

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Béjaia

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 de Master
en Biotechnologies, Agro Ressources, Aliments et Nutrition.**

Thème

*Activité antioxydante de la pellicule de
quelques variétés du raisin cultivées dans la
région de Bejaia*



Présenté par :

M^{lle} BENHAMOUCHE Sabrina

M^{lle} CHEROUFA Rezkia

Membres de jury :

Présidente : M^{me} MADDI O.

Examinatrice : M^{lle} MEKHOUKHE A.

Examinatrice : M^{me} BOUCHEFA N.

Promotrice : M^{me} ADRAR S.



Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégé, aidé, et soutenu, jusqu'à pouvoir « mener la graine au fruit » nous nous inclinons pour dire : « Dieu Merci ».

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde Gratitude à M^{me} ADRAR notre promotrice pour ses conseils et ses Orientations.

Nous adressons nos profonds remerciements à M^{me} MADDI d'avoir accepté de présider le jury ;

Nous remercions également M^{me} BOUCHEFA ainsi que M^{lle} Mekhoukhe pour l'honneur

qu'elles nous ont fait d'avoir examiné notre travail ;

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir, ce qui nous a permis d'acquérir les connaissances indispensables pour réaliser ce mémoire.

Rezkia et Sabrina



Dédicaces

Je dédie cette œuvre à tous ceux qui me sont chers :

A la mémoire de mes grands parents

A mes très chers parents, Zoubir et Ouardia, qui ont constitué l'essentiel de mon univers et pour lesquels je voue beaucoup d'affection et de respect.

A mes sœurs : Farida, Rachida, et Lila qui n'ont jamais cessé de m'apporter leur soutien et leur affection.

A mes trois frères Mohamed, Mehdi et Abdelhak

A mes belles sœurs Zakia, Natasha et Soumia.

A mes beaux frères Aissa, Dahmane et Farid.

A mes très chers neveux Amirouche, Meriame, Hicheme, Amine, Omar et Oualid.

A mes amies avec qui j'ai passé des moments agréables, en particulier à: Wiwi, Ouahchia, Hanane, Djohra, Toma, Louiza, Nabila, Saida, Zineb, Linda, Momahe, Samou et toutes celles que j'aime.

A mes cousines Amel, Manel, Hanane, Salma et Dihia.

A toute la famille CHEROUFA et MECHEMECHE.

A mon binome, Sabrina, pour sa patience et à toute sa famille.

A tous mes collègues de la promotion master II biotechnologie 2013.

Rezkia



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A la mémoire de mon père, et celle de tous ceux qui nous ont quittés

*A ma très chère mère **Chafiaa** qui sans elle je ne serais ce que je suis maintenant*

*A mon cher mari **Smail** et sa famille*

*A mon cher frère **Kouceila***

*A mes chers sœurs **Douda, Amel, et Kamou***

*A ma chère sœur **Hamida** et son mari **Idir***

*A mon très cher neveu **Fares***

*A toutes la famille **BENHAMOUCHE** et **OUACHOUR***

A tous mes amis

*A ma chère binôme **Rezkia**, ainsi qu'a toute sa famille .*

Sabrina

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Partie bibliographique	
I. Généralités sur le raisin.....	2
I.1. Morphologie.....	2
I.2. Classification.....	4
I.3. Types de raisin	5
I.4. Composés chimiques des raisins	5
I.4.1. Sucres	5
I.4.2. Matières minérales	6
I.4.3. Substances azotées	6
I.4.4. Composés aromatiques	6
I.4.5. Acides organiques	6
I.5. Effets thérapeutiques de raisin	7
I.6. Production de raisin	8
I.6.1. Production mondiale de raisin	8
I.6.2. Production de raisin au niveau de la wilaya de Bejaia.....	8
II. Activité antioxydante des raisins	9
II.1. Radicaux libres	9
II.2. Stress oxydant.....	9
II.3. Antioxydants.....	10
II.4. Antioxydants de raisin	10
II.4.1. Composés phénoliques	10
II.4.1.1. Composés flavonoïdes.....	10
II.4.1.2. Composés non flavonoïdes.....	13
II.4.2. Caroténoïdes	15
II.4.3. Vitamine C.....	15
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
I. Matériel végétal	17
II. Test d'humidité.....	17
III. Dosage des antioxydants	18

III.1. Composés phénoliques	18
III.1.1. Préparation des extraits	18
III.1.2. Polyphénols totaux	18
III.1.3. Flavonoïdes	18
III.1.4. Tanins totaux	19
III.1.5. Tanins condensés (Proanthocyanidines)	19
III.1.6. Flavonols	19
III.2. Anthocyanines	20
III.3. Caroténoïdes	20
IV. Évaluation du pouvoir antioxydant	21
IV.1. Pouvoir réducteur	21
IV.2. Neutralisation du radical DPPH*	21
IV.3. Activité antioxydante mesurée par le radical cation ABTS* ⁺	22
V. Analyse statistique.....	22
Résultats et discussion	
I. Paramètres physico-chimiques.....	23
I.1. Humidité	23
II. Dosage des antioxydants	
II.1.1. Polyphénols totaux	23
II.1.2. Flavonoïdes.....	25
II.1.3. Tanins totaux	26
II.1.4. Tanins condensés (Proanthocyanidines)	27
II.1.5. Flavonols	28
II.2. Anthocyanines	29
II.3. Caroténoïdes	30
III. Évaluation du pouvoir antioxydant	
III.1. Pouvoir réducteur	31
II.2. Neutralisation du radical DPPH*	33
II.3. Activité antioxydante mesurée par le radical cation ABTS* ⁺	35
Conclusion.....	37
Références bibliographiques	39
Glossaire.	
Annexes.	

Liste des abréviations

A.Bouamar: Ahmar Bou-amar.

ABTS: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

ANOVA: Analyse de la variance (Analysis Of Variance).

ARP: puissance antiradicalaire.

BSA : Sérum Albumine Bovine.

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DSA : Direction des Service Agricoles.

EAG : Équivalent acide galique.

EAT: Équivalent acide tanique.

E β C: Équivalent en β -carotène.

ECG: Équivalent en cyanidine -3 -glycoside.

EQ: Équivalent en quercitine.

FAO: Food and Agriculture Organization.

IC50: Concentration Inhibitrice de 50% du radical DPPH.

MF: Matière fraîche.

MS: Matière sèche.

rpm: Rotation par minute.

SDS: Sulfate Dodecyl de Sodium.

TEA: Triéthanolamine.

Liste des figures

Figure 1 : coupe schématique d'une baie du raisin a la maturité.....	2
Figure 2 : Représentation graphique de la production mondiale de raisins	8
Figure 3 : Représentation graphique de la production de raisins au niveau des différentes communes de la wilaya de Bejaia	9
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.....	11
Figure 5 : Structure chimique des anthocyanines	11
Figure 6 : Structure de base des flavonols	12
Figure7 : Structure chimique des principaux monomères des tannins condensés du raisin	13
Figure 8 : Structures de base des acides phénoliques	14
Figure 9 : Structure chimique des stilbénes	14
Figure 10 : Structure de quelques caroténoïdes de raisins	15
Figure 11 : Structure de base de l'acide L-ascorbique.....	16
Figure 12 : Concentration en polyphénols totaux	23
Figure13 : Concentration en flavonoïdes	24
Figure14 : Concentration en tanins	25
Figure15 : Concentration en tanins condensés.....	26
Figure 16 : Concentration en flavonols	27
Figure 17 : Concentration en anthocyanines.....	28
Figure 18 : Concentration en caroténoïdes.....	29
Figure 19 : Pouvoir réducteur en fonction de la concentration des extraits du raisin.....	31
Figure 20 : Pouvoir réducteur des extraits de variétés de raisin exprimé en mg EQ	31
Figure 21 : Corrélation entre la teneur en composés phénoliques totaux et le pouvoir réducteur.....	32
Figure 22 : Activité antiradicalaire exprimée en mg EAG/100gMS.....	35

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de la pellicule en % de poids frais	2
Tableau II : Composition chimique de la pulpe en gramme par litre	4
Tableau III : Composition chimique des pépins en % de poids frais	4
Tableau IV : Systématique de <i>Vitis vinifera</i>	5
Tableau V: l'humidité des sept variétés de raisin étudiées	21
Tableau VI: pouvoir antiradicalaire de différentes variétés de raisins	33

Introduction

La compréhension du phénomène de stress oxydant est devenue un des enjeux majeurs de la biochimie, en particulier depuis le début des années 90. Ce déséquilibre de la balance d'oxydoréduction au sein des cellules est impliqué dans un tel nombre de pathologies graves différentes (dont la plupart des cancers) qu'il est devenu crucial de cerner ses origines et ses mécanismes, pour envisager une prévention et des traitements plus efficaces (Bruno, 2007).

L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir certaines maladies. Or nous ne savons pas toujours quels sont les antioxydants responsables des effets bénéfiques observés en épidémiologie avec les aliments riches en antioxydants comme les fruits et les légumes (Favier, 2003).

Les raisins sont parmi les fruits les plus largement consommés. Ils sont riches en polyphénols, avec approximativement 75% de polyphénols du raisin existant dans les graines et la peau. Des composés phénoliques peuvent être employés dans différentes procédures thérapeutiques en vue de la neutralisation des radicaux libres dans les systèmes biologiques et l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines (Carughi, 2008).

Dans la première partie de notre travail, nous avons réalisé une synthèse bibliographique qui contient les éléments nécessaires pour aborder la problématique et mieux appréhender les différents résultats et arguments qui seront développés tout le long du manuscrit, la deuxième partie a pour objectif de doser quelques classes d'antioxydants (flavonoïdes, caroténoïdes, anthocyanines, tanins, proanthocyanidine flavonols, et polyphénols totaux) et d'évaluer l'activité antioxydante de la pellicule de sept variétés de raisins de table locales (*Ahmar Bou-amar*, *Cardinal*, *Dattier*, *Gros-noir*, *Italia*, *Muscat*, *Saba*) en utilisant le méthanol pur comme solvant d'extraction.

Synthèse
Bibliographique

I. Généralités sur le raisin

Le raisin est le deuxième fruit le plus cultivé au monde. Il se présente sous la forme de grappes composées de nombreux grains, qui sont sur le plan botanique des baies, de petite taille et de couleur claire, le raisin blanc (verdâtre, jaunâtre, jaune doré) ou plus foncée, le raisin rouge (rose ou noir-violet) (Chira *et al.*, 2008). *Vitis vinifera* est actuellement le fruit le plus cultivé autour du monde en raison de son utilisation dans la production vinicole (Kashif *et al.*, 2009).

I.1. Morphologie

Le raisin est une baie charnue constituée d'un péricarpe et de graines appelées pépins (Fig.1). Le péricarpe se compose d'un exocarpe appelé pellicule et d'un mésocarpe appelé pulpe (Gomez, 2009).

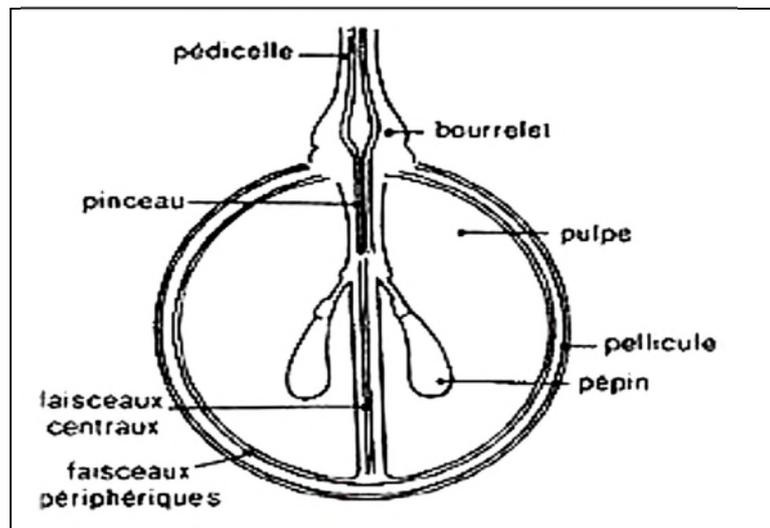


Figure 1: Coupe schématique d'une baie de raisin à maturité (Ribereau-Gayon *et al.*, 1980).

➤ **La pellicule :** représente en moyenne 10 à 15 % du poids de la baie. Elle est composée de six à dix assises cellulaires formant trois parties :

La cuticule, membrane extérieure très mince et imperméable aux levures; formée de cires lipidiques; recouverte extérieurement par la pruine, cire végétale constituée d'acides gras et d'acide oléanique, d'alcools, de paraffines et d'esters (Lemoigne, 2008).

L'épiderme, composé de 8 à 10 couches de cellules isodiamétriques de 6,5 à 10µm de largeur (Allwedt *et al.*, 1981).

L'hypoderme est composé de 10 à 12 couches de cellules de 100 à 250 µm de largeur, renferme les granulations de matières colorantes et odorantes (Allwedt *et al.*, 1981).

Les parois des cellules pelliculaires sont plus épaisses que celles du reste de la baie. Elles constituent un obstacle à la libération dans le milieu liquide des composés présents dans les cellules des pellicules pendant la vinification. Ces principaux composés sont les anthocyanes responsables de la couleur des vins rouges et les composés volatils constituant l'arôme des raisins. La composition de la pellicule varie suivant le cépage, le millésime et le niveau de maturité de la baie (Lemoigne, 2008). Cependant, une composition moyenne a été établie (Tableau I).

Tableau I : Composition chimique de la pellicule en % du poids frais (Lemoigne, 2008)

Constituants	Teneurs exprimées en %
Eau	78 – 80 %
Tanins	0,4 – 3 %
Acides organiques	0,8 – 1,6 %
Anthocyanes	0 – 0,5 %
Matières azotées	1,5 – 2 %
Matières minérales	1,5 – 2 %
Cires et substances aromatiques	1 – 2 %

➤ **La pulpe :** La pulpe est constituée de 25 à 30 couches de cellules, ces cellules s'agrandissent pour atteindre une taille de 400 µm à la fin du stade de maturation (Carbonneau et *al.*, 2007). A maturité, la pulpe représente 90 à 95% du poids du raisin, ses cellules possèdent des vacuoles représentant 99% de leur volume remplies majoritairement d'acides organiques et de sucres (Diakou et Carde, 2001). Le mésocarpe comprend aussi un endocarpe, une fine couche de cellules délimitant les loges carpellaires qui contiennent les pépins (Gomez, 2009). La composition chimique de la pulpe du raisin est représentée dans le tableau II.

Tableau II: Composition chimique de la pulpe exprimé en gramme par litre (Lemoigne, 2008)

Constituants	Teneurs exprimées en g/L
Eau	700-850
Oses	140-250
Polysaccharides	3-5
Acides organiques	9-27
Poly phénols	0,5
Composés azotés	4-7
Minéraux	0,8-2,8
Vitamines	0,2-0,8

➤ **Les pépins** : représentent 0 à 6 % du poids total du raisin. Ils devraient être au nombre de 4 par baie pour la plupart des cépages. Mais suite à des non fécondations, leur nombre varie entre zéro et quatre. La composition des pépins en pourcentage de poids frais est présentée ci-après (tableau III) (Lemoigne, 2008). Les pépins sont constitués d'un embryon et d'un albumen (Gomez, 2009).

Tableau III : Composition chimique des pépins exprimé en % de poids frais (Lemoigne, 2008)

Constituants	Teneurs exprimées en g/L
Eau	25 – 45%
Composés glucidiques	34 – 36%
Lipides	13 – 20 %
Matières azotées	4 – 6,5 %
Tanins	4 – 10 %
Matières minérales	2 – 4 %

I.2. Classification

Selon Reynier (1986), la vigne appartient à la famille des *Vitacées* qui comprend un millier d'espèces. Cette famille comprend 14 genres dont le genre *Vitis*, originaire des zones tempérées de l'hémisphère nord (Amérique, Europe et Asie).

Le genre *Vitis*, auquel appartiennent les vignes, est divisé en deux sections ou sous-genres dont *Euvtis* qui comprend une trentaine d'espèces, rencontrées :

- En Amérique du nord où une vingtaine d'espèces présentent peu d'aptitudes uvifères.
- En Europe et en Asie occidentale, où une seule espèce, *Vitis vinifera*, présente de grande qualité pour la production du vin, du raisin de table et de raisins secs.
- En Asie orientale, où une vingtaine d'espèces ne présentent pas d'intérêt pour la production du raisin.

Tableau IV : Systématique de *Vitis vinifera* (Reynier, 1986)

Famille	<i>Vitacées</i>
Genre	<i>Vitis</i>
Sous-genre	<i>Euvtis</i>
Tronc	Euro asiatique
Espèce	<i>Vitis vinifera</i>

I.3. Types du raisin

Deux types du raisin sont distingués selon la couleur de leur peau :

- ✓ Les raisins à peau de teinte claire, vert pale ou jaune plus ou moins dorés (Cépages blancs).
- ✓ Les raisins dont la peau noircit à maturité et qui prennent alors des nuances allant du rouge au violet plus ou moins bleuté (cépages noirs).

On connaît aussi des cépages dont les baies sont roses (*Cardinal*), des formes roses de cépages blancs (*Clairette*) et des formes grises de cépages blancs ou noirs (*Grenache*) (Mazoyer et *al.*, 2002).

I.4. Composés chimiques des raisins

I.4.1. Sucres

Les sucres de la vigne proviennent de la photosynthèse. Sont composés de glucose et de fructose. A la maturité, ces deux sucres sont en quantités sensiblement égales, avec toujours un excès de fructose. Le saccharose n'est présent dans le raisin qu'à l'état de traces. Par

contre, il a été identifié de nombreux sucres tels l'arabinose, la xylose, le rhamnose, le maltose ou encore le raffinose.

La teneur en sucres de raisins varie entre 150 et 250 g/L. Toutefois, cette teneur en sucres peut aller jusqu'à 300 g/L cas du Muscat. Le sucre est réparti de façon inéquitable entre les différents grains et même à l'intérieur d'un même grain (Ribereau-Gayon et *al.*, 1980).

I.4.2. Matières minérales

Les matières minérales du raisin sont les mêmes que celles d'autres organes végétaux. L'élément principal en est le potassium, vient ensuite le calcium puis le magnésium (Ribereau-Gayon et *al.*, 1980).

I.4.3. Substances azotées

L'azote de la pulpe ne représente que le quart voire le cinquième de l'azote total du grain. Ce sont les cépages les plus acides, les plus riches en acides organiques, qui se trouvent être également les plus riches en acides aminés (Ribereau-Gayon et *al.*, 1980).

I.4.4. Composés aromatiques

L'évolution de l'arôme du raisin au cours de la maturation est due au déplacement d'un équilibre entre les arômes herbacés et les arômes fruités: le rapport fruité/herbacé augmente au cours de la maturation et il détermine la maturité aromatique des raisins. Dans tous les cépages, les composés d'arôme sont présents dans les pellicules des baies de raisins. Ils peuvent être en plus grande quantité chez certains cépages et sont alors caractéristiques d'une variété (arôme variétal) (Lemoigne, 2008).

Selon Ribereau-Gayon et *al.* (1998) le potentiel aromatique du raisin se décompose en :

- ✓ substances odorantes, libres et volatiles, issues de la variété ;
- ✓ précurseurs non volatils et non odorants (glycosides, dérivés de la cystéine, acides phénols et acides gras) ;
- ✓ composés volatils, odorants ou non, qui par leur instabilité s'autotransforment en composés odorants (terpinols, diols terpéniques, C13 norisoprénoides).

I.4.5. Acides organiques

Deux acides organiques sont majoritairement présents dans la baie du raisin : l'acide tartrique et l'acide malique. Ils représentent à eux seuls environ 90 % des acides organiques totaux. La teneur en acidité des raisins est conditionnée par ces deux acides mais principalement par l'acide tartrique, acide fort. Le rapport entre ces deux acides varie considérablement selon la

variété de la vigne et les conditions de maturation. La concentration en acide tartrique peut varier entre 3,8 et 11,3 g/L dans le moût à maturité. Elle varie principalement en fonction des cépages et de l'alimentation en eau de la vigne. La teneur en acide malique varie beaucoup selon les cépages et en fonction de la température pendant la maturation. Dans les zones tempérées, sa concentration dans le moût varie entre 4 et 8 g/L, et dans les régions chaudes entre 1 et 2 g/L. Chacun de ces acides a des voies métaboliques différentes. Leur évolution n'est donc pas identique au cours de la maturation du raisin (Blouin et *al.*, 2000).

I.5.Effets thérapeutiques des raisins

La consommation modérée du raisin ou de produits dérivés (contenant des polyphénols) peut conduire à une diminution de l'agrégation plaquettaire ainsi qu'à des effets vasodilatateurs des vaisseaux sanguins. Les effets physiologiques obtenus pour la consommation nutritionnelle d'extrait de polyphénols de raisin sur l'athérosclérose, le diabète ou l'hypertension montrent une prévention *In vivo* de ces pathologies. Les polyphénols du raisin peuvent donc jouer un rôle de nutrition préventive :

- ✓ un effet piège direct sur les radicaux libres ;
- ✓ un effet d'économie d'antioxydants endogènes (vitamine E, vitamine C, β -carotène...)
- ✓ un effet d'économie d'enzymes antioxydantes (SOD : superoxyde dismutase, SeGSHPx : glutathion peroxydase) ;
- ✓ un effet de diminution de la cholestérolémie et de « rééquilibrage » des lipides sanguins (HDL/LDL) ;
- ✓ un effet de chélation sur des cofacteurs d'oxydation des acides gras comme certains métaux (Fe^{2+} , Cu^{2+}) ;
- ✓ un effet d'inhibition sur des enzymes oxydatives comme les cyclooxygénases et lipooxygénases ;
- ✓ un effet inhibiteur dans la genèse de production de la NAPH oxydase au niveau des cellules de la paroi vasculaire (aorte thoracique et cœur), d'où une diminution de la production de radicaux libres (Chira et *al.*, 2008).

I.6. Production de raisins

I.6.1. Production mondiale de raisins

Selon le rapport du mois de juin 2011, la production mondiale de raisins de table est supérieure d'environ à un demi million tonnes par rapport à la campagne précédente, pour atteindre 16,5 millions tonnes. La chine est le principal producteur suivie de l'Italie, USA, la France et l'Espagne ; L'Algérie occupe la 20 ème place dans le monde en 2011 avec une production de 650 000 tonnes (figure 2) (FAO, 2012).

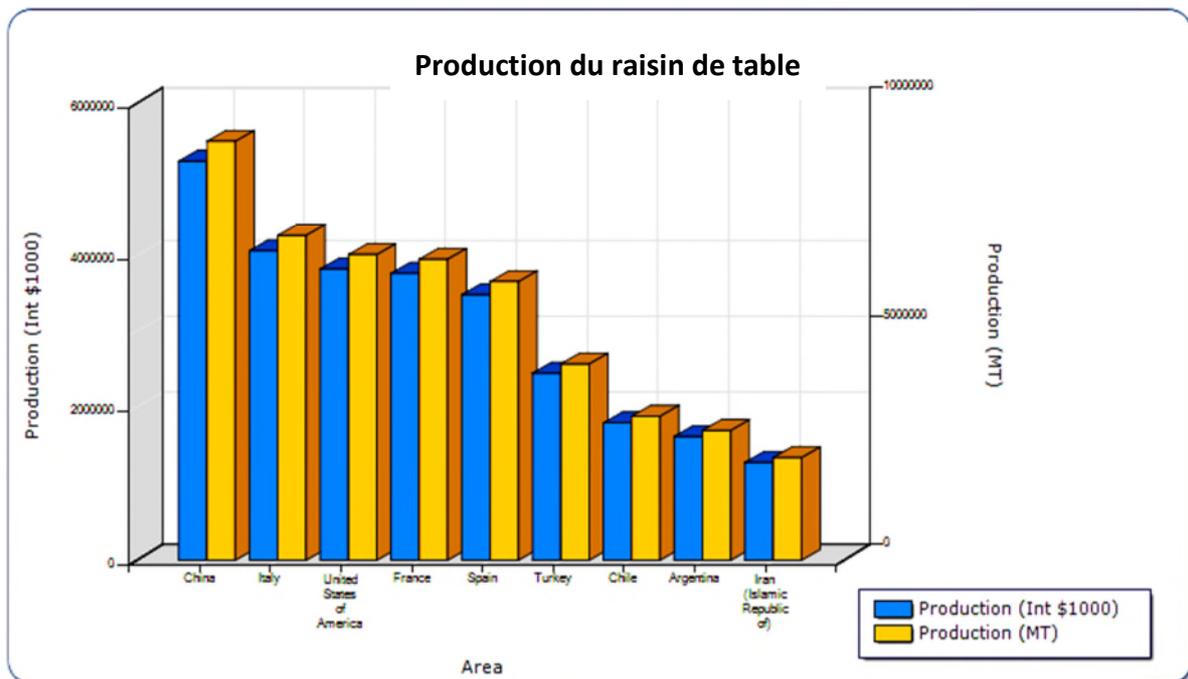


Figure 2 : Représentation graphique de la production mondiale de raisins (FAO, 2011).

I.6.2. Production de raisins au niveau de la wilaya de Bejaia

Selon la Campagne Agricole 2003-2004 : la wilaya de Bejaia a produit au total 218 05 Qx de raisins de table. Amizour se retrouve en tête avec une production de 151 90Qx, suivi de la commune de Bejaia et de Timezrit qui produisent 176 5 et 160 0Qx respectivement (figure 3). (DSA, 2012).

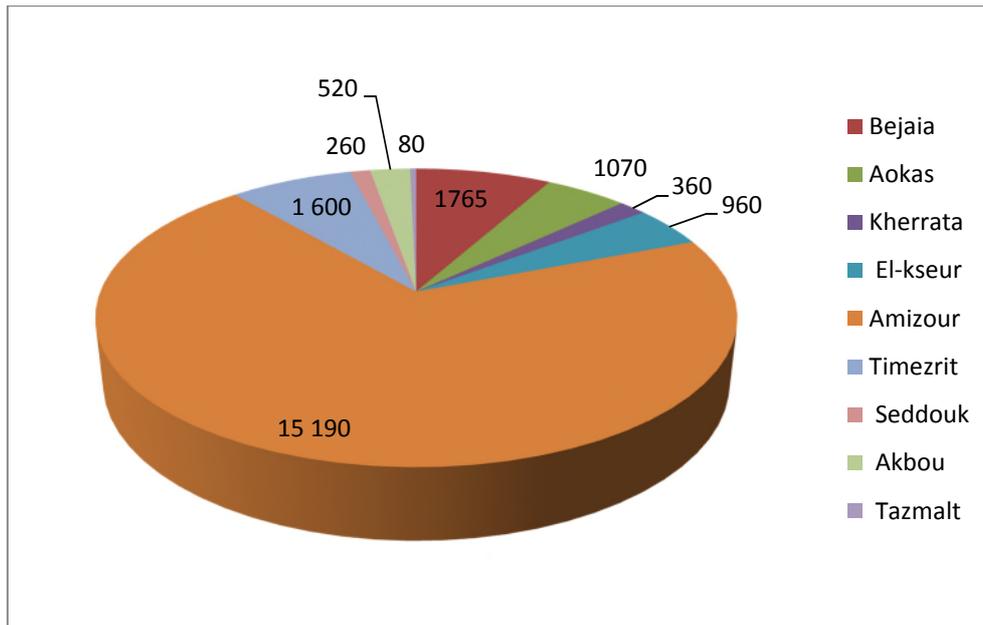


Figure 3 : présentation graphique de la production de raisins au niveau des différentes communes de la wilaya de Bejaia (2003-2004). (DSA 2012).

II. Activité antioxydante du raisin

II.1. Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome qui contient un électron célibataire sur une orbitale. L'oxygène est sans doute le composé dont le pouvoir oxydant est le plus puissant parce qu'au niveau de la couche externe de l'atome d'oxygène, deux électrons seulement sont appariés, alors que deux électrons sont célibataires. Ainsi l'oxygène, chaque fois qu'il le peut, « arrache » les électrons pour se stabiliser, ce qui explique son pouvoir oxydant (Leverve, 2006).

II.2. Stress oxydant

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'Espèces Réactives d'Oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants. Un stress oxydant se définira lorsqu'il y aura un déséquilibre profond entre antioxydants et pro oxydants en faveur de ces derniers (Pincemail *et al.*, 2002). Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquences, est à l'origine de plusieurs maladies chroniques (cancer,...). L'organisme peut faire face à ce déséquilibre par un système antioxydant (Favier, 2003).

II.3. Antioxydants

Les sources primaires des antioxydants sont les grains entiers, fruits et légumes. Les Plantes sont des sources d'antioxydants naturels comme la vitamine C, la vitamine E, caroténoïdes, acides phénoliques, phytate et des phytoestrogènes. La caractéristique principale d'un antioxydant est sa capacité d'emprisonner les radicaux libres. Les radicaux libres et les espèces fortement réactives de l'oxygène sont présents dans des systèmes biologiques d'une large variété de sources. Ces radicaux libres peuvent oxyder les acides nucléiques, les protéines, les lipides ou l'ADN et peuvent lancer la maladie dégénérative. Les antioxydants comme les acides, les polyphénols et les flavonoïdes phénoliques piègent les radicaux libres tels que le peroxyde, le peroxyde d'hydroperoxyde ou de lipide et empêchent ainsi les mécanismes oxydants qui mènent aux maladies dégénératives (Miller et *al.*, 2000).

II.4. Antioxydants du raisin

II.4.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont largement présents dans le règne végétal (pommes, pêches, thé, cacao, raisins...) et dans les produits qui en dérivent (cidre, chocolat, vins...). Dans la nature, plus de cent mille composés sont présents et près de deux cents sont connus dans le raisin, les composés phénoliques proviennent principalement de la pellicule et des pépins de la baie du raisin (Ribéreau-Gayon et *al.*, 1998).

Les polyphénols présentent également des propriétés biologiques intéressantes. Leurs activités anti-oxydantes, anti-cancérogènes, anti-inflammatoires et antivirales sont largement étudiées en cosmétologie ou pharmacologie (Yadav et *al.*, 2009).

Les polyphénols de la vigne sont répartis en deux groupes : le groupe des flavonoïdes et le groupe des non flavonoïdes. Les composés flavonoïdes les plus abondants dans le raisin sont les flavonols, les anthocyanes et les flavon-3-ols (Gomez, 2009). Les composés non-flavonoïdes qui regroupent les esters hydroxycinnamoyltartriques (acides Hydroxycinnamiques et hydroxy benzoïques) et les stilbènes (Roland, 2010).

I.4.1.1. Composés flavonoïdes

Les flavonoïdes qui sont caractérisés par un squelette de base à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆) de type 2-phényl-benzopyrone qui est présentée dans la figure (3).

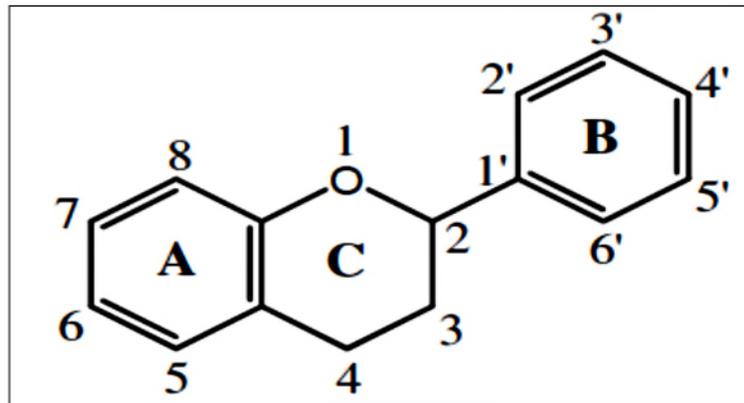


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Gomez., 2009).

a. Anthocyanes

Les anthocyanes sont les pigments rouges situés dans le suc vacuolaire des cellules de la pellicule et plus exactement dans les trois ou quatre premières assises cellulaires de l'hypoderme (Amrani *et al.*, 1994). Ils sont aussi présents dans la pulpe des cépages teinturiers (Pecket, 1980 et Amrani, 1995).

Les anthocyanes ont une structure de base commune, le cation flavylum ou 2-phényl-1-Benzopyrilium. Leurs structures se différencient par le nombre et la position de groupes hydroxyls et méthyles sur le noyau B (Gomez, 2009).

La molécule d'anthocyanine diffère des autres flavonoïdes dans la charge positive sur C5 (figure 5). La structure d'anthocyanine est complétée par une ou plusieurs molécules de sucres métabolisées à différentes positions hydroxylées de la structure de base. Les anthocyanines les plus abondantes dans les raisins sont les formes de glucoside de cyanidine, de malvidine, de delphinidine, de péonidine, de pétunidine et de pelargonidine (Corrales *et al.*, 2009).

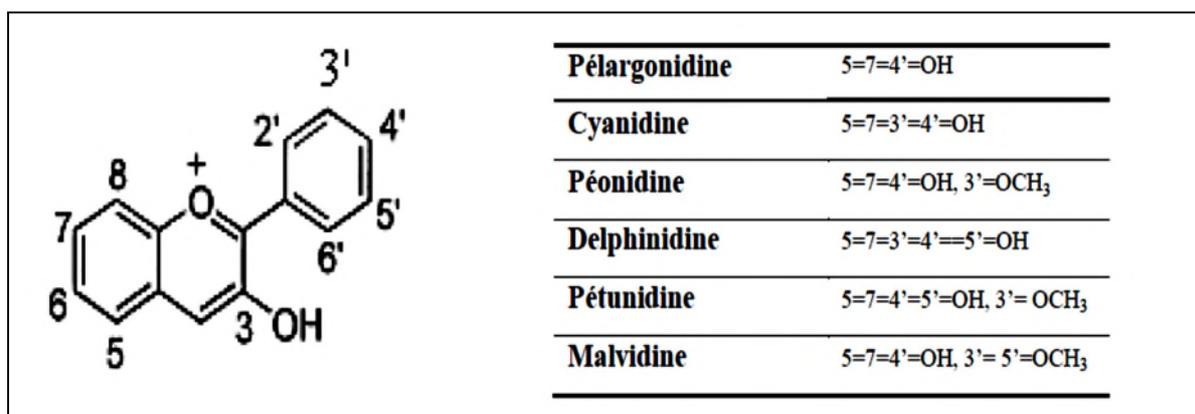


Figure 5: Structure chimique des anthocyanines (Wang et Stoner, 2008).

b- Flavonols

Les flavonols (figure 6) sont des pigments jaunes qui s'accumulent dans les baies à maturité, notamment en réponse à l'exposition au rayonnement UV. Dans les cépages rouges, on détecte majoritairement la quercitrine (44%), la myricétine (37%) et en plus faible quantité le kaempférol, la laricitrine, l'isorhamnetine et la syringétine. Dans les cépages blancs, on trouve principalement de la quercitrine (81%) et du kaempférol (17%) et en plus faible quantité l'isorhamnetine (Mattivi et *al.*, 2006). Dans le raisin, les flavonols se trouvent globalement en quantité inférieure aux proanthocyanidines et aux anthocyanes (Downey et *al.*, 2003). Ils s'accumulent uniquement sous forme glycosylée, majoritairement quercétine 3-O-glucoside et quercétine 3-O-glucuronide (Cheynier et Rigaud, 1986 ; Price et *al.*, 1995 ; Downey et *al.*, 2003).

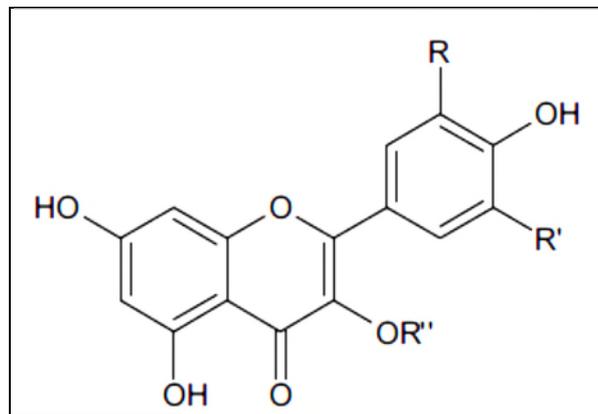


Figure 6 : Structure de base des flavonols (Roland, 2010).

c. Flavan 3-ols (Tanins condensés)

Les flavan-3-ols (figure 7) sont présents dans le raisin sous forme de monomères et de structures polymérisées, appelées proanthocyanidines ou tanins condensés. Les structures de base des proanthocyanidines, sont les flavan-3-ols. Les flavonoïdes, qui sont caractérisés par un squelette de base à 15 atomes de carbone (C₆- C₃-C₆) de type 2-phényl-benzopyrone qui peuvent être estérifiés en position 3 par l'acide gallique (Prieur et *al.*, 1994), sont des monomères stéréo-isomères, (+)-catéchine et (-)- épicatechine (Dixon et *al.*,2005).

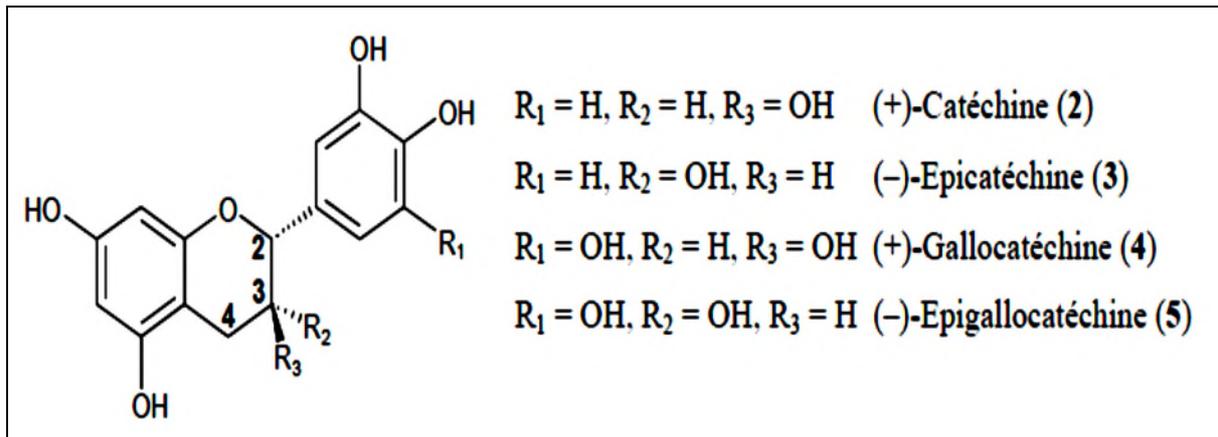


Figure 7 : Structures chimiques des principaux monomères des tannins condensés du raisin (Jourdes, 2003).

II.4.1.2. Composés non flavonoïdes

a. Acides phénoliques

a.1. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C6-C1, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique. Le principal composé est l'acide gallique dont la teneur est comprise entre 100 et 230 mg/kg (Chira et *al.*, 2008).

a.2. Acides hydroxycinnamiques

L'acide cinnamique et les acides hydroxycinnamiques sont aussi désignés sous le terme de phénylpropanoïdes. Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en ester d'alcool aliphatique. Les acides hydroxycinnamiques communs sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique. Ils sont produits par des séries d'hydroxylation et de méthylation et ils s'accumulent souvent sous forme d'esters d'acide tartrique : acides coutarique, caftarique et fertarique. Ces constituants sont surtout présents dans la pulpe de la baie de raisin. Le composé majeur des acides hydroxycinnamiques dans le raisin est l'acide caftarique (ester caféoyl-tartrique) que l'on peut rencontrer avec un taux de l'ordre de 200 mg/kg (Chira et *al.*, 2008).

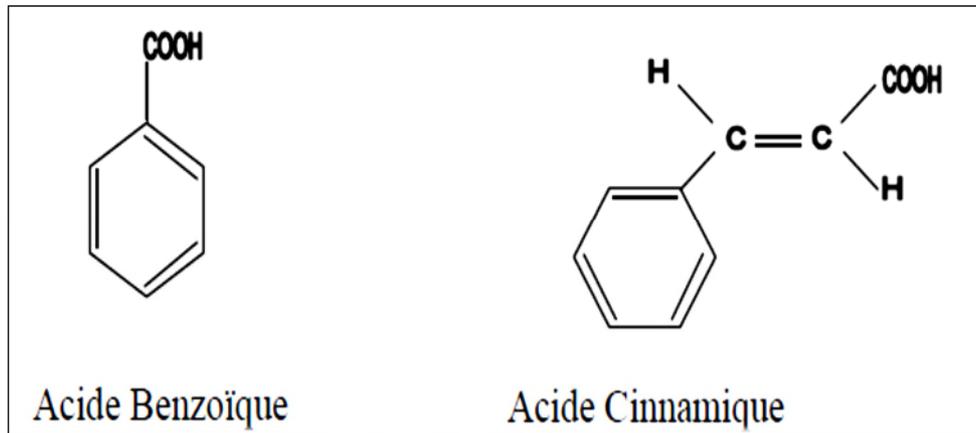


Figure 8 : Structures de base des acides phénoliques (Zuo et *al.*, 2002).

b. Stilbénes

Les stilbénes (figure 9) sont des composés polyphénoliques qui ont une structure $C_6-C_2-C_6$, deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule (Perret, 2001). Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales, ce qui a été démontré pour le transresvératrol (Bavaresco et *al.*, 2009). Le resvératrol est fréquemment répendu dans la peau des raisins rouges (Wallerath et *al.*, 2002). Se trouve sous forme cis et trans, et est présent dans les tissus végétaux principalement sous forme de transresvératrol-3-O-glucosides (trans-picéide et trans-astringine). Il existe des formes oligomères des stilbénes, identifiées dans le raisin, telles que le pallidol et les viniférines (Chira et *al.*, 2008).

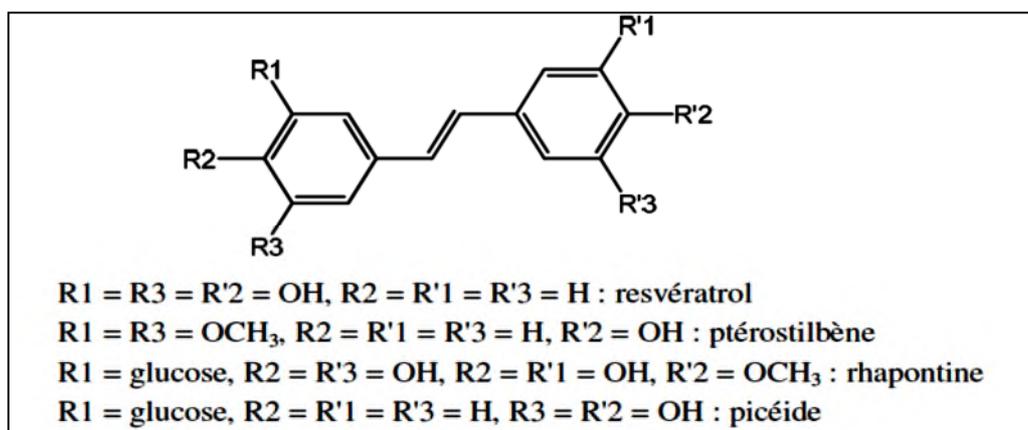


Figure 9: Structures chimiques des stilbénes (Chira et *al.*, 2008).

II.4.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes rassemblent plus de 600 composés, appartenant à la famille chimique des Térénoïdes, dont le point commun est une longue chaîne polyénique comportant en moyenne 11 doubles liaisons conjuguées (figure 10). Ils regroupent deux classes de composés : les carotènes et les Xanthophylles ; les carotènes sont des hydrocarbures polyéniques à 40 atomes de carbones (C40), tandis que les xanthophylles comprennent au moins une fonction oxygénée (hydroxyle, époxyde, carbonyle ou carboxyle). La majorité des caroténoïdes appartiennent à cette dernière classe. (Chanforan, 2010).

Les caroténoïdes du raisin les plus abondants sont : β -carotène et lutéine, représentant approximativement 85% de la totalité, et à ceux-ci sont accompagnés d'autres caroténoïdes minoritaires comme le néaxanthine, violaxanthine, luteine-5,6-epoxide, zéaxanthine, néochrome, flavoxanthine et lutéoxanthine (Baumes *et al.*, 2002).

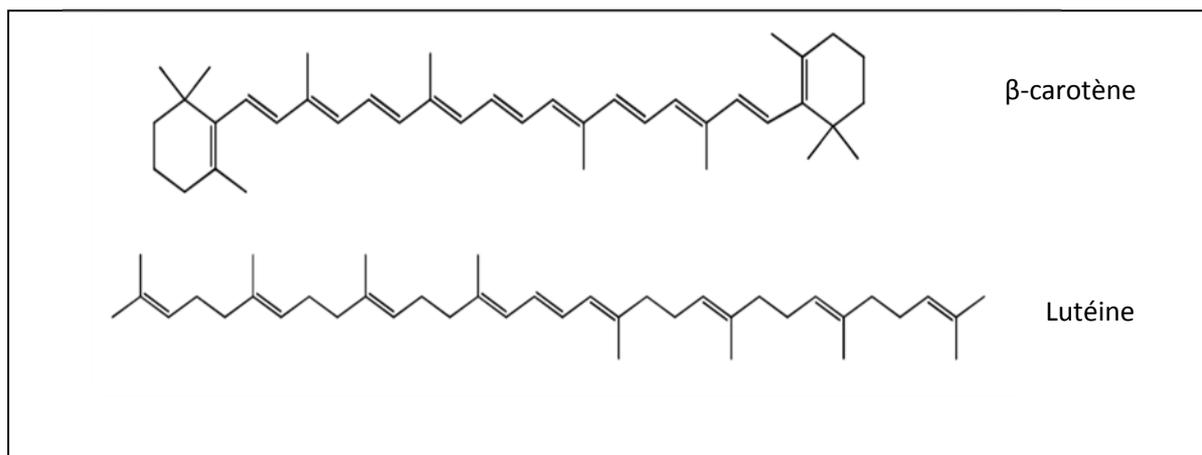


Figure 10 : Structures de quelques caroténoïdes de raisins (Baiano *et al.*, 2005)

II.4.3. Vitamine C

D'un point de vue chimique, la vitamine C regroupe l'acide L-ascorbique et sa base conjuguée: l'ion ascorbate .L'acide ascorbique est stable à l'état solide, à l'abri de la lumière et de l'humidité. En revanche, en solution aqueuse, il s'altère très rapidement au contact de l'oxygène. La chaleur, la présence d'ions métalliques ou un milieu basique accélèrent significativement ce phénomène d'oxydation (Chanforan, 2010).

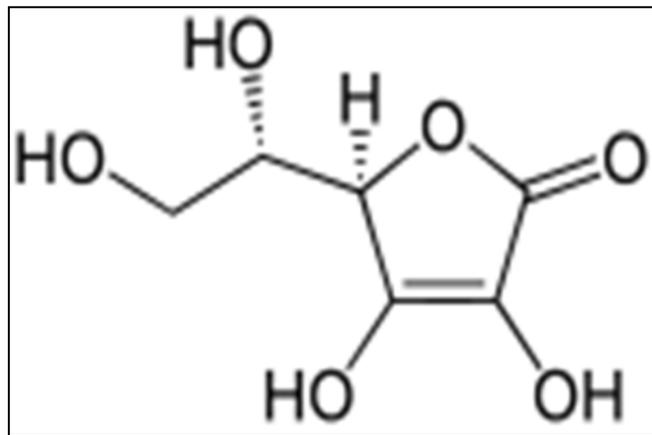


Figure 11 : Structure de base de l'acide L-ascorbique (Chanforan, 2010)

Matériel
et Méthodes

I. Matériel végétal

Sept variétés de raisins, ont été récoltées durant le stade de maturité de chaque variété dans la région d'Amizour située dans la wilaya de Bejaia. Chaque variété est représentée par un échantillon de 3 kg choisi sur la base de critères établis ; fruits sains, à plein maturité, de taille et de couleur uniformes. Les sept variétés ont été nettoyées, épluchées. Les pellicules de chaque variété ont été récupérées, séchées, broyées. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées.



A Bouamar



Cardinal



Dattier



Gros-noir



Italia



Muscat



Saba

II. Test d'humidité

La teneur en humidité est déterminée par le test de perte à la dessiccation de 5g de peau du raisin à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à poids constant (16-18 h). Les résultats sont exprimés en pourcentage (Lako *et al.*, 2007).

$$H\% = (P_0 - P_1) / P \times 100$$

Où :

P₀ : poids initial de l'échantillon frais.

P₁ : poids de l'échantillon après séchage.

P : prise d'essai.

III. Dosage des antioxydants

III.1. Composés phénoliques

III.1.1. Préparation des extraits

3 g d'échantillon sont additionnés à 25mL du méthanol (99%). Après agitation pendant 1 heure à température ambiante, le surnageant est récupéré et le résidu subit une deuxième extraction. Les filtrats sont combinés et centrifugés à 3000 rpm (15 min). Le surnageant récupéré est concentré dans l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Parejo et *al.*, 2004). Les extraits sont dissous dans du méthanol (99%) à des volumes connus pour donner des solutions mères à des concentrations connues qui sont conservées à moins de 0°C.

III.1.2. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) avec quelques modifications. 50µL d'extrait sont mélangés avec 3mL d'eau distillée plus 250µL du réactif de Folin-Ciocalteu. 750µL de carbonate de sodium (20%) et 950µL d'eau distillée sont additionnés. Après 2 heures d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760nm.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche, par référence à une courbe d'étalonnage (AnnexeIII).

III.1.3. Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode colorimétrique de Lamaison et Carnat (1991), rapportée par Bahorun et *al.* (1996).

1,5 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium hydraté (AlCl₃, 6 H₂O) à 2% sont additionnés à 1,5 ml d'extrait. Le mélange est vigoureusement homogénéisé et laissé reposer pendant 15 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances des échantillons sont lues au spectrophotomètre à 430 nm. Les résultats sont rapportés en mg équivalent de quercétine par 100g de matière sèche.

III.1.4. Tanins totaux

Dans la présente étude, nous avons utilisé le protocole de précipitation des protéines (BSA) proposé par Hagerman et Butler (1978). 1 ml de la solution BSA sont ajoutés à 1 ml de solution d'extrait. Après 24 heures d'incubation à 4°C, une centrifugation est réalisée à 4000 rpm pendant 15 min. Le culot récupéré est dissout dans 2 ml de la solution SDS/TEA pendant 15 min, puis additionné de 0,5 ml de chlorure de fer (FeCl₃) à 0,1%. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement avant d'être laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 15 min.

Les absorbances des échantillons sont lues à 510 nm ; les résultats sont rapportés en mg équivalent d'acide tanique par 100g de matière sèche (Annexe III).

III.1.5. Tanins condensés (Proanthocyanidines)

La teneur en proanthocyanidines est déterminée selon la méthode rapportée par Skerg et *al* (2005). 0,2ml de solution d'extrait sont additionnés à 2ml de réactif de butanol sulfate de fer ; le mélange est incubé au bain marine à 95°C pendant 20 minutes, l'absorbance est mesurée à 530nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside/100g de poids sec, sont calculés en utilisant la formule suivante :

$$C \text{ (mg/l)} = A. MM. Fd. 1000 / \epsilon L$$

D'où

A= absorbance ;

MM: masse molaire de la cyanidine-3-glucoside= 494g /mol ;

Fd: facteur de dilution ;

ε:(coefficient d'extinction molaire)= 347 00L/mol .cm ;

L: le trajet optique.

III.1.6. Flavonols

La méthode rapportée par kumaran et karunakaran (2007) est utilisée pour estimer la teneur en flavonols : 0,5ml du chlorure d'aluminium (2%) et 0,75ml d'acétate de sodium sont ajoutés à 0,5ml d'extrait. après incubation pendant 30min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 440 nm. Le contenu en flavonols est exprimé en mg équivalent de quercétine par 100g de poids sec par référence à une courbe d'étalonnage.

III.2. Anthocyanines

0,75g d'échantillon sont additionnés de 10ml de solvant d'extraction (méthanol pur) contenant 0,2% d'acide formique ; après agitation pendant 40 min, le mélange est centrifugé à 5000 rpm (30min). 5mL du solvant d'extraction sont ajoutés au culot ; la même opération est répétée jusqu'à l'épuisement de la couleur, les surnageants sont rassemblés (Wang et *al.*, 2008).

Deux dilutions d'extrait sont préparées, l'une avec le tampon chlorure de potassium (pH 1), l'autre avec le tampon acétate de sodium (pH 4,5). L'absorbance est mesurée à 510 et 700 nm (deux lectures) après 15 min d'incubation. La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par 100g de matière sèche en utilisant un coefficient d'extinction molaire (ϵ) de la cyanidine-3-glucoside (Jakobek et *al.*, 2007). La teneur en anthocyanines est calculée selon la formule :

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

D'où:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH1}} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH4.5}}$$

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

ϵ : (Coefficient d'extinction molaire) = 26900 L/mole/cm ;

FD: Facteur de dilution ;

L:(longueur de la cuve) = 1 cm.

III.3. Caroténoïdes

10 ml de solvant d'extraction (hexane /acétone/éthanol, 5,5 /2,5/2) sont ajoutés à 1,5g de la poudre de pellicule de raisins, le mélange est agité pendant 3min, le surnageant est récupéré et l'opération est répétée jusqu'à l'épuisement de la couleur. 1ml de KOH (1N) est ajouté au surnageant, le mélange est mit dans une ampoule à décanter pendant 40 min à l'abri de la lumière (Soto-Zamora et *al.*, 2005). La teneur en caroténoïdes est déterminée par la mesure de l'absorbance de la phase hexanique à 450nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de β -carotène par 100g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe III).

IV. Évaluation du pouvoir antioxydant

IV.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction, dont la réduction du chlorure ferrique (FeCl_3) en chlorure ferreux (FeCl_2) en présence d'un agent chromogène: le ferricyanure de Potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] en milieu acidifié par l'acide trichloracétique (Ribeiro et *al.*, 2008).

Le pouvoir réducteur des différents extraits a été déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), rapportée par Kumar et *al.* (2005). Un volume de 1mL de chaque extrait, à différentes concentrations, est ajouté à 2,5mL de tampon phosphate (pH 6,6 ; à 0,2M), suivi de 2,5mL de ferricyanure de Potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1% ; après agitation, le mélange est soumis à l'incubation à 50°C pendant 20min. 2,5mL d'acide trichloracétique à 10% sont additionnés au mélange qui est centrifugé à 3000 rpm pondant 10 min. Un volume de 2,5mL d'eau distillée est ajouté à 2,5mL du surnageant, puis 0,5mL de chlorure ferrique à (0,1%) est ajouté au mélange. Le mélange préalablement homogénéisé est incubé pendant 10min à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 700nm

IV.2. Neutralisation du radical DPPH*

L'activité antiradicalaire des différents extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical diphényle picryl-hydrazyl (DPPH*), par don d'atomes d'Hydrogène ou d'électrons (Molyneux, 2004).

Le protocole utilisé dans cette méthode est celui de Milardović et *al.* (2006). Il consiste à mélanger 2,9 ml de la solution DPPH* (6×10^{-5}) avec 0,1 ml de chaque extrait à différentes concentrations; la mesure de la réaction de réduction de la solution du DPPH* a été faite à 515 nm après incubation de 30 min. Les valeurs IC_{50} ont été déterminées pour chaque extrait et définies comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH*. Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH* est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH}^* = (\text{Abs}_{\text{contr}} - \text{Abs}_{\text{éch}} / \text{Abs}_{\text{contr}}) 100$$

Dont :

Abs_{contr} : Absorbance du contrôle.

Abs_{éch} : Absorbance de l'échantillon.

IV.3. Activité antioxydante mesurée par le radical cation ABTS^{*+}

Le radical cation ABTS^{*+} est généré en mélangeant, à volume égal, une solution de 3 mM de persulfate de potassium K₂S₂O₈ et une solution d'ABTS^{*+} à 8 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à température ambiante durant 16 h avant utilisation). La solution obtenue est diluée avec de l'éthanol pur pour avoir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. 2,9 ml de cette solution fraîchement préparée sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait et la lecture est faite à 734 nm après 15 min (Ba et *al.*, 2009).

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition d'ABTS}^{*+} = (\text{Abs}_{\text{contr}} - \text{Abs}_{\text{éch}} / \text{Abs}_{\text{contr}}) 100$$

Dont :

Abs_{contr} : Absorbance du contrôle.

Abs_{éch} : Absorbance de l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage.

V. Analyse statistiques

Les moyennes et les écarts types sont calculés à partir de trois essais avec Exel de Microsoft Office 2007.

Une analyse statistique est faite par l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur pour le test d'humidité, les différents dosages et les résultats de l'activité antiradicalaire, avec STATISTICA (5.5). Quant à l'analyse statistique des résultats du pouvoir réducteur, elle a été réalisée par l'analyse de la variance à deux facteurs. Le degré de signification de données est pris à la probabilité $p < 0,05$.

Résultats et discussion

I. Teneurs en humidité

Les résultats d'humidité des sept variétés du raisin sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau V: Taux d'humidité des échantillons

Variétés	Humidité (%)
<i>A.Bouamar</i>	15,48±1,14 ^a
<i>Cardinal</i>	15,96±1,53 ^a
<i>Dattier</i>	15,8±0,93 ^a
<i>Gros-noir</i>	15,51±1,04 ^a
<i>Italia</i>	16,41±2,08 ^a
<i>Muscat</i>	15,64±1,72 ^a
<i>Saba</i>	15,70±1,82 ^a

Aucune différence significative n'a été trouvée entre les sept variétés étudiées.

La pellicule de raisins n'est pas riche en eau (15,48 et 16,41%) par rapport à la pulpe ; selon Valnet (2001), la teneur moyenne en eau dans la pulpe du raisin est de 72,92%.

Les documents concernant les teneurs en humidité dans la pellicule du raisin sont limités. Cependant, les travaux réalisés se sont concentrés sur le fruit entier ou sur la pulpe.

II. Dosage des antioxydants

II.1. Polyphénols totaux

Les solvants d'extraction les plus utilisés sont : eau, méthanol, éthanol, acétone et hexane (Vercauteren, 1996). Dans la présente étude, le solvant utilisé est le méthanol pur (99%).

Les teneurs en composés phénoliques totaux des sept variétés du raisin étudiées sont représentées sur la figure 12.

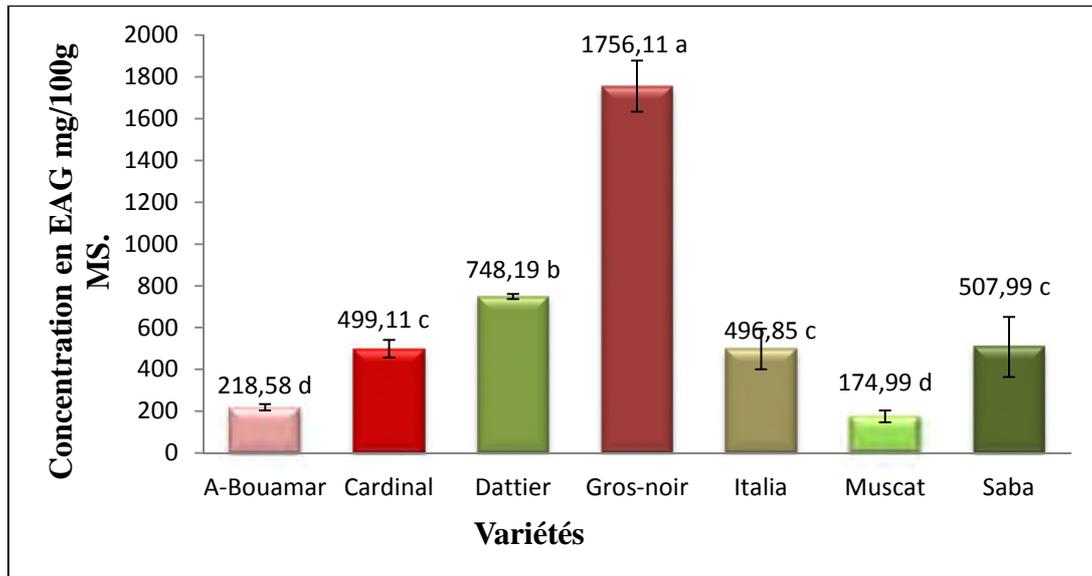


Figure12 : Concentration en polyphénols totaux.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes *a, b, c et d* tel que ($a > b > c > d$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

Les teneurs en composés phénoliques varient selon la variété. L'analyse statistique a montrée que la valeur la plus élevée est celle de *Gros-noir* ($1756,11 \pm 121,80$ mgEAG/100g MS), suivi du *Dattier* avec une teneur de $748,19 \pm 12,25$ mg EAG/100g MS, du *Saba*, *Cardinal* et *Italia* ($507,99 \pm 143,75$ mgEAG/100gMS, $499,11 \pm 42,52$ mgEAG/100gMS, $496,85 \pm 96,99$ mgEAG/100g MS, respectivement). Les deux variétés *A.Bouamar* et *Muscat* sont les moins riches en polyphénols totaux ($218,58 \pm 15,93$ mg EAG/100g MS, $174,99 \pm 28,40$ mg EAG/100g MS).

Le contenu phénolique des raisins dépend principalement des variétés étudiées et non pas de la couleur de la peau (Katalinic et al., 2006). Dans la présente étude, la variété *A. Bou-amar*, qui est de couleur rouge, présente une faible quantité en composés phénoliques par rapport aux variétés à peau blanche (*Dattier*, *Saba* et *Italia*).

Les teneurs en polyphénols totaux des variétés étudiées est plus faible de celles trouvées par Katalinic et al. (2010) ($2220 \pm 9,95$ mg EAG/100g de MS et $4500 \pm 26,3$ mg EAG/100g de MS pour les variétés blanches et rouges respectivement).

Cette différence est peut être due à la méthode d'extraction. En effet, Goli et al. (2005) rapportent que la concentration en composés phénoliques dépend de la méthode et du solvant

d'extraction. Ajouter à cela, les variétés du raisin étudiées, leur état de maturation et les conditions climatiques.

II.2. Flavonoïdes

Les concentrations en flavonoïdes des extraits étudiés sont présentées dans la figure 13.

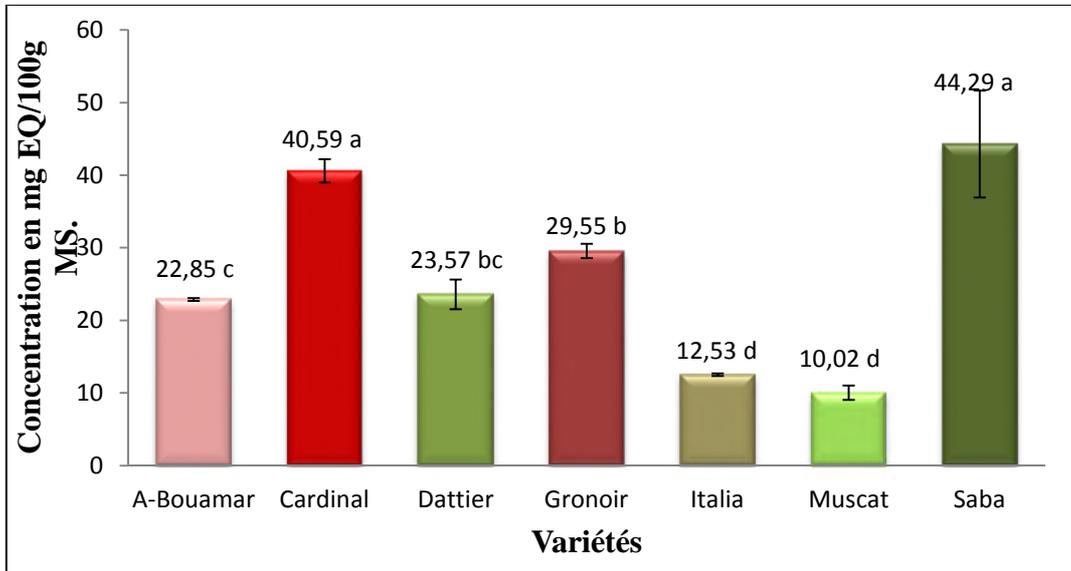


Figure 13 : Concentration en flavonoïdes.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes *a*, *b*, *c* et *d* tel que ($a > b > c > d$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

Les variétés *Saba* et *Cardinal* présentent les teneurs en flavonoïdes les plus élevées ($44,29 \pm 7,36$ mg EQ/100g MS ; $40,59 \pm 1,60$ mg EQ/100g MS respectivement) suivi de *Gros-noir* ($29,55 \pm 1,00$ mg EQ/100g MS) ($p < 0,05$); *A.Bouamar* présente une valeur de $22,85 \pm 0,19$ mg EQ/100g MS. La variété *Dattier* est concédérée comme un groupe intermédiaire entre *A.Bouamar* et le *Gros-noir* avec une teneur de $23,57 \pm 2,04$ mg EQ /100g MS, les deux variétés *Italia* et *Muscat* présentent les valeurs les plus faibles ($12,53 \pm 0,17$ mg EQ/100g MS, $10,02 \pm 1,00$ mg EQ/100g MS).

Ces résultats concordent avec les données de Makris *et al.* (2006) qui ont trouvé des teneurs en flavonoïdes qui varient entre 9,9mg EQ/100g MS et 57,15 mg EQ/100g MS.

II.3. Tanins totaux

La méthode utilisée pour le dosage des tanins est basée sur la capacité des tanins à former des complexes insolubles avec la protéine BSA et de former des solutions colorées avec certains métaux.

Les résultats du dosage des tanins sont montrés dans la figure 14.

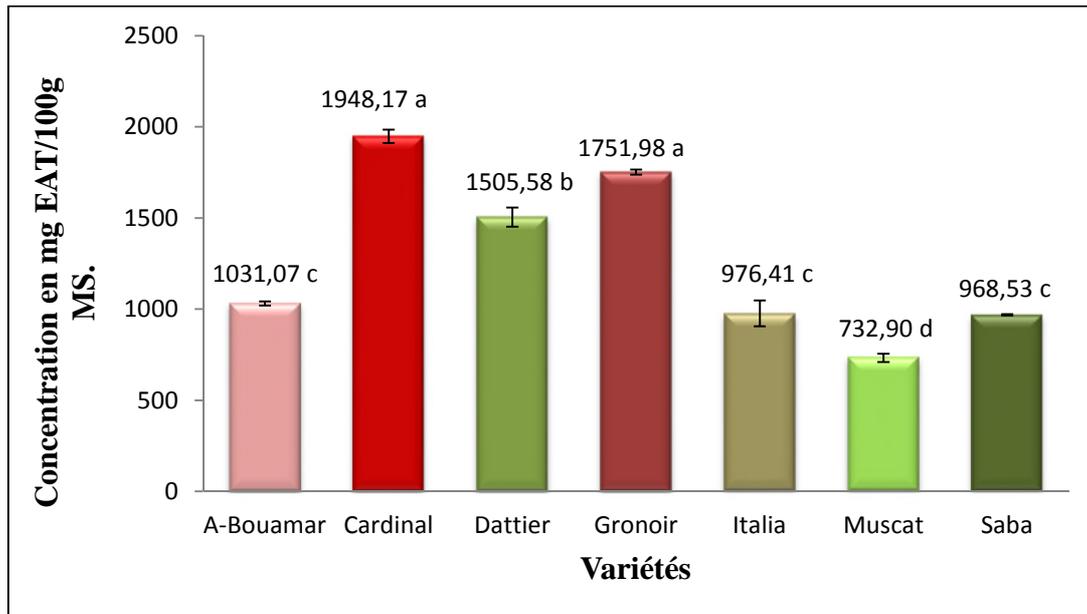


Figure 14 : Concentration en tanins.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes tel que ($a > b > c > d$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

L'ensemble des extraits renferment des tanins avec des concentrations relativement différentes.

Les variétés *Cardinal* et *Gros-noir* possèdent les teneurs les plus élevés en tanins ($1948,17 \pm 115,69$ mg EAT/100mg MS ; $1751,98 \pm 146,04$ mg EAT/100g MS, respectivement), suivies du *Dattier* ($1505,58 \pm 527,19$ mg EAT/100g MS). Les variétés *A.Bou-amar*, *Italia* et *Saba* ne présentent pas une différence significative, leurs teneurs sont respectivement $1031,07 \pm 115,69$ mg EAT/100g MS ; $976,41 \pm 709,46$ mg EAT/100g MS ; $968,53 \pm 36,76$ mg EAT /100g MS. La plus faible valeur est représentée par la variété *Muscat* ($732,9 \pm 234,74$ mg EAT/100g MS).

Les résultats enregistrés dans la présente étude sont largement supérieur à ceux rapportés par Bordiga et al. (2011), varient entre 36 et 258 mg EAT/100g MF.

Des comparaisons n'ont pas pue être réaliser en terme de matière sèche.

II.4. Proanthocyanidine

Au sein de la baie du raisin, les tanins condensés sont localisés principalement dans les pépins et dans les pellicules (Ricardo Da Silva et al., 1992). Les concentrations en tanins condensés de sept variétés du raisin étudiées sont représentées dans la figure ci-dessous :

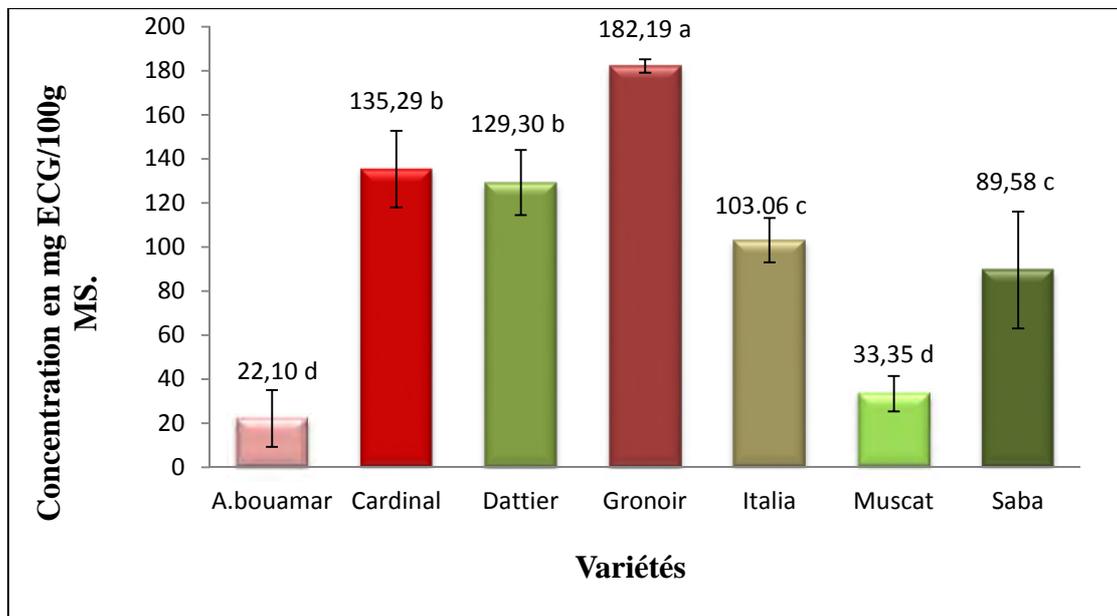


Figure 15 : Concentrations en tanins condensés.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes a, b, c et d tel que (a > b > c > d). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative (p < 0,05). Les barres verticales représentent l'écartype.

Le Gros-noir présente la teneur la plus élevés de 182,19±3,01mg ECG /100g MS ; suivie des deux variétés Cardinal et Dattier qui présentent une différence significative (135,29±17,39 mg ECG/100g MS ; 129,30±14,77 mg ECG/100g MS), puis les variétés Italia et Saba sont significativement similaires (103,06±10,03 mg ECG/100g MS ; 89,58±26,53 mg ECG /100g MS, respectivement). Tandis que Muscat et A.Bouamar révèlent les teneurs les plus faibles (33,35±8,09 mg ECG/100g MS ; 22,10±12,90 mg ECG/100g MS, respectivement).

Dans une étude effectuée par Cosme et *al.* (2008) sur la pellicule du raisin, les auteurs ont obtenus des teneurs en tanins condensés allant de 109±4mg ECG/100g à 584±74mg ECG/100g MS.

II.5. Flavonols

Les flavonols sont une classe des composés flavonoïdes situés dans la peau de la baie du raisin de *Vitis vinifera.*, ils ont été identifiés comme l'un des meilleurs composés phénoliques avec une forte activité antioxydante dans le raisin (Castillo et *al.*, 2010). Les résultats obtenus dans le présent travail sont présentés dans la figure 16.

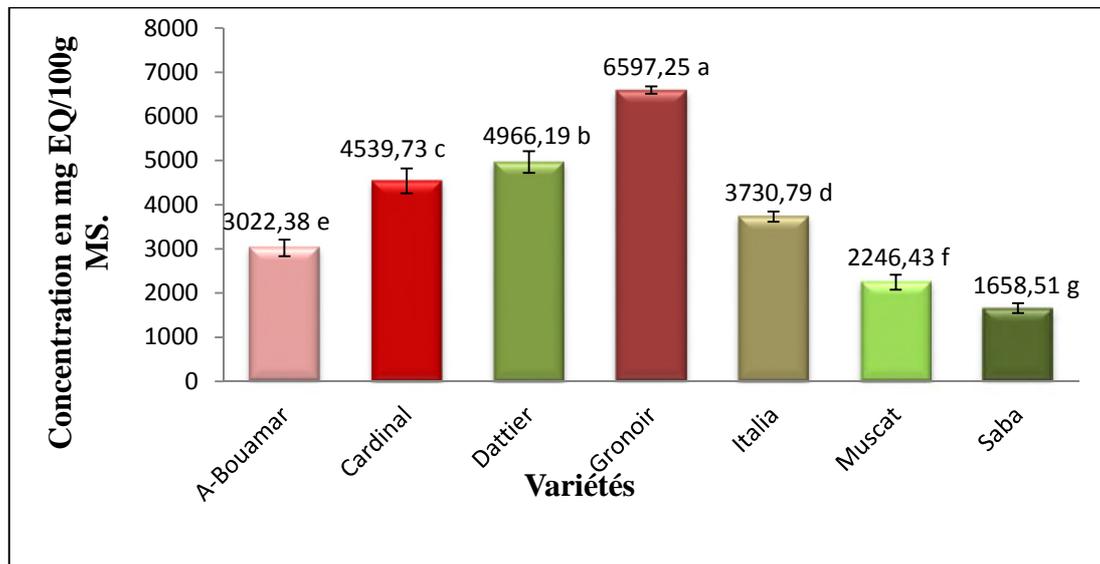


Figure 16 : Concentrations en flavonols.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes a, b, c et d tel que $(a > b > c > d)$. Les concentrations portant des lettres différentes sont différentes significativement ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

L'analyse statistique montre que *Gros-noir* est la variété la plus riche en flavonols avec une teneur de 6597,25±82,07 mg EQ/100g MS, suivie du *Dattier* et *Cardinal* (4966,19±244,99 mg EQ /100g MS ; 4539,73±281,87 mg EQ/100g MS, respectivement), en troisième position se retrouve *Italia* (3730,79±117,98 mg EQ /100g MS), puis *A.bouamar* (3022,38±185,71 mg EQ /100g MS). Les variétés *Muscat* et *Saba* représentent les teneurs les plus faibles (2246,43±168,62 mg EQ /100g MS ; 1658,51±112,01 mg EQ/100g MS, respectivement).

Les résultats trouvés dans la présente étude sont largement supérieurs à ceux rapportés par Ruberto et *al.*, 2005 (104mg/100g-464mg/100gMF) dans la pulpe. Cette différence est due à la partie de la baie étudiée.

II.6. Anthocyanines

Les anthocyanines sont les métabolites secondaires prédominants qui se trouvent dans les peaux du raisin rouge (Corrales et *al.*, 2009).

Les teneurs en anthocyanes dans les sept variétés de raisins sont représentées sur la figure 17.

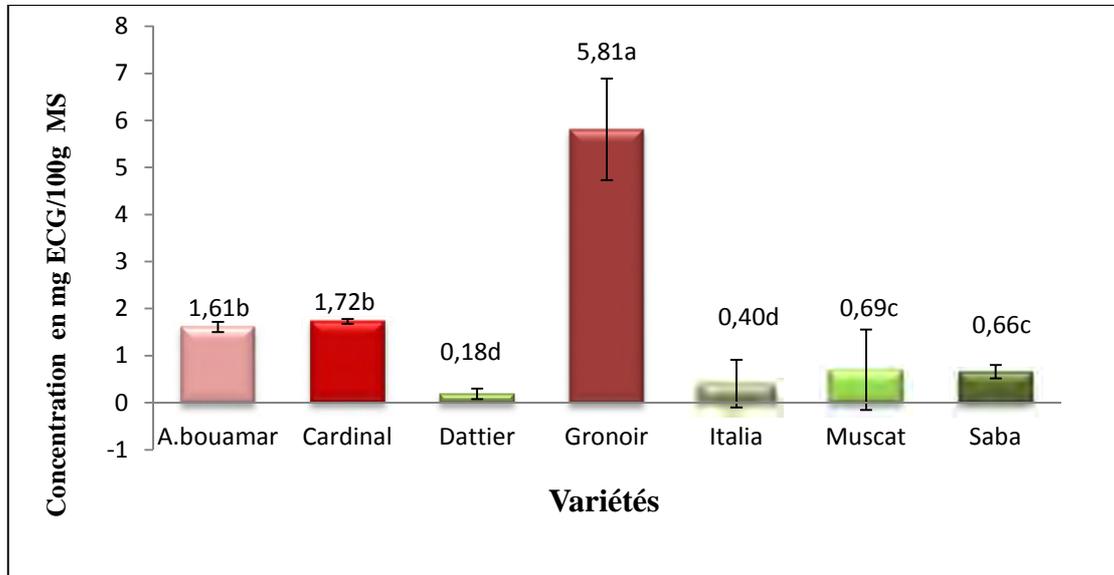


Figure 17 : Concentration en anthocyanines.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes *a, b, c et d* tel que ($a > b > c > d$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

La teneur la plus élevée est celle du *Gros-noir* ($5,81 \pm 1,08$ mg ECG/100g MS) suivi du *Cardinal* et du *A-Bouamar* ($1,72 \pm 0,05$ mg ECG/100g MS, $1,61 \pm 0,10$ mg ECG/100g MS, respectivement). en troisième position, se retrouve *Muscat* et *Saba* avec des teneurs de $0,69 \pm 0,85$ mg ECG/100g MS, $0,66 \pm 0,14$ mg ECG/100g MS, respectivement. Les teneurs les plus faibles sont présentées par les variétés blanches *Italia* et *Dattier* ($0,40 \pm 0,5$ mg ECG/100g MS, $0,18 \pm 0,11$ mg ECG/100g MS respectivement).

Les résultats trouvés dans la présente étude sont remarquablement plus faibles que ceux apportés par Kallithraka et *al.*, (2005), ces dernier ont notés des valeurs en anthocyanines qui varient de 0,85 à 19,14 mg/100g MF.

II.7. Caroténoïdes

A l'issu des dosages effectués, il s'est avéré que les sept échantillons étudiés renferment des teneurs non négligeables en caroténoïdes. La figure (18) montre les résultats du dosage des caroténoïdes.

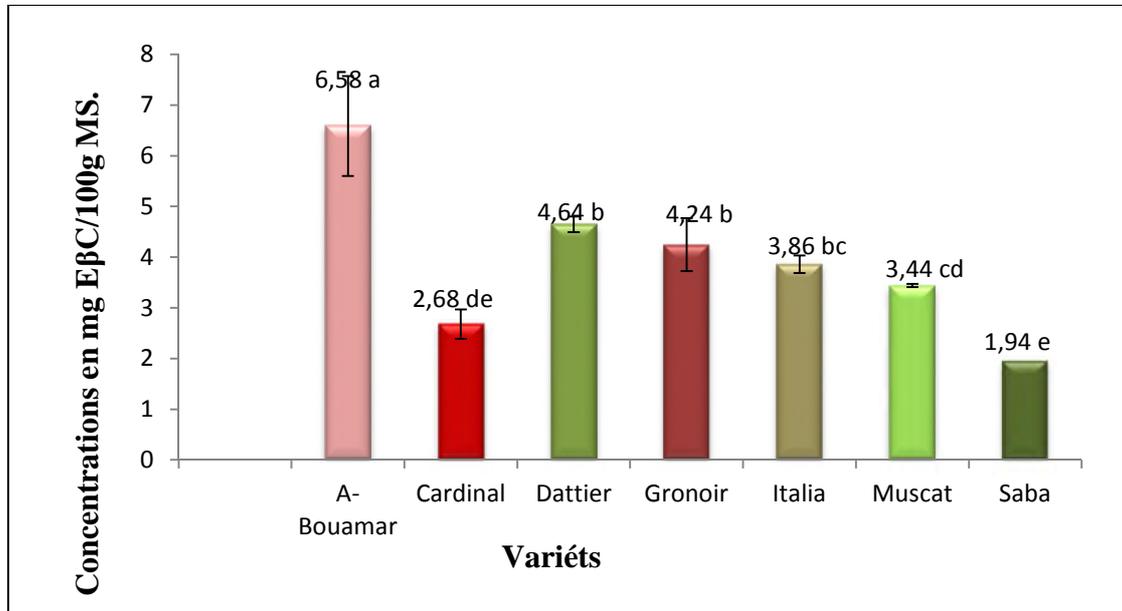


Figure 18: Concentrations en caroténoïdes.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes *a*, *b*, *c* et *d* tel que ($a > b > c > d$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

D'après la présente étude la variété *A.Bouamar* est la variété la plus riche en caroténoïdes avec une teneur de 6.58 ± 0.17 mg EβC/100g de MS suivi du *Dattier*, *Gros-noir* et *Italia* (4.64 ± 0.28 mg EβC/100g de MS $4,24 \pm 0,15$ mg EβC/100g de MS, $3,86 \pm 0,52$ mg EβC / 100g de MS).

L'analyse statistique indique que la variété *Muscat* ($3,44 \pm 0,17$ mg EβC /100g de MS) est un groupe intermédiaire entre *Italia* et *Cardinal* ($2,68 \pm 0,98$ mg EβC/100g de MS). La teneur la plus faible est celle de *Saba* ($1,94 \pm 0,03$ mg EβC/100g de MS). Favier (1993), a également obtenue une concentration faible de l'ordre de $0,03$ mg EβC /100g du raisin.

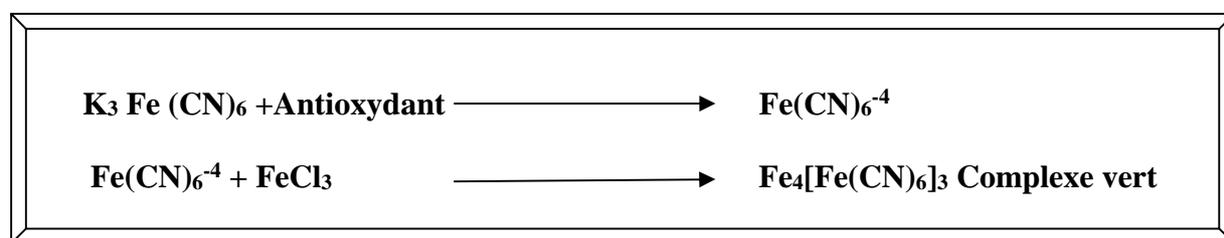
Mendes-Pinto (2009) a rapporté qu'une étude réalisée sur 13 variétés du raisin français, présentent des teneurs en caroténoïdes variant entre $0,08$ et $0,25$ mg EβC /100g MF.

Ces résultats sont pas concordent avec ceux trouvés dans la présente étude; Cette différence peut être due à la méthode d'extraction et de dosage, à la variété du raisin et le degré de maturation ainsi que les conditions climatiques.

III. Évaluation du pouvoir antioxydant

III.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le Fer (Gulçin, 2010 ; Gulçin *et al.*, 2011). De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Huang *et al.*, 2005). Les composés antioxydants causent la réduction de fer ferrique Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{+2} par leurs capacités réductrices. Le complexe vert est formé par l'addition de $FeCl_3$ à la forme ferreux (Fe^{+2}) selon la réaction suivante (Koksal *et al.*, 2011).



Le pouvoir réducteur des extraits méthanoliques des sept variétés du raisin est déterminé par la mesure de l'absorbance à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur (Ribeiro *et al.*, 2008).

La figure (19) montre le pouvoir réducteur des extraits étudiés en fonction de la concentration.

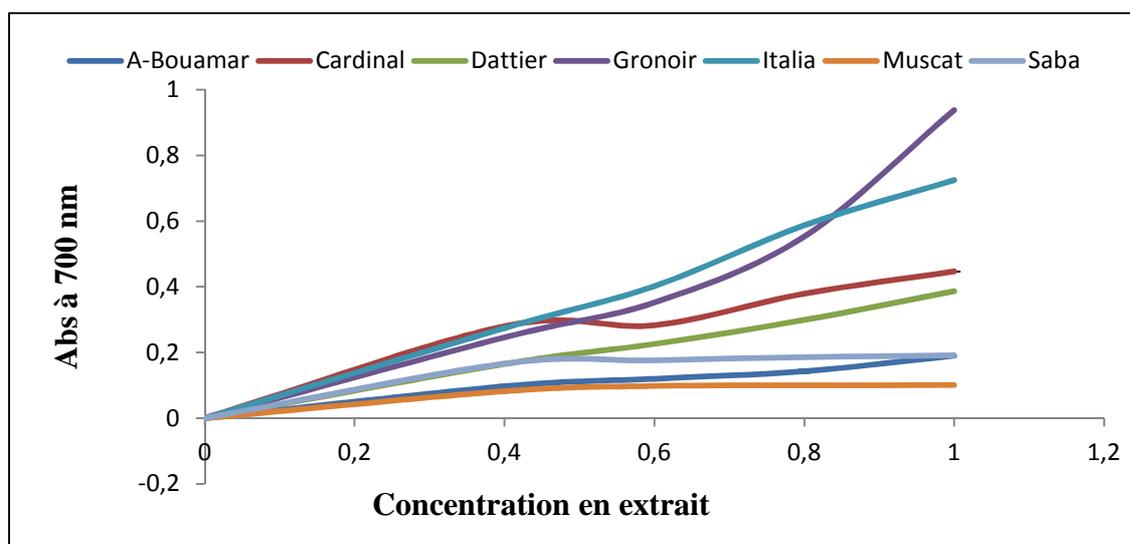


Figure 19 : Pouvoir réducteur en fonction de la concentration des extraits du raisin.

Les courbes obtenues dans la figure (19) indiquent que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait s'élève. Plusieurs études ont confirmé que le pouvoir réducteur est proportionnel à l'augmentation des concentrations (Elmastaşa et *al.*, 2006). Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} .

Les résultats du pouvoir réducteur exprimé en mg d'équivalents de quercétine sont présentés dans la figure 20.

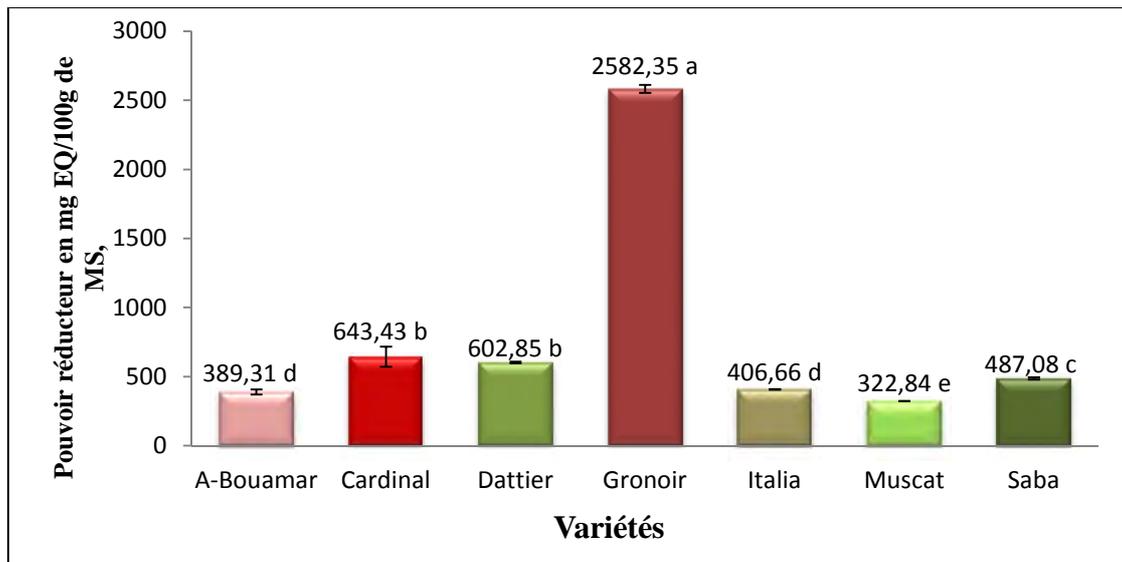


Figure 20 : Pouvoir réducteur des extraits de variétés du raisin exprimé en mg EQ.

.Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes a, b, c et d tel que $(a > b > c > d)$. Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

Le pouvoir réducteur exprimés en équivalent de quercétine s'avèrent différentes significativement ($P < 0,05$) sauf les variétés *Cardinal*, *Dattier* ; *A.Bou-amar* et *Italia* qui ne montrent aucune différence.

Une corrélation positive et significative ($r = 0,95$) entre les teneurs en composés phénoliques des variétés étudiées et le pouvoir réducteur exprimées en mg EQ/100g MS (Figure 21).

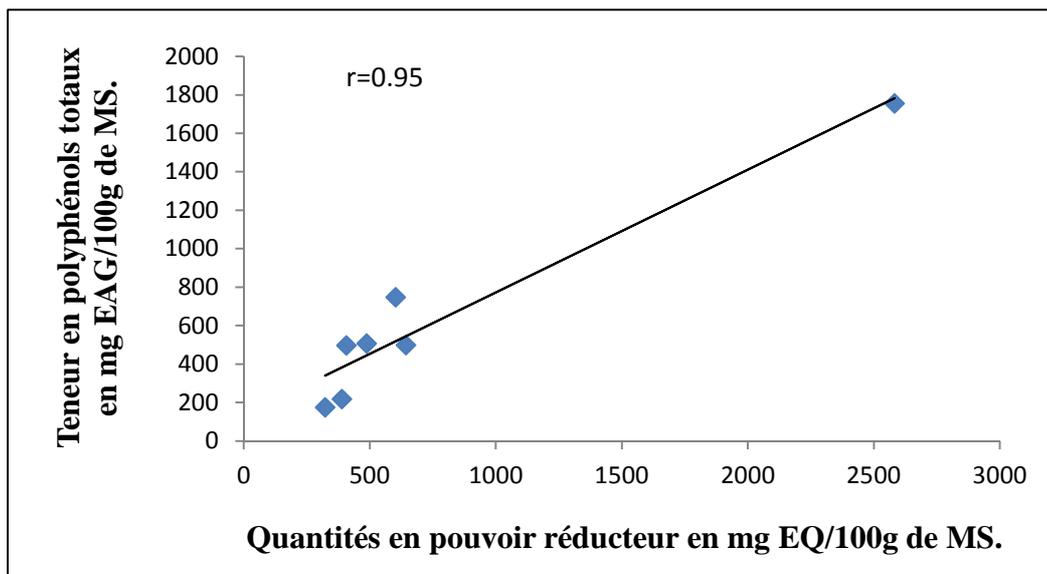


Figure 21: Corrélation entre la teneur en composés phénoliques totaux et le pouvoir réducteur.

III.2. Neutralisation du radical DPPH*

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH*) est un radical libre largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante (Suhaj, 2006; Ammar et Mohsen, 2009 ; Wang *et al.*, 2009).

L'activité antiradicalaire des sept variétés est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical diphényl picryl-hydrazyl (DPPH*), par don d'atomes d'Hydrogènes ou d'électrons (Molyneux, 2004).

On a remarqué expérimentalement, lorsqu'on additionne un volume défini de l'extrait méthanolique à un volume déterminé de la solution du DPPH*, quelle que soit la variété, que l'absorbance du mélange réactionnel diminue, de même que la solution change de couleur instantanément du violé sombre au jaune pâle.

La concentration qui a piégé 50% (IC₅₀) du radical libre DPPH*, ainsi que la puissance antiradicalaire (ARP = 1/ IC₅₀) de chaque variété a été déterminée, les résultats sont montrés dans le tableau VI.

Tableau VI: pouvoir antiradicalaire de différentes variétés du raisin.

Variétés	IC ₅₀ mg/ml	ARP (1/ IC ₅₀).10 ⁻²
<i>A.Bouamar</i>	191,66±88,94 ^c	0,6±0,3 ^b
<i>Cardinal</i>	8,26±4,60 ^d	15,5±9,6 ^b
<i>Dattier</i>	52,66±10,06 ^{cd}	1,94±0,39 ^b
<i>Gros-noir</i>	3,2±0,72 ^d	105,5±58,5 ^a
<i>Italia</i>	Non détecté	Non détecté
<i>Muscat</i>	1492±21,77 ^a	0,06±0 ^b
<i>Saba</i>	724±217,41 ^b	0,14±0,04 ^b

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes *a*, *b*, *c* et *d* tel que (*a* > *b* > *c* > *d*). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative (*p* < 0,05).

Les résultats présentés dans le tableau (VI) montrent que les sept variétés présentent la capacité à piéger le radical DPPH* et que les IC₅₀ diffèrent d'une variété à une autre, variant de 3,2±0,72 à 1492±21,77 mg/ml.

Le tableau (VI) montre nettement que l'extrait des deux variétés Cardinal et Gros-noir ne nécessitent pas une concentration élevée pour piéger 50% du radical DPPH* en comparaison avec d'autres variétés, IC₅₀ enregistrée dans l'extrait de la variété *Gros-noir* est de 3,2± 0,72 mg/ml, il exerce donc un pouvoir antiradicalaire plus élevé par rapport aux autres extraits. Un autre paramètre a été rapporté par (Balasundram et al., 2006 ; Ling et al., 2009) dans le but de montrer la puissance antiradicalaire (ARP) de chaque extrait, plus IC₅₀ diminue, plus la puissance de l'antioxydant augmente. La variété *Gros-noir* enregistre la puissance antiradicalaire la plus élevée (105,5±58,5) par contre la moins élevée est celle de *Muscat*.

Il s'est avéré que la variété *Italia* en utilisant l'extrait brut (à une concentration de 13mg/ml), n'a pas piégé le radical DPPH*, qui peut être expliqué soit par l'absence des antioxydants à effets antiradicalaire soit par la nécessité d'augmenter la concentration de l'extrait.

La réduction du radical DPPH* par les extraits de différentes variétés du raisin a été attribuée

par plusieurs auteurs à la présence de composés phénoliques qui cèdent facilement des protons pour le réduire (Kallithraka et al., 2005; Hogan et al., 2009; Katalinic et al., 2010). On peut conclure que les différences d'IC₅₀ entre les sept variétés du raisin étudiées peuvent être liées à la différence de leurs teneurs en composés phénoliques.

Katalinic et al. (2010) ont montré que l'extrait méthanolique de différentes variétés du raisin piègent 50% du radical DPPH* à des concentrations variant de 52,8±3,33 mg/ml à 291±4,51mg/ml, ces résultats sont pas proches de ceux trouvés dans la présente étude et cela peut être dû à plusieurs facteurs qui peuvent influencer l'activité antioxydante tels que le matériel végétal appartenant à des espèces différentes, le degré de maturation, les conditions d'environnement, le mode de conservation des substrats d'extraction, ainsi que de nombreux paramètres liés au solvant et à la méthode d'extraction (température, durée et nombre de répétitions d'extraction, etc.) (Levizou et al., 2004 ; Pinelo et al., 2005).

III-3- Activité antioxydante mesurée par le radical cation ABTS*⁺

Dans ce test l'ABTS*⁺ est oxydé par les antioxydants à son radical cationique ABTS*⁺, qui a une couleur intense. L'activité anti-radicalaire est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS*⁺. Le radical ABTS*⁺ est plus réactif que le DPPH* (Gulcin, 2012).

La génération du radical cationique ABTS*⁺ constitue la base d'une méthode spectrophotométrique qui a été appliquée pour mesurer l'activité antioxydante totale des substances pures, des mélanges aqueux et des boissons (Gulcin, 2009).

Les résultats de l'activité antioxydante mesurée par le radical ABTS*⁺ exprimée en mg équivalent d'acide gallique sont représentés dans la figure 22.

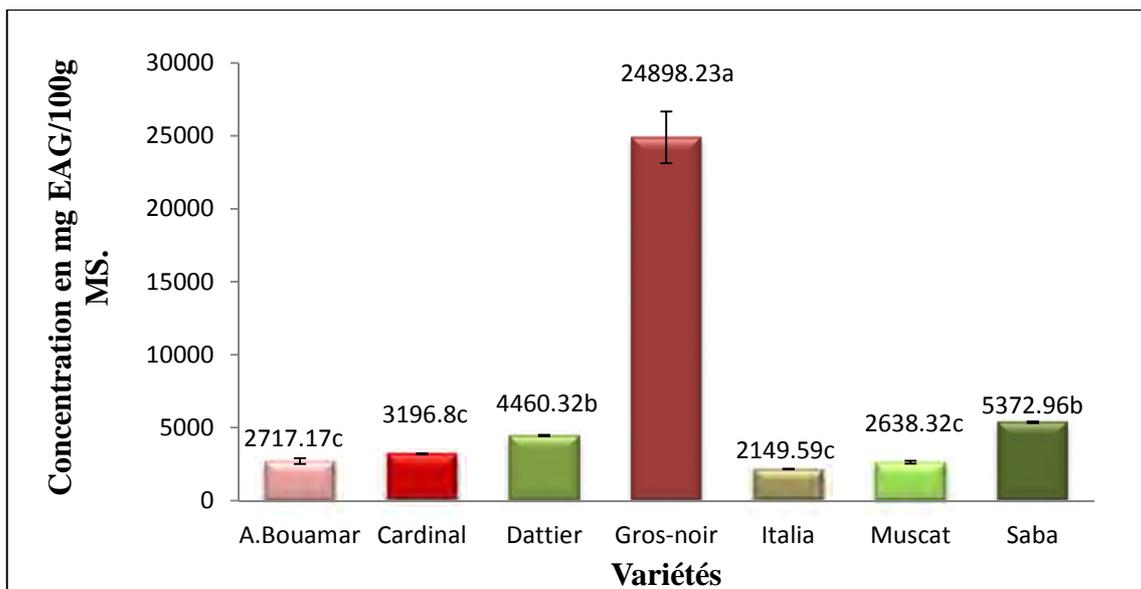


Figure 22 : Activité antiradicalaire exprimée en mg EAG/100gMS.

Les résultats sont représentés par des valeurs portant des lettres différentes a, b et c tel que ($a > b > c$). Les concentrations portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$). Les barres verticales représentent l'écartype.

L'étude statistique montre que la variété Gros-noir est la plus efficace pour piéger le radical $ABTS^{*+}$ (24898,23mg EAG/100g MS), suivie des variétés *Dattier* et *Saba* qui ne présentent aucune différence significative (4460,32mg EAG/100g et 5372,96mg EAG/100g MS). Les variétés : *A.Bouamar* (2717,17mg EAG/100g MS), *Cardinal* (3196,8mg EAG/100g MS), *Italia* (21,49mg EAG/100g MS) et *Muscat* (2638,32mg EAG/100g MS) révèlent les activités antiradicalaires, les plus faibles et significativement similaires.

Quelque soit le radical utilisé pour mesurer l'activité antiradicalaire, c'est le Gros-noir qui a montré le pouvoir le plus élevé, par rapport aux autres variétés. Concernant la variété *Italia*, les résultats obtenus montrent un effet piègeur vis-à-vis le radical $ABTS^{*+}$, mais non vis-à-vis le radical DPPH*, cela peut être expliqué par l'effet de la concentration. Ce qui nous permet de conclure que l'extrait de cette variété est pourvu des composés antiradicalaires, mais pour le montrer avec le radical DPPH*, il faut augmenter la concentration de l'extrait.

Conclusion

La présente étude avait pour objectifs le dosage des différents antioxydants (anthocyanes, caroténoïdes, polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, proanthocyanidines, et tanins totaux) des pellicules de différentes variétés du raisin et l'évaluation de leur activité antioxydante (pouvoir réducteur, la capacité de neutralisation de deux radicaux DPPH* et ABTS*+).

Les résultats obtenus ont permis de tirer les conclusions suivantes :

Aucune différence significative n'a été observée entre les teneurs en humidité des différentes variétés étudiées.

L'étude phytochimique, indique la richesse de la variété Gros-noir en composés phénoliques totaux, proanthocyanidines, flavonols et anthocyanines par rapport aux autres variétés étudiées.

Les teneurs en flavonoïdes des variétés étudiées fluctuent entre 10,02 et 29 mg EQ/100gMS ; les variétés Saba et Cardinal possèdent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes.

Les sept variétés étudiées sont riches en tanins avec des teneurs qui varient entre 732,90 et 1948,17 mg EAT/100g MS.

Les résultats du dosage des antioxydants indiquent une richesse des sept variétés en flavonols qui oscillent entre 1658,51 et 6597,25 mg EQ /100g MS.

Le pouvoir réducteur des sept variétés est proportionnel à l'augmentation de la concentration ; une corrélation positive a été enregistrée ($r=0,95$) entre les teneurs en composés phénoliques des variétés étudiées et leur pouvoir réducteur exprimé en mg EQ/100g MS ce qui permet de conclure que l'activité antioxydante des pellicules du raisin peut être attribuées aux composés phénoliques qu'elles renferment.

Toutes les variétés présentent une activité antiradicalaire qui diffère significativement d'une variété à une autre.

En plus de son importante activité antioxydante, la pellicule de raisin est utilisée comme un colorant en poudre ; elle entraîne une meilleure coloration du vin et utilisée aussi comme un précurseur d'arômes.

En perspective, il serait intéressant :

- d'utiliser d'autres méthodes d'analyses plus précises qui permettent non seulement de quantifier mais aussi de qualifier les antioxydants présents ;
- d'introduire d'autres variétés et de faire un échantillonnage au niveau national.
- de focaliser les études sur la peau et les pépins de raisin qui sont une source considérable de composés phénoliques.

*Références
bibliographiques*

A

Alleweldt G., Engel M et Gebbing H. (1981). Histological Investigations with Grapevine Berries. *Vitis* **20**: 1-7.

Ammar A.S.M. et Mohsen S.M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, **112**: 595–598.

Amrani J. K. et Glories Y. (1995). Tanins et Anthocyanes: Localisation dans la Baies de Raisin et mode d'Extraction. *Rev. Fr. Oenol.*, *153*, 28-31.

B

Ba k., Tine E., Destain J., Cissé N. et Thonart P. (2009). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Journal of Food Composition and Analysis*, **14** :1370-6233.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. et 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.

Baiano A., Tamagnone P., Marchitelli V. et Del Nobile M. A. (2005). Quality decay kinetics of semi-preserved sauce as affected by packaging, *Journal of Food Science* *70*, E92 E97.

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

Baumes R., Wirth J., Bureau S., Gunata Y. et Razungles A. (2002). Biogeneration of C13 – norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica*, *458*, p. 3-14.

Bavaresco L., Fregoni C., van Zeller M.I., Gonçalves M.B. et Vezzulli S. (2009). Physiological & molecular biology of grapevine stilbenes: An Update. *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, 2nd edn.

Blouin J. et Guimberteau G. (2000). Maturation et maturité des raisins. Paris: Editions Féret.

Bordiga M., Travaglia F., Locatelli M., Coisson J.D. et Arlorio M. (2011). Characterization of Polymeric Skin And Seed Proanthocyanidins During Ripening in Six *Vitis Vinifera L.* CV. *Food Chemistry*.doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.141.

Boulton R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52, 67–87.

Bruno C. (2007). Étude théorique des mécanismes d'oxydation de thiols en milieu d'intérêt biologique. Thèses de Doctorat. Spécialité Chimie. Université de Franche-Comté.École Doctorale Louis Pasteur.P.1.

C

Carbonneau A., Deloire A. et Jaillard B. (2007). La vigne Physiologie, terroir, culture, Ed 1 Vol 1.Dunod, Paris.

Castillo M.N., Gomez A.S., Garcia R.E. et Hermosin G.I. (2010). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* white grape cultivars, *Journal of Food Composition and Analysis*, 699-705.

Chanforan C. (2009). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat en Sciences des Procédés - Sciences des Aliments. Discipline : Biochimie, Chimie et Technologie des Aliments. p10.

Cheyrier V. et Rigaud J. (1986). HPLC Separation and Characterization of Flavonols in the Skins of *Vitis-Vinifera* Var Cinsault. *American Journal of Enology and Viticulture* 37: 248-252.

Chira K., Suh J.H., Saucier C. et Teissédre P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6:75 –82.

Corrales M., Fernandez G.A., Butz p. et Bernhard T.P. (2009). Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure; *Journal of Food Engineering*, 90: 415–421.

Cosme F., Ricardo-Da-Silva J.M. et Laureano O. (2009). Tannin profiles of *Vitis vinifera L.* cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Food Chemistry* 112 :197–204.

D

Diakou P. et Carde J.P. (2001). In situ fixation of grape berries. *Protoplasma* **218**: 225-235.

Direction des services agricoles de la wilaya de Béjaia (2013).

Dixon R.A., Xie D.Y. et Sharma S.B. (2005). Proanthocyanidins - a final frontier in flavonoid. *Agricultural and Food Chemistry*.

Downey M.O., Harvey J.S. et Robinson S.P. (2003). Synthesis of flavonols and expression of flavonol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera*). *Australian Journal of Grape and Wine Research* **9**: 110-121.

E

Elmastasa M., Gulçinb I., Isildaka O., Kufrevioglu O.I., Ibaoglua K. et Aboul-Eneinc H.Y. (2006). Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **3 (3)**: 258-266.

F

FAO (2012). Food and Agriculture Organization (<http://www.faostat.fao.org>) (consulté avril 2013).

Favier A. (2003). Le stress oxydant interet conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. **P.12.**

G

Galet P. (1985). Précis d'ampélographie pratique. 5^{eme} édition. Paris : éd. Doc Lavoisier., p.110-125. 2-902 771-02-9.

Gomez C. (2009). Etude des mécanismes de stockage des anthocyanes dans la baie de raisins. Caractérisation fonctionnelle des gènes impliqués dans ces mécanismes. Thèse de Doctorat en Sciences des Procédés – Sciences des Aliments. Centre international d'études supérieures en Sciences Agronomiques Montpellier Supagro .p.5.

Gulçin I. (2009). Antioxidant activity of L-adrenaline: Astructure-activity insight. *Chemico- Biological Interactions*, **179**: 71-80.

Gulçin I. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**: 210-218.7.

Gulçin I. et Bursal E. (2011). Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of Kiwifruit (*Actinidiadeliciosa*). *Food Research International*, **44**: 1482-1489.

H

Hagerman A.E. et Butler L.G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Agricultural and Food Chemistry*. **26(4)**: 809-812.

Hogan S., Zhang L., Li J., Zoecklein B. et Zhou K. (2009). Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. *Food Science and Technology*, **42**:1269–1274.

Huang D., Chen H.J., Lin C.D. et Lin Y.H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatic* Forsk) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin*, **46**: 99- 106.

J

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

Jourdes M. (2003). réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins c-glycosidiques et flavano-ellagitannins. thèse de doctorat en chimie organique. Université bordeaux. école doctorale des sciences chimiques.p 29.

K

Kallithraka S., Mohdaly A. A., Makris D. P. et Kefalas P. (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* **18**: 375–386.

Karunakaran R.J. et Kumaran A. (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of *phyllanthus* species from India. *Lebens-Wiss technol* **40**:344-352.

- Kashif G., Park J. et Choi Y.H. (2010).** Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca B.*) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **11**: 485–490.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T. et Jukic. (2006).** Screening of 70, medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, **94**: 550-557.
- Koksal E., Bursal E., Dikici E., Tozoglu F. et Gulcin I. (2011).** Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. *Journal of Medicinal Plant Research*, **5 (2)**: 217-222.
- Kumar R.S., Sivakumar T., Sunderam R.S., Gupta M., Mazumdar U.K., Gomathi P., ajeshwar Y., Saravanan S., Kumar M.S., Muruges K. et Kumar K.A. (2005).** Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L. stem bark. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. **38**: 1015-1024.

L

- Lacampagne S. (2010).** Localisation et caractérisation des tannins dans la pellicule du raisin : étude de l'impact de l'organisation physico-chimique des parois cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux. Thèses de Doctorat. Mention : Sciences, Technologie, Santé. Option : OEnologie. Université Victor Segalen Bordeaux 2. P. 6-7.
- Lako J., Trenerry V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. et Premier R. (2007).** Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*.**101**: 1727.
- Lamaison J. L. et Carnat A. (1991).** Teneurs en principaux flavonoides des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. en fonction de la végétation. *Pl. Med. Phytother*, **25**: 12 - 16.
- Lemoigne M. (2008).** recherche de mesures innovantes pour suivre la qualite du raisin de cabernet franc pendant sa maturation. Thèses de Doctorat. Ecole doctorale d'angers. Spécialité : sciences agronomiques. université d'angers.p.7.8.
- Levizou E., Petroupoulou Y. et Manetas Y. (2004).** Total carotenoid amount in crude twing extracts may be overestimated due to interference by high contents of Co-extracted phenolics. *Photosynthetica*, **42 (2)**: 295-297.
- Leverve X. (2006).** Stress oxydant et régulation de la glycémie : implications pour le syndrome métabolique. *Obes* 1: 11–15. DOI 10.1007/s11690-006-0004-x.

Ling L.T., Yap S., Radhakrishnan A.K., Subramaniam T., Cheng H.M. et Palanisamy U.D. (2009). Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant. *Food Chemistry*, **113**:1154–1159.

Liu B. et Zhu Y. (2005). Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *Journal of Food Engineering*.

Lodhi M.A. et Reisch B.I. (1995). In situ hybridization in *Vitis vinifera* L. *Theor Appl Genet* **90**:11–16.

M

Makris D.M., Boskou G. et Andrikopoulos N.K. (2006). Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-product employing water/ethanol mixtures. *Bioresources Technology*.

Mattivi F., Guzzon R., Vrhovsek U., Stefanini M. et Velasco R. (2006). Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**: 7692-7702.

Mazoyer .M., Aubineau M., Bermond A ., Boualer J., Ney B. et Roger- Estrade J. (2002). Larousse agricole. Ed. Mathilde Majorel assistée de Nora Schott, Thierry Olivaux, dossier « institutions et organismes » et « données économiques ». 767p.

Mendes-Pinto M.M. (2009). Carotenoid breakdown products the norisoprenoids in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **483**: 236–245.

Milardović S., Ivekovic D. et Grabarić B.S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*. **68**: 175-180.

Miller H.E., Rigelho F., Marquart L., Prakash A. et Kanter M. (2000). *Cereal Foods World* **45(2)**: 59-63.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*. **26 (2)**: 211-219.

O

Oyaizu M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. **44**: 307-315.

P

- Parejo I., Viladomat F., Bastida J. et Codina C. (2004).** Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for the analysis of antioxidative phenolic compounds in fennel using a narrow bore reversed phase C18 column. *Analytica Chimica Acta*. **512 (2):** 271-280.
- Pecket R.C. et Small C.J. (1980).** Occurrence, Location and Development of Anthocyanoplast. *Phytochemistry*. **19:** 2571-2576.
- Perret C. (2001).** Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse Doctorat de l'Université de Neuchâtel. P. 23.
- Pincemail J., Bonjeau K., Cayeux K. et Defraigne J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*. **16:** 233-239.
- Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J. et Nunez M. J. (2005).** Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53:** 2111-2117.
- Price S.F., Breen P.J., Valladao M. et Watson B.T. (1995).** Cluster Sun Exposure and Quercetin in Pinot-Noir Grapes and Wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **46:** 187-194.
- Prieur C., Rigaud J., Cheynier V. et Moutounet M. (1994).** Oligomeric and Polymeric Procyanidins from Grape Seeds. *Phytochemistry*. **36 :** 781-784.

R

- Reynier A. (1986).** Manuel de viticulture. 4^{ème} édition. Paris : éd. Tech et Doc Lavoisier. 365 p.
- Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M. et Schieber A. (2008).** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, **110:** 620-626.
- Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P. et Ribereau-Gayon P. (1975).** Sciences et technologie des vins. Paris : éd. Dunod, 556 p.
- Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B. et Lonvaud A. (1998).** Les composés phénoliques. In '*Chimie du vin - Stabilisation et traitements. Traité d'Oenologie*. Tome III. Paris .Ed. Dunod. pp. 163-237.

Ricardo Da Silva J.M., Rosec J.P., Bourzeix M., Mourgues J. et Moutoun M. (1992). Dimer and Trimer Procyanidins in Carignan and Mourvedre Grape and Wines. *Vitis vinifera*. **31** : 55-63.

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

Roland A. (2010). Influence des phénomènes d'oxydation lors de l'élaboration des moûts sur la qualité aromatique des vins de Melon B. et de Sauvignon Blanc en Val de Loire. Thèse de doctorat en Biochimie, Spécialité Chimie, Technologie des Aliments. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques – Montpellier supagro. p 23.25.

Ruberto G., Renda A., Daquino C., Amico V., Spatafora C., Tringali C. et De Tommasi N. (2007). Polyphenol constituents and antioxidant activity of grapepomace extracts from five Sicilian red grape cultivars; *Food Chemistry*. **100**: 203–210.

S

Schwarz M., Picazo-Bacete J.J., Winterhalter P. et Hermosin-Gutiérrez I. (2005). Effect of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after the addition of copigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53**: 8372–8381.

Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965). colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acids reagents. *American journal of enology and viticulture*. **16**:144-158.

Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rizner Hra A., Simoni M. et Knez k. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89**: 191–198.

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. **38**: 657-663.

Suhaj M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: 531–537.

V

Valnet J. (2001). La santé par les fruits, les légumes et les céréales. Paris : éd. Vigot. 411p.

Vercauteren J., Cheze C. et Triaud J. (1998). Polyphénols 96. France : éd. INRA. 289 p.

W

Wallerath T., Deckert G., Ternes T., Anderson H., Li H., Witte K. et Forstermann U. (2002). Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, **106(13)**: 1652-1658.

Wang B., Zhang W.W., Duan X.J. et Li X.M. (2009). In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). *Food Chemistry*, **113**: 1101–1105.

Wang L.S. et Stoner G.D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*. 269: 281-290.

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.

Y

Yadav D.N., Patki P.E., Srihari S.P., Sharma G.K. et Bawa A.S. (2009). Studies on polyphenol oxidase activity of heat stabilized whole wheat flour and its chapatti making quality. *International Journal of Food Properties* **13 (1)**, 142-154.

Z

Zuo Y., Wang C. et Zhan J. (2002). Separation, characterisation, and quantitation of benzoic and phenolics antioxidants in American cranberry fruits by GC-MS. *J. Agric. Food Chem*, **50**: 3789 - 3794.

Glossaire

- Agent chromogène : substance incolore susceptible de donner naissance à un pigment.
- Cosmétologie : Etude de la préparation et de l'usage des cosmétiques.
- Espèces fortement réactives : ou les espèces Réactives d'Oxygène (ERO) : sont les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante.
- herbacé: Qui a l'aspect, qui est de la nature de l'herbe.
- maladie dégénérative : se dit d'une affection (arthrose, athérosclérose, maladie d'Alzheimer, ect.) caractérisée par une dégénérescence.
- millésime : Serie de chiffres indiquant l'année de la récolte du raisin ayant servi à faire un vin.
- Phytoestrogens : composé trouvé dans les plantes qui peuvent imiter les effets de l'oestrogène dans le corps.

Annexes

Annexe I

Caractéristiques de variétés du raisin étudiées (Galet, 1985).

Variétés	Caractéristiques	Photographies
<i>A. Bouamar</i>	Fruit de cépage rouge, peau fine, gros grains consistants, maturité tardive.	
<i>Cardinal</i>	Grappes assez grosses, conique ; baies sphérique ou légèrement ovoïdes, très grosses 20 à 25mm, rouge foncé, tirant sur le violet, peau épaisse, chair ferme, charnue, en peu fibreuse, saveur simple.	
<i>Dattier</i>	Grappes assez grandes 20 à 25 cm, coniques, assez blanches ; baies ellipsoïdes, très grosses 25*20mm, blanc doré, peau épaisse, pulpe charnue, saveur d'eau sucré.	
<i>Gros-noir</i>	possède de gros grains bosselés, très pruinés mais fades. il mûrit un peu plus tardivement	
<i>Italia</i>	Fruit de cépage blanc, au gout musqué, peau épaisse, gros grains ovales, bonne conservation, maturité saisonnière	
<i>Muscat</i>	Grappes généralement petites 10cm, courtes, lâches ; baies grosses, ovoïdes 20 à 25mm, blanc jaune cire, peau épaisse, chair croquante, très légèrement musquée (saveur d'ailleurs inconstante).	

Saba	Grappes moyennes 15cm, cylindro-coniques, compactes ; graines sphériques, moyens 15mm, blanc jaunâtre, à saveur faiblement musquée, juteux.	
-------------	---	---

Annexe II : Préparation des réactifs

Manipulations	Réactifs	Préparations
Polyphénols totaux	Folin-Ciocalteu (1 /2) Carbonate de sodium (20%)	1ml de Folin + 1ml d'eau distillée 20g de Na ₂ CO ₃ + 100ml d'eau distillée
Anthocyanines	100ml de méthanol contenant 0.2 % d'acide formique Tompon chlorure de potassium (pH 1) ➤ HCl 1N Tompon acétate de sodium (pH 4.5) ➤ Acide acétique (0.4M)	0.2 ml d'acide formique + 100 ml de méthanol 0.186g KCl (0.025M) + 100ml d'eau distillée, le pH est ajusté à 1 avec de HCl 1N ➤ 8.6 ml d'HCl + 100ml d'eau distillée 3.2812g d'acétate (0.4M) +100ml d'eau distillée, le pH est ajusté à 4.5 avec l'acide acétique à 0.4M ➤ 1.14ml d'acide acétique+50ml d'eau distillée
Pouvoir réducteur	Tompon phosphate (pH6.6 ; 0.2M) Ferricyanure de potassium K ₃ Fe(CN) ₆ , (0.1%) Acide trichloracétique TCA (10%) Chlorure ferrique FeCl ₃ (0.1%)	2.7218g de KH ₂ PO ₄ +100ml d'eau distillée 3.4818g de K ₂ HPO ₄ +100ml d'eau distillée, le PH de KH ₂ PO ₄ est ajusté à 6.6 avec sa base k ₂ HPO ₄ 1g de K ₃ Fe(CN) ₆ +100ml d'eau distillée 10g de TCA + 100ml d'eau distillée 0.1g de FeCl ₃ +100ml d'eau distillée

Tanins	<p>Solution de BSA</p> <p>Tampon acétate à pH 4,9:</p> <p>Solution SDS</p> <p>Solution de chlorure de fer (FeCl₃)</p>	<p>-1 g de BSA /1 L de tampon Tampon acétate.</p> <p>Acide acétique à 0.20M - chlorure de sodium à 0.17 M - pH Ajusté à 4,9</p> <p>- 50 ml de triethanolamine - 10 g SDS - Compléter à 1 litre d'eau distillée.</p> <p>Solution de 0,01M de FeCl₃ préparée par dissolution de 1,62 g de FeCl₃ à 0.01 M dans 1litre d' HCl à 0.01 M</p>
Tanins condensés	<p>Réactif Butanol-sulfate de fer</p> <p>Mélange</p>	<p>23.1mg de FeSO₄ dans 150ml d'un mélange.</p> <p>60ml Hcl + 90ml Butanol.</p>
Flavonoïdes	Solution chlorure d'aluminium AlCl ₃ (2%).	2g de (AlCl ₃ ,6H ₂ O) dans 100ml d'eau distillée.
Caroténoïdes	solution KOH (1M)	5,6g de KOH dessoudre dans 100ml d'eau distillé
ABTS	<p>Solution ABTS⁺</p> <p>ABTS⁺</p> <p>Persulfate de potassium</p>	<p>Solution ABTS (0.7 mM) + Solution de persulfate de potassium / $V_{ABTS^+} = V_{K_2O_8S_2}$</p> <p>3.6g d'ABTS dans 1L d'ED</p> <p>1.3 g de K₂O₈S₂ dans 1L d'ED</p>

Annexe III : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants

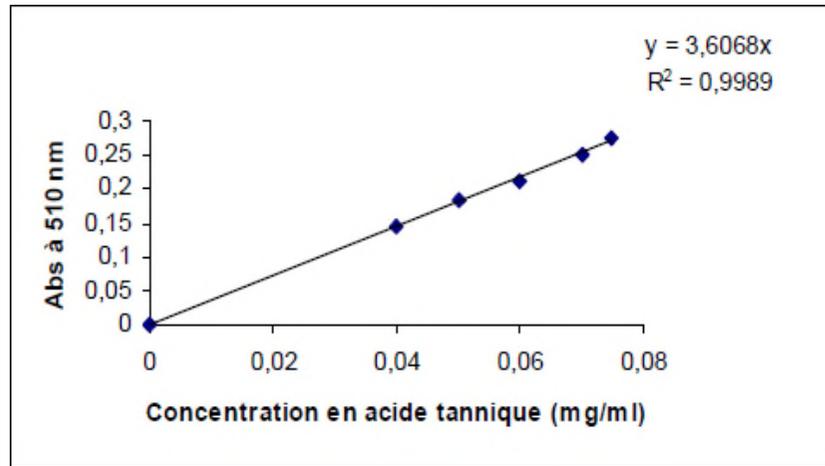


Figure 3 : Courbe étalon pour le dosage des tanins

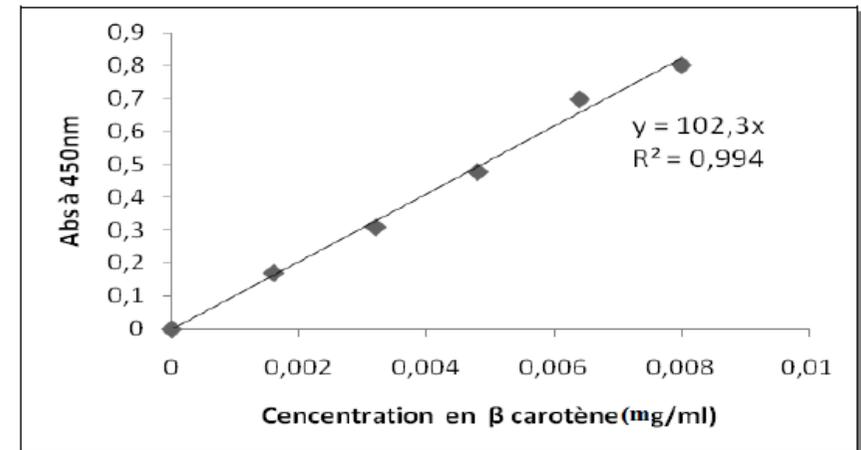


Figure 8 : Courbe étalon pour le dosage des caroténoïdes

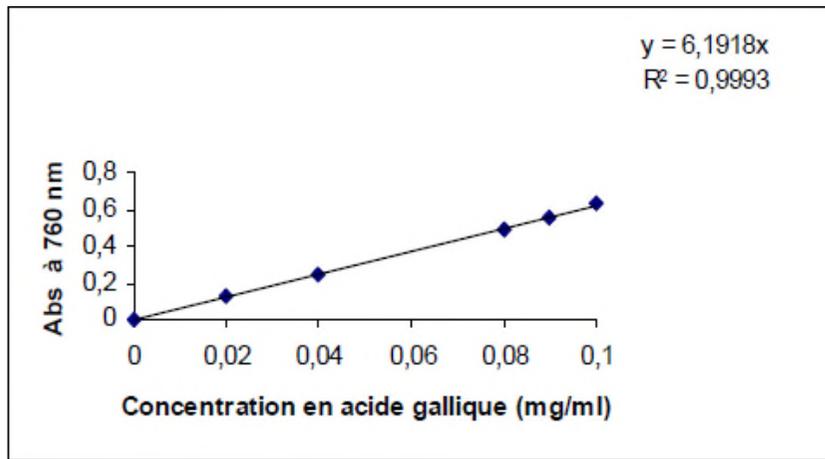


Figure 1 : Courbe étalon pour le dosage des polyphénols totaux

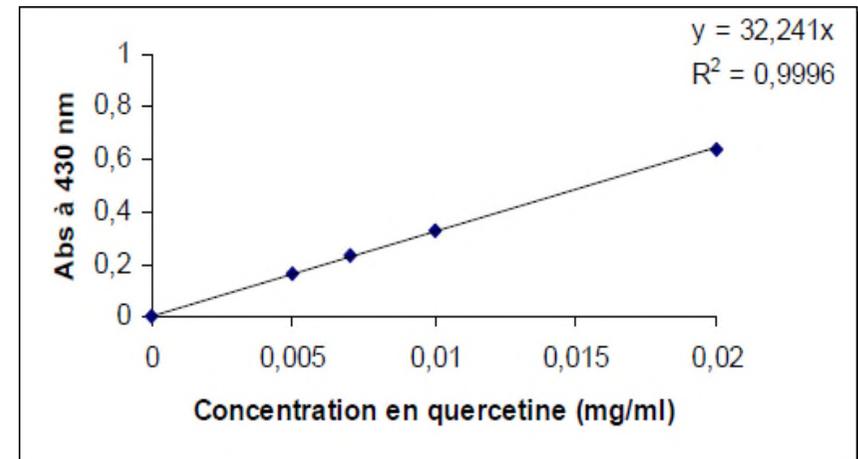


Figure 4 : Courbe étalon pour le dosage des flavonoïdes

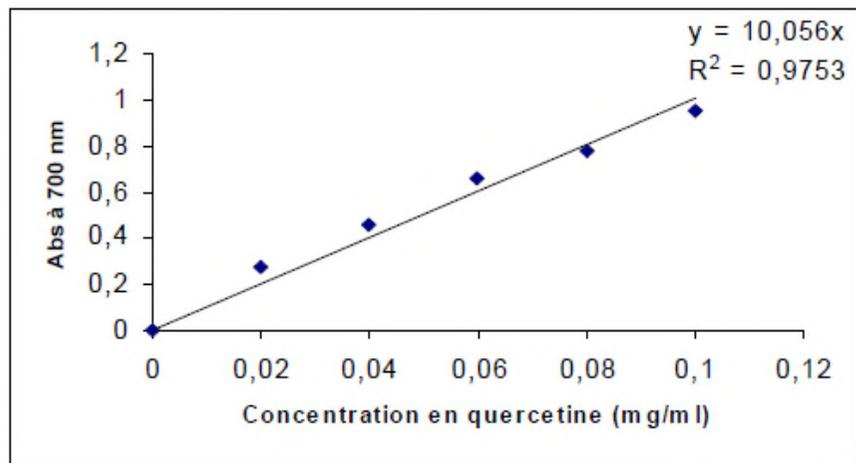


Figure 1 : Pouvoir réducteur en fonction de la concentration de la quercetine (mg/ml)

Résumé

Le présent travail a été entrepris dans le but de déterminer les teneurs en antioxydants et d'évaluer le pouvoir de ceux-ci dans les pellicules de sept variétés du raisin : *A. Bouamar*, *Cardinal*, *Dattier*, *Gros-noir*, *Italia*, *Muscat*, et *Saba*.

Les composés phénoliques extraits par le méthanol (99%) sont variables en fonction de la variété. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux sont notées dans les variétés *Gros-noir* et *Dattier* (1756,11±121,80 ; 748,19±12,25 mg EAG/100g MS).

Concernant les flavonoïdes, les tanins, les flavonols, et les proanthocyanidines des teneurs très importantes sont enregistrées. Pour les caroténoïdes, des teneurs faibles ont été trouvées dans toutes les variétés.

L'activité antioxydante est déterminée par l'évaluation de la capacité anti radical DPPH* (IC50), le radical cation ABTS** et le pouvoir de réduction du fer (Fe⁺³). Les résultats de l'activité antioxydante obtenus indiquent que quelque soit la méthode de mesure de cette activité, la variété *Gros-noir* tout comme celles de *Cardinal* et *Dattier* enregistrent le pouvoir le plus élevé.

Mots clés : raisins, pellicules, antioxydants, activité antioxydante, composés phénoliques.

Abstract

This work was undertaken with an aim of determining the contents antioxydants and of evaluating the capacity of those in the skin of seven varieties of the grape: *A. Bou-amar*, *Cardinal*, *Dattier*, *Gros-noir*, *Italia*, *Muscat*, and *Saba*.

The phenolic compounds extracted by methanol (99%) are variable according to the variety. The highest contents total polyphenols are noted in the varieties *Gros-noir* and *Dattier* (1756,11±121,80; 748,19±12,25 Mg EAG/100g).

Concerning the flavonoïdes, tannins, flavonols, and the proanthocyanidines of the very important contents are recorded. For carotenoids, low contents were found in all the varieties.

The antioxydant activity is determined by the evaluation of the capacity anti radical DPPH* (IC50) and the capacity of reduction of iron (Fe⁺³). The results of the antioxydant activity obtained indicate that some is the method of measurement of this activity, the *Gros-noir* variety just like those of *Cardinal* and *Dattier* records the highest capacity.

Keywords: grapes, skin, antioxydants, antioxidant activity, phenolics compounds.