

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

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

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie
Option : **Sciences Alimentaires**

Thème

Composition phénolique et activité
antioxydante du fruit de deux
espèces d'Eglantier

Réalisé par :

Mr BENHAMOUCHE Djaafar.

M^{elle} DALI-AHMED Oum keltoum.

Membre de jury :

Présidente : M^{me} ADRAR S.

Promotrice : M^{me} IKHENACHE F.

Examinatrice 1 : M^{lle} BRAHMI F.

Examinatrice 2 : M^{me} GUENDOZ N.

Année universitaire : 2011-2012.

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le bon dieu tous puissant pour sa bienveillance.

Nos profonds remerciements s'adressent particulièrement à notre promotrice M^{me} IKHNACHE.F d'avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour sa disponibilité, ses conseils, son suivi, et tous particulièrement sa patience.

Nous tenons à remercier M^{me} la présidente du jury ADRAR.S de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos reconnaissances s'adressent à nos deux examinatrices M^{me} GUENDOUZ.N et M^{lle} BRAHMI.F pour nous avoir fait l'honneur d'examiner notre modeste travail.

*Je dédie ce présent mémoire à mes parents à qui le
grand mérite revient.*

Je le dédie également :

A mes frères MOHO ET SA FEMME, TAKFARINAS, DJAMAL.

*A mes sœurs NASSIMA ET LEUR MARI, ELDJIDA ET SON
MARI, KAHINA, RBIHA.*

A TOUS MES ONCLES ET LEURS FAMILLES.

SURTOUT MOURAD

A MA TENTE, SON EPOUX ET CES ENFANTS.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS PERES.

A TOUS MES AMIS(E).

DJAAFAR,



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents pour leur amour, patience, mais surtout pour leur soutien, notamment tout au long de mon cursus étudiant ;

Mes regrettés grands parents maternels et paternels,

Ma sœur,

Mes oncles et mes tantes,

Mes cousins et cousines,

Tous ceux qui m'ont soutenu,

Ainsi qu'à toute la promotion sciences alimentaires 2011/2012.

DALI-AHMED Oum-Keltoum

Glossaire

Caducs : désigne un organe ou un appendice qui peut se détacher ou tomber prématurément de l'organisme auquel il appartient.

Corolle : enveloppe des pièces florales connus sous le nom de pétales.

Corymbe : est une inflorescence simple, indéfinie, dans laquelle l'ensemble des fleurs se trouvent dans le même plan.

Drageon : pousse qui apparait au pied de la tige d'une plante et qui naît de la racine des arbres.

Pennée : Se dit d'une plante dont les feuilles sont disposées de part et d'autre d'un axe médian.

Liste des abréviations

BHA: Butylated hydroxyanisole.

BSA: Serum albumine bovine.

EAG: Equivalent acide gallique.

EAT: Equivalent acide tannique.

EC: Equivalent catéchine.

EQ: Equivalent quercétine.

TCA: Trichloracétique.

TEA: triéthanolamine.

SDS: dodécylsulfate de sodium.

LISTE DES FIGURES :

Figure01: Structure chimique d'un tanin hydrolysable (Pentagalloyle glucose).....	10
Figure02 : Structure chimique d'un tanin condensé (procyanidine B2).....	11
Figure03 : Fruit de l'églantier (village El-MECHETA).....	18
Figure04 : Etapes d'extraction des composés phénoliques de <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	19
Figure05 : Les étapes du dosage des polyphénols.....	21
Figure 06 : Les étapes de dosage des flavonoïdes.....	22
Figure07 : Les étapes de dosage des tannins.....	23
Figure08 : Etapes de test du pouvoir réducteur.....	26
Figure09 : Protocole de test du phosphomolybdate d'ammonium.....	27
Figure10 : Rendement d'extraction des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	28
Figure 11: Teneur en polyphénols des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	29
Figure 12 : Teneur en Flavonoïdes des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	30
Figure 13 : Teneur en tannins des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	31
Figure 14 : Teneur en anthocyanines des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	32
Figure15 : Teneur en acide malique des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	33
Figure16 : Représentation graphique du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des espèces <i>Rosa sp</i> et <i>Rosa canina</i>	35
Figure17 : Représentation graphique du pouvoir réducteur des extraits éthanoliques des espèces <i>Rosa sp</i> et <i>Rosa canina</i>	35
Figure18 : représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait méthalonique de <i>Rosa canina</i>	36
Figure 19: représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammoniumde l'extrait éthalonique de <i>Rosa canina</i>	37

Figure20 : représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait méthanolique de *Rosa sp.*.....37

Figure21 : représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait éthanolique de *Rosa sp.*.....38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Principaux acides hydroxybenzoïques	07
Tableau II : Principaux acides hydroxycinnamiques	07
Tableau III : Distribution alimentaire et exemples des principales classes de flavonoïdes...	08
Tableau IV: Modes d'actions antimicrobiennes de quelques Polyphénols	14
Tableau V : activité biologique de quelque poly phénols dans l'organisme	15
Tableau VI : Taux de cendre des deux espèces <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp</i>	33
Tableau VII: les IC ₅₀ en (µg/ml) à partir du test phosphomolybdate d'ammonium	38

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Présentation de la plante

1. Historique de la plante	2
2. Présentation de la famille des <i>Rosaceae</i>	2
3. Etude du genre << <i>Rosa</i> >>	2
4. Description de la plante	2
5. Etude de l'espèce << <i>Rosa canina</i> >>	2
6. Composition phytochimique de <i>Rosa canina</i>	4
7. Propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques	5

Chapitre II : composés phénoliques

1. Définition	6
2. Classification des composés phénoliques..	6
2.1. Formes les plus simples.	6
2.2. Formes complexes	10
3. Biosynthèse des composés phénoliques	11
4. Effets de quelques polyphénols sur la santé	12

Chapitre III : Activités biologiques

1. Activités biologiques des polyphénols	13
1.1. Chez les végétaux	13
1.2. Chez l'homme.....	13
1.2.1. Activité antibactérienne	14
1.2.1.1. Les flavonoïdes	15
1.2.1.2. Les tanins	16
1.2.2. Activité anti-cancérogène	16
1.2.3. Activité antiallergique	16
1.2.4. Activité cardiotonique	16
1.2.5. Activité anti inflammatoire	17

1.2.6. Activité antidiabétique	17
1.2.7. Activité antioxydante	17

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1. Objectif	18
2. Matériels végétal	18
2.1. Récolte des échantillons	18
2.2. Traitement des échantillons	18
3. Extraction des composés phénoliques	19
4. Dosage phytochimique	20
4.1. Dosage des polyphénols totaux	20
4.2. Dosage des flavonoïdes	21
4.3. Dosage des tanins	22
4.4. Dosage des anthocyanines	24
5. Tests physicochimiques	24
5.1. Acidité titrable	24
5.2. Taux de cendre	25
6. Evaluation de l'activité antioxydante	25

Chapitre V : Résultats et discussions

1. Taux d'extraction	28
2. Dosage phytochimique	29
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	29
2.2. Dosage des flavonoïdes	30
2.3. Dosage des tanins.....	31
2.4. Dosage des anthocyanines	32
3. Tests physicochimiques.....	33
3.1. Acidité titrable	33
3.2. Taux de cendre.....	33
4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Rosa canina</i> et <i>Rosa sp.</i> ..	34
Conclusion	40

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine et dans les préparations culinaires (**Bouzouita et al., 2008**).

Au cours de ces dernières années, les recherches faites sur les plantes par des spécialistes ont révélées des résultats qui concourent à démontrer les effets indésirables des médicaments pour la santé de l'être humain (**Messaoudi, 2005**).

C'est pour cette raison, qu'il y a un retour à l'utilisation des plantes médicinales riches en composés bioactifs. La recherche de ces derniers extraits des plantes est d'une importance capitale, car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels (**Chevallier, 2001**). L'églantier est l'une de ces plantes médicinales appartenant à la famille des Rosacées et du genre *Rosa*. Il a suscité la recherche des composés bioactifs, car les fruits de cette plante regorgent de plusieurs substances nutritives tels que les : minéraux, vitamine C, composés phénoliques (**Kazzaz et al., 2009**). Par ailleurs, il a été démontré, grâce à des tests *in vivo*, que le cynorrhodon « le fruit de l'églantier » possède des activités prophylactiques et thérapeutiques contre un large éventail d'affections : arthrites, diabète...c'est ce qui explique son utilisation (**Orhan et al., 2009**). Notre travail consiste à étudier l'activité antioxydante du fruit de deux espèces du genre *Rosa*. Pour ce faire, l'étude a été scindée en deux parties principales :

- Une partie bibliographique qui comprend les trois chapitres:
 - présentation des plantes.
 - métabolites secondaires des plantes où notre intérêt s'est porté sur les composés phénoliques ;
 - le 3^{ème} chapitre est consacré aux différentes activités biologiques des antioxydants reportées par la littérature.
- Une partie pratique qui est subdivisée en deux chapitres:
 - matériels ainsi que l'estimation de la composition en antioxydants (polyphénols, flavonoïdes, tanins, anthocyanines) et l'évaluation des éventuelles activités antioxydantes des extraits méthanoliques et éthanoliques des fruits étudiés.
 - Discussion des résultats obtenus durant ce travail.

1. Historique de la plante

Le fruit de l'églantier était une friandise appréciée au Moyen Age. De nombreuses croyances populaires font état de l'efficacité de l'églantier dans le traitement des maladies pulmonaires même s'il n'était pas autant apprécié que le rosier rouge « *Rosa gallica* » (Chevallier, 2001). Les racines de l'églantier étaient considérées autrefois comme remède contre la rage (Mességué, 1975 ; Rameau et al., 1989).

2. Présentation de la famille des rosacées

Les membres de la famille des rosacées sont des cosmopolites, ils habitent les contrées tempérées de l'hémisphère nord. Cette famille est largement distribuée, rassemblant un nombre important de plantes herbacées, d'arbres et d'arbustes à feuillage persistant ou caduc et comprenant plus de 100 genres et 3000 espèces (Coombes, 2000). Dans une région donnée, les rosacées ne forment jamais de vastes peuplements, comme les conifères, les légumineuses ou les graminées ; elles se présentent sous forme d'individus isolés (Deysson, 1979). Leurs inflorescences en cymes portent des fleurs actinomorphes qui comptent 5 sépales, 5 pétales généralement pourvus d'un onglet et d'un large limbe et de nombreuses étamines insérées à la base des sépales (disposition Caliciflores) réparties en verticilles successifs. Le gynécée est très variable de même que la structure des fruits (Ramade, 2008).

3. Etude du genre « *Rosa* »

Le genre *Rosa* comprend environ 150 espèces sauvages réparties en Europe, Asie, Moyen-Orient et en Amérique du nord. Pour classer les différentes espèces dans ce genre, les taxonomistes ont utilisé plusieurs critères : la morphologie de la graine, la couleur de la fleur, le nombre de chromosomes, la quantité d'ADN et le polymorphisme (Nowak, 2005). Selon Rehder en 1940, ce genre a été divisé en quatre sous-genres ; *Hulthemia*, *Platyrhodon*, *Hesperhodos* et *Eurosa* (Samiei et al., 2009). Le genre *Rosa* est l'un des premiers genres qui ont attiré les cytologistes en raison des roses cultivées comme plantes horticoles (Hongying et al. 2010).

4. Description de la plante

L'églantier est une plante grimpante vivace à rameaux dressés et retombants, à feuilles pennées, à fleurs rosées ou blanches et à fruits rouges (Chevallier, 2001). C'est aussi un arbuste épineux se reproduisant par drageons est très commun en Algérie où on le trouve le long des haies (Ali-Delille, 2010).

5. Etude de l'espèce « *Rosa canina* »

5.1. Origine du nom

Le mot églantier (*Rosa canina*) dérive du grec :

«Rhodon» : rose, «canis» : chien

(Rameau *et al.*, 1989).

5.2. Données botaniques

5.2.1. Classification de *Rosa canina*

Selon **Rameau et ses collaborateurs (1989)**

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédone

Sous classe : Rosidées

Super ordre : Eurosidées

Ordre : Rosales

Famille : Rosacées

Genre : Rosa

Espèce : *Rosa canina*

5.2.2. Distribution géographique de la plante

Le rosier sauvage peut se trouver dans plusieurs endroits on cite les : lisières forestières, friches, le long des haies (**Rameau et al., 1989 ; Couplan, 2007**). En Algérie, cette plante peut pousser jusqu'à 1300 m d'altitude (**Ali-Delille, 2010**). Le type de sol qu'utilise ce rosier sont des sols riches en bases, le pH est basique à légèrement acide (**Rameau et al., 1989**).

5.3. Caractères botaniques de *Rosa canina*

Parmi les espèces qui sont inclus dans la famille des rosacées, on retrouve un arbuste appelé *Rosa canina*, cette plante pousse à l'état sauvage (**Bardeau, 2009**).

A l'origine, les rosiers habitaient dans les forêts, ils grimperent très haut dans les cimes des arbres car ils étaient des lianes grimpantes aimant la lumière (**Vetvicka, 1984**).

L'églantier est un arbrisseau caractéristique, buissonnant avec de longues tiges minces, arqués, souples, couvertes de solides aiguillons crochus, nombreux, aplatis dans leurs longueur (**Rameau et al., 1989 ; Couplan, 2011**).

- Les feuilles sont isolées, alternes, pennées, composées de 5 à 7 folioles ovales, ces folioles sont pourvues de dents très aigues (**Deysson, 1979 ; Rameau et al., 1989 ; Couplan2007**).
- Les fleurs ou appelées communément « églantines » ont 4 à 5 cm de diamètres sont solitaires, pédonculées, régulières, à l'odeur suave et sont aussi rabattues contre le fruit (**Rameau et al., 1989 ; Caron, 2011**). Elles peuvent être aussi réunies en corymbes, les cinq sépales libres forment de longs lobes triangulaires ; la corolle est formée de cinq pétales caducs, roses ou blancs ayant plusieurs étamines (**Deysson, 1979 ; Caron, 2011**).
- Ses fruits, surnommés cynorrhodons ou « gratte-culs » sont charnus, mesurent 2 cm de longueur, ont une forme ovale inférieurement amincis et bombés au sommet ; ils possèdent une couleur rouge vif à maturité et cela en automne. Ces fruits contiennent à l'intérieur des graines dures qui sont entourées du poil-à-gratter désagréable au touché. Les cynorrhodons ont un goût acidulé, fruité et sucré (**Caron, 2011; Couplan, 2011**).

5.4. Usage des différentes parties de la plante

Les parties de *Rosa canina* qui sont utilisées sont les cynorrhodons et les fleurs (**Ali-Dellile, 2010**). Consommé frais, le fruit procure à l'organisme un apport nutritif important, sous une forme rapidement assimilable (**Chevallier, 2001**). Il peut être consommé cuit en confectionnant des confitures, sirop, ou marmelades (**Couplan, 2011**). Les fleurs s'utilisent en infusion, ou peuvent aussi être utilisées pour décorer les salades et les desserts (**Couplan, 2007**).

6. Composition phytochimique de *Rosa canina*

Les fruits de l'églantier sont riches en composés chimiques, on trouve les sucres, les caroténoïdes qui dérivent de la vitamine A, les composés phénoliques ; les flavonoïdes, les tanins, et les fibres (pectine) (**Kazaz, 2009**). En outre, ces fruits contiennent des minéraux exemple : le fer, le calcium et le phosphore à des teneurs importantes (**Stern et al., 2008**). La quantité en vitamine C des cynorrhodons est élevée, elle est vingt fois plus que les agrumes (**Couplan, 2007 ; Ali-Dellile, 2010**). Les baies contiennent aussi des acides organiques comme l'acide citrique et l'acide malique (**Chevallier, 2001**).

7. Propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques

Les cynorrhodons ont une action stimulante, fortifiante, antiscorbutique (forte concentration en vitamine C), astringente, et vermifuge mais encore calment les troubles nerveux tels que les angoisses, les insomnies et les palpitations (**Ali-Dellile, 2010**). Les baies sont traditionnellement utilisées pour la prévention et le traitement des maladies causées par le froid (**Wenzig et al., 2008**). Ils sont utilisés pour lutter contre la grippe, la fièvre, les maladies infectieuses ainsi que la gastrite, y compris contre la diarrhée, les calculs biliaires, les rhumatismes, la goutte, la sciatique, le diabète ainsi que les maladies inflammatoires telle l'arthrite (**Hosni et al., 2010**).

1. Définition

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables des teintes Automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) (**Edeas, 2007**). Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

2. Classification des composés phénoliques

Plus de 8000 structures phénoliques sont identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**). Les composés phénoliques peuvent être classés en se basant sur la complexité du squelette de base, par le degré de modification de ce squelette et enfin par les liaisons de ces molécules de base avec d'autres molécules comme les glucides, lipides et les protéines (**Harborne, 1989**).

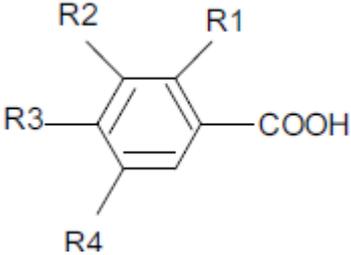
2.1. Formes les plus simples

2.1.1. Acides phénoliques

A. Acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque, ils ont une formule de base de type C₆-C₁ (**Tableau I**) Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

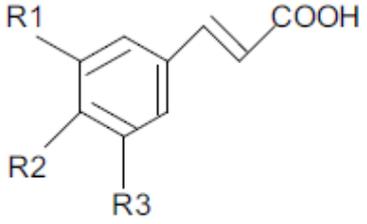
Tableau I: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

B. Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base est C₆-C₃ dérivée de celle de l'acide cinnamique (Sarni-manchado et cheynier, 2006). Ils sont représentés principalement par : p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, et l'acide sinapique (Tableau II). Les acides hydroxycinnamiques sont très abondants dans les fruits comme les kiwis, prunes (Macheix et Fleuriet, 1990).

Tableau II: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p-coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

2.1.2. Ensemble des flavonoïdes

Ils constituent la plus grande famille des polyphénols. Plus de 4000 flavonoïdes ont été décrits (**Middleton et Kandaswami, 1994**). Ils possèdent une structure commune, constituée de deux anneaux aromatiques liés par 3 carbones formant le plus souvent un noyau hétérocyclique (**Herman, 1988**).

a. Anthocyanidines

Les anthocyanidines sont les aglycoles des anthocyanes. Ces dernières sont les pigments vacuolaires rouges ou bleus de tous les végétaux (**Leete, 1977**).

b. Flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus omniprésents dans les aliments. On retrouve la quercétine et le kaempférol comme représentant principale (**Kahraman et al., 2003**).

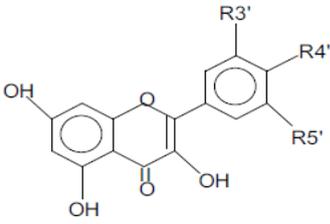
c. Les flavanols

Les flavanols, appelés également catéchines, ce groupe inclu la catéchine, l'épicatéchine, l'épicatéchine gallate. Ils sont les plus abondants dans les fruits tel que les abricots, les baies, le thé vert et le chocolat (**Arts et al., 2000**).

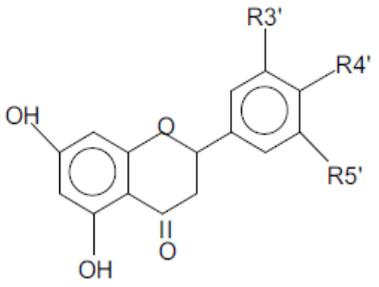
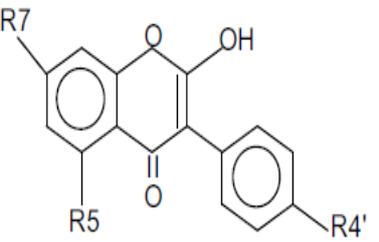
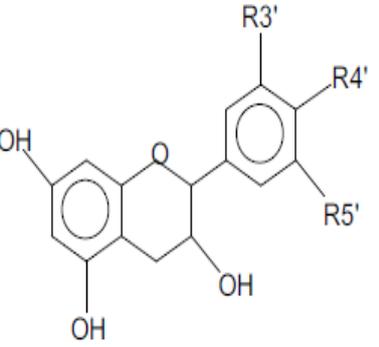
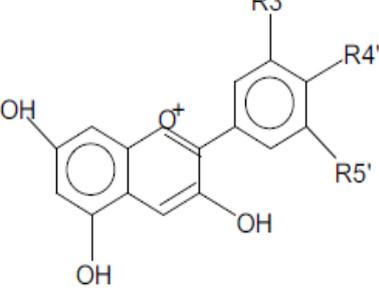
d. Isoflavones

Les isoflavones sont des flavonoïdes présentant des similitudes structurales aux œstrogènes. Le soja constitue la source principale des isoflavones (**Tableau III**) (**Reinli, 1996 ; Manach, 2004**).

Tableau III: Distribution alimentaire et exemples des principales classes de flavonoïdes (**Werdman et al, 2007**).

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavonols 	Quercétine Kaempférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.

Chapitre II : Composés phénoliques

<p style="text-align: center;">Flavanones</p> 	<p>Naringénine Eriodictyol</p>	<p>Fruits du genre Citrus.</p>	<p>Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3, le flavanone le plus abondant est la naringénine isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.</p>
<p style="text-align: center;">Isoflavones</p> 	<p>Genisteine Daidzeine</p>	<p>Graines de soja et produits qui en dérivent.</p>	<p>Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.</p>
<p style="text-align: center;">Flavan3-ols</p> 	<p>Catéchine Epicatéchine Epigallocatec-hine</p>	<p>Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat.</p>	<p>Flavanols ainsi que flavan3,4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse des proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques.</p>
<p style="text-align: center;">Anthocyanidines</p> 	<p>Cyanidine Delphénidine</p>	<p>Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.</p>	<p>Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.</p>

2.2. Formes complexes

2.2.1. Les tanins

Les tanins constituent un groupe complexe de polymères naturels, ils sont utilisés dès l'antiquité pour le traitement des peaux d'animaux. Leur poids moléculaire varie de 500 jusqu'à 3000 Dalton . Ils possèdent la capacité de précipiter la gélatine et d'autres protéines en solution (**Mehancho, 1987**). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins condensés (tanins catéchiques) et les tanins hydrolysables.

A. Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucides et d'acides phénoliques. La molécule glucidique est en général du glucose. Ils sont facilement scindés par les acides ou les enzymes (tanases) en ose et en acide phénolique, selon la nature de celui-ci, on distingue les gallotanins et les ellagitanins (**Ribereau-Gayon, 1968**).

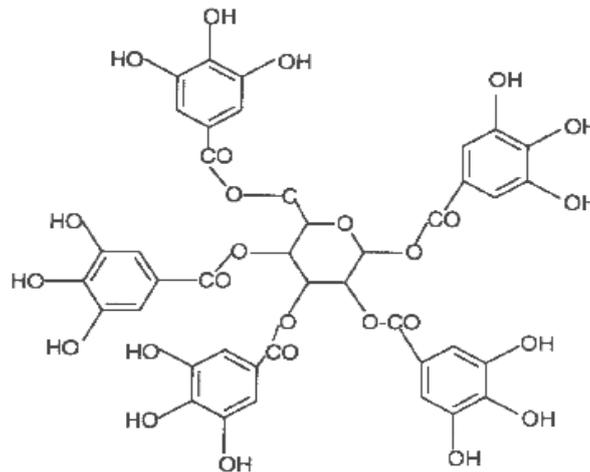


Figure 1: Structure chimique d'un tanin hydrolysable (Pentagalloyle glucose)

(**Bennick, 2002**).

B. Les tanins condensés

Ils diffèrent des tanins hydrolysables par leur structure qui est voisine de celle des flavonoïdes. Ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules, ils sont non hydrolysables et ont au contraire, tendance à se polymériser (spécialement en solution acide concentré ou par action d'agents oxydants) (**Khanbabaee et al., 2001**).

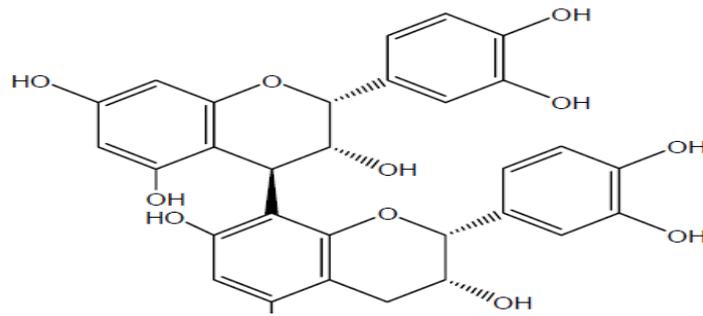


Figure 2: Structure chimique d'un tanin condensé (procyanidine B2)
(Vermerris et Nicholson, 2006).

2.2.2. Lignines

Les lignines sont des polymères phénoliques, c'est le deuxième polymère abondant sur terre après la cellulose, il joue un rôle important dans la formation d'une structure d'appui aux végétaux. La complexité chimique et leur structure irrégulière rendent les lignines extrêmement appropriées comme barrière physique contre les insectes et les mycètes (Vermerris et Nicholson, 2006).

3. Biosynthèse des composés phénoliques

D'après Dietrich et Pour-Nikfardjam(2009) La biosynthèse des composés phénoliques est subdivisée en 3 voies : la voie des schikimates, la voie de phénylpropanoïdes et la voie des flavonoïdes.

3.1. Voie des schikimates

C'est la voie la plus répandue dans la biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie du phénylpropanoïde (Kening et al., 1995). La biosynthèse des composés phénoliques débute à partir des acides aminés aromatiques : la phénylalanine, tyrosine et le tryptophane qui sont synthétisés à leur tour à partir de sucres simples issue du métabolisme primaire (William et Evrard, 2003).

3.2. Voie des phénylpropanoïdes

Cette voie dérive de l'acide schikimique, elle consiste à la production de quatre acides coumariques à partir de la phénylalanine. (Dietrich et Pour-Nikfardjam, 2009).

3.3. Voie des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes débute par celle des chalcones, ces derniers sont formés de trois molécules malonyl-CoA et une molécule coumaroyol CoA, catalysée par la chalcone synthétase (**Dietrich et Pour-Nikfardjam, 2009**).

4. Effets de quelques polyphénols sur la santé

Les bienfaits des polyphénols alimentaires suggèrent un rôle protecteur à l'encontre des cancers et des maladies chroniques. Leur nature chimique fait de ces composés des agents réducteurs et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. On en consomme en moyenne 1 g par jour (**Scalbert et Williamson, 2000 ; Basdevant et al., 2001**).

4.1. Flavonoïdes

Les études se sont focalisées sur l'impact de la consommation du thé, boisson riche en flavonoïdes et surtout en quercétine (de 10 à 25 mg/L) (**Scalbert et Williamson, 2000**). Cette dernière exerce des effets antioxydants, antiagrégants et vasodilatateurs pouvant expliquer ses effets cardioprotecteurs (**Nijveldt et al., 2001 ; Pérez-Vizcaíno, 2002**). De même, l'ingestion de flavonoïdes, principalement dans le thé, les oignons et les pommes, a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardiovasculaires (**Pérez-Vizcaíno, 2002**). Il a été démontré, de plus, que la consommation de quercétine dans les oignons (0,3 mg/g de masse fraîche) et les pommes (1 mg/g de masse fraîche de la peau de pommes) est inversement corrélée au risque du cancer des poumons (**Scalbert et Williamson, 2000 ; Liu, 2003**).

4.2. Les tanins

Les catéchols, unités structurales de base des tanins catéchiqes du thé, exercent une activité cardioprotectrice grâce à leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et anti-thrombotique (**Arts, 2001; Liu, 2003**). Ils sont également efficaces dans la prévention de certains cancers comme le cancer de la peau et des poumons (**Chung, 2000**).

1. Activités biologiques des polyphénols

1.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques ont été impliqués depuis longtemps dans différents domaines de la physiologie de la plante et dans ces relations avec l'environnement physicochimique et biologique :

- les biologistes et les biochimistes se sont intéressés depuis fort longtemps aux lignines, dont la structure est complexe. Elle est en relation avec la rigidification des parois cellulaires des vaisseaux de bois. Cela permet d'une part la conduction de la sève brute à l'intérieur de la plante et d'autre part la formation d'une structure rigide qui participe au port dressé des végétaux ligneux.
- Des résultats récents ont attirés l'attention sur l'intervention de certains flavonoïdes (kaempferol) dans la régulation de la stérilité mâles chez le pétunia (**Sarni-manchado et Cheynier, 2006**).
- les pigments de nature phénolique (anthocyanes, flavonols, pigments brins) participent à la coloration des organes végétaux. Ils jouent à ce titre un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement biologique. Les teneurs en composés phénoliques sont alors un des éléments de la coévolution entre plantes et certains groupes animaux.
- Ainsi les composés phénoliques absorbent les rayonnements UV et participent donc à la protection des végétaux contre le rayonnement solaire, en particulier en raison de leur localisation superficielle dans les tissus.
- L'intervention des composés phénoliques dans les interactions entre plantes et micro-organismes est également un autre domaine, où les connaissances ont progressées de manière spectaculaire. Il a été classiquement montré, que beaucoup de phénols ou les quinones qui en dérivent par oxydation sont des inhibiteurs de développement de certains micro-organismes saprophytes ou parasites, champignon ou bactéries. (**Sarni-manchado et Cheynier, 2006**).

1.2. Chez l'Homme

Les études épidémiologiques et l'expérimentation *in vitro* ont indiqué une large variété d'activités biologiques attribuée aux polyphénols (**Tableau IV**) (**Dos Santos, 2006 ; Xiao et al., 2007**). Ils interviennent dans la prévention de nombreuses maladies telles que le cancer et

Chapitre III : Activités biologiques des composés phénoliques

les maladies cardiovasculaires. Leurs effets sur la santé dépendent de la quantité consommée et de leur disponibilité biologique (Manach *et al.*, 2004).

Tableau IV : Activité biologique de quelque polyphénols dans l'organisme.

Polyphénols	Activité biologiques	Références
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vaso-dilatatoires, antibactériennes, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, anti thrombotique, antiallergique.	- Wollgast et Anklam, 2000 - Hitara, 2009 - Tripoli, 2007 - Shon, 2004
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques).	Antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires, antifongiques, antioxydants.	- Gurbuz, 2009 - Sannomia, 2005
Anthocyanes.	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant.	- Bruneton, 1993
Tanins galliques et catéchique.	Antioxydants	- Okuda et al, 1983 - Okamura et al, 1993

1.2.1. Activité antibactérienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité (Tableau V). Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano *et al.*, 2006).

Chapitre III : Activités biologiques des composés phénoliques

Tableau V: Modes d'actions antimicrobiennes de quelques Polyphénols (Cowan, 1999).

Différents composés phénoliques.	Exemples.	Mécanisme.
Phénols simples	Catéchol Epicatechine	La privation de Substrat, L'interruption de la fonction membranaire.
Acides Phénoliques Quinones	Acide Cinnamique Hypericin Chrysin	Destruction de la paroi cellulaire et désactivation des enzymes.
Flavonoïdes		
Tanins	Ellagitanin	Inhibition de transcriptase reverse du HIV.
		Liaison aux protéines, Inhibition des enzymes, Privation de substrat, Complexe avec la paroi cellulaire, Interruption de la fonction membranaire, Complexe avec les ions métalliques.
Coumarines	Warfarin	Interaction avec l'ADN des eucaryotes (activité antivirale).

1.2.1.1. Les flavonoïdes

Une activité antibactérienne est connue au flavonoïdes. En effet, ils sont capables d'inhiber la croissance des différents types de bactéries *Staphylococcus aureus* (Babayi, 2004) *Escherichia-coli* (Ulanawska, 2006) *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacea...* (Didrak, 1999 ; Okigbo, 2005). Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Aussi dans certain travaux, il est cité que les flavonoïdes extraits avec du méthanol 95% sont actifs sur certains bactéries alors que ceux extraits à partir du méthanol 60% ne le sont pas. C'est le cas des flavonoïdes de *Linanum capitatum* contre *Staphelococcus aureus* (Sivakumaran, 2004).

Chapitre III : Activités biologiques des composés phénoliques

1.2.1.2. Les tanins

Les tanins ont une action antibactérienne puissante leur permettant d'inhiber la croissance des bactéries responsables des différentes infections chez l'homme *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis* (Chattejee et al., 2004 ;Leitao 2005).L'inhibition bactérienne par les tanins est dépendante de la structure et du degré de polymérisation de ces derniers, mais ceci n'est pas toujours le cas (Sivakumaran, 2004).

1.2.2. Activité anti-cancérogène

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire. Il est l'aboutissement d'une série de transformations pouvant se dérouler pendant plusieurs années (Pincemail et al., 1999). De nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques de les développer chez les sujets humains (Decloitre, 1993 ;Hertog, 1996).

1.2.3. Activité antiallergique

Les effets antiallergiques sont dus à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. L'ATPase Ca^{2+} dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium. Ce dernier est utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Marfak, 2003).

1.2.4. Activité cardiotonique

Les maladies cardio-vasculaires demeurent la principale cause de la mortalité dans le monde entier (OMS, 2008).Des études expérimentales effectuées *in vitro* indiquent que l'effet préventif des composés phénoliques sur ces maladies a été attribué à leur capacité antioxydante (Kris- Etherton et Vif, 2002).L'incidence relativement basse des maladies cardio-vasculaires dans le sud de la France et chez les populations méditerranéennes, au regard d'une alimentation riche en graisses saturées (paradoxe français) est attribué à la

Chapitre III : Activités biologiques des composés phénoliques

consommation régulière et modérée de vin rouge riche en composés phénoliques (**Orallo, 2002 ; Pechanova, 2002**). Les polyphénols du vin rouge exercent une activité cardioprotectrice du fait qu'ils diminuent le taux de plaquettes activées, qu'ils réduisent l'oxydation des lipoprotéines et celle des acides gras polyinsaturés (**Ghedira, 2003**).

1.2.5. Activité anti inflammatoire

De nombreuses études expérimentales semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires, et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations. Ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (**González-Gallego et al., 2007**), d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (**Kim et al., 2004**). Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) (**Tapas et al., 2008**).

1.2.6. Activité antidiabétique

Des études récentes suggèrent que les polyphénols contenus dans certaines plantes peuvent accroître la sensibilité de l'organisme à l'insuline, ce qui retarde l'apparition du diabète de type II ou en ralentit la progression (**Benbrook, 2005**).

1.2.7. Activité antioxydante

Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formes en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...) tels que O₂ (anion superoxide), HO₂ (radical perhydroxyle), H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène), OH (radical hydroxyle), RO (radical alkoxy), ROO (radical peroxy), ¹O₂ (oxygène singulet) . (**Middleton, 2000**).

1. Objectif

Notre travail consiste en une évaluation des teneurs en polyphénols et activité antioxydante de fruit de l'églantier (**Figure 3**).



Figure3 : photographie du fruit de l'églantier (Village EL-Mehtain).

2. Matériel végétal

2.1. Récolte des échantillons

Les fruits de l'églantier ayant servi dans ce travail proviennent de deux régions différentes, *Rosa canina* dans la région d'ait Aziz situ a Tizi-Ouzou a altitude de 1000 m, Tandis que *Rosa sp* dans la région de Beni-Mlikeche situe a Bejaia a une altitude de 600 m.

2.2. Traitement des échantillons

2.2.1. Séchage

Après avoir bien nettoyé les fruits de l'églantier, on procède au séchage dans une étuve sous une température de 40⁰ C. Une fois séché, on sépare les graines de la pulpe.

2.2.2. Broyage

Après le séchage, l'échantillon sec obtenu est broyé à l'aide d'un broyeur électrique.

2.2.3. Tamisage

Le tamisage de la poudre a été réalisé avec un tamiseur électrique à 2 tamis dont les diamètres sont : 250 μ m et 125 μ m. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, bien hermétique, à l'abri de la lumière pour éviter que les poudres n'absorbent l'humidité, mais aussi pour réduire le taux d'oxydation de ces poudres.

3. Extraction des composés phénoliques

Plusieurs solvants peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénoliques comme le méthanol, l'éthanol ou même l'eau. Le méthanol pur est l'un des solvants organiques qui donne des meilleurs résultats pour l'extraction, il possède également l'avantage d'être plus facile à éliminer (**Ribéreau-Gayon, 1968**). L'extraction des composés phénoliques est réalisée selon la méthode décrite par **Barros et al. (2010)** avec quelques modifications, elle consiste à une agitation de la poudre de plante (5g) dans 20 ml de méthanol pur et dans l'éthanol pur.

3.1. Mode Opératoire

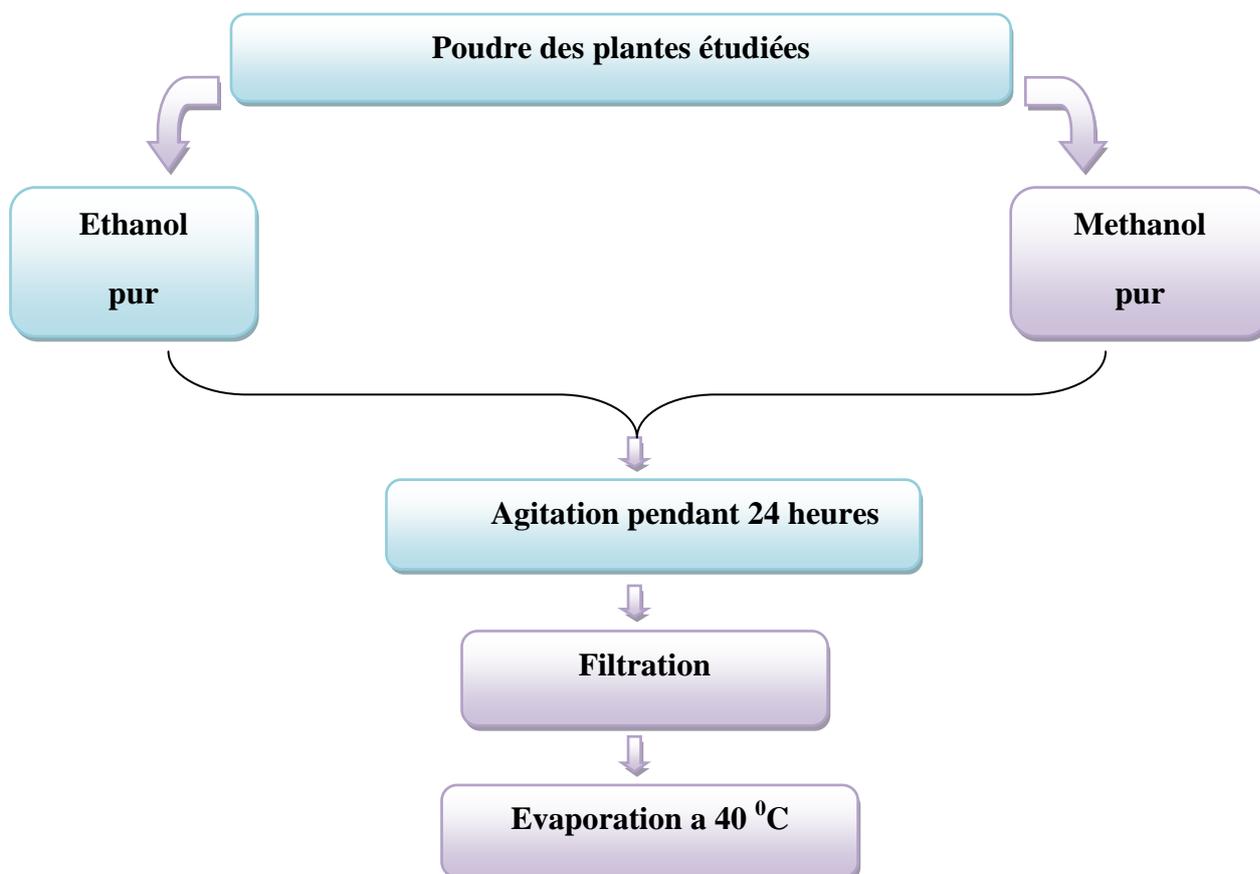


Figure 4 : Etapes d'extraction des composés phénoliques de *Rosa canina* et *Rosa sp* (**Barros et al., 2010**).

L'extrait obtenu après évaporation est en suite reconstitué avec les deux solvants éthanol et méthanol et le taux d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Le taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E].100$$

Où :

P_0 : poids du bécher vide (g).

P_1 : poids de bécher après évaporation (g).

E : poids de la poudre de plante (g).

4. Dosage phytochimique

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le taux des polyphénols totaux de nos extraits est estimé selon la méthode de **Singleton et Rossi. (1965)** rapportée par (**Ferreira et al., 2007**).

4.1.1. Principe

En milieu basique le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) du réactif de Folin Ciocalteu est réduit en un mélange d'oxyde bleu de Tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (M_8O_{23}) lors de l'oxydation des phénols (**Ribereau-Gayon, 1968**). La coloration bleue produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques et elle est dosée spectrophotométriquement à 760 nm.

4.1.2. Mode opératoire

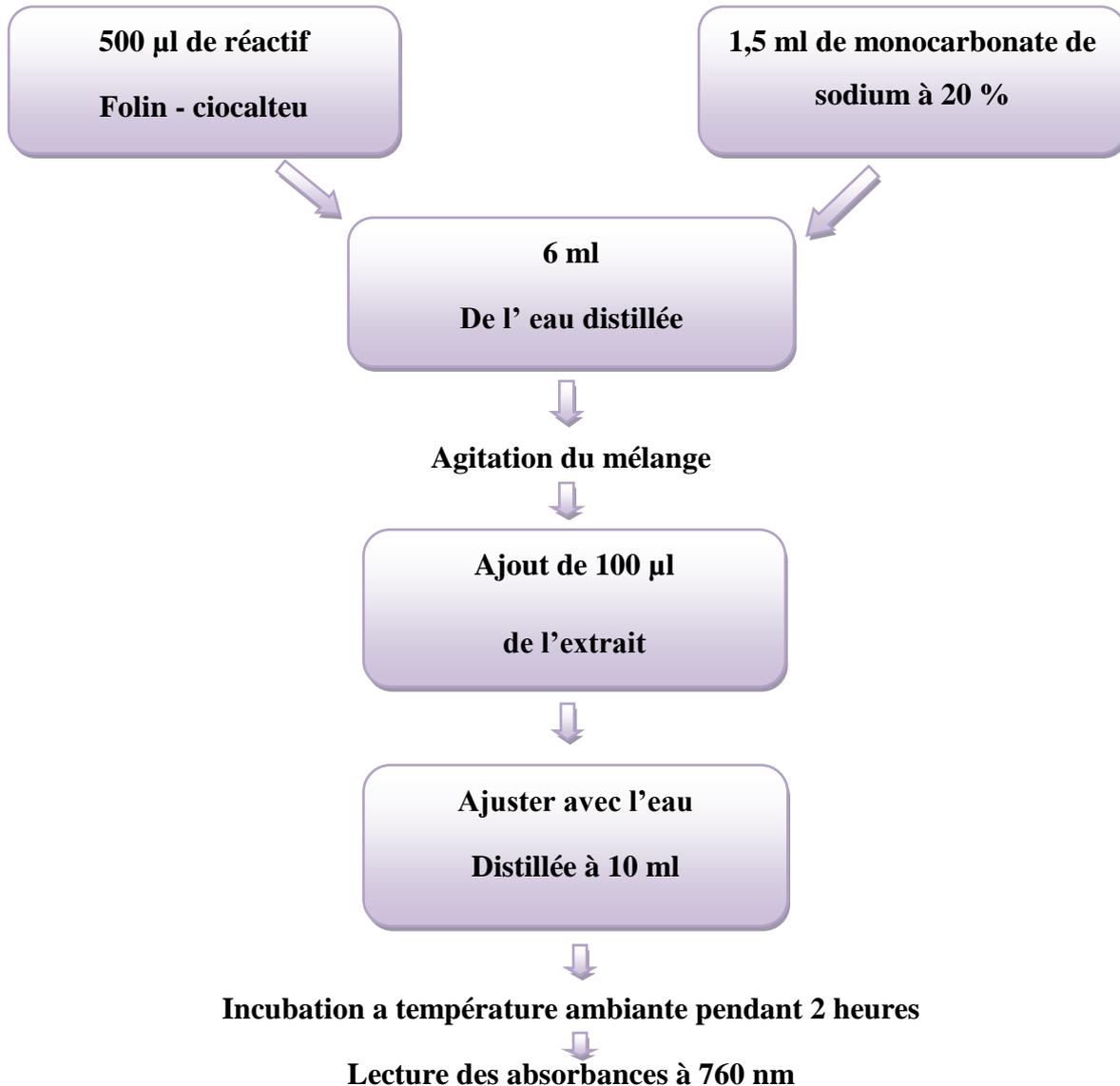


Figure 5: Les étapes du dosage des polyphénols (Ferreira *et al.*, 2007).

La concentration moyenne de l'extrait en polyphénols totaux est exprimée en ($\mu\text{g Eq}$ catéchine/ ml).

4.2. Dosage des flavonoïdes

4.2.1.Principe

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par chélation de l'ion

Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968).

4.2.2. Mode opératoire

La quantité de flavonoïdes est dosée selon la méthode préconisée par Bahorun *et al*, (1996).

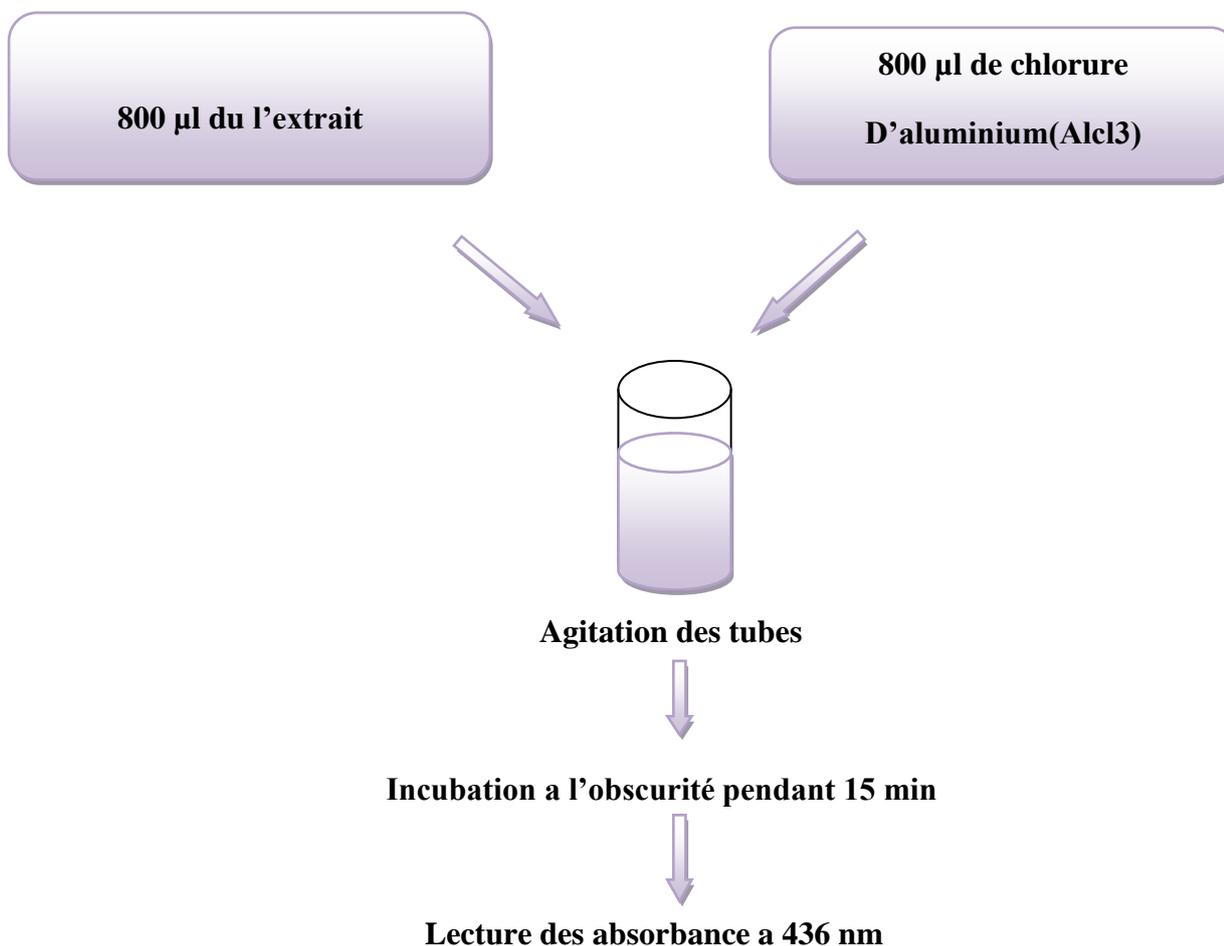


Figure 6: les étapes de dosage des flavonoïdes Bahorun *et al*. (1996).

La teneur moyenne en flavonoïdes est exprimée en μg équivalent de Quercétine par millilitre ($\mu\text{g E Quercétine/ml}$).

4.3. Dosage des tanins

4.3.1. Principe

Cette méthode repose sur l'aptitude des tanins à précipiter les protéines. Le complexe insoluble protéine-tannins obtenu est dissout dans une solution alcaline (SDS/TEA). Le chlorure ferrique réagit avec les tanins en présence du SDS pour former des chélates de couleur violette, déterminés par spectrophotomètre à 510 nm et la coloration obtenue est

proportionnelle à la quantité de tanins (**Ribéreau-Gayon, 1968 ; Hagerman et Butler, 1978**). L'utilisation de la BSA dans le dosage des tanins en milieu acide a pour but de séparer ces derniers des autres polyphénols présents dans l'extrait. Le chlorure ferrique (FeCl_3) réagit avec les tanins (en milieu alcalin) pour former des chélates dont la formule générale est $\text{Fe}(\text{OR})_6^{3-}$; Ou le (OR^-) représente le polyphénol ionisé (**Naczki et al., 1994**).

4.3.2. Mode opératoire

La teneur en tanins est déterminée selon le protocole de **Hagerman et Butler (1978)**, rapporté par **Atmani et al. (2009)**.

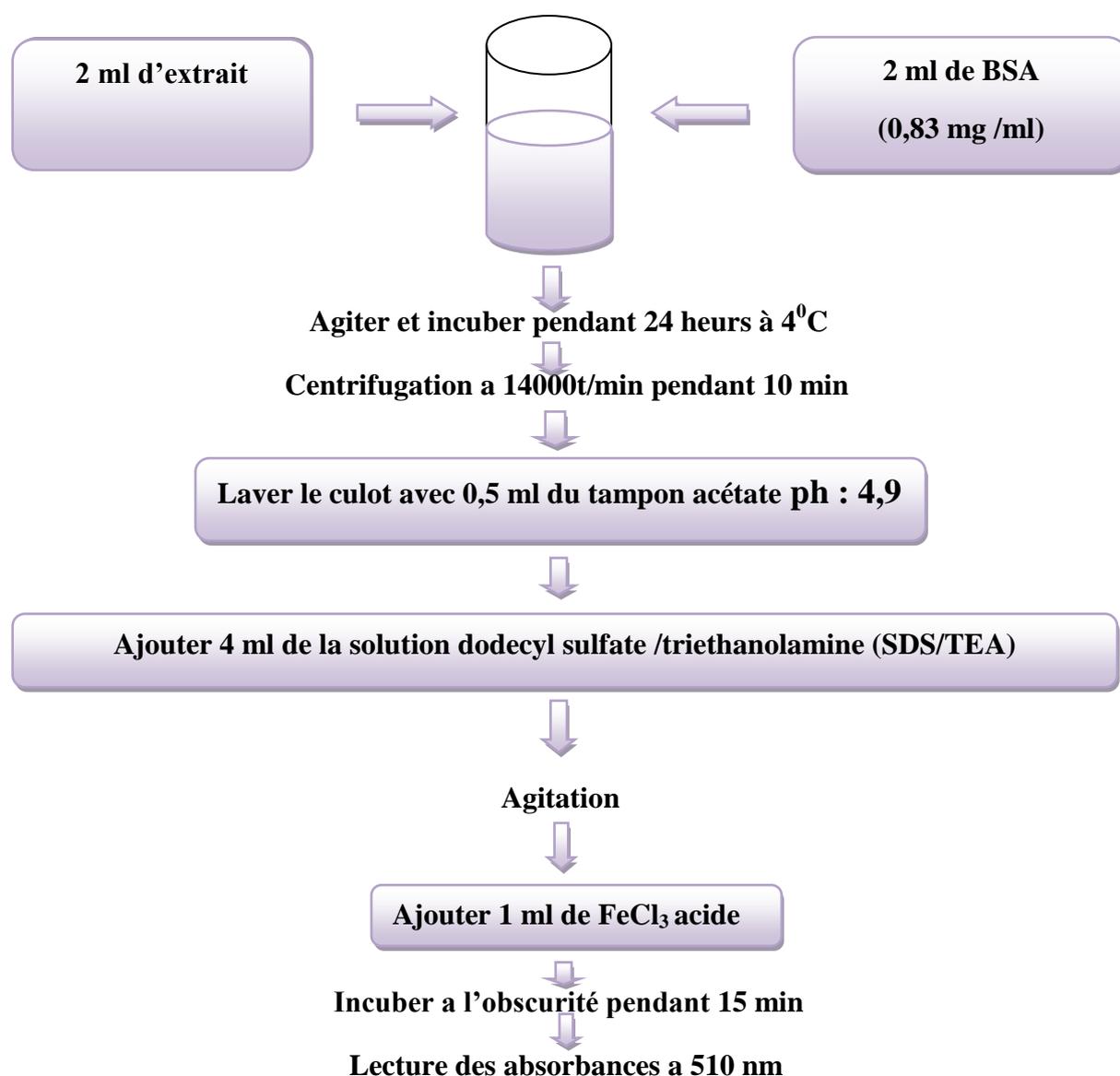


Figure 7 : Les étapes de dosage des tanins. (**Hagerman et Butler, 1978**).

La concentration en tanins est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage préparée avec l'acide tannique. La teneur moyenne en tanins est exprimée en ($\mu\text{g EAT/ ml}$).

4.5. Dosage des anthocyanines

La teneur en anthocyanines est mesurée selon la méthode du pH différentiel rapportée par **lée,(2005)** en utilisant deux tampons :

- Solution de chlorure de potassium (0,02M) pH 1,0.
- Solution d'acétate de sodium (0,4M) pH 4,5.

Un volume de 0,6 ml d'extrait est mélangé avec 2,4 ml du tampon correspondant.

L'absorbance est mesurée à 520 et à 700 nm. L'absorbance est calculée par la formule :

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}.$$

La teneur en anthocyanines (mg de cyanidine-3-glucoside/l) est calculée selon la formule suivante :

$$T_A = A \times MW \times DF \times 1000 / (MA \cdot 1).$$

Où

A : Absorbance

MW : Poids moléculaire de la cyanidine-3-glucoside (449,2g/mol).

DF : Facteur de dilution.

MA : Coefficient d'extinction molaire (26,900).

La teneur en anthocyanine est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside/100g D'échantillon.

5. Tests physicochimiques

5.1. Acidité titrable

L'extrait aqueux a été préparé avec la poudre de fruit de *Rosa canina* et *Rosa sp*, on a pesé 2.5 g de chaque échantillon puis on a rajouté 50 ml d'eau distillée. Le mélange a subi une agitation pendant une demi heure par la suite une centrifugation à 5000 trs/min pendant 20 min. Après la centrifugation, on récupère le surnagent. En suite on prélève 10 ml du jus résultant et on ajoute 50 ml d'eau distillée. On a titré le mélange par une solution de NaOH (0.1 N) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle. Il s'agit donc de neutraliser les acides contenus dans 10ml de jus par de la soude, en présence de quelques gouttes de

phénolphtaléine. Les résultats sont exprimés par rapport à l'acide mallique et cela en pourcentage. (NF 05-101).

5.2. Taux de cendre

Le taux de cendre est calculé selon la norme française (NF V05-113,1972). Une quantité déterminée des échantillons de poudre du fruit de l'églantier (*Rosa canina*, *Rosa sp*) est incinérée à 550° C pendant 24 heures dans un four à moufle.

Le taux de cendre est calculé selon la formule suivante :

$$(P_0 - P) * 100 / P_1$$

Où :

P₀ : poids de creuset avec cendre.

P : poids de creuset vide.

P₁ : quantité de poudre du fruit.

6. Evaluation de l'activité antioxydante

6.1. Test du pouvoir réducteur

6.1.1. Principe

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe ferricyanure-Fe³⁺ en fer ferreux (Fe²⁺). La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

6.1.2. Mode opératoire

Le pouvoir réducteur de nos extraits est estimé selon la méthode d'Oyaizu ,(1986) rapportée par kumaram et al, (2007).

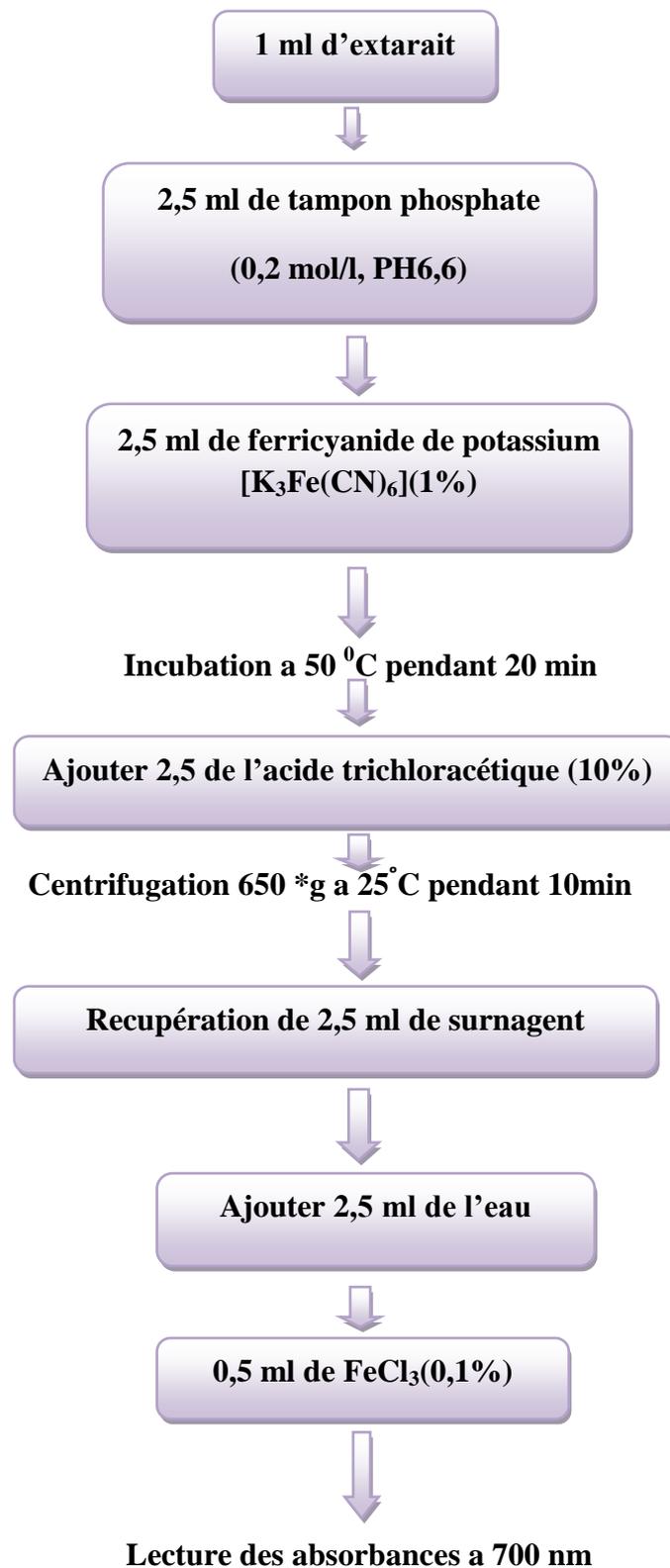


Figure 8 : Protocole expérimental du test de pouvoir réducteur (kumaram et al., 2007).

6.2. Test au molybdate d'ammonium

6.2.1. Principe

Le test au phosphomolybdate d'ammonium a pour but de déterminer l'activité antioxydante totale basé sur la réduction de Mo^{+6} à Mo^{+5} par l'extrait et la formation d'un complexe de phosphate / Mo^{+5} vert au pH acide.

6.2.2. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **EL-Beschbishy et al, (2009)**.

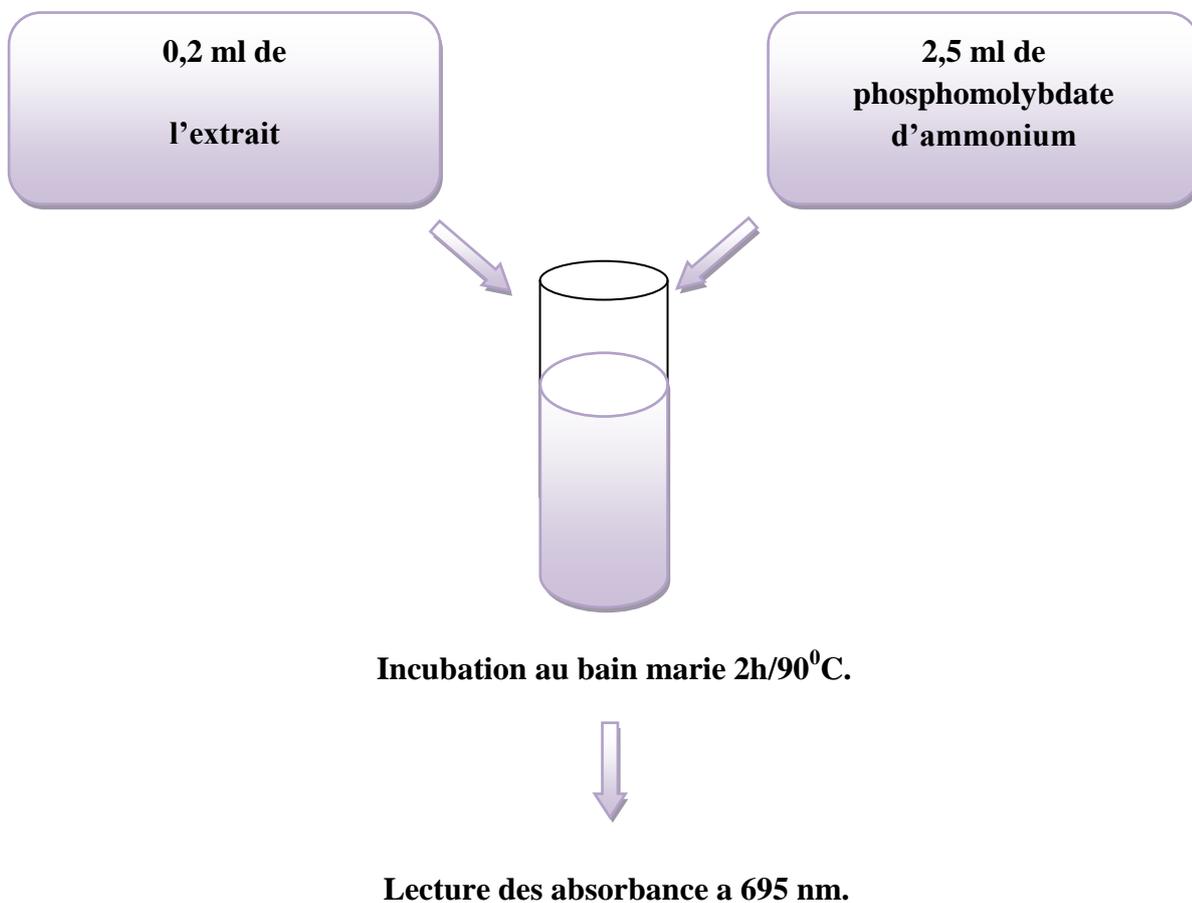


Figure 9 : protocole de test du phosphomolybdate d'ammonium.

1. Taux d'extraction

L'objectif de l'étape d'extraction est de libérer les polyphénols présents dans des structures vacuolaires par diffusion après rupture du tissu végétal (Mompon *et al.*, 1996).

Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, car après collection du matériel végétal, une activité enzymatique peut rapidement entraîner des changements irréversibles dans les composés phénoliques tels que l'oxydation et par conséquent une polymérisation ou décomposition. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide qui réduit le temps d'exposition des composés phénoliques à l'action enzymatique (Keinanen et Tuttor, 1996).

Le choix du solvant a une importance majeure dans l'extraction des composés phénoliques, souvent l'eau, les mélanges aqueux d'éthanol, du méthanol et d'acétone sont utilisés pour extraire les composés phénoliques (Atmani *et al.*, 2009). Le méthanol est le meilleur solvant d'extraction. Il est largement utilisé pour différents processus d'extraction et pour plusieurs variétés de plantes (Chirinos *et al.*, 2007).

L'extraction solide-liquide a été utilisée, dans notre étude, pour permettre la diffusion quantitative des composés phénoliques présents dans la matière végétale vers la phase liquide en utilisant le méthanol pur et l'éthanol pur. Les taux d'extraction obtenus sont résumés dans la figure 10.

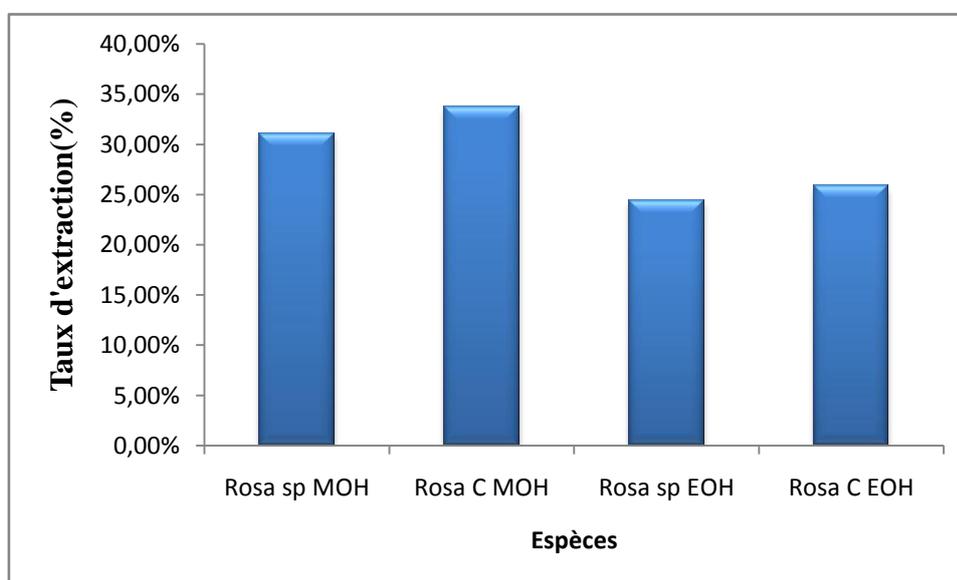


Figure10 : Rendement d'extraction des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp*

Rosa sp MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa canina* ;
Rosa sp EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa canina*..

D'après la figure ci dessus, l'extraction au méthanol pur a donné les meilleurs rendements d'extraction, il est de **31,10%** pour *Rosa sp* et de **33,80%** pour *Rosa canina*.

Les travaux de **Barros et ses collaborateurs (2010)**, ont montré que le rendement d'extraction avec le méthanol pur du fruit (séché à l'air libre) de *Rosa canina* a donné un taux de **43,19%**. Cette valeur est supérieure à celle trouvée, ce qui peut être due à la différence des conditions d'extraction utilisées ou au climat.

2. Dosages phytochimiques

2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe 2). Elle est exprimée en équivalent catéchine par millilitre (EC/ml) d'extraits. Les concentrations en polyphénols des fruits étudiés sont représentées dans la **figure 11**.

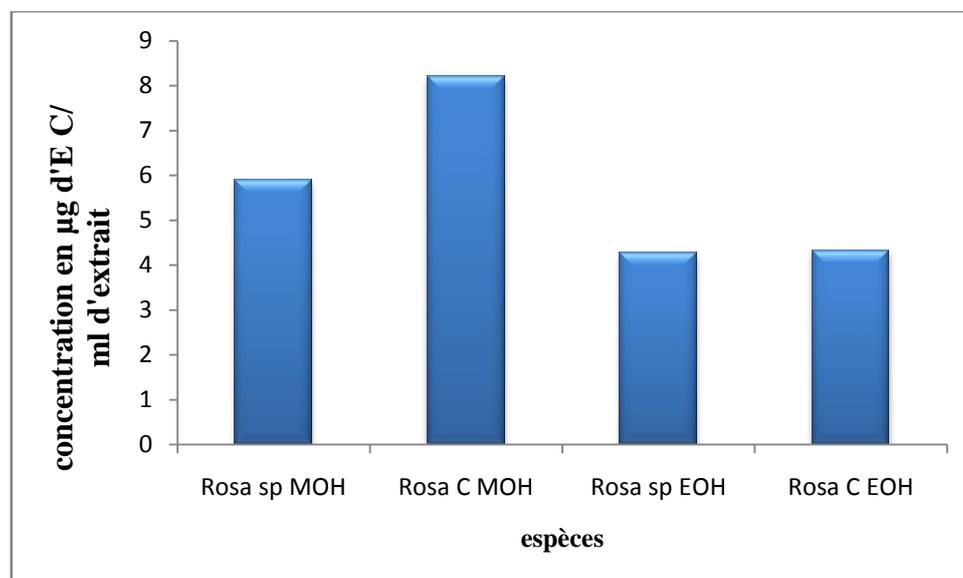


Figure 11: Teneur en polyphénols des fruits de *Rosa canina* et *Rosa sp* ;

Rosa sp MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa canina* ;

Rosa sp EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa canina*..

D'après la figure, le méthanol a donné des teneurs en polyphénols pour les deux espèces *Rosa sp* et *Rosa canina* qui sont respectivement: **5,89±1,5 µg E C/ml d'extract**, **8,21±3,38 µg E C/ml d'extract**. Le fruit de *Rosa canina* présente une teneur élevée en polyphénols par rapport au fruit de *Rosa sp*. Cela est corroboré par les résultats de l'étude faite par **Jablonska**

-Rys et ses collaborateurs (2009) sur les fruits de sept plantes appartenant à la famille des Rosacées en Pologne. Ils ont montré que *Rosa canina* présente la meilleure teneur en polyphénols totaux (32,17 mg EAG/g de MS).

2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes qui sont présents dans toutes les parties des végétaux : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois (Jourdes, 2003).

La quantité des flavonoïdes contenus dans les deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* a été calculée en se référant à une courbe d'étalonnage de la quercétine (annexe 3). Les teneurs en flavonoïdes des deux espèces (figure 12) sont exprimées en équivalent quercétine par millilitre d'extraits.

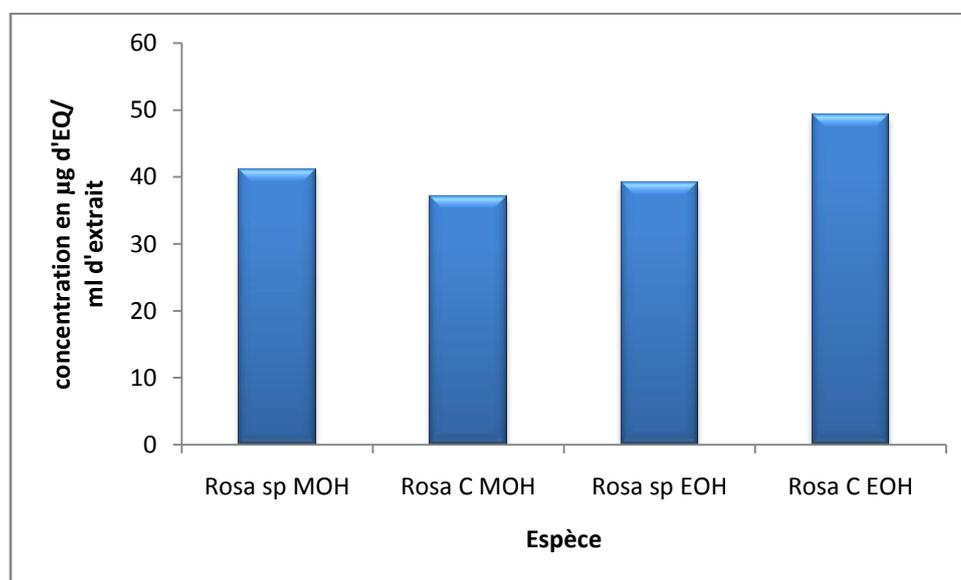


Figure 12 : Teneur en Flavonoïdes des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* ;

Rosa sp MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa canina* ;
Rosa sp EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa canina*..

D'après la figure (12) on remarque que c'est l'extrait éthanolique de *Rosa canina* qui comporte la teneur la plus élevée en flavonoïdes avec une concentration égale à **49,74 µg d'E Q/ml d'extrait** suivi de l'extrait méthanolique *Rosa sp* (**41,56 µg d'E Q / ml d'extrait**), l'extrait éthanolique de *Rosa sp* (**39,99 µg d'E Q / ml d'extrait**) et de l'extrait méthanolique de *Rosa canina* qui vient en dernière position avec une concentration **37,54 µg d'E Q/ml d'extrait**. Les valeurs trouvées sont largement élevés par rapport a ceux motionnés par Barros et ses collaborateurs (2010). En effet, ces derniers ont obtenu une teneur en

flavonoïdes du fruit mur de *Rosa canina* : $9,8 \pm 0,02$ mg d'E Q /g MS. Cette différence de concentrations peut être due au type de sol ou au climat, ou même aux méthodes d'extraction et de dosage utilisées.

2.3. Dosage des tanins

La teneur en tanins des fruits des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (annexe 3), réalisée avec l'acide tanique. Elle est exprimée en μg équivalent acide tanique/ml d'extrait. Les résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

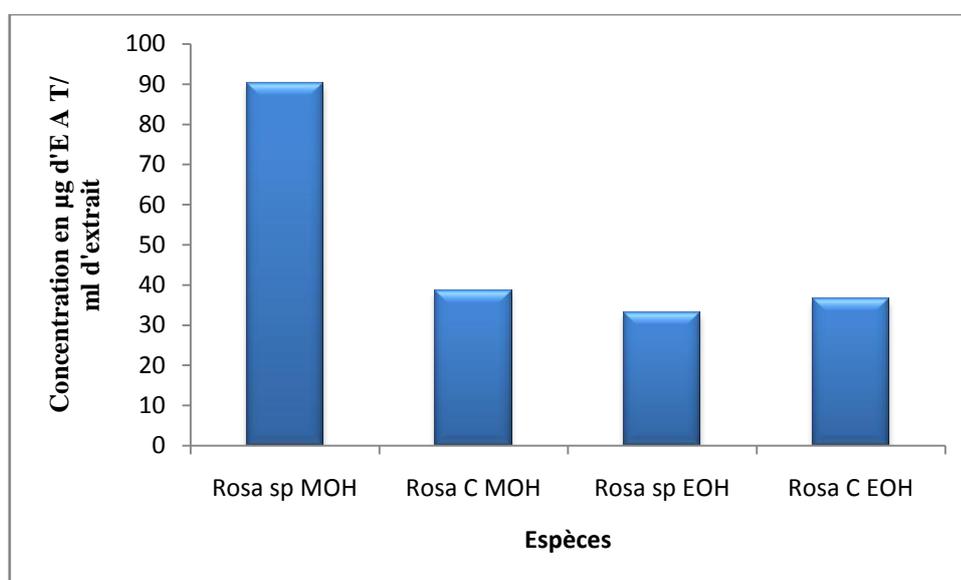


Figure 13 : Teneur en tanins des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* ;

Rosa sp MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa canina* ;
Rosa sp EOH : extrait éthanolic du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* EOH : extrait éthanolic du fruit *Rosa canina*.

D'après les résultats obtenus (**figure 13**), ce sont les extraits méthanoliques qui présentent les teneurs élevées en tannins. Elles sont respectivement (**$89,99 \pm 4$ μg E A T/ml d'extraits**) pour *rosa sp.* et (**$38,51 \pm 0,64$ μg E A T/ml d'extraits**) pour *rosa canina* par rapport aux extraits éthanolic qui présentent les teneurs suivantes ; (**$36,47 \pm 2,73$ μg E A T/ml d'extraits**) pour *rosa canina* et (**$33,14 \pm 5,56$ μg E A T/ml d'extraits**) pour *rosa sp.* Avec une différence de concentration remarquable entre les deux extraits méthanoliques par rapport aux deux extraits éthanolic qui présentent presque les mêmes valeurs.

2.4. Dosage des anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments dont la couleur varie en fonction de l'acidité, cette propriété est utilisée pour leur dosage. En effet, à pH= 1 ils sont sous forme colorées et a pH= 4,5 sous forme incolore (Ribéreau-Gayon, 1968).

Les concentrations sont exprimées en **mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait** (mg équivalent cyanidine-3-glucoside/ml d'extrait), les concentrations en anthocyanines dans les extraits des deux espèces *Rosa sp* et *Rosa canina* sont représentées dans la **figure (14)**.

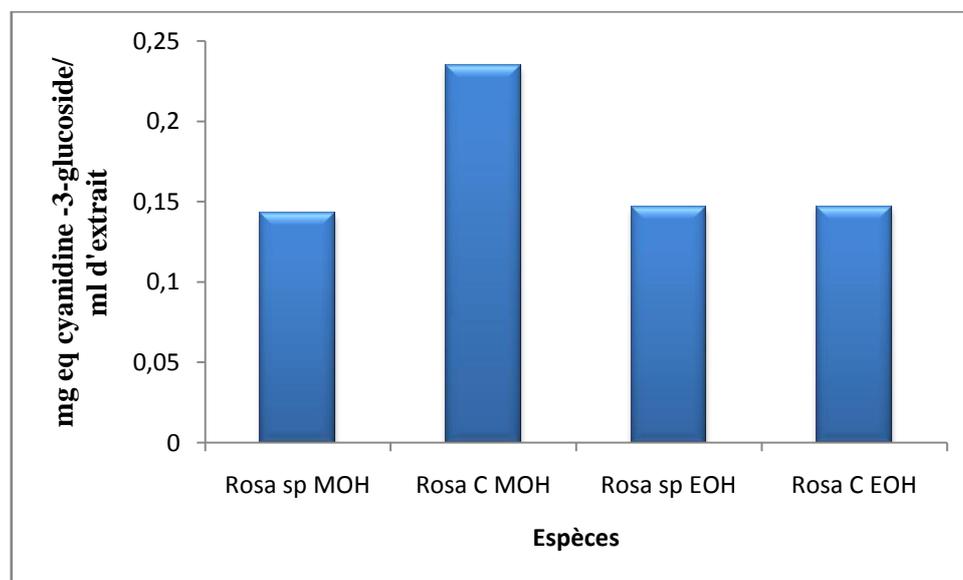


Figure14 : Teneur en anthocyanines des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* ;

Rosa sp MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* MOH : extrait méthanolique du fruit *Rosa canina* ;
Rosa sp EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa sp*; *Rosa c* EOH : extrait éthanolique du fruit *Rosa canina*..

Les résultats du dosage des anthocyanines montrent de faibles teneurs en anthocyanines pour les deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp*. La concentration élevée a été obtenue dans les extraits méthanoliques surtout pour l'espèce *Rosa canina* qui présente une teneur de **(0,234 mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait ± 0,0585)** avec une différence remarquable par rapport à *Rosa sp* qui présente une teneur de **(0,142 mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait±0,0417)**.

Les deux extraits éthanoliques présentent presque les mêmes teneurs et cela pour les deux espèces *Rosa canina* **(0,147 mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait ± 0,01)** et *Rosa sp* **(0,146 mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait ±0,033)** avec une différence de **0,001 mg**.

3. Tests physicochimiques

3.1. Acidité titrable

La teneur en acide malique des fruits des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* est mentionnée dans la **figure 15** :

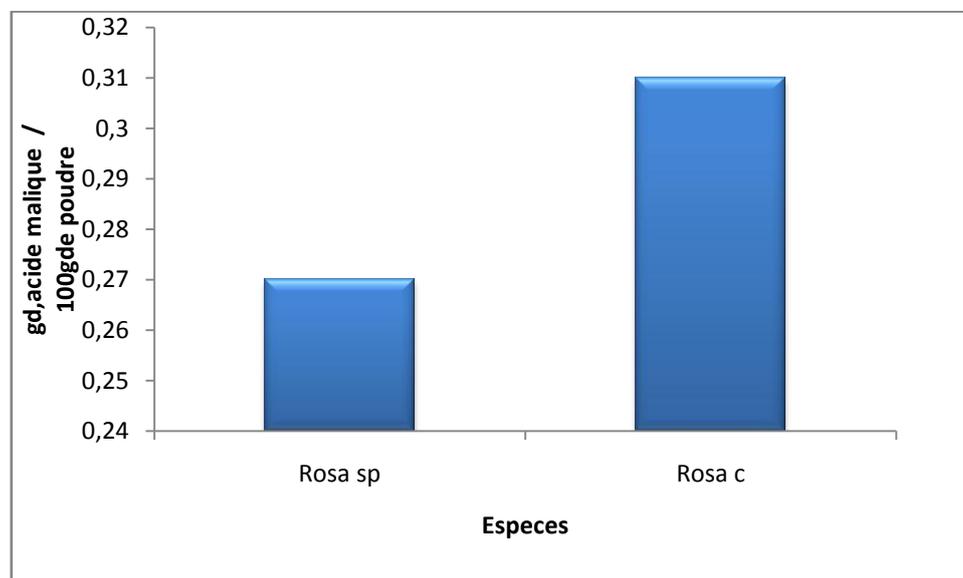


Figure15 : Teneur en acide malique des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp*.

Les teneurs en acides maliques des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp* sont proches, sont respectivement de 0,31 g d'acide malique/100g de poudre et 0,27 g d'acide malique/100g de poudre. Cependant, la valeur obtenue pour *Rosa canina* est inférieure à celles trouvées par **Demir et Ozcan (2001)**. Leur travail est porté sur la détermination de la composition minérale des fruits de *Rosa canina* de deux régions de Turquie. Ils ont obtenus des teneurs variables en acide malique ; la région de Hadim est de 1.17 g d'acide malique/100g de poudre et celui de la région de Kastamonu est de 1.44 g d'acide malique/100g de poudre.

3.2. Taux de cendres

Les résultats obtenus du calcul des taux de cendres et de la matière organique de la pulpe de fruit de *Rosa canina* et de *Rosa sp* sont récapitulés dans le **Tableau VI**.

Tableau VI : Taux de cendres des deux espèces *Rosa canina* et *Rosa sp*.

Especies	Taux de cendres (%)	Matière organique et autres (%)
<i>Rosa canina</i>	5%	95%
<i>Rosa sp</i>	4.67%	95.33%

D'après le tableau, les résultats mentionnés montrent que le taux de cendres de *Rosa canina* est légèrement supérieur à celui de *Rosa sp* qui est respectivement de **5%** et 4.67%. Cependant, la valeur obtenue pour *Rosa canina* est inférieure à celles trouvées par **Demir et Ozcan (2001)**. Leur travail est porté sur la détermination de la composition minérale des fruits de *Rosa canina* de deux régions de Turquie. Ils ont obtenus des taux de cendres variables ; la région de Hadim est de **7.35%**, et celui de la région de Kastamonu est de **6.48%**.

4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Rosa sp* et *Rosa canina*

Deux tests ont été réalisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits méthaloniques et éthaloniques des deux espèces étudiées ; le test du pouvoir réducteur ainsi que le test du phosphomolybdate d'ammonium.

4.1. Détermination du pouvoir réducteur

Les composés possédant un pouvoir réducteur indiquent qu'ils sont des donneurs d'électrons, et peuvent, par conséquent, servir comme indicateur significatif de leur activité antioxydante. La présence d'un réducteur comme les substances antioxydantes au niveau de l'extrait a tendance à réduire le fer ferrique Fe^{3+} du complexe ferricyanure en fer ferreux Fe^{2+} qui se traduit par une coloration verdâtre dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (**Jayanthi et Lalitha, 2011**).

Les résultats de la mesure du pouvoir réducteur des extraits des échantillons étudiés sont indiqués dans les figures **16 et 17**.

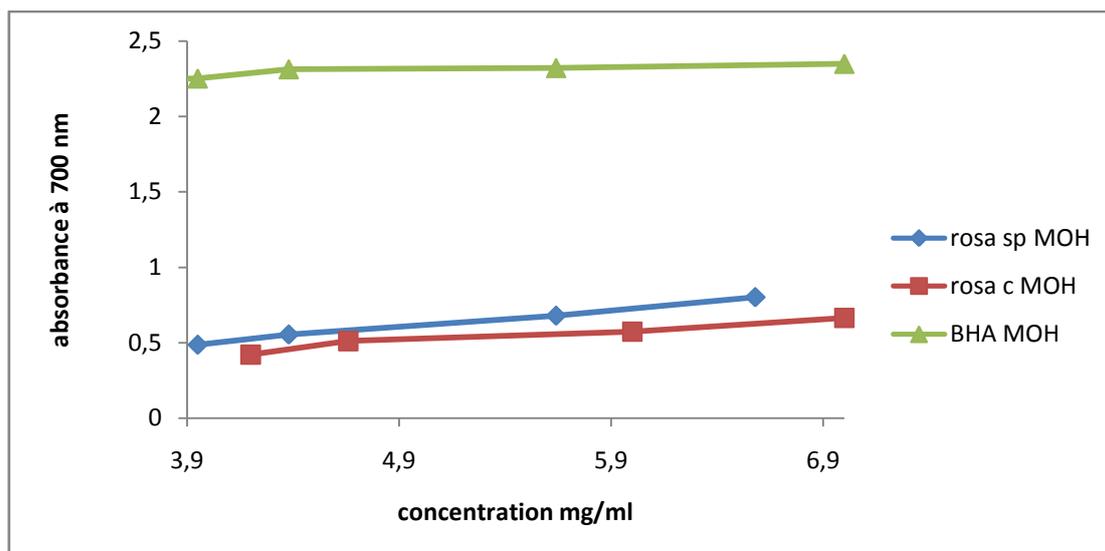


Figure16: Représentation graphique du pouvoir réducteur des fruits des extraits méthanoliques des espèces *Rosa sp* et *Rosa canina*.

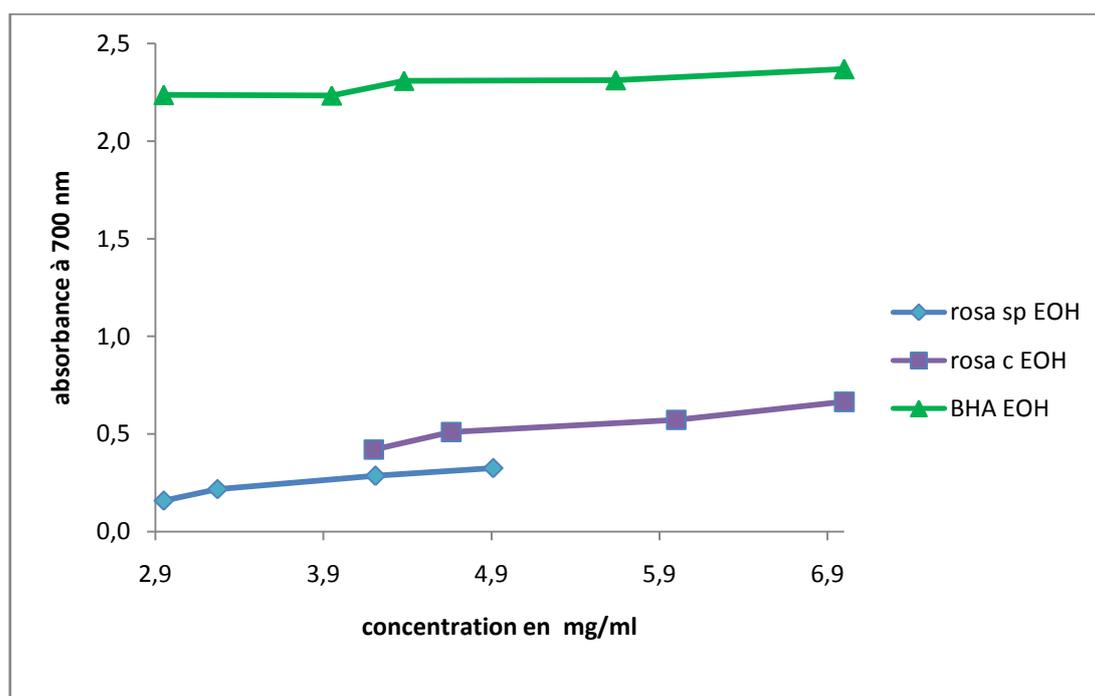


Figure17: Représentation graphique du pouvoir réducteur des extraits éthanoliques des fruits des espèces *Rosa sp* et *Rosa canina*.

D'après les courbes illustrées dans les **figures 15 et 16**, on remarque que plus la concentration des extraits augmente, plus le pouvoir réducteur de ces derniers augmente. La BHA possède un pouvoir réducteur élevé par rapport aux quatre extraits. Cela peut être expliqué par la pureté du standard utilisé.

On remarque aussi que c'est l'extrait éthanolique de *Rosa canina* qui a donné le meilleur pouvoir réducteur par rapport aux extraits méthanoliques de *Rosa canina* et *Rosa sp*, suivi de celui de l'extrait méthanolique *Rosa sp*. Cela coïncide avec les travaux effectués par **Orhan et ses collaborateurs (2009)**. En effet, ils ont rapportés que c'est l'extrait éthanolique de *Rosa canina* qui présente le meilleur pouvoir réducteur comparé à d'autres extraits (extrait au chloroforme). Les résultats des tests effectués sur ce fruit fait par, vu que c'est l'extrait *Rosa canina* éthanol qui a donné le meilleur pouvoir réducteur juste après l'extrait du fruit à l'aide du chloroforme.

4.2. Test au phosphomolybdate d'ammonium

La méthode du phosphomolybdate est employée habituellement pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. En présence des composés antioxydants, le Mo^{+6} est réduit en Mo^{+5} et forme un complexe avec le phosphate, il y a apparition d'une coloration verdâtre après une incubation des extraits au bain marie (**Umamaheswari et Chatterjee , 2008**).

L'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium des deux espèces étudiées avec les deux solvants d'extraction, au cours de cette étude est représentée dans **les figures (18, 19, 20, 21)**.

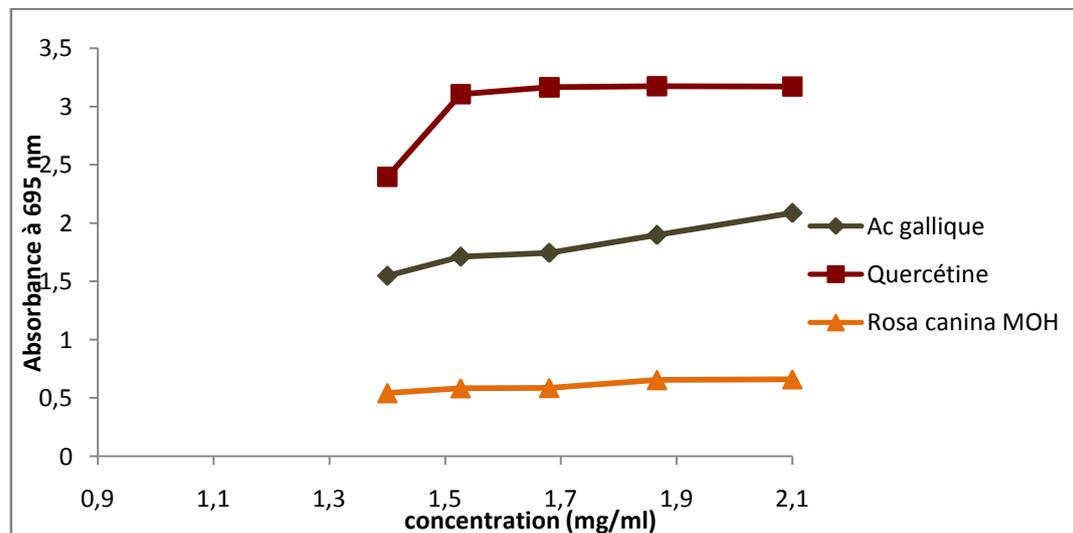


Figure18 : Représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait méthanolique de *Rosa canina*.

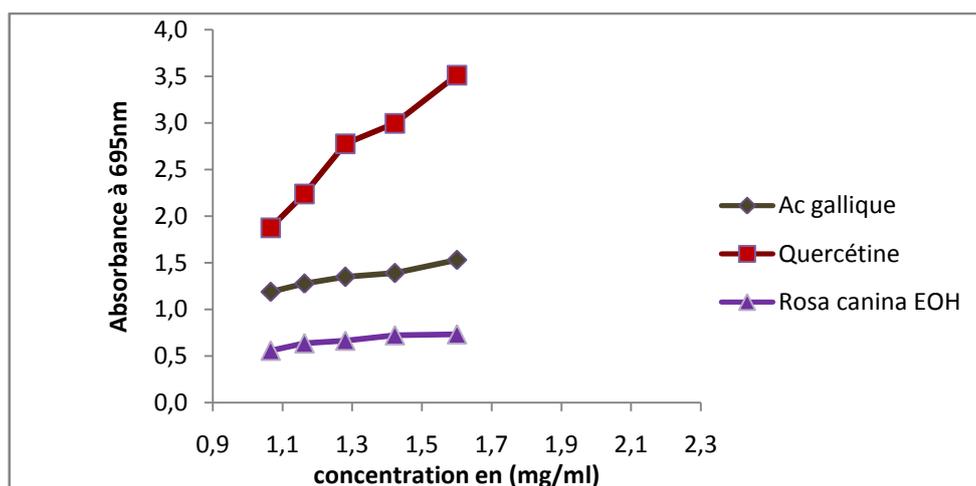


Figure 19: Représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait éthanolique de *Rosa canina*.

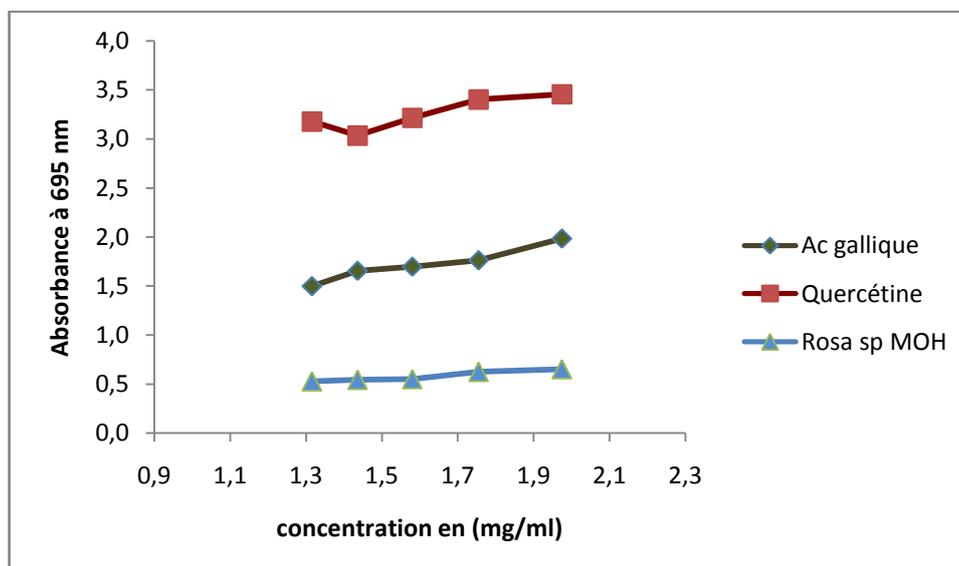


Figure 20 : Représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait méthanolique de *Rosa sp.*

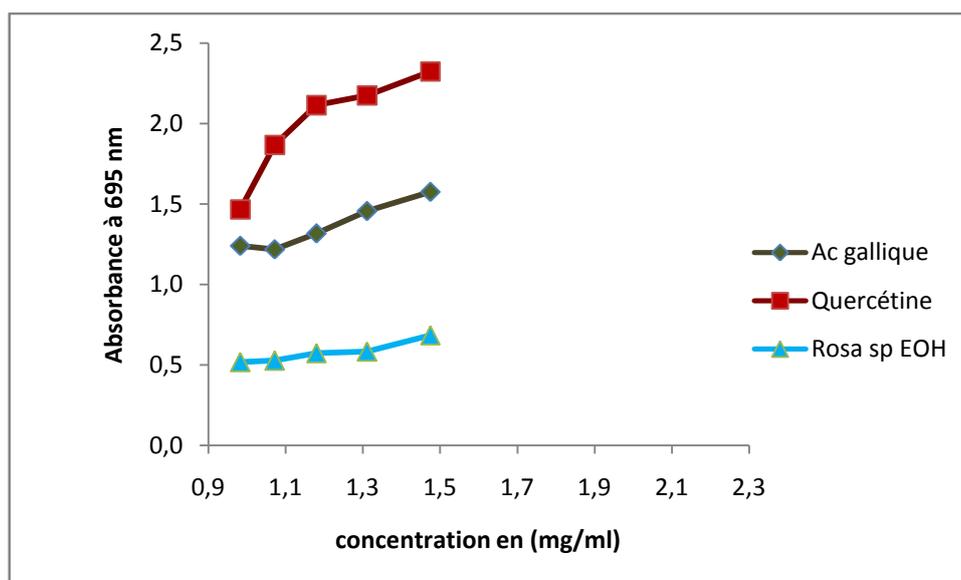


Figure 21 : Représentation graphique de l'activité antioxydante au phosphomolybdate d'ammonium de l'extrait éthanolique de *Rosa sp.*

D'après les résultats obtenus, on remarque que tous les extraits possèdent une activité antioxydante. On constate que l'activité antioxydante augmente en fonction de l'augmentation des concentrations des extraits.

Afin de déterminer le quel de ces extraits possède l'activité antioxydante la plus importante, on procède au calcul de l'IC₅₀ de chaque extrait. Pour ce faire, on utilise des courbes standards (annexe 1). En effet, la plus faible valeur de l'IC₅₀ correspond à une forte activité antioxydante.

Les résultats des IC₅₀ de chaque extrait sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII: Les IC₅₀ en (µg/ml) à partir du test phosphomolybdate d'ammonium.

<i>Rosa sp</i> MOH	<i>Rosa sp</i> EOH	<i>Rosa canina</i>	<i>Rosa canina</i>
19.3	20.03	18.8	20.4

D'après le tableau obtenu, ce sont les extraits méthanoliques des deux fruits qui présentent une meilleure activité antioxydante.

Selon **Ghazghazi et ses collaborateurs (2010)**, les facteurs qui peuvent influencer sur l'évolution de l'activité antioxydante sont multiples :

- Les extraits sont des mélanges très complexes dans lesquels antioxydants et pro-oxydants peuvent être présents où les effets synergiques peuvent se produire.

- L'évolution de l'activité antioxydante peut être déterminée par différentes méthodes, ces dernières sont basées sur différents mécanismes, c'est pour cela qu'elles peuvent donner différents résultats.
- Mains facteurs dont le climat, le génotype, l'altitude, la période de la récolte et la région peuvent influencer sur la variation de la composition chimique et par conséquent sur les activités.
- Les activités peuvent être attribuées aux multiples composants présents dans ces plantes : les phénols, les caroténoïdes, la vitamine C le tocophérol, les pectines, les glucides, les acides organiques, les acides aminés ainsi que les huiles essentielles.

Conclusion

Le monde végétal est sans doute la source médicinale originelle la plus importante. Il fournit la majeure partie des produits utilisés en thérapeutique. Deux espèces du genre *Rosa* (*Rosa sp* et *Rosa canina*) visées par cette étude pour leurs vertus et leurs utilisations en médecine traditionnelle et moderne.

Dans ce présent travail, nous nous sommes focalisés sur l'analyse quantitative des composés phénoliques et l'activité antioxydante des fruits de l'églantier de la région de la Kabylie.

Les extractions aux méthanol et l'éthanol purs, ont révélé que c'est le méthanol pur qui donne le meilleur rendement pour les deux espèces, avec un taux d'extraction de **33.8%** pour *Rosa canina* et **31.1%** pour *Rosa sp*.

Le taux de cendres le plus élevé a été remarqué pour *Rosa canina* avec un taux de **5%**, suivie par celui de *Rosa sp* qui est de **4.67%**.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux des différents extraits a montré que les teneurs les plus élevées sont celles des extraits méthanoliques des deux espèces. Les teneurs sont de : **8,21±3,38 µg E C/ml d'extrait** pour *Rosa canina* et **5,89±1,5 µg E C/ml d'extrait** pour *Rosa sp*.

Le dosage des tannins a révélé que ce sont les extraits à base de méthanol pur qui ont permis d'avoir les meilleures teneurs, elles sont de **89,99 ±4 µg E A T/ml d'extrait** pour *Rosa sp* et **38,51±0,64 µg E A T/ml d'extrait** pour *Rosa canina*.

Les concentrations en anthocyanines des fruits des deux espèces sont faibles comparées aux autres composés, néanmoins la teneur la plus élevée a été constaté chez l'extrait méthanolique de *Rosa canina* : **0,234 mg eq cyanidine-3-glucoside/ml d'extrait ± 0,0585** par contre l'extrait méthanolique de *Rosa sp* possède de la teneur la plus faible : **0,146 mg eq cyanidine-3-glucoside /ml d'extrait ±0,033**.

Le dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait éthanolique du fruit *Rosa canina* comporte la teneur la plus élevée comparé aux autres extraits.

L'activité antioxydante des extraits des fruits des deux espèces, a été estimée par deux méthodes ; le test du pouvoir réducteur et le test au phosphomolybdate d'ammonium.

Le dosage des antioxydants et la détermination de l'activité antioxydante des fruits étudiés montrent que les extraits méthanoliques de *Rosa canina* possèdent l'activité antioxydante la plus importante avec un IC_{50} de **18.8 $\mu\text{g/ml}$** , suivit par l'extrait méthanolique de *Rosa canina* avec un IC_{50} de **19.3 $\mu\text{g/ml}$** .

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les fruits du genre *Rosa*, étudiées dans ce modeste travail, constituent une source potentielle de composés bioactifs qui nécessitent d'autres études plus poussées.

Pour approfondir ce travail nous proposons :

- L'identification des antioxydants présents dans ce fruit, en utilisant des méthodes analytiques plus performantes telle que la CCM, HPLC ...,
- L'utilisation d'autres solvants d'extraction,
- L'étude des autres parties de la plante,
- Etude comparative entre les différentes variétés de ces fruits récoltés dans plusieurs régions du pays,
- La réalisation des essais in vivo, afin d'évaluer l'activité biologique de cette plante.

REFERENCES

A

Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni k, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N (2009). Antioxydant capacity and phenols content of selected Algerian medicinal Plant .*Food Chemistry*. **112** :303-309.

Arts IC, van De Putte B, Hollman PC(2000). Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. *J Agric Food Chem*; 48(5):1752–1757.

Ali-Dellile L(2010). Les plantes médicinales d'Algérie. Ed : BERTI éditions 2^{ème} éd. P :110.

Arts ICW, Hollman P-C-H, Feskens E-J-M(2001) Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr* 74 (2): 227-32.

B

Barros L, Maria Carvalho, Ferreira I.C.F.R(2010). Exotic fruits as a source of important phytochemicals :improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in portugal. *Food research international*, article in press.

Bahorune T Gressier B Troitin f , brunet.C Dine T Luychx M , Vasseur J. Cazin M, Cazin.J.C Pinkas M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-forsch Drug Research*.46:1086-1108.

Bardeau F(2009). La pharmacie du bon dieu. Ed Lanore. P : 105.

Bahorum, T(1997). Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council. Thèse de doctorat de l'université de l'Ile Maurice. P: 83-9.4.

Babayi H, Kolo I, Okogum JI (2004). the antimicrobioccal activities of methanolics extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogen microorganisms *biochemisten*:16(2):102-105.

Bruneton, J (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Edition: Lavoisier: 200-225.

Bruneton J (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^e édition. Tec & Doc. Lavoisier, Paris

Basdevant A, Laville M, Lerebours E(2001). Traité de nutrition clinique de l'adulte. Médecine-Sciences. Flammarion, Paris.

C

Chirinos R, Rogez H, Larondelle Y(2007). Optimisation of extraction condition of antioxidant phenolic compound from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. Separation and Purification Technology. **55**:381-387.

Couplan F(2007). Reconnaître facilement les plantes. Ed: Delachaux et Niestlé. P:56.

Couplan F(2011). Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. Ed: Delachaux et Niestlé. P:237.

Coombes A.J(2000). Arbres 500 espèces. Ed: Bordas. P:238.

Caron M (2011). http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/botanique-2/d/eglantier_7965/#xtor=AL-40

Chevallier A(2001). Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparations et soins. Ed : Larousse. P :262.

Cowan M (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews. 12 (4): 564-582.

Chung SY, Landau JM (2000) Effects of tea consumption on nutrition and health. J Nutr 130: 2409-12.

Chattergie A(2004). Inhibition of *Helicobacter pylori*; in vitro by various berry extracts with enhanced susceptibility of clarithromycin. Mol. Cell. Biochem: 265(1-2):19-26.

D

Deysson G(1979). Organisation et classification des plantes vasculaires. Tome:2. Ed : Société d'édition d'enseignement supérieur SEDES et CDU. p:360-364.

Didrak M(1999).Antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex,Mimosa bark,Gallnut powders,salvia sp ,and phlomis sp),journal of biology,23:241-248.

Dietich H,Pour-nikfardjamM.S(2009). Influence of Phenolic Compounds and Tannins on Wine-Related Microorganisms.section wine analysis and Beveragetechnology,Rudesheimer Str.28,D-65366 Geisenheim,Germany.

Decloitre F(1993). Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : Bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. Cahiers de Nutrition et de diététique. **28** (2): 85-95.

Dimer F et Ozcan M (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. Journal of Food Engineering.47: 333-336.

E

EL-Beshbishy H A ,Mohamadin A M, Abdel-Naim A B(2009). In vitro evaluation of the antioxidant activities of grape seed (*Vitisvinifera*) extract ,Blacseed(*nigella sativa*) Extract and Curcumin.Journal of taibah University Medical Sciences.4(1):23-35.

F

Fleuriet A, Jay-Allemand C, Macheix J.J(2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.

Ferreira I.C.F.R,Baptista P,Vilas-Boas.M ,barros L(2007).Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms From northeast Portugal:individual cap and stipe activity .food chemistry.100:1511-1516.

G

Gurbuz I., Yesilada E., Ito S (2009). An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from Equisetum palustre L. Journal of Ethnopharmacology 121: 360 -365.

González-Gallego J, Sánchez-Campos S. et Tuñón M. J(2007). Anti-inflammatory propeties of dietary flavonoids. Nutricim hospitalaria, 22 (3) : 287-293.

Ghedira K (2003). Effets bénéfiques des métabolites secondaires.(alcool et polyphénols) du vin rouge. *Phytothérapie* 2: 37-41.

H

Hosni K, Kerkenni A, Medfei W, Ben Brahim N. et Sebei H(2010). Volatile Oil constituents of *Rosa canina* L.: Quality As Affected by the Distillation Method. Vol: P:1-7.

Hämäläinen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M. et Moilanen E(2007). Antiinflammatory effects of flavonoids : genistein, kaempferol, quercetin and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators of inflammation.*, (1) : 1-10.

Hongying J, Hao Z, Kaixue T, Shufa L, Qigang W, Ting Z, Xianqin Q. et Huijun Y(2010). Decaploidy in *Rosa praelucens* Byhouver (Rosaceae) Endemic to Zhongdian plateau Yunnan, China. Vol: 63.N°2 :162-127.

Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M., Hongo D., (2009). Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-obesity and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17: 25-28.

Herrmann H (1988). On the occurrence of flavonol and flavone glycosides in vegetables. *Z Lebensm Unters Forsch* 186:1-5.

Hertog M. G(1996). Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society.* 55 (1B) : 385-397.

J

Jablonska-Rys E, Zalewska-korona and M .Kalbarzyc(2009).antioxydant capacity,ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits .journal of fruits and ornamental Plant research.17.(2):115-120

K

Kumaran A, Joelkarunakaran R(2007).in vitro antioxidant activities of methanol extracts of five phyllanthus species from India.LWT.40:344-352.

Keinanen M. et Tutto R. J (1996). Effect of sample preparation method on birch (*Betula Perdula* Roth). Leaf phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44** (9): 2724-2727.

Kazaz S, Baydar H. et Erbas S(2009).Variations in Chemical Compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. Fruits. Vol. 27. N°3: 178–184.

Kao Y, Hiipakka RA, Liao S (2000) Modulation of obesity by a green tea catechin. *Am J Clin Nutr* 72 (5): 1232-3.

Kim H. P., Son K. H., Chang H. W. et Kang S. S(2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences.*, 96 (3) :229-245.

Kazempour Osaloo S. et Smulders M.J.M(2009).Genetic diversity and genetic similarities between Iranian rose species. 85(3) 231-237.

Kris-Etherton, P.M. and Keen, C.L. (2002) Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 13: 41–49.

Kening Y., Vincenzo D. L. et Normand B(1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.*, **7** : 1787-1799.

Khanbabaee K. et Van-Ree T(2001). Tannins: classification and definition. Journal of Royal Society of Chemistry, **18**: p641-649.

Kahraman A, Erkasap N, Koken T, Serteser M, Aktepe F, Erkasap S(2003). The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. Toxicology; 183(1–3):133–142.

L

Leeuwen P. A. M (2001). Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. American journal of clinical nutrition., **74** : 418-425.

Liu RH (2003) Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. Am J Clin Nutr 78 (3): 517S-20S.

Leete E(1977). biosynthesis of alkaloids. in : biosynthesis, the chemical society, London.

M

Middleton E et al (2000) The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, heart disease and cancer. Pharmacol Rev 52(4): 673-751.

Mompon B, Lemaire B, Mengal P. et Surbled M (1996). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. In « polyphénols 96 ». Ed . INRA., Bordeaux : 245-256.

Macheix J.J , Fleuriet A et Sarni-Manchado P(2006). Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Technologie et document. Paris. P: 398: ISBN: 2-7430-0805-9.

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

Modak B (2001). actividad antibacteriana des flavonoides aislados des exudado resinoso des Heliotropium sinmatuum .efecto del tipo des estructura .bol soc quin 47(1) :366-421.

Mamatha B(2005) :Screening of medicinal plants used in rural Indian Folk medicine for treatment of diarrhea (en ligne).

<http://www.pharmainfo.net/exclusive/reviews/sceerning-of-medecinals-plants-used-in-rural-indian-folk-medecine-for-treatment-of-diarrhea>.

Macheix JJ, Fleuriet A (1990). Fruit phenolics. Boca Raton, FL, CRC Press.

Middleton E Jr, Kandaswami C (1994). The impact of plantflavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: The flavonoids. Advances since 1986. Harborne JB, editor. London: Chapman and Hall, pp. 619-645.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

Marfek A(2003). Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L(2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*;79(5):727-747.

N

Nijveldt RJ, Nood EV, Van Hoorn DEC, et al (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74 (4): 418-25.

Nijveldt R. J, Van Nood E, Van Hoorn D. E. C, Boelens P. G, Van Norren K. et Van Tsai T. H., Tsai P. G. et Ho S. C(2004). Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used species. *Journal of food science*. **70** (1): C93-C97.

Nowak R(2005). Fatty acids compositions in fruits of wild rose spices. Vol74.N°3:229-235.

O

Okigbo RN, Mabajinka Cs, Niku Co(2005). Antimicrobial potentials of *UDA Xylopiya aethopica* and *Occinum gratissimum L.* some pathogenous of man *international journal of molecular medicine and advances sciences* 1(4):392-397.

Orallo F, Álvarez E, Camiña M, et al (2002). The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 61 (2): 294-302.

P

Pérez-Vizcaíno F, Ibarra M, Cogolludo A, et al(2002) Endotheliumin dependent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 302 (1): 66-72.

Pechanova O, Bernatova I, Kyesla S, et al(2002). Beneficial effect of red wine polyphenolic compounds in experimental hypertension. *Bull OIV* 60: 679-99.

Pincemail J, Meurisse M, Imet R. L. et Defraigne J. O(1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. vaisseaux, coeur, poumons., 4 (4).

R

Ribéreau-Gayon, P (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod Paris*. 28-62.

Rameau J.R, Mansion D, Dumé G, Timbal J, Lecointe A, Dupont P. et Keller R (1989). Flore forestière française, guide écologique illustré, plaines et collines. Tome:1.Ed: Institut pour le développement forestier. p:599.

Ribéreau-gayon P(1968). Les composés phénoliques des végétaux. Ed. DUNOD, Paris : 242.

Reinli K, Block G(1996). Phytoestrogen content of foods-a compendium of literature values. *Nutr Cancer*; 26(2):123–148.

Ramade F(2008). Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité. Ed :Dunod. p :552.

S

Singleton V.L, Orthother R. et Lamuela-Raventos R. M (1999). Analysis of total phenols other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. **89**: 191-198.

Samiei L, Nadri R, Khalighi A, Shahenjat-Bushekri A.A, Mozaffarian V, Esselink G.D,

Vetvicka V(1984).Arbres et arbustes. Ed : Grund. P : 188.

Stern K.R, Bidlack J.E. et Jansky S.H(2008). introductory plant biology . Ed: McGraw-Hill, eleven edition. P:457.

Sarni-machado p et cheynier v(2006).les polyphenols en agroalimentaire. Ed lavoisier.p3.

Scalbert A,Williamson G(2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 130: 2073S-85S.

Sivakumaran S,Molan AL .Meagher LP,Kolb B(2004).Variation in antimicrobial action of pranthocyanmidine from Dorycrium rectum againt rumen bacteria.phys chem.:5(3):106-111.

Shon H Y, Son K H, Kwon C S, Kang S S (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: Morus alba Echinosophara koreesis Nakai. Phytomedecine 11: 666 – 672.

Sannomiya M, Fonseca V B, Da silva M A, Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S, Vilegas W(2005). Flavonoids and antiulcerogenic activity from Byrsonima crassa leaves extracts. Journal of Ethnopharmacology 97: 1- 6.

T

Tapas A. R, Sakarkar D. M. et Kakde R. B(2008). Flavonoids as nutraceuticals. Topical journal of pharmaceutical research., 7 (3) : 1089-1099.

Tripoli E, Guardia M L Giammanco S. Di Majo D. Giammanco M(2007). Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: Food chemistry 104: 466 - 479.

U

Ulanowska K (2006). deferenciel antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of AND,ARN and protein synthesis in some bacterials trains, arch microbial.184(5):271-8.

Urquiaga I. et Leighton F(2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research., 33 (2) : 55-6.

W

Werdman J, Balentine J. D, Arab L, Beecher G, Dwyer J. T, Folts J, Harnly, Hollman J. P, L Keen C, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G. et Burrowes J(2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition., 137 (3 suppl) : 718 -737.

Wollgast J, Anklam E(2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International 33: 423 - 447.

World Health Organization (2008) the global burden of disease: 2004 update. Geneva, Switzerland: World Health Organization. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241563710_eng.pdf.

X

Xiao Z.P, Shi D.H, Li H.Q, Zhang L.N, Xu C. et Zhu H.L(2007) .Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of Helicobacter pylori urease. Journal of Bioorganic and Medicinal Chemistry. 15 . P: 3703-3710.

Y

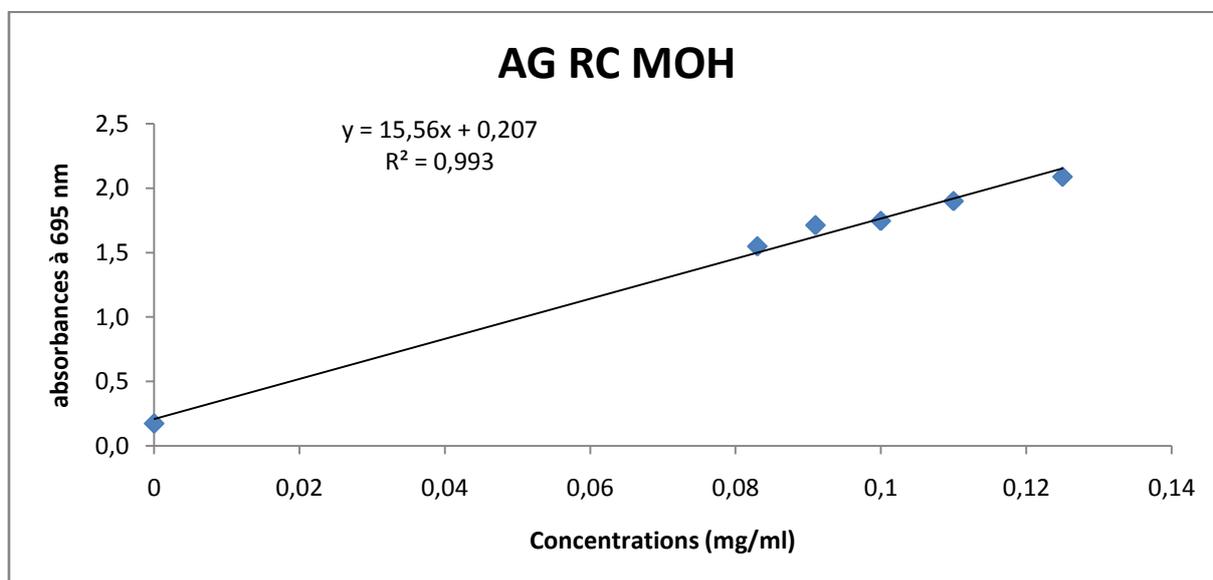
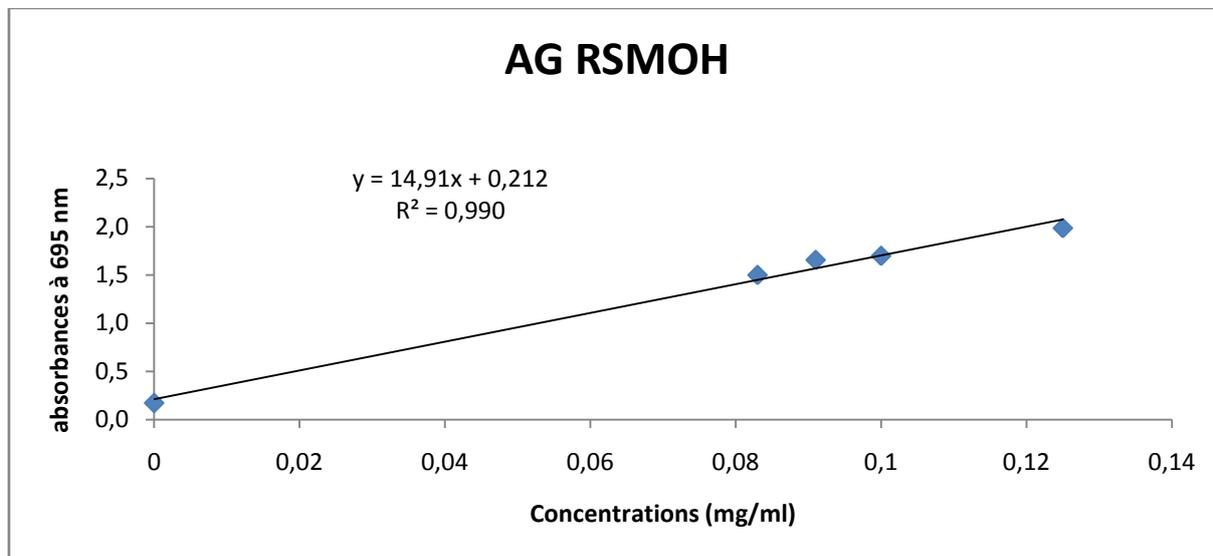
Yano Y, Satomi M , Oikawa H(2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrioparahaemolyticus. International J. Food Microbiology, 111: 6-11.

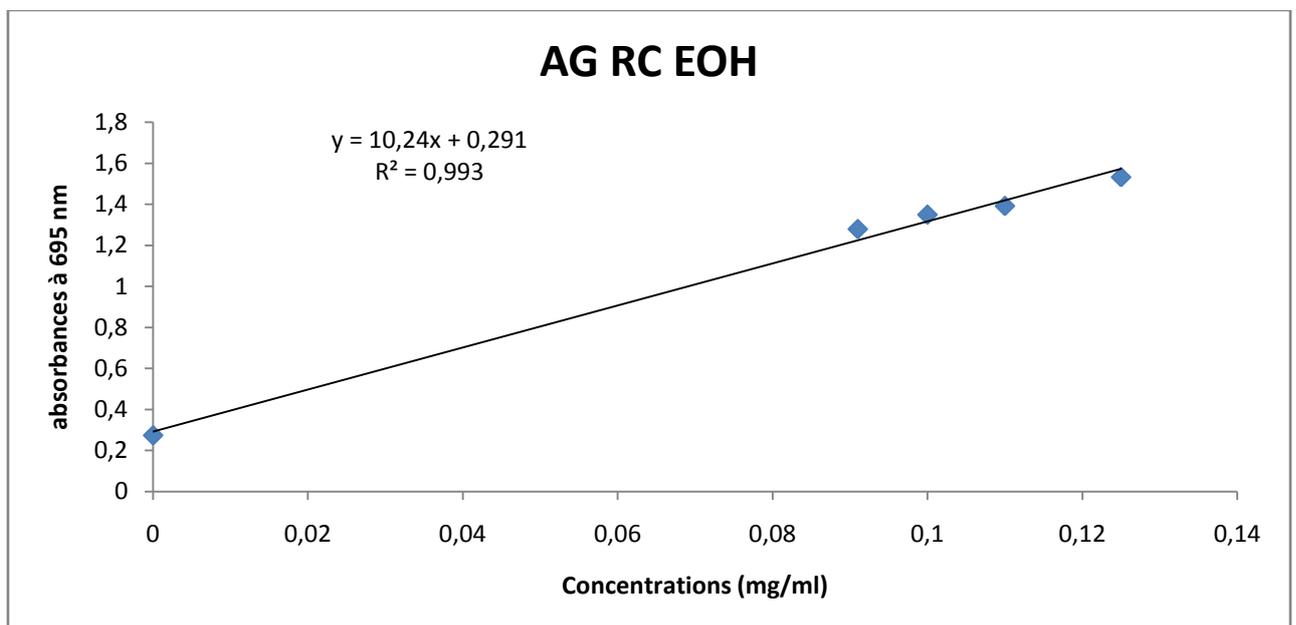
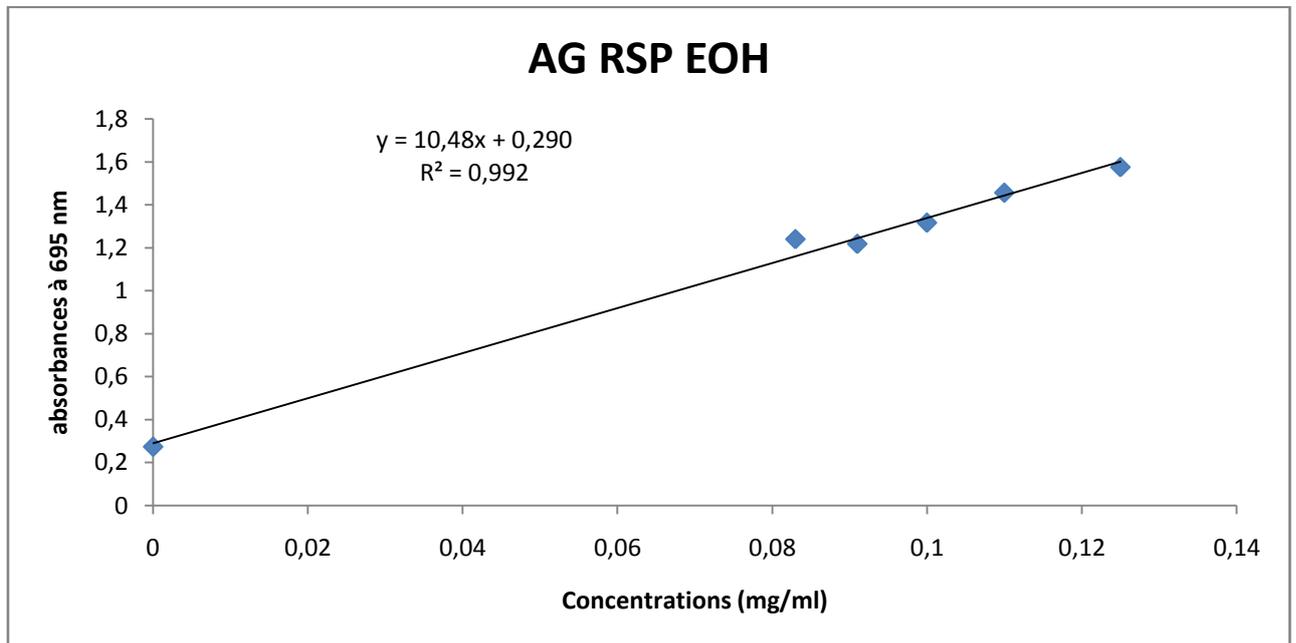
Anonyme. Guide santé phyto. Ed: Alpen.

Anonyme: (NF V05-113,1972).

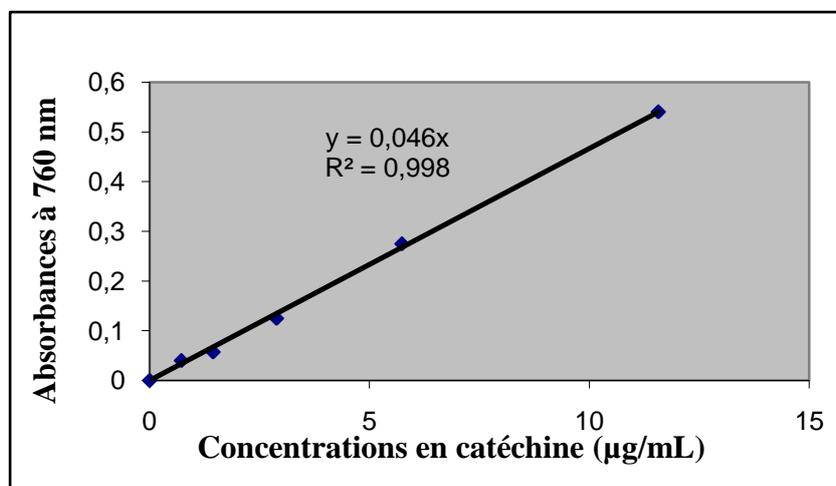
Anonyme: (NF 05-101)

1. Courbes d'étalonnage de l'acide gallique

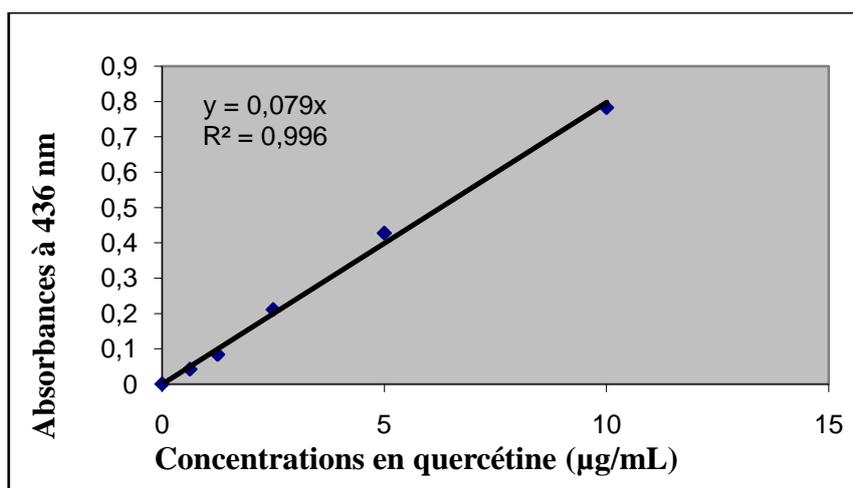




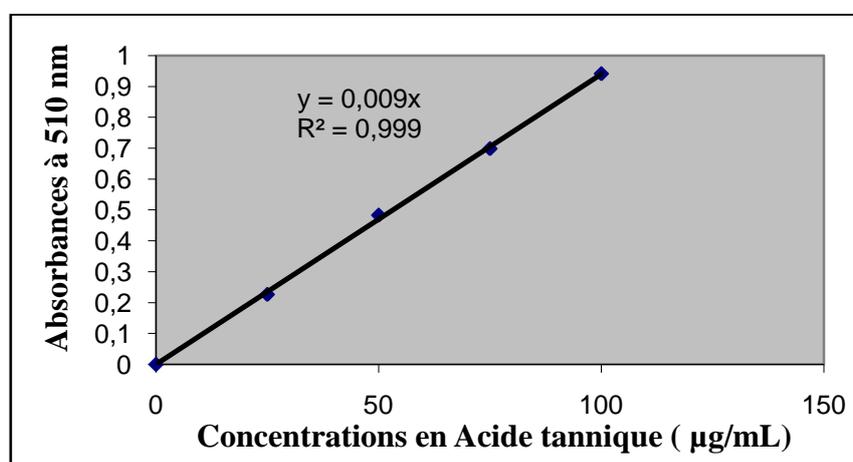
2. Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux



3. Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes



4. Courbe d'étalonnage de dosage des tannins



Résumé

Ce présent travail porte sur le dosage de quelques antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins et anthocyanines) et l'estimation de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et phosphomolybdate d'ammonium) des fruits de deux espèces d'églantier *Rosa canina* et *Rosa sp*, en utilisant deux solvants d'extraction : le méthanol et l'éthanol purs. Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que c'est les deux extraits méthanoliques qui possèdent le meilleur taux d'extraction, **33.8%** pour *Rosa canina* et **31.1%** pour *Rosa sp*. L'extrait méthanolique de *Rosa canina* présente les teneurs les plus élevées en polyphénols et en anthocyanines qui sont de : **8,21 µg E C/ml d'extrait, 0,234 ± 0,0585 µg eq cyanidine-3-glucoside/ml d'extrait** respectivement. Par contre, l'extrait ayant la concentration la plus élevée en flavonoïdes revient à l'extrait éthanolique de *Rosa sp*, elle est de **49,74µg d'E Q/ml d'extrait**. La plus forte teneur en tanins a été notée dans l'extrait méthanolique de *Rosa sp* avec une concentration de **89,99±4,00µg E A T/ml d'extrait**. C'est l'extrait méthanolique de *Rosa canina* qui détient la plus importante activité réductrice, car l'IC₅₀ de cet extrait est de **18.8 µg/ml**.

Mots clés :polyphénols, extrait méthanolique, extrait éthanolique, activité antioxydante, églantier.

Abstract

The present work concerns the determination of some antioxidants (total phenolics , flavonoids, tannins and anthocyanins) level and estimate the antioxidant activity (reducing power and ammonium phosphomolybdate) of fruits of two species of wild rose; *Rosa canina* and *Rosa sp*, using two extraction solvents: methanol and ethanol pure. The results obtained in this study show that it is both methanol extracts that have the best extraction rates, **33.8%** for *Rosa canina* and **31.1%** for *Rosa sp*. The highest levels of polyphenols and anthocyanins are the methanol extract of *Rosa canina*, they are: **8.21 µg CE / ml of extract, 0.234± 0,0585 mg eq cyanidine-3-glucoside/ml extract** respectively. On the other side, the extract having the highest concentration of flavonoids seems to be the ethanol extract of *Rosa sp* with **49.74 µg QE / ml of extract**. The highest tannin content was found in the methanol extract of *Rosa sp* with a concentration of **89.99±4,00 µg ATE/ ml of extract**. This is the methanol extract of *Rosa canina* which has the most important reducing activity, because this IC₅₀ of the extract is 18.8 micrograms / ml.

Keys words: phenolics, methanol extract, ethanol extract, antioxidant activity, wild rose.