurs tels que la maturation, la saison, la méthode d'extraction et la taille de baie, ainsi, les baies relativement grosses contiennent des quantités élevées en anthocyanines. D'autres études ont montré que la teneur des anthocyanines dans les baies dépend des conditions de culture tel que la composition du sol, et l'intensité de la lumière, etc. (Mazza *et al.*, 1999; Nakajima *et al.*, 2004; Elisia *et al.*, 2007).



**Figure 18:** Teneur en anthocyanines des échantillons de mûre.

Les variations des teneurs en anthocyanines des échantillons de la présente étude seraient dues aux interactions entre différents facteurs tel que la variété et/ou l'origine géographique (localité) et le degré de maturité à la récolte. Les teneurs

élevées des échantillons analysés (excepté l'échantillon E2) peuvent être dues à l'irrigation qui double la teneur en anthocyanines (Sellappan *et al.*, 2002).

### **III. Activité antioxydante**

#### **III.1. Pouvoir réducteur**

Le potentiel antioxydant des extraits est estimé en utilisant la méthode de réduction au ferricyanure de potassium. La présence de réducteurs dans les extraits induit la réduction du  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . La capacité réductrice d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son potentiel antioxydant.

Le pouvoir réducteur des extraits de différents solvants présente des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 19). Les extraits d'acétone 70%, acétone 50% et acétone 30% ont des pouvoirs réducteurs semblables : 4496; 4307; 4157 mg d'acide ascorbique/100g. L'extrait à l'éthanol 70% présente le pouvoir réducteur le plus faible (1673 mg/100g). Ces résultats concordent avec ceux de Liu et Yao (2007) qui indiquent que le pouvoir réducteur de l'extrait d'acétone 70% (graines d'orge) est le plus élevé, alors que celui de l'extrait d'éthanol 70% est le plus faible. Ces résultats sont également similaires à ceux de Jayaprakasha et Patil. (2007) qui ont montré que les extraits acétoniques du pamplemousse et de l'orange présentent le pouvoir réducteur le plus élevé.

L'eau devrait dissoudre plus favorablement les polyphénols polaires avec une activité antioxydante élevée car la polarité élevée signifie que plus de groupements hydroxyles sur le cycle des polyphénols (Xie et Dixon, 2005). La différence dans la capacité antioxydante des extraits de différents solvants pourrait être expliquée par le fait que les polarités des composés antioxydants dans chaque extrait peuvent être différentes. De plus, le type et la polarité du solvant peuvent affecter le transfert de l'atome d'hydrogène (Jayaprakasha et Patil, 2007).

#### **❖ Pouvoir réducteur des extraits d'acétone 50%**

Le pouvoir réducteur des échantillons analysés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ), excepté pour les échantillons E3 et E5 qui exercent le pouvoir réducteur le plus élevé (5704 et 5637 mg /100g); le pouvoir réducteur le plus faible est celui de E2 (2683 mg/100g) (figure 19).

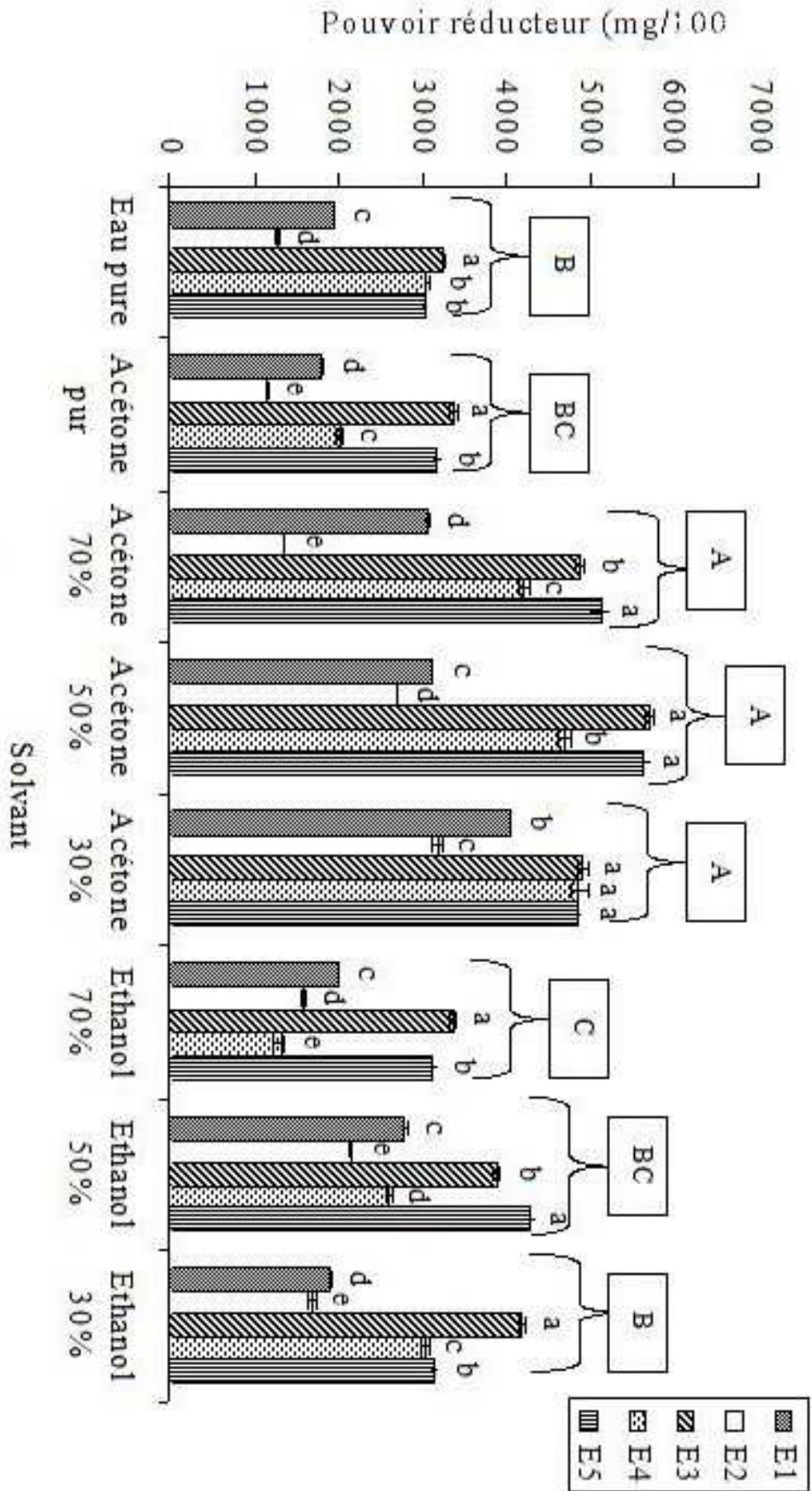


Figure 19: Pouvoir réducteur des échantillons de mère

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

Les lettres majuscules : effet du solvant. Les lettres minuscules : effet de l'échantillon.

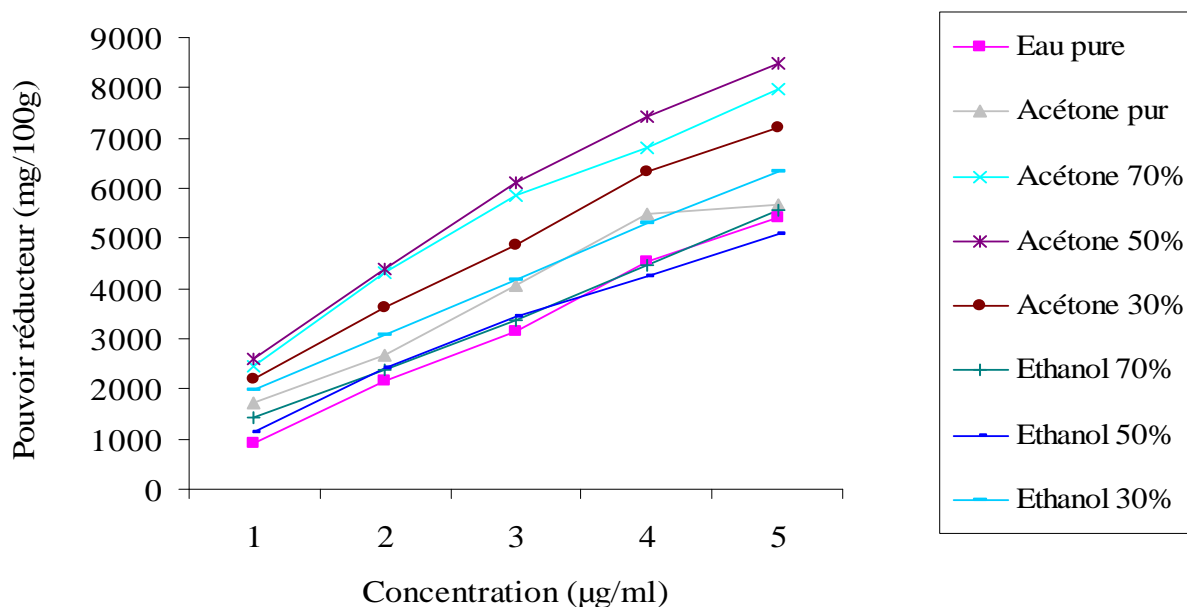


Les différences du potentiel antioxydant constatées entre les échantillons analysés peuvent être partiellement attribuées aux variations qualitatives des composés phénoliques et à l'effet de région.

L'action antioxydante des réducteurs est basée sur la rupture de la chaîne de radicaux libres par un don d'hydrogène ou par réaction avec certains précurseurs de peroxydation pour prévenir la formation de peroxydes (Liu et Yao, 2007).

Le pouvoir réducteur des différents extraits peut être dû à leur capacité à donner des électrons. Le pouvoir réducteur peut être attribué principalement aux composés bioactifs associés à l'activité antioxydante tels que les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et autres antioxydants hydrophiles et hydrophobes qui sont de bons donneurs d'électrons et peuvent terminer la chaîne de réaction de radicaux libres par conversion des radicaux libres en produits plus stables (Yen *et al.*, 2008).

La figure 20 montre que, le pouvoir réducteur des extraits de mûre augmente avec la concentration d'échantillon. Ces observations sont similaires à celles de Makris *et al.* (2007), Manian *et al.* (2008) et Sousa *et al.* (2008), dans des études réalisées sur des sous-produits de vinification, de la figue, et des olives de table respectivement.



**Figure 20:** Effet de la concentration des extraits de l'échantillon E3 sur le pouvoir réducteur.

### **III.2. Activité antiradicalaire**

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, la méthode au diphényl-picryl hydrazyl est utilisée. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits (Molyneux, 2004).

Dans la présente étude, il apparaît que les extraits de mûres possèdent des capacités à céder des atomes d'hydrogène pour agir comme antioxydants. Les résultats de l'activité antiradicalaire des échantillons analysés sont illustrés dans la figure 21. L'analyse statistique montre que les solvants utilisés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ). Ainsi, les extraits à l'éthanol 70% présentent l'activité antiradicalaire la plus élevée (7634 mg/100g); l'activité antiradicalaire la plus faible (5980 mg/100g) est obtenue avec l'acétone 100%. Les activités antiradicalaires des extraits obtenus avec l'acétone 70%, l'acétone 50%, l'acétone 30%, l'éthanol 50%, l'éthanol 30% et l'eau ne présentent pas de différence significative. Des résultats similaires sont indiqués par Kouri *et al.* (2007) et Mohsen *et al.* (2009) dans des études réalisées sur le maïs et l'origan, respectivement. Les extraits éthanoliques sont très efficaces pour le piégeage des radicaux DPPH grâce à leur teneur élevée en acides phénoliques et flavonoïdes glycosides (Kouri *et al.*, 2007).

Les activités antiradicalaires faibles obtenues avec l'acétone 100% pourraient être expliquées par le fait que ce solvant ne soit pas adéquat pour l'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes des mûres. Ceci signifie que la polarité du solvant affecte sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et influence ainsi l'estimation de l'activité antioxydante

Les résultats de la présente étude sont similaires à ceux de Lapornik *et al.* (2005) qui ont montré que l'activité antiradicalaire des extraits d'éthanol 70% est plus élevée que celle des extraits aqueux en raison que l'éthanol 70% est un solvant moins polaire que l'eau. Ceci signifie qu'ils sont plus efficaces dans la dégradation des parois et graines cellulaires qui ont un caractère non polaire et entraîne la libération des anthocyanines et autres polyphénols à partir des cellules.

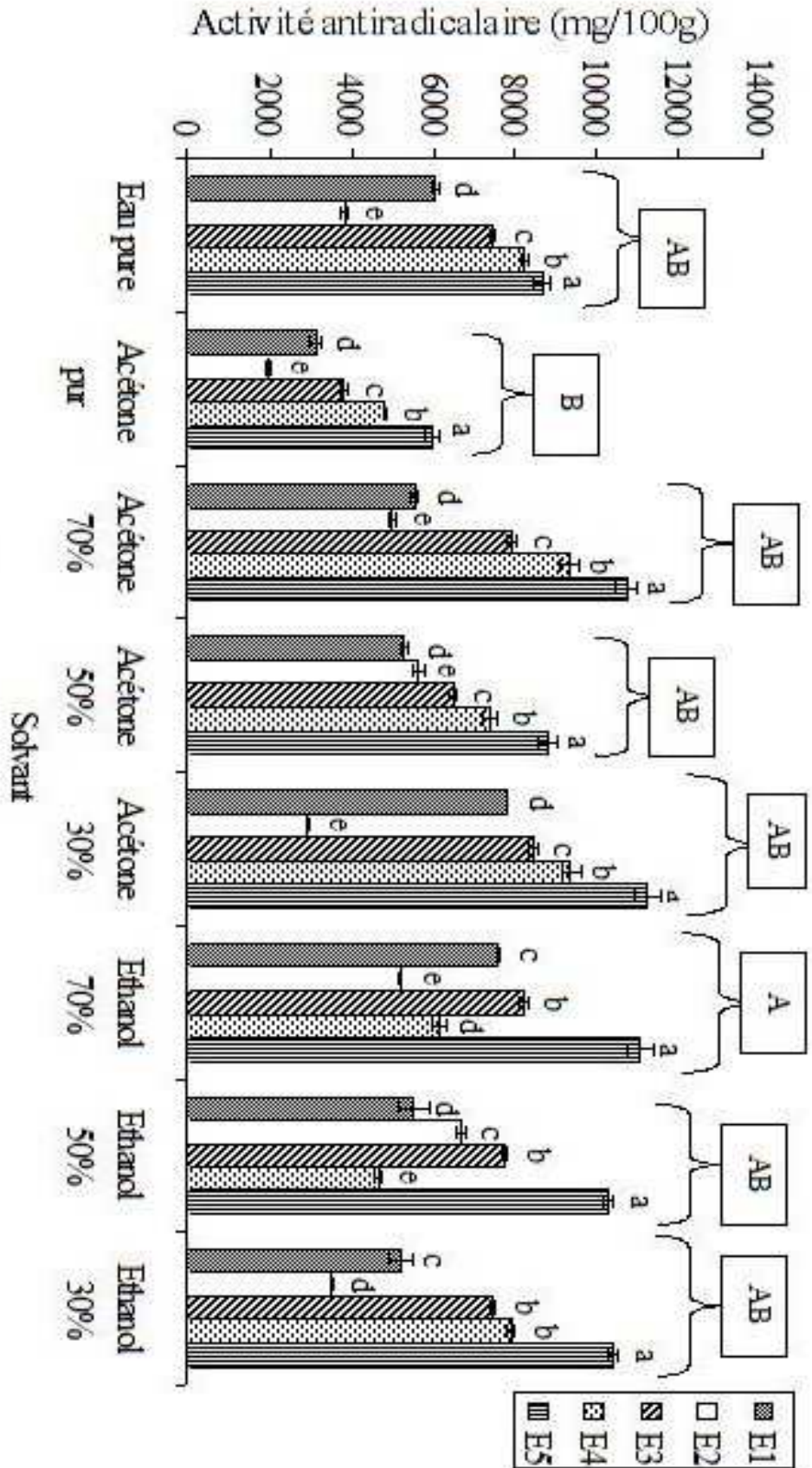


Figure 21. Activité antiradiatoire des échantillons de mire

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

(Lettres majuscules : effet du solvant. Les lettres minuscules : effet de l'échantillon.)

❖ **Activité antiradicalaire des extraits d'éthanol 70%**

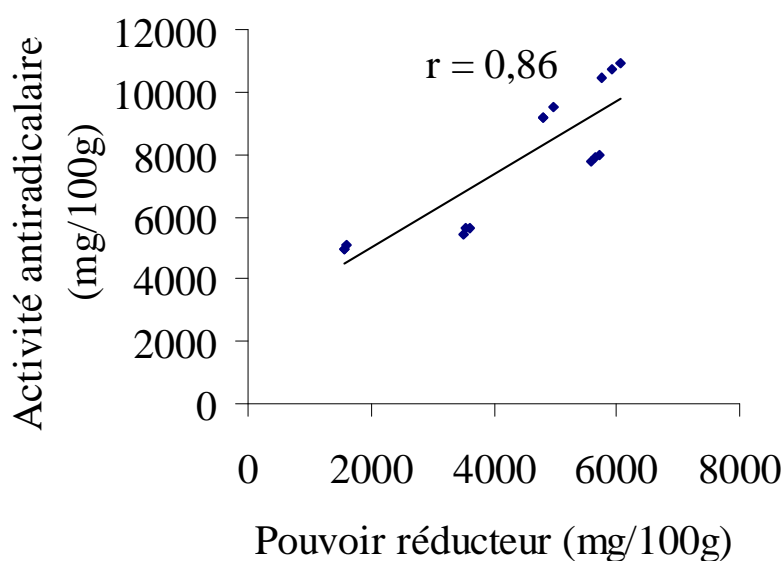
Les activités antiradicalaires des échantillons analysés présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) (figure 21). L'échantillon E5 présente la meilleure activité (11034 mg/100g de poids sec); la plus faible activité est celle de l'échantillon E2 (5196 mg/100g). Les variations de la capacité antioxydante des extraits d'échantillons analysés peuvent être attribuées aux différences dans leur composition chimique (composés phénoliques, acide ascorbique...); aux différences de génotype, la date de récolte (Howard *et al.*, 2003).

L'activité antiradicalaire dépend de la conformation structurale des composés phénoliques contribuant à leur capacité de transfert d'électron/donneur d'hydrogène, ainsi, certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH réduisant un nombre de molécules de DPPH correspondant au nombre de groupements hydroxyles disponibles (Williams *et al.*, 1995; Makris *et al.*, 2007; Su et Chien, 2007).

L'activité antiradicalaire des mûres pourrait être attribuée essentiellement à leurs teneurs en composés phénoliques; l'acide ascorbique semble jouer un rôle mineur avec une contribution inférieure à 15% (Wang *et al.*, 1996). L'activité antiradicalaire des échantillons de cette étude pourrait également être due aux effets synergiques des composés phénoliques, flavonoïdes, et caroténoïdes, aussi bien que leur capacité élevée à donner des atomes d'hydrogène.

Puisque 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, d'où il est important de caractériser ces composés.

Les deux méthodes de mesure de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité antiradicalaire) montrent de bonnes corrélations linéaires positives (figure 22), avec un coefficient de corrélation de 0,86 dans les extraits d'acétone 70%, indiquant qu'il y'a une similitude de mécanisme entre ces deux méthodes.



**Figure 22:** Corrélation entre l'activité antiradicalaire et le pouvoir réducteur des extraits d'acétone 70%.

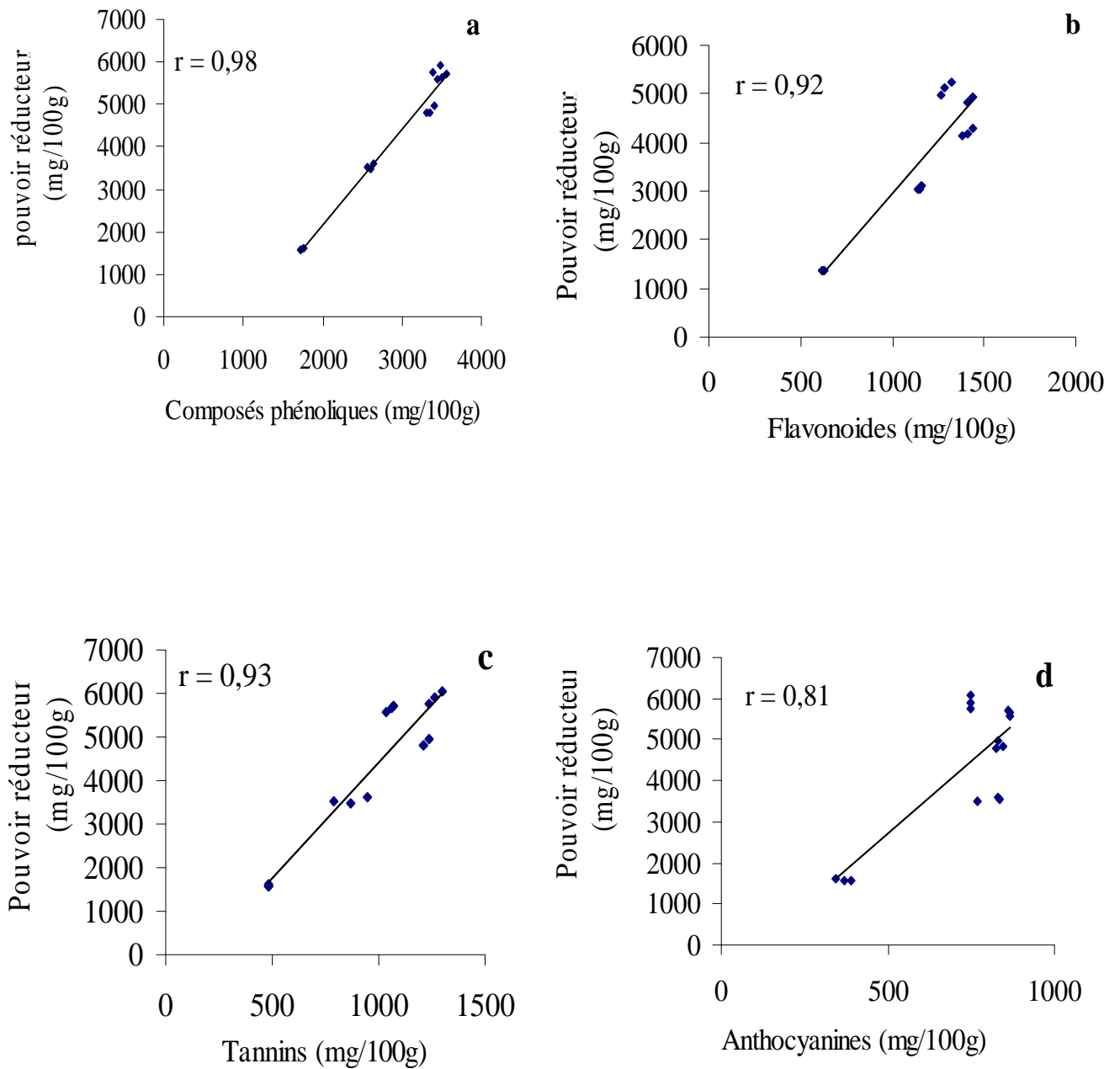
#### **IV. Relation activité antioxydante et teneurs en composés phénoliques**

Afin d'évaluer la contribution des classes polyphénoliques individuelles à l'efficacité antioxydante des extraits, une simple analyse de régression linéaire est réalisée. Pour toutes les classes déterminées, les coefficients de corrélation obtenus sont particulièrement élevés et statistiquement significatifs ( $p < 0,05$ ).

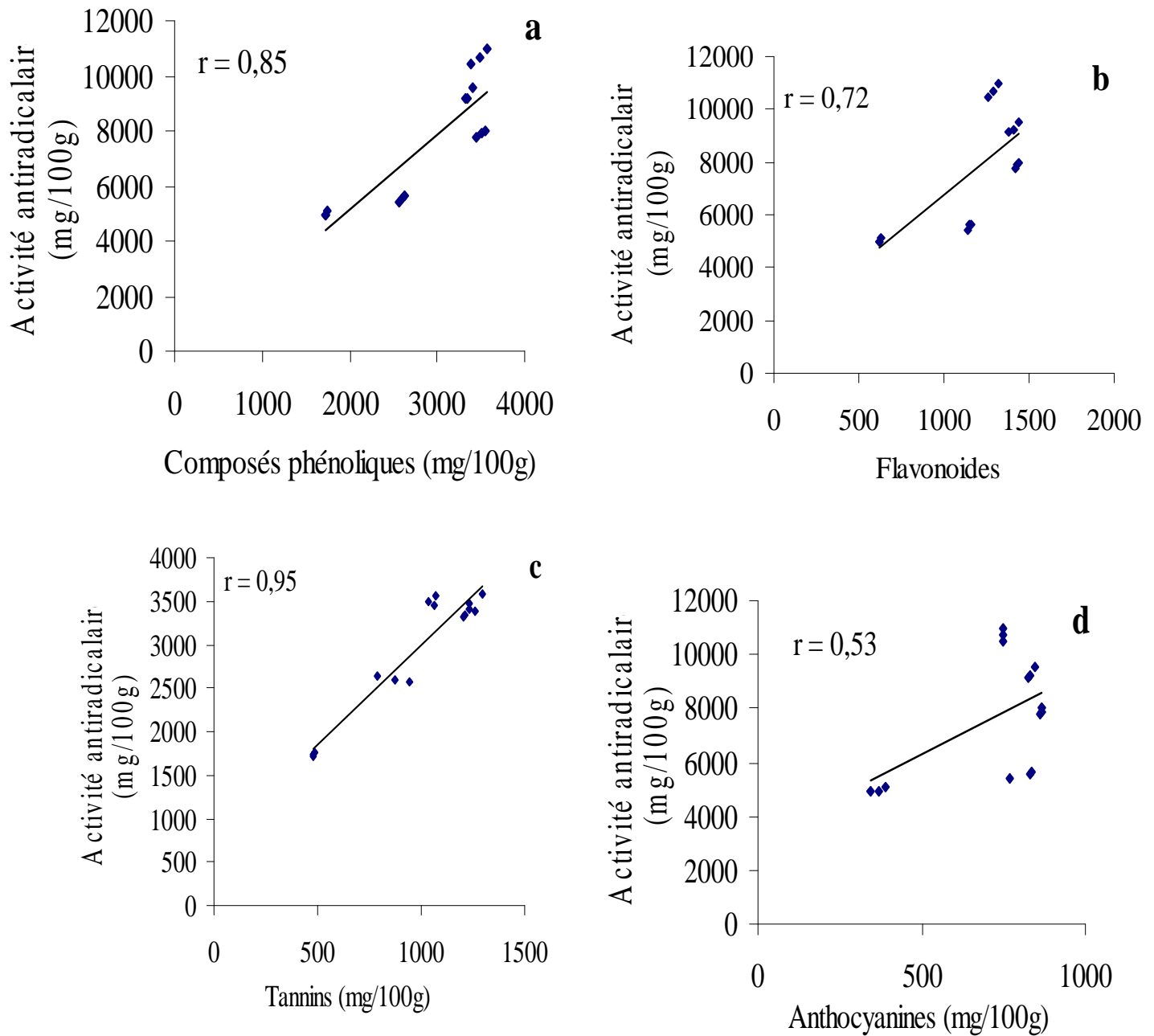
Les extraits d'acétone 70% sont utilisés pour étudier les corrélations, car c'est le solvant d'extraction des anthocyanines.

Une corrélation significative positive est obtenue entre la capacité antioxydante et les teneurs en composés phénoliques totaux indiquant, que les composés phénoliques sont des contributeurs à la capacité antioxydante.

Le pouvoir réducteur des échantillons présente de bonnes corrélations linéaires positives avec les teneurs en composés phénoliques ( $r = 0,98$ ), flavonoïdes ( $r = 0,92$ ), tannins ( $r = 0,93$ ) et en anthocyanines ( $r = 0,81$ ) (figure 23). Les résultats obtenus indiquent également l'existence de bonnes corrélations linéaires entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en composés phénoliques ( $r = 0,85$ ), flavonoïdes ( $r = 0,72$ ), tannins ( $r = 0,95$ ) et en anthocyanines ( $r = 0,53$ ) (figure 24), confirmant ainsi les résultats de Reyes *et al.* (2005), et de Ćetković *et al.* (2008) dans des études réalisées sur la mûre et la pomme, respectivement.



**Figure 23 :** Corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en composés phénoliques (a), les flavonoïdes (b), les tannins (c), et les anthocyanines (d).



**Figure 24:** Corrélation entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en composés phénoliques (a), flavonoïdes (b), tannins (c), et en anthocyanines (d).

Les résultats de cette étude montrent que les anthocyanines contribuent à l'activité antioxydante de la mûre. Ces composés sont des antioxydants puissants avec des propriétés antiradicalaires attribuées aux groupements hydroxyles attachés aux structures du cycle phénol (Velioglu *et al.*, 1998; Wang et Lin, 2000).

Les propriétés redox leur permettent d'agir comme agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et piègeurs de l'oxygène singulet et triplet. Ils peuvent également présenter de fortes propriétés de chélation de métaux (Kahkonen *et al.*, 1999; Pietta, 2000).

Des études menées par Pellegrini *et al.* (2003) ont montré que la capacité antioxydante élevée de la mûre résulte de sa richesse en antioxydants tels que les acides phénoliques et flavonoïdes (anthocyanine). Par contre, Wang *et al.* (2008) ont attribué cette capacité antioxydante importante aux anthocyanines, particulièrement la cyanidine-3-glucoside.

Les corrélations entre les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante sont supérieures à celles constatées avec les anthocyanines, les flavonoïdes totaux, les tannins. Ceci indique que la capacité antioxydante est fortement liée aux polyphénols totaux et modestement liée aux classes individuelles de ces composés. Ceci signifie que l'effet potentiel synergique entre les antioxydants du fruit et l'interaction des flavonoïdes et des non flavonoïdes dont les procyanidines peut contribuer à l'activité antioxydante élevée de ces extraits.



## *Conclusion*

La présente étude a permis la caractérisation physico-chimique et le dosage de substances antioxydantes (caroténoïdes, anthocyanines, composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tanins totaux), ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de cinq échantillons de mûres récoltés dans différentes localités de la région de Bejaia.

Les résultats de l'analyse physico-chimique diffèrent significativement selon la l'origine géographique des échantillons.

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 et la concentration du solvant affectent significativement les teneurs en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante des extraits de mûres. L'acétone 50% est le solvant le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques totaux. Concernant les flavonoïdes, l'acétone 70%, 50% et 30%, ainsi que l'éthanol 50% ont montré une efficacité d'extraction similaire. Cependant, la teneur la plus élevée en tanins totaux a été obtenue avec l'acétone 100%.

Le meilleur pouvoir réducteur est obtenu avec les extraits acétoniques (70%, 50% et 30%). Concernant l'activité anti-radicalaire, les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans les extraits à l'éthanol 70%.

Les résultats montrent que l'extraction sélective à partir des mûres, par des solvants appropriés, est importante pour l'obtention d'extraits ayant des activités antioxydantes élevées. Par conséquent, Il est recommandé d'éviter l'utilisation de l'eau pure ou l'acétone 100% pour l'extraction des composés phénoliques.

Les résultats obtenus sous les mêmes conditions d'extraction (acétone 70%), montrent que les teneurs en différents antioxydants et l'activité antioxydante varient significativement selon l'échantillon.

De bonnes corrélations linéaires ont été établies entre les différentes classes de composés phénoliques et les activités anti-radicalaire et réductrice des extraits de mûres, témoignant ainsi que la teneur en composés phénoliques module l'activité antioxydante. Les résultats suggèrent également un effet synergique possible entre les différents antioxydants.

Les résultats de notre étude confirment l'intérêt de la consommation des mûres, qui constituent une excellente source de différents antioxydants qui piègent les radicaux libres, afin de lutter contre le stress oxydatif. Ainsi, les extraits obtenus peuvent être utilisés comme ingrédients dans les industries alimentaires et/ou pharmaceutiques.

Dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant ;

- d'élargir l'échantillonnage à l'ensemble du territoire national afin d'analyser l'effet de l'origine géographique.
- de caractériser les différents antioxydants, d'élucider leur mécanisme d'action et de tester l'activité des extraits *in vivo*.
- d'étudier la biodisponibilité des composés phénoliques de la mûre, afin de prévoir leur effet sur la santé humaine.
- d'étudier les paramètres de conservation (emballage, atmosphère de stockage,...).
- d'étudier l'aspect technologique de ces fruits (préparation des jus, des confitures, des marmelades,...).

**A**

**Albagnac G., Varoquaux P., et Montigaud J-C. (2002).** Technologies de transformation des fruits *In* « Chapitre sélection des cultivars en relation avec la transformation ». Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires.

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

**Ames B.N., Shigenaga M. K., et Hagen T. M. (1993).** Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging (cancer/mutation/endogenous DNA adducts/oxygen radicals). *Editions Tec & Doc* 90 : 7915-7922.

**Amiot-Carlin M-J et Dallongeville J.** Consommation de fruits et légumes et santé *ESCo* "Les fruits et légumes dans l'alimentation" .1171p.

**B**

**Badjakov I., Nikolova M., Gevrenova R., Kondakova1 V., Todorovska1 E et Atanassov A. (2008).** Bioactive compounds in small fruits and their influence on human health. *Biotechnol. & Biotechnol* 22 : 581-587.

**Balasundram N., Sundram K., et Samman S. (2005).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxydant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 1-11.

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

**Barclay-Poling E et Gough R.E. (1996).** Small Fruits in the Home Garden. *Food Products press*. 272 pages.

**Beattie J., Crozier A., et Duthie G.G. (2005).** Potential Health Benefits of Berries *Current Nutrition & Food Science* 1: 71-86.

**Beecher G.R. (1999) .** Flavonoids in Foods. *Antioxidant Food Supplements in Human Health* 18 : 269-281.

**Belitz H. D., Grosch W., et Schieberle P. (2004).** Food chemistry *In*: « Fruits and Fruit products». 3<sup>rd</sup> revised Edition Springer. (p 213 – 834).

**Bennick A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 13 :184-196.

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

**Bossard R et Cuisance P. (1986).** Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. *Edition TEC&DOC. Lavoisier Paris.*

**Bossokpi IPL. (2003).** Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae). Thèse Doctorat.

**Bruzzese E. (1998).** The biology of blackberry in south-eastern Australia. *Plant Protection Quarterly* 13:160-162.

## C

**Cacace J.E et Mazza G. (2003).** Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* 59 : 379–389.

**Cazes D-J. (2005).** Encyclopedia of Chromatography In « Phenolic Acids in Naturel Plants : Analysis by HPLC ». 1806 pages.

**Ćetković G., Čanadanović-Brunet J., Djilas S., Savatović S., Mandić A., et Tumbas V. (2008).** Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry* 109 : 340–347.

**Cheynier V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr* 81:223S–229S.

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

**Cho M.J., Hoxard L.R., Prior R.L., et Clarck J.R. (2005).** Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal in the Science of Food and Agriculture* 85: 2149-2158.

**Connor A.M., Finn C.E., McGhie T.K., et Alspach P.A. (2005).** Genetic and Environmental Variation in Anthocyanins and their Relationship to Antioxidant Activity in Blackberry and Hybridberry Cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* 13: 680-687.

**Cuvelier M-E et Martel P. (2002).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires In « Additifs antioxygènes ». 3<sup>ème</sup> édition. *TEC&DOC.* Lavoisier.

**D**

**Descheemaeker K. et Provoost C. (2002).** L'impact de la nutrition sur la santé: développements récents—5. *Garant*.

**Derbel S, et Ghedira K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie* 1: 28-34

**Duperrex H. (1977).** La culture des petits fruits. Ed : Payot Lausanne La Maison Rustique, Paris p : 11-105.

**Duraffourd C et Lapraz J-L. (2002).** Traité de phytothérapie clinique. Edition II Masson, Paris. 53 P.

**Dutta D., Chaudhuri U. R., et Chakraborty R. (2005)** . Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology*. 4 (13): 1510-1520.

**E**

**Elisia I., Hu C, Popovich D.G., et Kitts D.D. (2007).** Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry* 101 : 1052–1058.

**Ercisli S. (2007).** Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry* 104 : 1379-1384.

**F**

**Faure H., Fayol V., Galabert C., Grolier P., et Moël G. (1999).** Les caroténoïdes : 1. Métabolisme et physiologie. *Annales de Biologie Clinique* 57 : 169-183.

**Felgines C., Talavéra S., Gonthier M-P., Texier O., Scalbert A., Lamaison J-L., et Rémésy. (2003).** Strawberry Anthocyanins Are Recovered in Urine as Glucuroand Sulfoconjugates in Humans. *J. Nutr.* 133:1296-1301.

**G**

**Galvano F., Fauci L., Vitaglione P., Fogliano V., Vanella L., et Felgines C. (2007).** Bioavailability, antioxidant and biological properties of the natural free-radical scavengers cyanidin and related glycosides. *Ann Ist Super Sanità* 2007 43: 382-393.

**Galvez J.M., Riedl B., et Conner A. H. (1997).** Analytical Studies on Tara Tannins. *Holzforschung* 51: 235-243.

**García-Alonso M., Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., and Rivas-Gonzalo J. C. (2004)** . Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84:13-18.

**Gessner M.O and Steiner D. (2005)** . Acid butanol assay for proanthocyanidins (condensed tannins). *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, 107 - 114.

**George W. (2000)**. Blackberry Production in New Mexico. *Extension Horticulture Specialist. Cooperative*. 8p.

**Gramza A and Korczak J. (2005)**. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in Food Science & Technology* 16 : 351–358.

**Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu İ., et Aslan A. (2002)**. Determination of antioxidant activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* 79 : 325–329.

## H

**Hager T. J., Howard L. R., Liyanage R., Lay J. O., et Prior R. L. (2008)**. Ellagitannin Composition of Blackberry determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 661-669.

**Hagerman A.E et Butler L.G. (1978)**. Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins. *J. Agric. Food Chem* 26 : 809-812.

**Halvorsen, B.L., Carlsen, M.H., Phillips, K.M., Bohn, S.K., Holte, K., Jacobs Jr., D.R., et Blomhoff, R. (2006)**. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.* 84, 95–135.

**Harnly J.M., Doherty R.F., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Bhagwat S., et Gebhardt S. (2006)**. Flavonoid Content of U.S. Fruits, Vegetables, and Nuts. *J. Agric. Food Chem* 54 : 9966-9977.

**Harris R. (1996)**. Ascorbic Acid: Biochemistry and Biomedical Cell Biology. *Edition: illustrated*. Springer. 435 pages.

**Hassimotto N.M.A., Mota R.V., Cordenunsi B.R., et Lajolo F.M. (2008)**. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. *Ciênc. Tecnol. Aliment* 28 : 702-708.

**Howard L.R., Clarck J.R., et Brownmiller C. (2003)**. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *J Sci Food Agric* 83: 1238-1247.

## J

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

**Janick J. (1992).** Horticultural Reviews. *Wiley-Interscience* 13 : 464 pages.

**Jayaprakasha G.K et Patil B.S. (2007) .** In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry* 101: 410-418.

**Jiao H. et Wang S. Y. (2000).** Correlation of Antioxidant Capacities to Oxygen Radical Scavenging Enzyme Activities in Blackberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 : 5672-5676.

**Jiao Z., Liu J., et Wang S. (2005).** Antioxidant Activities of Total Pigment Extract from Blackberries. *Food Technol. Biotechnol.* 43 : 97–102.

## K

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

**Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S., et Heinonen M. (1999).** Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3954-3962.

**Kim D-O., Chun O.K., Kim Y.J., Moon H-Y., et Lee C.Y. (2003).** Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6509-6515.

**Kong J-M., Chia L-S., Goh N-K., Chia T-F., et Brouillard R. (2003).** Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64: 923–933.

**Kouri G., Tsimogiannis D., Bardouki H., et Oreopoulou V. (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8 : 155–162.

**Kowalczyk E., Krzesiński P., Kura M., Szmigiel B., et Blaszczyk J. (2003).** Anthocyanins in medicine. *Polish Journal of Pharmacology* 55: 699-702.

**Krinsky N.I.; Mayne S.T ; et Sies H. (2004).** Carotenoids in Health and Disease  
*Edition: illustrated. CRC Press.*568 pages.

## L

**Lapornik B., Prošek M., et Wondra A.G. (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71: 214–222.

**Li B.B., Smith B., et Hossain Md. M. (2006).** Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology* 48 : 182-188.

**Lima V.L.A.G., Mélo E.A., Maciel M.I.S., Prazeres F.G., Musser R.S., et Lima D.E.S. (2005).** Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry* 90 : 565–568.

**Liu R.H. (2003)** . Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals<sup>1-4</sup>. *Am J Clin Nutr* 78:517S–20S.

**Liu Q et Yao H. (2007).** Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry* 102 : 732-737.

**Liyana-Pathirana C et Shahidi. (2005).** Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry* 93 : 47-56.

**Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V., et Bíró L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis* 47:119-125.

## M

**Macheix J-J., Fleuriet A., et Billot J. (1990).** Fruit Phenolics In « The main Phenolics of fruits ». *CRC Press*. 378 pages.

**Machlin L.J. et Bendich A. (1987).** Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *Clinical Nutrition* 2 : 441- 445.

**Makris D. P., Boskou G., et Andrikopoulos N. K. (2007).** Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:125–132.

**Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., et Jimenez L. (2004).** Polyphenols : Food sources and bioavailability. *American journal of clinical nutrition* 79: 727-747.

**Manian R., Anusuya N., Siddhuraju P., et Manian S. (2008).** The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry* 107: 1000–1007.

**Marinova D et Ribarova F. (2007).** HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 370-374.



- Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., et Ewert B. (1999).** Anthocyanins, Phenolics, and Color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir Wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4009-4017.
- McDougall G., Martinussen I., et Stewart D.G. (2008).** Towards fruitful metabolomics: High throughput analyses of polyphenol composition in berries using direct infusion mass spectrometry. *J. Chromatography B* 871: 362–369.
- McGregor G. (1998).** Relationship between weedy and commercially grown *Rubus* species. *Plant Protection Quarterly* 13:157-158.
- Mertz C., Gancel, A.L., Gunata, Z., Alter, P., Mayer, C.D., Vaillant, F., Perez, A. M., Ruales, J., et Brat, P. (2008).** Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits, *Journal of Food Composition and Analysis* 31p.
- Mohsen S.M et Ammar A.S.M. (2009).** Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry* 112 : 595–598.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J.Sci.Technol* 26: 211-219.
- Monpon B., Lemaire B., Mengal P., et Surbled M. (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. In « polyphénols 96 ». Edition : INRA. BORDEAUX (France).
- Monties B., Catesson A.M., et Roland J.C. (1980).** Les polymères végétaux : polymères pariétaux et alimentaires non azotés. Paris, Bordas. 345p.
- Mordi R.C. (1992).** Mechanism of  $\beta$ -carotene degradation. *BJ Letters* p: 310-312.
- Moridani M.Y., Pourahmad J., Bui H., Siraki A., et O'brien P.J. (2003).** Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radical Biology & Medicine* 34 : 243–253.
- Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.E., Fret B., et Wrolstad R.E. (2002).** Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem* 50 : 519-525.
- Multon J-L. (2002).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. A l'exclusion des produits utilisés au niveau de l'agriculture et de l'élevage : Pesticides, hormones, etc. 3<sup>ème</sup> édition. *TEC&DOC*. Lavoisier.

## N

- Nacz M et Shahidi F. (2006).** Phenolic in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 41: 1523-1542.

**Nakajima J., Tanaka I., Seo S., Yamazaki M., et Saito K. (2004).** LC/PDA/ESI-MS Profiling and Radical Scavenging Activity of Anthocyanins in Various Berries. *J Biomed Biotechnol* 5 : 241–247.

**Nandakumar V., Singh T., et Katiyar S.K. (2008).** Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins. *Cancer Letters* 269: 378-387.

**Nichenametla S.N., Targuscio T.G., Barney D.L., et Exon J.H. (2006).** A Review of the Effects and Mechanisms of Polyphenolics in Cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46:161–183.

## O

**Ong B.T., Nazimah S.A.H, Osman A., Quek S.Y., Voon Y.Y, Hashim D. M, Chew P.M., et Kong Y.W. (2006).** Chemical and flavour changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivar J3 during ripening. *Postharvest Biology and Technology* 40 : 279-286.

**Oteiza P.I., Erlejman A.G., Verstraeten S.V., Keen C.L., et Fraga C.G. (2005).** Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface?. *Developmental Immunology* 12 : 19–25.

## P

**Packer L et Fuchs J. (1997).** Vitamin C in Health and Disease. *Edition: illustrated.* CRC Press.538 pages.

**Pantelidis G.E., Vasilakakis M., Manganaris G.A., et Diamantidis Gr. (2007).** Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry* 102 : 777–783.

**Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., et Brighenti F. (2003).** Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by three Different In Vitro Assays. *American Society for Nutritional Sciences*: 2812-2818.

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

**Pietta P-G. (2000).** Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.

**Pietta P-G et Simonetti P. (1999).** Dietary Flavonoids and Interaction with Physiologic Antioxidants. *Antioxidant Food Supplements in Human Health* 15 : 283-308.

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

**Pincemail J., Degruene F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., et 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.

**Poudel P.R., Tamura H., Kataoka I., et Mochioka R. (2008).** Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* 21 : 622-625.

## Q

**Quezel P et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifique.

## R

**Rahman A. (1988).** Studies in Natural Products Chemistry. *1st ed. Elsevier* vol 20-24, 26-29.

**Reyes C.J., Yousef G.G., Martíñez-Peniche R.A., et Lila A-M. (2005).** Antioxidant Capacity of Fruit Extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) Produced in Different Climatic Regions. *Journal of Food Science* 70: S497- S503.

**Rice-Evans C. (1999).** Screening of Phenolics and Flavonoids for Antioxidant Activity. *Antioxidant Food Supplements in Human Health* 16 : 239- 253.

**Richter G. (1993).** Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. *In : Composés phénoliques.* Ed : presses polytechniques et universitaires romandes.

**Robards K et Antolovich M. (1997).** Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids. *Analyst* 122 : 11R-34R.

**Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., et Glover W. (1999).** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food chemistry* 66 : 401-436.

**Robards K. (2003).** Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A* 1000 : 657-691.

**Rodriguez-Amaya B. D. (2001).** A guide to carotenoid analysis in foods. *International Life Sciences Institute Press.* 1-71.

S

- Salunkhe D. K et Kadam S.S. (1995).** Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage, and Processing. *CRC Press*, 611 p.
- Scalbert A. (2004).** Fruits et légumes, polyphénols et santé. *American journal of clinical nutrition* .2085s.
- Schauenberg P. (1977).** Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 3<sup>ème</sup> édition : *delachaux & niestlé Paris*.
- Sellappan S., Akoh C.C., et Krewer G. (2002).** Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2432-2438.
- Seeram N.P. (2006).** Berries *In Nutritional Oncology*, 2<sup>nd</sup> ed. Academic press: London, U.K., Chapter 37, pp 615-628.
- Seeram N. (2008).** Berry fruits for Cancer Prevention : current Status and future prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 630-635.
- Shahidi F. (1997).** Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications. *The American Oil Chemists Society*. 414 pages.
- Shi J., Mazza G., et Maguer M. (2002).** Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects. *CRC Press*, 409 pages.
- Shin Y., Liu R.H., Nockc J.F., Holliday D., et Watkins C.B. (2007).** Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology* 45 : 349–357.
- Siriwoharn T., Wrolstad R.E., Finn C.E., et Pereira C.B. (2004).** Influence of Cultivar, Maturity, and Sampling on Blackberry (*Rubus L. Hybrids*) Anthocyanins, Polyphenolics, and Antioxidant Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 8021-8030.
- Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A., et Pereira J.A. (2008).** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives ‘ ‘alcaparras’ ’ *LWT* 41: 739-745.
- Soto-Zamora G., Yahia E.M., Brecht J.K., et Gardea A. (2005).** Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit *LWT* 38: 657–663.

**Souci S. W., Fachmann W., et Kraut H. (1994).** Fruits. In : « La composition des aliments ». 5<sup>ème</sup> édition. ED. CRC Press. pp. 833-834.

**Sripad G., Prakash V., et Rao M.S.N. (1982).** Extrability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci* 4 : 145-152.

**Stahl W et Sies H. (1999).** Carotenoids: Occurrence, Biochemical Activities, and Bioavailability *Antioxidant Food Supplements in Human Health* 13 : 183-202.

**Strik B.C., Clark J.R., Finn C.E., et Bañados M. P. (2007).** Worldwide Blackberry Production. *Hortechology* 17 : 205-213.

**Su M-S et Chien P-J. (2007).** Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry* 104 : 182–187.

## T

**Tapiero H., Tew K.D., Nguyen Ba G., et Mathé G. (2002).** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?. *Biomed Pharmacother* 56 : 200-207.

**Talvas J., Gitenay D., et Rock E. (2008).** Fruits et cancer : de la cancérogenèse à l'épidémiologie. *Phytothérapie* 6: 96–101.

**Tosun I., Ustun N.S., et Tekguler B. (2008).** Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. *Scientia Agricola* 65p.

**Tural S et Koca I. (2008).** Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas L.*) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae* 116 : 362–366.

**Turkmen N., Sari F., et Velioglu Y.S. (2006).** Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphénols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemisrty* 99 : 835-841.

## V

**Valnet J. (1985).** Traitement des maladies par les légumes, les fruits, et les céréales. *Maloine*. 9<sup>ème</sup> édition Paris p301.

**Vasco C., Ruales J., et Kamal-Eldin A. (2008).** Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry* 111 : 816-823.

**Vattem D. A., Ghaedian R and Shetty K. (2005).** Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. *Asia Pac J Clin Nutr* 14 : 120-130.

**Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L., et Omah B. D. (1998).** Antioxidant Activity and Total Phenolics in selected Fruits, vegetables, and grain Products. *J. Agric. Food Chem* 46 : 4113-4117.

**Vermerris W et Nicholson R. (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. *Springer*, 276 pages.

**Verma L. R and Joshi V.K. (2000).** Postharvest Technology of Fruits and Vegetables: Handling, Processing, Fermentation, and Waste Management. *Indus Publishing*.

**Virgili F., Kobuch L H., Noda Y., Cossins E., et Packer L. (1999).** Procyanidins from *Pinus maritima* Bark: Antioxidant Activity, Effects on the Immune System, and Modulation of Nitrogen Monoxide Metabolism. *Antioxidant Food Supplements in Human Health* 21 : 323-342.

## W

**Wada L et Ou A.B. (2002).** Antioxidant Activity and Phenolic Content of Oregon Caneberries. *J. Agric. Food Chem* 50 : 3495-3500.

**Wang H., Cao G. et Prior R. (1996).** Total Antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem* 44 : 701-705.

**Wang H., Cao G et Prior R.L. (1997).** Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem* 45 : 304-309.

**Wang S. Y et Lin H-S. (2000).** Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.

**Wang S.Y., Bowman L., et 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 S.Y., Chen C-T., et Wang C.Y. (2009).** The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chemistry* 112 : 676-684.

**Williams W. B., Cuvelier M.E., et Berset C. (1995).** Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-Wiss. U-Technol* 28: 25-30.

**Williner M. R., Pirovani M.E., et Güemes D. R. (2003).** Ellagic acid content in strawberries of different cultivars and ripening stages. *Journal in the Science of Food and Agriculture* 83: 842-845.

**Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., et Prior R.L. (2006).** Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *J. Agric. Food Chem* : 54 : 4069-4075.

**X**

**Xie D-Y et Dixon R.A. (2005).** Proanthocyanidin biosynthesis – still more questions than answers?. *Phytochemistry* 66 : 2127–2144.

**Y**

**Yen Y-H., Shih C-H., et Chang C-H. (2008).** Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. *Food Chemistry* 107: 265-272.

**YilmazaY et Toledo R.T. (2006).** Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis* 19 : 41-48.

**Z**

**Zadernowski R., Naczki M and Nesterowicz J. (2005).** Phenolic Acid Profiles in Some Small Berries. *J. Agric. Food Chem* 53 : 2118-2124.

**Zasada J.C et Tappeiner J.C. (1994).** *Rubus L.* blackberry, raspberry.p1-23.

**Zhao Y. (2007).** Berry Fruit Value-Added Products for Health Promotion. In : « Berry Crops : Worldwide area and production systems ». *ED. CRC Press.* pp. 3-12.

**Zhao B et Hall C.A. (2008).** Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. *Food Chemistry* 108: 511-518.

**Zheng W and Wang S.Y. (2003).** Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries. *J. Agric. Food Chem* 51: 502-509.

**Zimmer N et Cordesse R. (1996).** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants *INRA Prod Ann* 3: 167-179.

**Norme Européenne. (2003).** *TC WI* : Chemical Analyses – Determination of dry matter and water content on a mass basis in sediment, sludge, soil, and waste – Gravimetric method .

## Résumé

Le but de la présente étude est d'évaluer l'effet de la nature du solvant d'extraction (eau, acétone 100%, 70%, 50%, 30%, éthanol 70%, 50%, 30%) sur l'estimation de l'activité anti-oxydante de cinq échantillons de mûre. Les différents extraits ont été testés pour leur teneur en composés phénoliques ainsi que leur activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire). Les résultats obtenus montrent que le solvant d'extraction affecte significativement la teneur en composés phénoliques ainsi que l'activité antioxydante ; l'acétone 50% est plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques totaux (4139 mg équivalent d'acide gallique/100g de matière sèche); par contre, les extraits aqueux et les extraits acétoniques (acétone 100%) sont les moins efficaces. L'étude révèle que l'extrait à l'éthanol 70% est le plus efficace pour inhiber le radical DPPH. Des teneurs élevées en composés phénoliques ainsi qu'une activité antioxydante importante ont été détectées, par conséquent ce fruit peut être considéré comme une excellente source d'antioxydants naturels pour la prévention de diverses maladies.

## Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of eight selected solvent (water, acetone (v/v) 100%, 70%, 50%, 30%, ethanol (v/v) 70%, 50%, 30%) on antioxidant activity measurements of five blackberry fruit samples. The various extracts were tested for their total phenolic content and antioxidant activity (reducing power, radical scavenging activities against stable DPPH). The results showed that the extracting solvent significantly affected the content of phenolic compounds and antioxidant property estimations of blackberry, and acetone 50% is the most efficient for extraction of total phenolic compounds (4139 mg gallic acid equivalent /100g of dry matter); however, water and acetone 100% extracts are the less efficient. The antiradical activity revealed that ethanol 70% extract is the most efficient for inhibe DPPH radical. High content of phenolic compounds as well as a significant antioxidant activity have been detected in blackberry fruit, indicating that it may serve as an excellent dietary source of natural antioxidants for disease prevention and health promotion.

## الخلاصة

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم أثر طبيعة مذيبات الاستخلاص (الماء، الأستيون 100 % ، 70 % ، 50 % ، 30 % ، الإيثانول 70 % ، 50 % ، 30 %) على تقدير نشاط مضادات الأكسدة لخمس عينات من التوت البري. تم اختبار محتوى مركبات الفينول ونشاط مضادات الأكسدة (قدرة الإرجاع ومكافحة الجذور الحرة) في مختلف المستخلصات المحصّل عليها. تبين النتائج أن مذيبات الاستخلاص تؤثر تأثيراً كبيراً على محتوى مركبات الفينول و نشاط مضادات الأكسدة. من بين مذيبات الاستخلاص المستعملة ، الأستيون 50 % هو الفعّال لإستخراج مجموع مركبات الفينول (4139 ملغ تعادل حمض الفاليك/100غ من المادة الجافة) ، ومستخلصات الأستيون 100 % . والماء هي الأقل فعالية. وتكشف الدراسة أنّ الإيثانول 70% هو الأكثر فعالية لكبح الجذور الحرة. من خلال هذه الدراسة تم اكتشاف كميات كبيرة من مركبات الفينول و نشاطهاام جدا لمضادات الأكسدة ، وبالتالي فإن هذه الفاكهة يمكن اعتبارها مصدراً ممتازاً لمضادات الأكسدة الطبيعية للوقاية من أمراض مختلفة.