

République algérienne démocratique et populaire
Ministre de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université A/MIRA de Bejaia
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences alimentaires



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master
Option : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Présenté par :

OUHAB Ouarda

TLIDJANE Yasmina



Extraction des composés phénoliques à partir des écorces et des feuilles de noix

Soutenu le 25/06/2018 devant la commission suivant :

- ❖ **Présidente :** M^{me} ACHAT Sabiha
- ❖ **Examinatrice :** M^{me} HAMRI Sabrina
- ❖ **Promotrice :** M^{me} GUEMGHAR Hayet

Année universitaire 2017/2018



Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie Avec ma gratitude à :

Mes très chers parents , qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect, j'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

A mes soeurs: Safia, Lilla, Saida, Dounia, Hassiba, Fulla.

A mes frères: Azedine, Nouredine, Toufik,

A mon binôme Yasminna qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.

A toute La promotion de QPSA "2017-2018"

Warda





Dédicaces

Je dédie mon travail à :

Les plus chères dans ma vie mes parents.

À mes sœurs Meriem, Amina, à ma jumelle Yasmine.

À mon unique frère Youssef.

*À mes ami(es) Kenza, Nadjet, Yasmine, Lynda, Yasmîna,
Djihade, Yamina, Samira, Lotfi, Amazigh et mon cher Mourad.*

Je dédie mon travail aussi à :

*Madame Guemghar. H pour son soutien jusqu'à la fin de ce modeste
travail et un grand merci pour ma binôme si patiente Ouarda.*

À toute la promotion QPSA 2017/2018.

Yasmîna





Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant, pour la santé, la volonté et pour clémence qu'il nous a donné durant toutes ces longues années.

Nous adressons ensuite nos plus sincères remerciements à notre promotrice M^{me} Guemghar H pour avoir accepté de nous encadrer et pour son caractère très compréhensif, sa patience, sa disponibilité, ses précieuses orientations, ses conseils hautement précieux ainsi que pour tout le temps qu'elle nous a consacré pour diriger ce travail.

Nous remercions également M^{me} Achat. Pour l'honneur qu'elle nous fait de Présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons beaucoup à remercier aussi M^{me} hemri. Pour avoir accepté d'être L'examinatrice de ce travail.

Nous voudrions aussi remercier tous les enseignants de département Science Alimentaire de la Faculté Science de la nature et de la vie /Université de Bejaia

Enfin nos sentiments de reconnaissance et remerciements vont à toutes les personnes qui ont participées de près ou de loin dans la réalisation de ce travail



Liste des abréviations

ABS : Absorbance.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent acide gallique.

EC : Equivalent de la catéchine.

ECyn :equivalent cyanidine.

H3PW12O40 : Acide phosphotungstique.

H3PMo12O40 : Phosphomolybdique.

I(%) : pourcentage d'inhibition.

IC : pourcentage d'inhibition.

PS : poudre sèche.

O2° : Anion superoxyde.

OH° : Radical hydroxyl.

p/v : Poids / Volume.

PP : Polyphénols.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

UV : Ultraviolet.

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux acides hydroxybenzoïques	8
Tableau II : Principaux acides hydroxycinamique.....	8
Tableau III : Poids d'extrait sec et rendement correspondant des deux méthodes d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles et des écorces de la plante <i>Juglans régis</i>	24.
Tableau IV - Activité antiradicalaire des feuilles et des écorces de noix.....	29

Liste des figures

Figure 01 : <i>Juglans regia</i> L.....	2
Figure 02 : Description botanique de <i>Juglans regia</i>	3
Figure 03 : Carte de répartition du noyer en Algérie	4
Figure 04 : Squelette de base des composés phénoliques.....	7
Figure 05 : Quelques exemples de flavonoïdes.....	8
Figure 06: Structure des tanins hydrolysables et les acides associés	9
Figure 07 : Exemple de proanthocyanidine (epicatechin-(4 β \rightarrow 8 ⁺)-epicatechin;	10
Figure 08 : Structures chimiques des composés phénoliques identifiés dans les feuilles de noix.....	11
Figure 09 : Structures chimiques des composés phénoliques des écorces de noix identifiés par RMN (Zhang 2009).....	12
Figure 10 : HPLC-DAD des composés phénoliques des feuilles de noix	13
Figure 11: Structure chimique des glansrins A (1), B (2) et C (3) isolés à partir des écorces de noix.....	13
Figure 12 : Localisation de la commune dans la wilaya de Bejaia	14
Figure 13 : Photographies des feuilles et d'écorces du noyer commun avant et après broyage (<i>Juglans régia</i>).....	14
Figure 14. Procédure d'extraction des antioxydants dans du méthanol.....	16
Figure 15. Procédure d'extraction des antioxydants dans de l'acétone.....	17
Figure 16 : Taux d'humidité et matière sèche des feuilles et des écorces de noix.....	23
Figure 17 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques et acétoniques des feuilles et écorces de noix.....	24
Figure 18 : Teneur en flavonoïdes des extraits de <i>Juglans régia</i>	26
Figure 19: Teneurs en proutocyanidines des extraits de <i>Juglans régia</i>	27

Figure 20 : Activité antioxydante exprimée en valeurs 1/ IC50 en (mg/ml) ⁻¹ des extraits des écorces et des feuilles de <i>Juglans régia</i> . et du standard Trolox	28
Figure21: Corrélation entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en phénols totaux.....	30
Figure 22 : Corrélation entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en Flavonoïdes.....	30
Figure 23: Corrélation entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en proanthocyanidines.....	31
Figure 24 : Pouvoir réducteur des extraits hydro méthanolique et hydro acétonique des écorces et des feuilles de la plante <i>Juglans régia</i>	31
Figure25 : Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en polyphénols totaux.....	32
Figure 26: Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en Flavonoïdes.....	33
Figure 27: Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en proanthocyanidines.....	27
Figure28 : Activité scavanger des feuilles et des écorces de <i>Juglans régia</i> sur le peroxyde d'hydrogène.....	34
Figure29 : Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en polyphénols totaux.....	35
Figure 30 : Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en Flavonoïdes.....	35
Figure 30: Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en proanthocyanidines.....	36

SOMMAIRE

DEDICACE

liste des figures

liste des tableaux

liste des abréviations

Introduction..... 01

Chapitre I : Description de la plante

I -1- Caractères généraux de la famille des Juglandaceae..... 02

I -2- Description botanique..... 02

I -3- Classification systématique 03

I -4- Géographie, botanique et historique..... 04

I -5- Propriétés médicinales du noyer 05

Chapitre II : Profil phénolique des feuilles et des écorces de noix

II-1-Généralités 06

II-2- Principaux classes des composés phénoliques..... 07

II-2-1- Composés phénoliques simples 07

II-2-1-1-Acides phénoliques..... 07

II-2-1-2-Flavonoïdes 08

II-2-2-Composés phénoliques condensé (Tannins) 09

II-3- Profil phénolique des feuilles et des écorces de noix..... 10

II-3-1-Acides phénoliques 10

II-3-2-Flavonoïdes 12

II-3-3-Tanins 13

Chapitre III : Matériels et méthodes

III-1-Matériel végétal et Échantillonnage.....	14
III -2- Taux d'humidité	15
III-3- Extraction.....	15
III-3-1- Détermination du rendement d'extraction.....	18
III -4- Dosage des antioxydants.....	18
III -4-1-Dosage des polyphénols totaux.....	18
III -4-2- Dosage des flavonoïdes	19
III -4-3-Dosage des proanthocyanidines (tannins condensés)	19
III-5- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	20
III-5-1- Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH	21
III-5-2-Pouvoir réducteur	21
III-5-3- Mesure de l'effet «scavenger» sur l'H ₂ O ₂ (peroxyde d'hydrogène)..	21
III-6-Analyse statistiques	22

Chapitre VI : Résultats et discussion

IV-1-Taux d'humidité	23
IV-2- Rendement de l'extraction.....	23
IV-3- Dosage des antioxydants.....	24
IV-3-1- Teneurs en polyphénols totaux.....	24
IV-3-2-Dosage des flavonoïdes.....	25
IV-3-3-dosage des tannins	27
IV-4-Activité antioxydante	28
IV-4-1-Activité anti-radicalaire au DPPH	28
IV-4-1-1-Corrélation entre les teneurs (phénols totaux, flavonoïdes, tannins) et la capacité du piégeage des radicaux libres de DPPH.....	29
IV-4-2- Pouvoir réducteur.....	31

IV-4-2-1-Corrélation entre les teneurs phénols totaux, flavonoïdes, tannins et le pouvoir réducteur des différents extraits.....	32
IV-4-3-Activité scavenger sur le peroxyde d'hydrogène.....	33
IV- 4-3-1-Corrélation entre les teneurs phénols totaux, flavonoïdes, tannins et le peroxyde d'hydrogène des différents extraits.....	35
Conclusion.....	37
Références bibliographie	
Annexes	

Introduction

La valorisation des déchets des industries de transformation des agro-ressources permet non seulement d'alléger l'impact écologique en minimisant la pollution mais aussi de proposer de nouvelles opportunités permettant un développement économique durable de nombreux secteurs.

En effet, les agro-ressources pourraient offrir une nouvelle source de matières premières dans beaucoup de domaines tels que le biomédical, le cosmétique, la chimie, et alimentaire en raison de leur propriétés organoleptique et nutritionnelles, en tant que sources d'antioxydants pour préserver la qualité de la nourriture (Chu, Sun, Wu, & Liu, 2002).

La noix *Juglans régia* est l'une des plus anciennes espèces de fruits cultivées originaire d'Asie centrale. À l'heure actuelle, Elle est commercialement plantée dans toute l'Europe du Sud, en Afrique du Nord, en Asie de l'Est, aux États-Unis et Ouest sud-américain. La production mondiale en 2012 des noix en coque était environ de 3 418 559 tonnes (FAO, 2013).

L'objectif général de ces travaux de mémoire est de la possibilité de valorisation des écorces verts et des feuilles des noix de *Juglans regia* d'origine Algérienne qui sont des coproduit majeur de l'industrie de la production des noix en coque. Il porte en particulier sur les composés phénoliques de ces coproduits en raison de leurs avantages pour la santé de l'homme comme des antioxydants naturels en réduisant le risque de maladies dégénératives par la réduction du stress oxydatif et de l'inhibition de l'oxydation macromoléculaire (Pulido et al., 2000) et leur utilisation comme additifs alimentaires dans la conservation des aliments (Zupko et al., 2001).

Description de la plante

I -1- Caractères généraux de la famille des Juglandaceae

La famille des *Juglandaceae* (Juglandacées) regroupe 7 genres et 59 espèces, composée principalement d'arbres, quelques fois de grands arbrisseaux (*Platycarya*, *Juglans* ssp) dont les feuilles composées sont caduques en général, rarement persistantes et souvent aromatiques. Les fleurs unisexuées sont réunies en chatons. Les fruits du type drupacé dérivent d'un ovaire infère uniloculaire et bicarpellé. Unique ovule orthotrope basilaire donne une graine exalbuminée, pratiquement réduite à deux gros cotylédons lobés riche en huile (Mabberley 1987).

La famille des *Juglandaceae* est répartie principalement dans l'hémisphère nord, mais on la retrouve aussi dans quelques montagnes tropicales d'Amérique du sud, au sud de l'Asie et jusqu'en Indonésie (Dupéron, J, 1988).

I -2- Description botanique :

Le noyer commun ou ordinaire aussi appelé noyer royal (*Juglans regia*), est un grand arbre à feuilles caduques qui peut vivre 150 à 200 ans. L'arbre peut atteindre des hauteurs de 25 à 35 mètres, et un tronc qui atteint jusqu'à 2 mètres de diamètre, souvent court à large couronne. C'est une espèce de lumière, exigeant pour son développement une exposition importante au soleil (Dupéron, J, 1988).



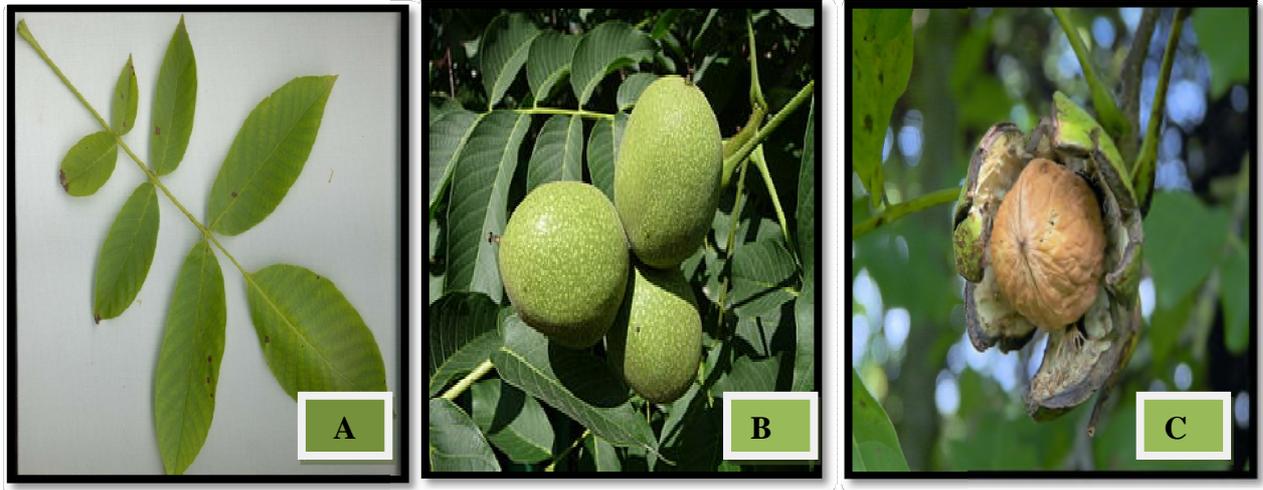
Figure 01 : *Juglans regia* L. (Mcgranahan et Chuck, 2009).

Son écorce gris argenté, mince et longtemps lisse dans son jeune âge, deviendra à maturité, épaisse, dure et montrera une texture entrelacée à nombreuses fissures longitudinales.

Les feuilles sont alternes, grandes de 20 à 45 cm de long, composées et imparipennées, à 5-9 folioles de 6-15 cm, dont la terminale est la plus développée (figure 2A). La feuillaison est très tardive : le noyer est parmi les derniers arbres à faire naître ses feuilles au printemps.

Description de la plante

Le fruit monosperme est une drupe globuleuse, verte. De l'extérieur vers l'intérieur, se trouve une enveloppe charnue, le brou. En séchant, il prend une teinte noirâtre, s'ouvre spontanément et libère le noyau lors de sa chute (Figures 2B, 2C). Ensuite, vient la noix proprement dite, appelée vulgairement coquille, formée de deux valves soudées assez fortement et grossièrement fissurée.



(A): feuilles (B): écorce (C): fruit

Figure 02 : Description botanique de *Juglans regia* (Mcgranahan et Chuck, 2009).

I -3- Classification systématique :

Selon Mcgranahan et Chuck (2009), le noyer blanc ou noyer commun ou de Perse appartient au :

Règne : *Plantae.*

Embranchement : *Phanérogames*

S/embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones.*

Sous classe : *Apitales*

Ordre : *Juglandales.*

Famille : *Juglandaceae.*

Genre : *Juglans.*

Description de la plante

Espèce : Juglans regia L.

I -4- Géographie, botanique et historique :

L'aire d'origine de cette espèce s'étend des moyennes montagnes d'Asie centrale (du Caucase au Turkestan), de l'Asie mineure, des Balkans et de l'Himalaya jusqu'à l'Est de la Chine (Germain, 1992 ; Ounis et Zitouni, 1996).

L'espèce existe encore à l'état sauvage sous forme de peuplement à l'Est de la Turquie, du Caucase et du Tadjikistan, au Nord de l'Irak, de l'Iran, de l'Afghanistan, du Pakistan, de l'Inde, au Népal et au Tibet, ainsi que sur les pentes Sud-est de l'Himalaya et en Chine (Macranahan *et al.*, 1990).

Dès l'Antiquité grecque, le Noyer commun a été cultivé et introduit en Europe puis, pendant la période romaine, en Afrique du Nord. Il a été introduit au Chili et cultivé en Californie au XXème siècle. Il est également cultivé en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Afrique du Sud (Germain, 1992) (Garavel, 1959).

En Algérie, selon Bonev (1973), on trouve le noyer dans le massif des Aurès, les régions d'Annaba, de Sétif, de la grande Kabylie, de Tlemcen, de Tébessa, de Djelfa, de Saïda, près de Songeur au sud de Tiaret (Figure 3).

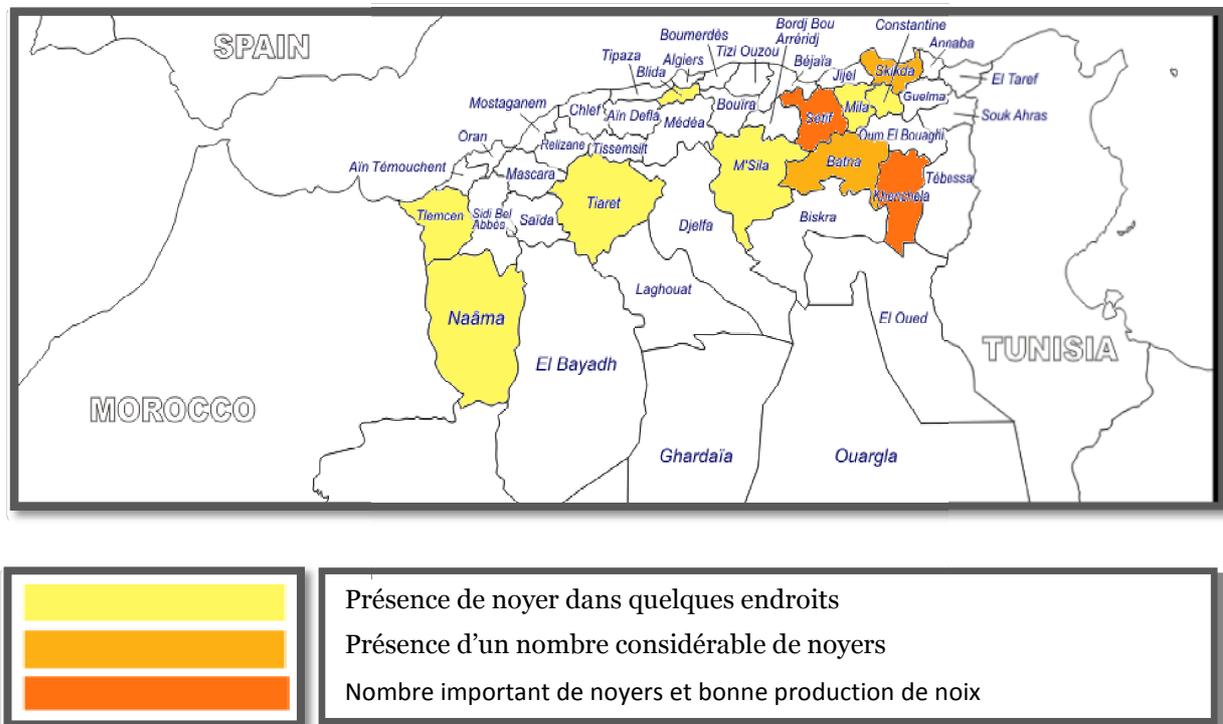


Figure 03 : Carte de répartition du noyer en Algérie (source INRF., 2010, modifié)

Description de la plante

I -5- Propriétés médicinales du noyer :

L'espèce *Juglans regia* a été abondamment utilisée en médecine; les feuilles ont été utilisées traditionnellement dans le traitement des inflammations cutanées, des ulcérations, elles ont un effet antidiarrhéique, antihelminthique, antiseptique et astringent (Erdemoglu et al. 2003).

En Algérie les feuilles ou folioles sont traditionnellement utilisées comme remède antiscrofuleux (censé traiter les écrouelles, ou guérir de la scrofule –lésion tumorale à type d'adénite cervicale chronique très souvent d'origine tuberculeuse : cette lésion torpide de la Peau, des ganglions lymphatiques et des os forme des abcès froids, qui ont tendance à provoquer des fistules-) (Ait Youssef. 2006).

Les feuilles de noyer sont aussi utilisées contre le rachitisme, l'anémie car elles possèdent des actions fortifiante et tonifiante. L'écorce des racines de cette espèce (dite Souak), est employée partout dans le monde arabe en usage externe, en mastication ou friction, pour blanchir les dents et pour rougir les lèvres et les gencives et pour combattre aussi les mauvaises haleines Tandis que ses fruits verts confits sont employés pour combattre la constipation (Ait Youssef. 2006).

Les usages externes de la plante sont très impressionnants tout particulièrement par leur nombre. Elle a été employée pour soigner toutes sortes d'affections cutanées - eczéma, impétigo, psoriasis, abcès froids, plaies atones, de même que la transpiration excessive des mains et des pieds (Vanier, 1999).

Profile phénolique des feuilles et des écorces de noix

II-1-Généralités :

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) représentent un groupe de métabolites secondaires exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulier (Harborne JB, 1989).

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou et al, 2007).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002). Ils sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont largement connus par leurs activités antivirales, antispasmodiques, antitumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, antiinflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes. . Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Das *et al*, 1994 ; Formica et Regelson, 1995; Yochum *et al*, 1999; Kim *et al*, 2004 ; Cushine et Lamb, 2005). Ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Hodek *et al*, 2002).

Profilé phénolique des feuilles et des écorces de noix

II-2- Principaux classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques possèdent dans leur structure un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Figure 4). Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées, ensuite par le degré de modifications de ce squelette tel que le degré d'oxydation et d'hydroxylation et de méthylation, enfin par les liaisons possible de ces molécules de base avec d'autre molécules (glucides, lipides, protéines) (Harborne JB, 1989).

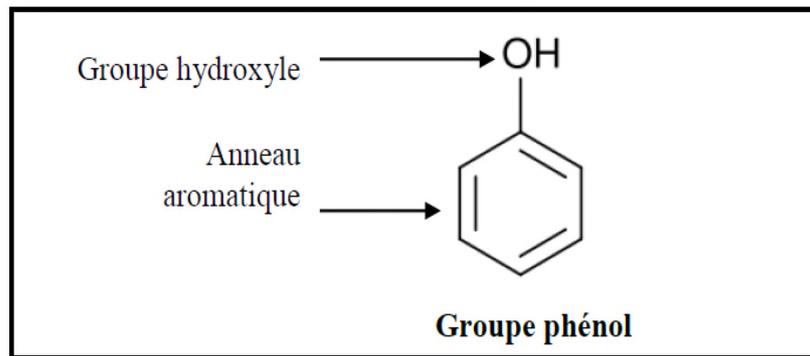


Figure 04 : Squelette de base des composés phénoliques (Harborne JB, 1989).

II-2-1- Composés phénoliques simples :

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 aux flavonoïdes en C15.

II-2-1-1-Acides phénoliques :

Ils appartiennent à deux groupes ; les acides hydroxybenzoïques et les acides cinnamiques

a) Acides hydroxybenzoïques :

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) (Tableau01). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Hakala P et al 2002).

b) Acides hydroxycinnamiques :

Dérivent de l'acide cinnamique (Tableau 02), ils ont une structure générale de base de type (C6-C3), existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques, se présentent majoritairement sous formes libre et peuvent exister sous forme estérifiée par l'acide quinique (Hakala P et al 2002).

Profile phénolique des feuilles et des écorces de noix

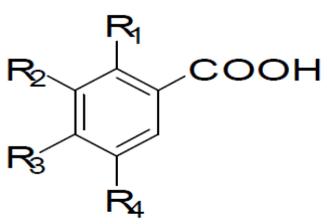
Structure	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OH	OH	H	Acide protocatechimique
	OH	H	H	H	Acide salicylique

Tableau I : Principaux acides hydroxybenzoïques (Hakala P et al 2002).

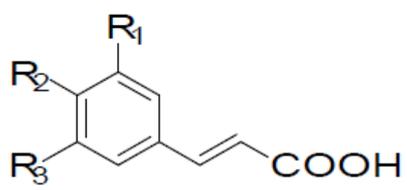
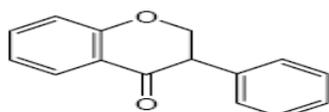
Structure	R1	R2	R3	Acide phénolique
	H	H	H	Acide cinnamique
	OH	OH	H	Acide caféique

Tableau II : Principaux acides hydroxycinamique (Hakala P et al 2002).

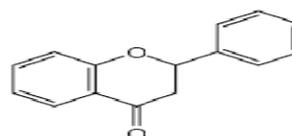
II-2-1-2-Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux (Ghedira, 2005).

Ils sont rencontrés dans les fruits (orange, raisin, etc.), les légumes (oignon, laitue, etc.), mais également les graines (fève, cacao) et les feuilles de thé. Leur structure chimique commune est le motif flavone dérivant lui-même du motif flavane constitué de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle oxygéné central C6-8 (Figure 5)(Sebastien Fiorucci 2006).



Isoflavone



Flavone

Figure 05 : Quelques exemples de flavonoïdes (Ghedira, 2005).

Profile phénolique des feuilles et des écorces de noix

II-2-2-Composés phénoliques condensé (Tannins) :

Les tanins sont des polyphénols qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé. Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et les solvants polaires (Hagerman, 1998).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

➤ Tanins hydrolysables :

Se sont des esters d'un sucre (glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénoliques. Ces tanins sont de deux types les tannins galliques et les tanins éllagiques (Figure 06) (Bruneton, 1999).

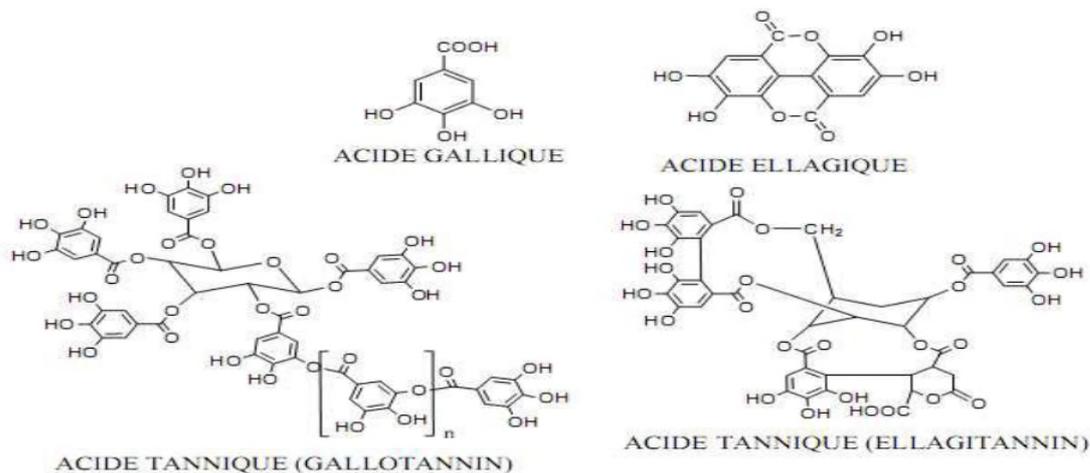


Figure 06: Structure des tanins hydrolysables et les acides associés Chung K et al (1998) .

➤ Tanins condensés (Proanthocyanidine) :

Les tanins condensés, appelés aussi procyanidines ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans les tissus végétaux. Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée (Figure 07). Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-4-diol liées par des liaisons C4-C8 (Gurgnard, 2000).

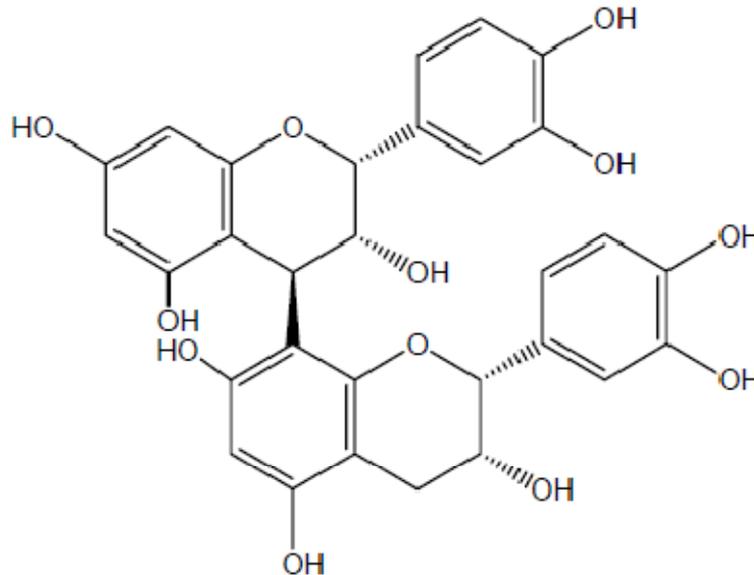


Figure 07 : Exemple de proanthocyanidine (epicatechin-(4 β \rightarrow 8')-epicatechin (Gurgnard, 2000).

II-3- Profil phénolique des feuilles et des écorces de noix

Plusieurs études ont démontré que les feuilles et les écorces de noix sont riches en composés phénoliques principalement en acide phénoliques et en tannins.

II-3-1-Acides phénoliques :

Des données antérieures ont révélé la présence dans les extraits de feuilles de noix différents acides phénoliques dont ; l'acide parahydroxybenzoïque, vanillique, genistique, procatechuique, paracoumarique, caféique, gallique, acide chlorogénique, et néo-chloroénique (Luczak *et al.*, 1989 ; Blumenthal, 2000).

Les données relatives à la qualité des échantillons de feuilles de noyer de six différents cultivars du Portugal n'a pas confirmé la présence de composés susmentionnés à l'exception de l'acide chlorogénique qui était le principal acide phénolique avec un taux qui varient entre 7,17 et 22,3 % (Amaral *et al.*, 2004).

Une étude récente du même groupe, décrit des différences significatives à propos de la composition phénoliques de neuf différents cultivars sur trois années consécutives. Trois nouveaux acides phénoliques ont été détectés : l'acide 3-cafféoylquinique, 3-paracoumaroylquinique et 4-paracoumaroylquinique (Figure 8). Selon les suggestions des auteurs, les différences observées peuvent être liées aux conditions climatiques (Amaral *et al.*, 2008).

Profile phénolique des feuilles et des écorces de noix

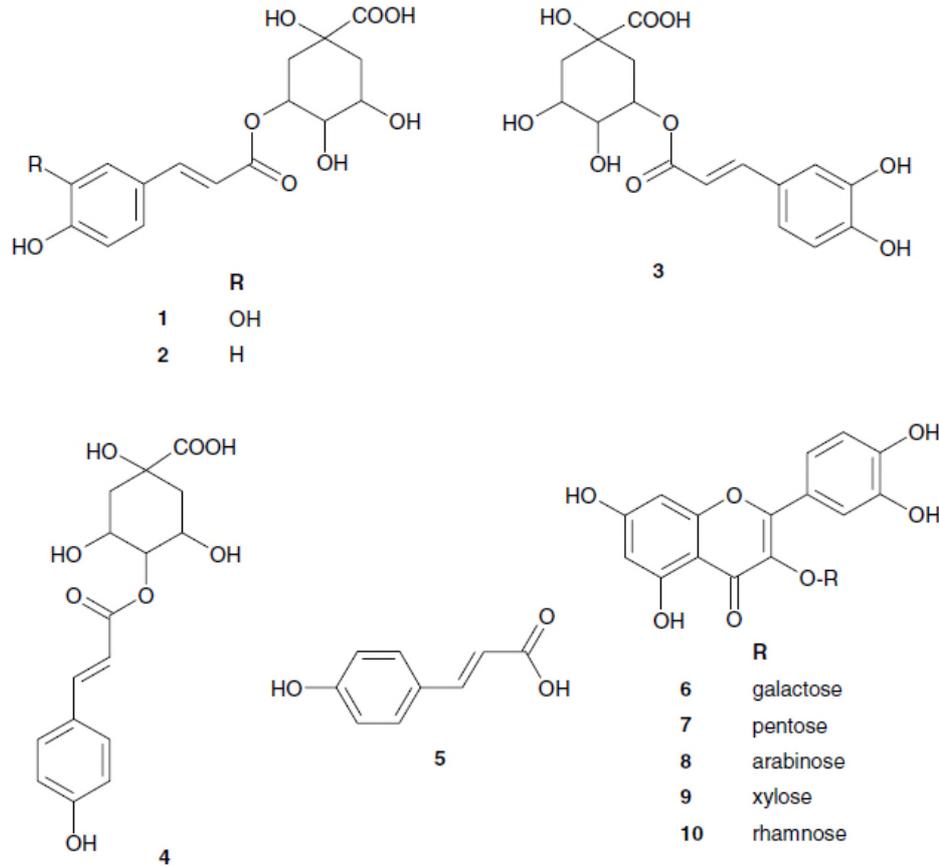
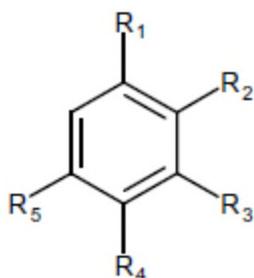


Figure 08 : Structures chimiques des composés phénoliques identifiés dans les feuilles de noix. (1) 3-caffeoylquinic acid; (2) 3-p-coumaroylquinic acid; (3) 5-caffeoylquinic acid; (4) 4-p-coumaroylquinic acid; (5) p-coumaric acid; (6) quercetin 3-galactoside; (7) quercetin 3-pentoside derivative; (8) quercetin 3-arabinoside; (9) quercetin 3-xyloside; (10) quercetin 3-rhamnoside (Pereira et al. 2007).

Dans une étude réalisée sur les écorces de noix cinq acides phénoliques ont été identifiés par résonance magnétique nucléaire (Figure 09) : acide pyrogallique (1), acide *p*-hydroxybenzoïque (2), acide vanillique (3), ethyl gallate (4), acide protocatechique (5) et acide gallique (5) (Pereira et al. 2007).

Profile phénolique des feuilles et des écorces de noix



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	-OH	-OH	-OH	-H	-H
2	-COOH	-H	-H	-OH	-H
3	-COOH	-H	-OCH ₃	-OH	-H
4	-COOCH ₂ CH ₃	-H	-OH	-OH	-OH
5	-COOH	-H	-OH	-OH	-H
6	-COOH	-H	-OH	-OH	-OH

Figure 09 : Structures chimiques des composés phénoliques des écorces de noix identifiés par RMN (Pereira et al. 2007).

II-3-2-Flavonoïdes :

Les feuilles contiennent environ 3,4 % des flavonoïdes principalement sous forme de quercétine, répartis respectivement à environ 0,6% d'hypéroside (quercétine 3-O-galactoside), entre 0,2 et 0,6% de quercétine 3-O-rhamnoside. Plusieurs autres flavonoïdes comme la quercétine 3-galactoside, quercétine 3-arabinoside, quercétine 3-xyloside, quercétine 3-rhamnoside et deux autres partiellement identifiées ; la quercétine 3-pentosides et le kaempférol ont été détectés (Wichtl 2004., Amaral *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2004).

La quantification des flavonoïdes dans les feuilles du noyer cultivé au Portugal effectuée par HPLC-DAD, a révélé que les flavonols étaient toujours les principaux composés, variant entre 54,8 % et 62,9 % du total des composés phénoliques, tandis que la quercétine 3-galactoside était toujours le principal constituant (Figure 10)(Pereira *et al.*, 2007).

Profilé phénolique des feuilles et des écorces de noix

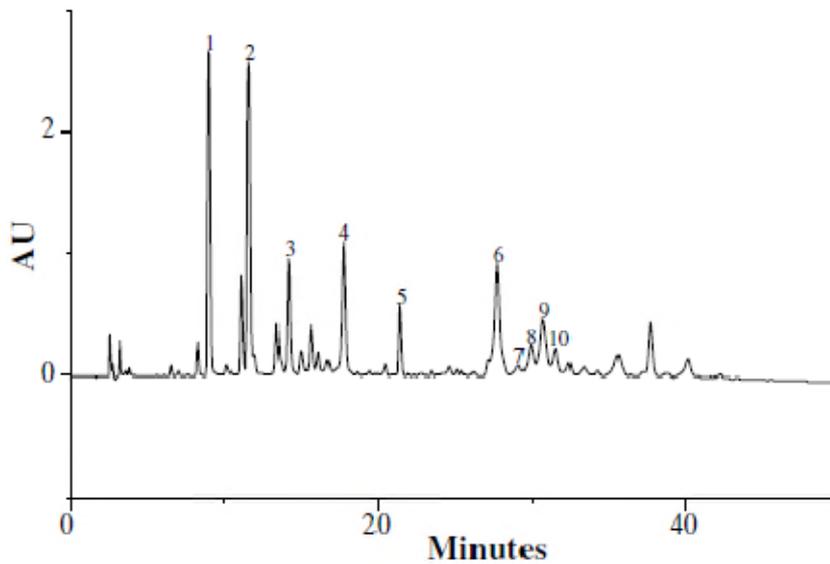


Figure 10 : HPLC-DAD des composés phénoliques des feuilles de noix (Cv. Mayette). Détection à 320 nm. Pics: (1) 3-caffeoylquinic acid; (2) 3-p-coumaroylquinic acid; (3) 5-caffeoylquinic acid; (4) 4-p-coumaroylquinic acid; (5) p-coumaric acid; (6) quercetin 3-galactoside; (7) quercetin 3-pentoside derivative; (8) quercetin 3-arabinoside; (9) quercetin 3-xyloside; (10) quercetin 3-rhamnoside.

II-3-3-Tanins :

Les feuilles contiennent environ 10% de tanins du type ellagitanins (Blumenthal, 2000), et pas moins de 2 % de tanins pyrogallol (Wichtl, 2004).

Les tannins représentent les principaux composés phénoliques retrouvés dans l'écorce du fruit de noix, ce qui lui confère son astringence. Fakuda et *al.* (2003) ont isolé et identifié 15 éllagitannins dont trois étaient caractérisés pour la première fois : glansrins A (1), B (2), et C (3) (Figure 10).

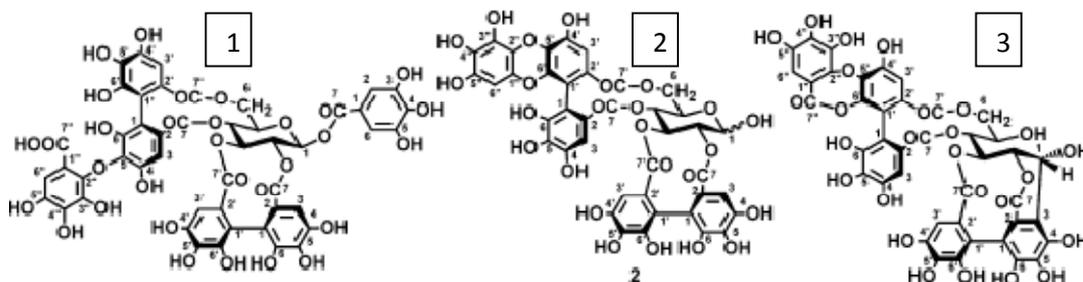


Figure 11: Structure chimique des glansrins A (1), B (2) et C (3) isolés à partir des écorces de noix (Wichtl, 2004).

III-1-Matériel végétal et Échantillonnage

Les échantillons du matériel végétal utilisé dans cette étude ont été récoltés au mois d'octobre 2017 dans la région d'Ouled Ali, Sud-est de la wilaya de Bejaia (Figure 11).

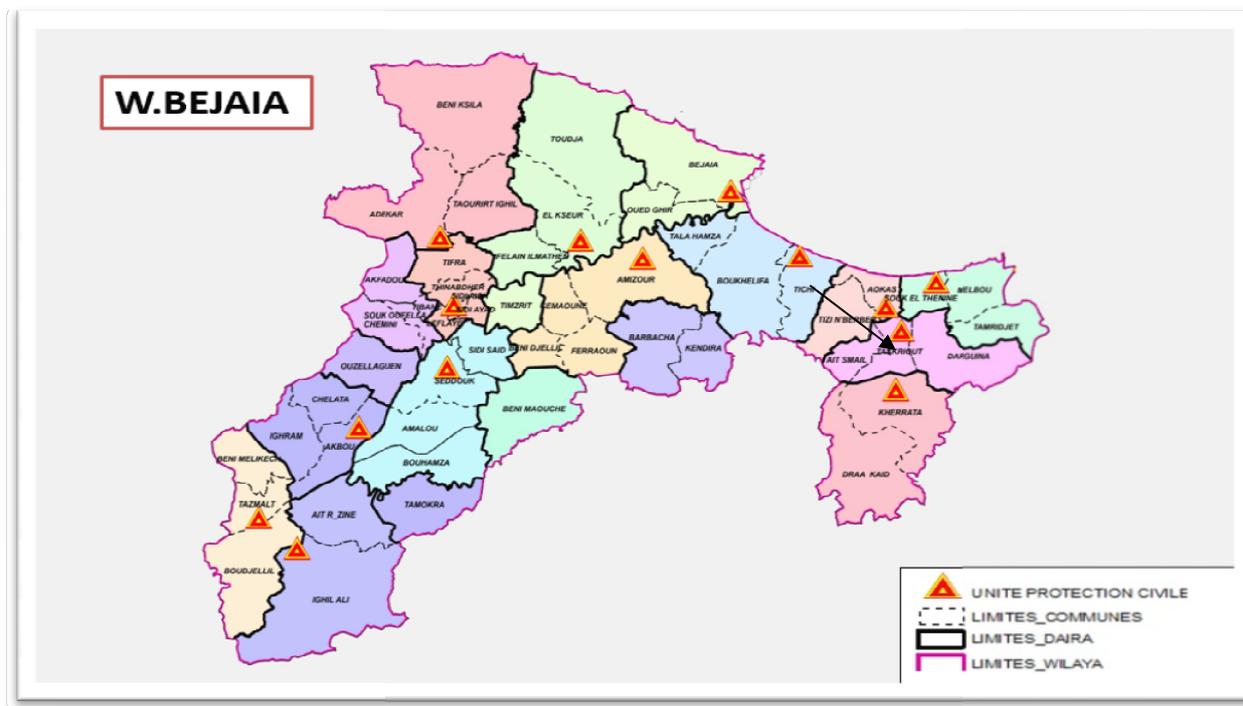


Figure 12 : Localisation de la commune dans la wilaya de Bejaia.

Les feuilles et les écorces ont été séchées à l'étuve à 40°C pendant 5 jours. Les feuilles et les écorces sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Le broyat a été tamisé pour obtenir une poudre homogène d'une granulométrie de 250µm (Figure 12). La poudre obtenue de chaque échantillon a été conservée dans des flacons en verre à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 13 : Photographies des feuilles et d'écorces du noyer commun avant et après broyage (*Juglans régia*).

III -2-taux d'humidité ou teneur en eau

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'un échantillon de 1g dans une étuve isotherme à une température de 105°C et à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesure.

Mode opératoire

- Tarer, à 0g, des coupelles en verre.
- Dans les récipients tarés, Peser 1 g de chaque échantillon.
- Incuber dans l'étuve réglée à 103 ±2 °C pendant 3 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant.
- Les retirer de celui-ci puis les peser après refroidissement.

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation jusqu'à poids constant. Qui est calculée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

H% : taux d'humidité ou teneur en eau exprimé en pourcentage massique.

M₁ : masse en gr de la coupelle avec l'échantillon avant dessiccation.

M₂ : masse en gr de la coupelle après dessiccation.

P : masse en gr de la prise d'essai.

III-3- Extraction

Chaque échantillon a subi deux extractions par deux solvants de polarité différente, l'une avec du méthanol/eau et l'autre avec de l'acétone/eau. Les deux extractions sont représentées dans les figures 13 et 14.

Dans la suite, sont désignés comme extrait méthanolique et extrait acétonique, les extraits obtenus selon les protocoles des figures 14 et 15, respectivement.

Matériels et méthodes

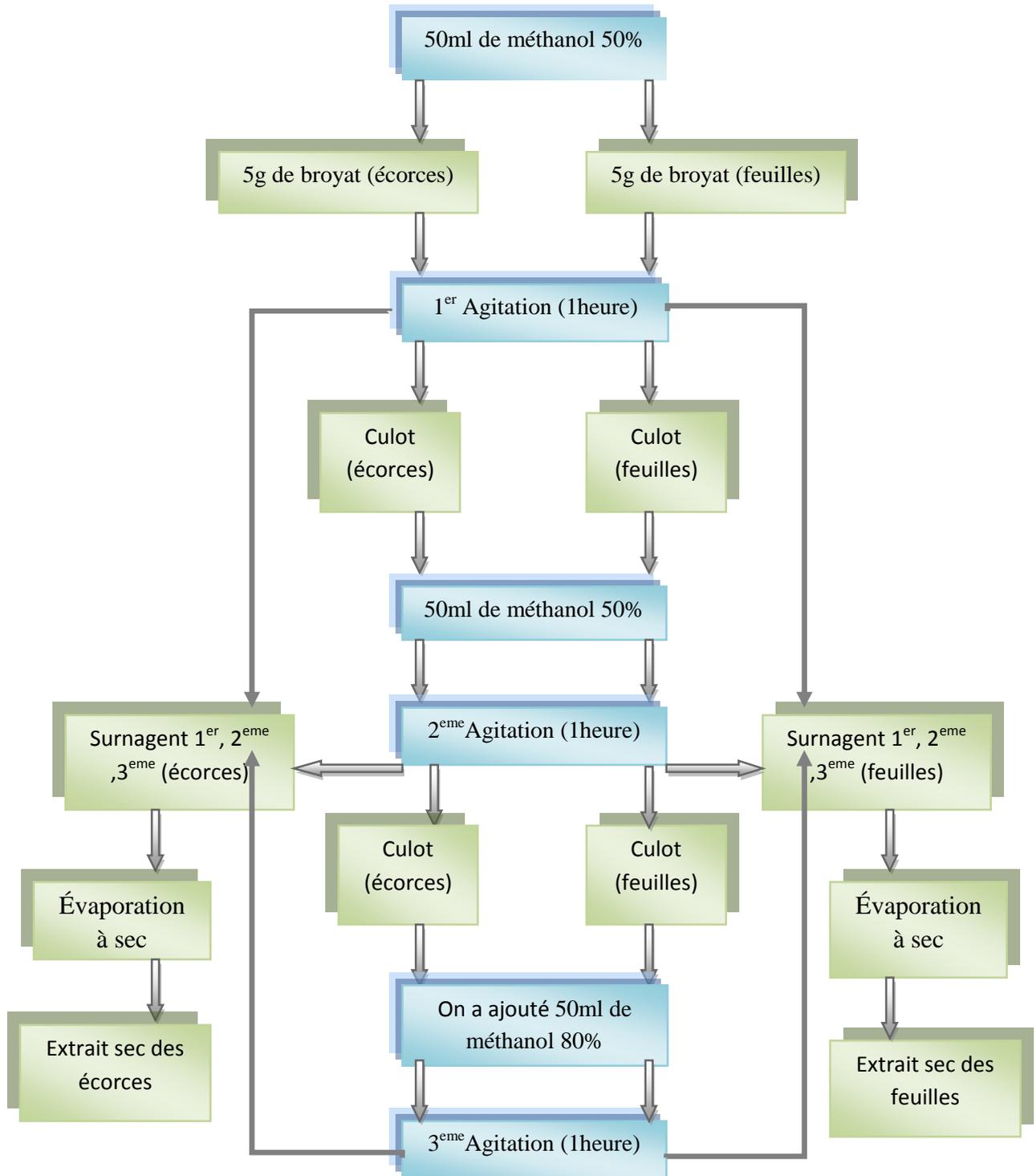


Figure 14. Procédure d'extraction des antioxydants dans du méthanol

Matériels et méthodes

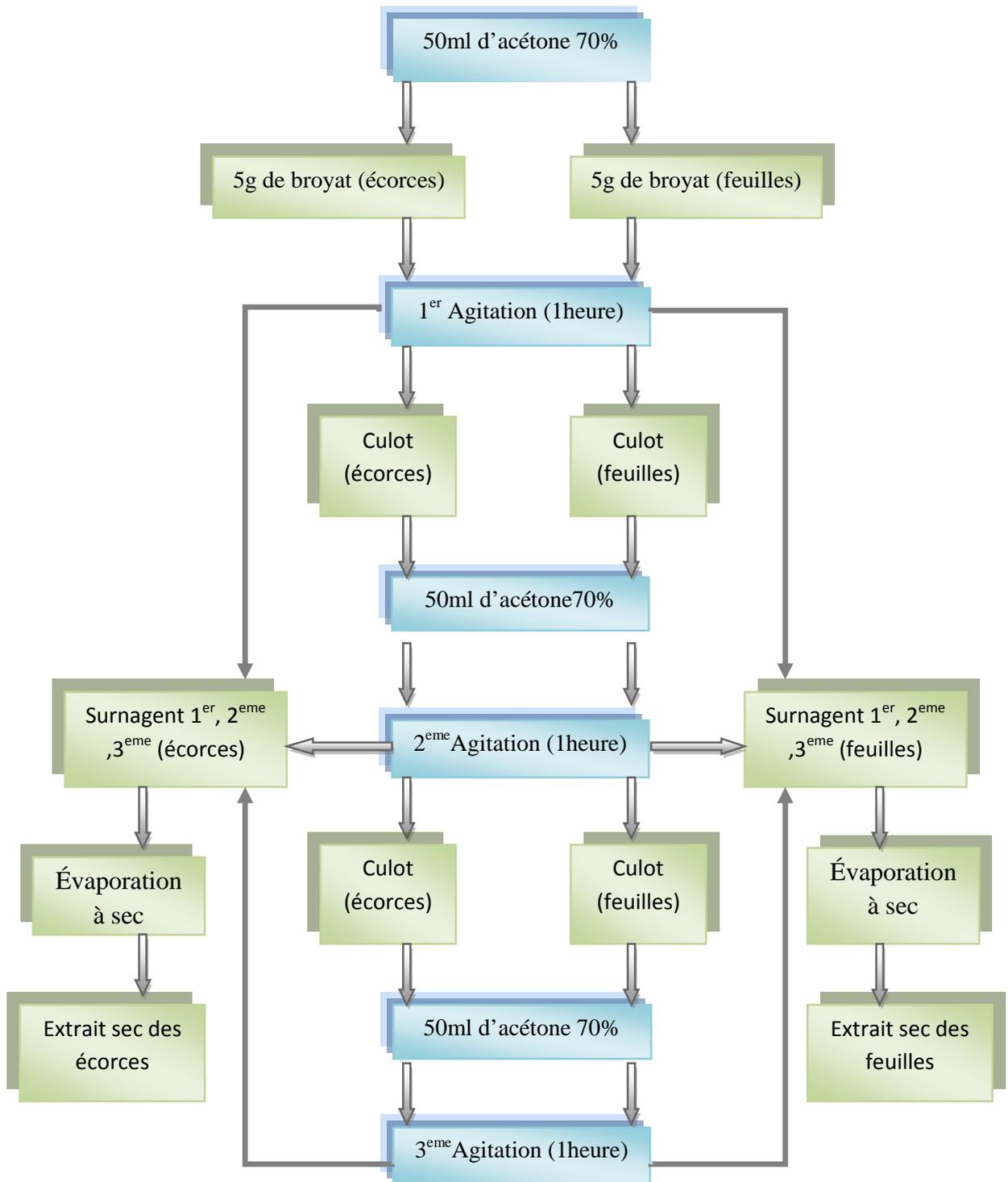


Figure 14. Procédure d'extraction des antioxydants dans de l'acétone.

III-3-1- Détermination du rendement d'extraction

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les composés phénoliques) a été déterminé par rapport à 5 g de broyat de chaque échantillon (feuilles, écorce).

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre la boîte pleine (après évaporation) et le poids de la boîte vide (avant évaporation).

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante (Falleh *et al.*, 2008):

$$R (\%) = (M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}) \times 100$$

R : est le rendement en %.

M ext : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M éch : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

III -4- Dosage des antioxydants

III -4-1-Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Depuis, son utilisation cette méthode s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines diverses. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin- Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (Ribéreau-Gayon,1968)

Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

Mode opératoire

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Velioglu, Mazza, Gao, & Oomah, 1998).. Brièvement, dans des tubes à essais, un volume de 100 µl de chaque extrait a été mélangé avec 1ml de réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois. Le mélange a été agité par vortex et maintenu à température ambiante pendant 5 min, puis 1ml de carbonate de sodium à

Matériels et méthodes

6% à été ajouté. Le mélange a été incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 755 nm en utilisant un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage standard a été réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à partir d'une solution mère préparée avec de l'acide gallique d'une concentration de 0.1mg/ml. La teneur en phénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent acide gallique (GAE) par 100g de Matière sèche. (mg EAG/100g MS).

III -4-2- Dosage des flavonoïdes

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Zhishen, Mengcheng, & Jianming, 1999). Brièvement, dans des tubes à essais sont introduit successivement un volume de 0,25 ml de chaque extrait, un volume de 1.25ml d'eau distillée et un volume de 0.75ml d'une solution de NaNO₂ (5%). Après 5min, 0.15 ml d'AlCl₃ (10%) sont additionné, et le tube est mélangé vigoureusement. Après 6 min, 0.5ml de NaOH (1M) et 0.275ml de l'eau distillée sont rajoutés. La solution est mélangée et l'absorbance est mesurée à 510nm en utilisant un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage standard a été réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à partir d'une solution mère préparée de la catéchine d'une concentration de 1mg/ml (10mg de catéchine dissous dans 10ml de méthanol). La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en (mg) d'équivalent de catéchine par 100 g de matière sèche (mg EC/100g MS)

III -4-3-Dosage des proanthocyanidines (tannins condensés)

Principe

La teneur en proanthocyanidines (Pra) a été déterminée par la méthode du butanol HCl, c'est une méthode colorimétrique qui implique le clivage oxydatif des proanthocyanidines avec le sulfate ferreux, faisant apparaitre une coloration rouge proportionnelle à la quantité des proanthocyanidines (Vermerris et Nicholson, 2006).

Mode opératoire

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Vermerris et Nicholson, (2007). Brièvement, dans des tubes à essais ; un volume de 0,5 ml d'extrait aqueux est ajouté à un

Matériels et méthodes

volume de 5ml d'une solution de sulfate ferreux préparée dans du HCl : butanol (2 :3). Le mélange est incubé à 95°C pendant 15 mn, l'absorbance est mesurée à 530 nm.

Les résultats sont exprimés en (mg) d'équivalent de cyanidine par 100g de matière sèche (mg ECyn/100g MS). Le coefficient d'extinction molaire calculé à partir de la courbe d'étalonnage de la cyanidine ($\epsilon = 34\,700 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) est utilisé pour la conversion des absorbances en concentrations.

III-5- Evaluation de l'activité anti oxydante des extraits

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des différents extraits issus de la plante étudiée est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur et l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (*H2O2 scavenging activity*).

III-5-1- Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH

Principe de test au DPPH

Le DPPH (1,1-diphényl1-2-picrylhydrazyl) est un radical libre. Il se caractérise par une coloration violette en état oxydé. En présence de composés antiradicalaire, il est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'extrait (Mansouri *et al.*, 2005).

Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour *Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Mansouri *et al.*, 2005).

Mode opératoire

L'activité de piégeage des radicaux libres a été déterminée par la méthode décrite par Yang et al. (2006). Les extraits méthanoliques ont été dissous avec du méthanol pour préparer diverses solutions d'échantillons à 200, 100, 80, 60, 40, 20, 10 et 5 mg / ml. Chaque solution d'extrait (2 ml) a été mélangée avec 1 ml de solution méthanolique contenant des radicaux DPPH, avec une concentration finale de DPPH de 0,2 mM. Le mélange a été agité vigoureusement et maintenu pendant 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance a été mesurée

Matériels et méthodes

à 517 nm. L'absorbance du témoin a été obtenue en remplaçant l'échantillon par du méthanol. L'acide ascorbique et le TROLOX ont été utilisés comme référence standard.

L'activité piégeante a été calculée en utilisant la formule, activité de piégeage :
(%) = [(A517 du contrôle - A517 de l'échantillon) / A517 de contrôle] x 100.

$$I\% = [(AC - AE) / AC] * 100$$

AC : absorbance du contrôle a 517nm.

AE : absorbance de l'échantillon a 517nm.

III-5-2-Pouvoir réducteur

Principe

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique Fe³⁺ (FeCl₃) en fer ferreux Fe²⁺ (FeCl₂) en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium K₃ [Fe(CN)₆]. Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant (Chou *et al.*,2003).

Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des extraits a été déterminé selon la méthode rapportée par Liu *et al.* (2008). Une solution d'extrait (2 ml), du tampon phosphate (2 ml, 0,2 M, pH 6,6) et du ferricyanure de potassium (2 ml, 10 mg / ml) ont été mélangés, puis incubés à 50 ° C pendant 20 minutes. De l'acide trichloroacétique (2 ml, 100 mg / ml) a été ajouté au mélange. Un volume de 2 ml de chacun des mélanges ci-dessus a été mélangé avec 2 ml d'eau distillée et 0,4 ml de chlorure ferrique à 0,1% (p / v) dans un tube à essai. Après une réaction de 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique un pouvoir réducteur élevé (Liu *et al.*,2008).

III-5-3- Mesure de l'effet «scavenger» sur l'H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène)

Principe

Le peroxyde d'hydrogène est un dérivé non-radicalaire d'oxygène, il est considéré comme toxique pour les cellules car il permet la formation des radicaux hydroxyles à l'intérieur de la cellule

Matériels et méthodes

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 230nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure du blanc (Ruch et al 1989)

Mode opératoire

L'estimation de cette inhibition est basée sur la méthode rapportée par Gülçin *et al.* (2007). Dans un tube à essai, 300 µl d'extrait sont additionnés de 2,7 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et de 400 µl de H₂O₂. Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. L'absorbance est mesurée dans l'UV à 220 nm après une incubation de 15 mn.

Les pourcentages de la réduction d'H₂O₂ par l'extrait des plantes sont calculés comme suit :

$$\% [\text{H}_2\text{O}_2] = [(A_T - A_E) / A_T] \times 100$$

A_T: Absorbance du témoin.

A_E: Absorbance de l'extrait.

III-6-Analyse statistiques

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

Résultats et discussion

1-Taux d'humidité

Les résultats du test d'humidité montrent que les feuilles de noix sont caractérisées par un taux d'humidité de 70%, par conséquent l'écorce de noix est caractérisée par une teneur plus élevée en eau 77%. (Figure 15).

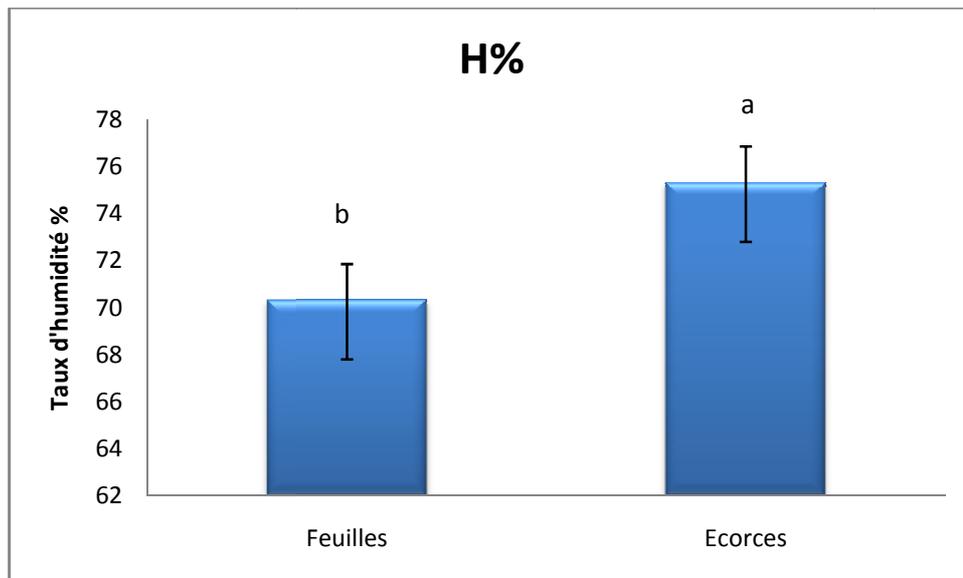


Figure 15 : Taux d'humidité et matière sèche des feuilles et des écorces de noix.

La même lettre indique l'absence de différence significative pour $p < 0,05$ (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

2- Rendement de l'extraction

D'après Quy Diem Do et al, (2014), la variation des rendements d'extraction dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon. Les résultats décrits dans le tableau III révèlent une influence significative du pouvoir d'extraction du solvant sur le rendement. En effet le rendement d'extraits méthanoliques des feuilles est plus faible que celui d'extraits acétoniques alors que le rendement d'extraits méthanoliques des écorces est plus élevé que celui d'extraits acétoniques.

Les résultats obtenus suggèrent que les composés bioactif contenu dans les feuilles et les écorces ont des structures chimiques différentes.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus révèlent aussi des rendements élevés dans les écorces par rapport aux feuilles.

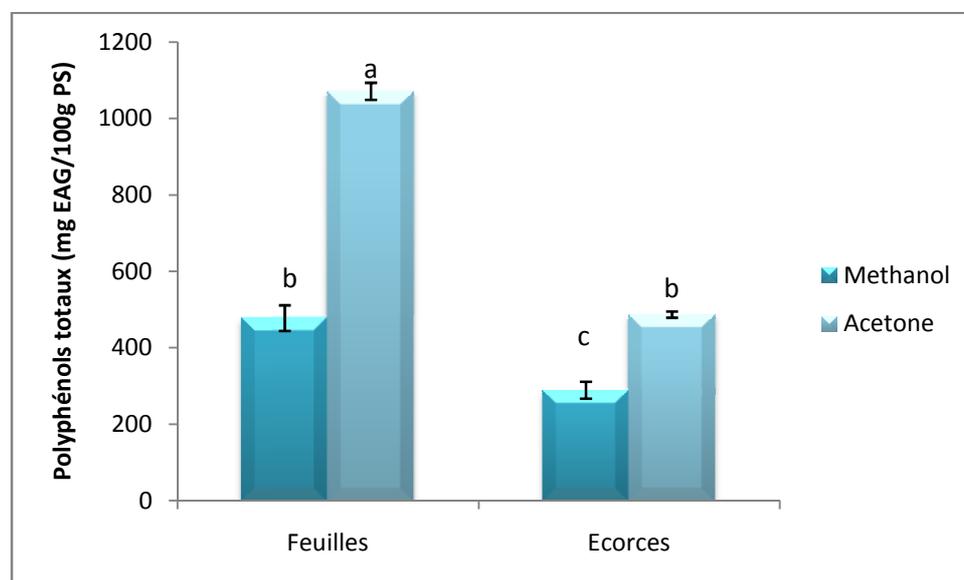
Tableau III- Rendements des extractions méthanolique et acétonique des feuilles et des écorces de noix

Méthode d'extraction	échantillon	Poids d'extrait sec (g)	Rendement (%).
Extraction avec le méthanol (50% ,80%)	Feuilles	0.98	19.6
	Ecorce	2.17	43.4
Macération dans l'acétone (70%)	Feuilles	1.32	26.4
	Ecorce	1.61	32.2

3- Dosage des antioxydants

3-1- Teneurs en polyphénols totaux

Les taux des polyphénols totaux des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Ils sont exprimés en termes de milligrammes d'équivalents d'acide gallique par 100 gramme de poudre sèche (mg EAG/g de MS).



La même lettre indique l'absence de différence significative pour $p < 0,05$ (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

Figure 16 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques et acétoniques des feuilles et écorces de noix.

Résultats et discussion

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits avec les différents solvants utilisés diffère d'un extrait à un autre.

L'extrait acétonique des feuilles possède une teneur plus élevée en polyphénols totaux de l'ordre de 1071.42 ± 22.42 mg EAG/100g de MS que celui de l'extrait méthanolique avec $477,91 \pm 33.67$ mg EAG / 100g MS. Les quantités des polyphénols totaux observées dans l'extrait méthanolique écorces est supérieur de celui de l'extrait acétonique de l'ordre de $487,11 \pm 8.15$ et $289,27 \pm 22.18$ mg EAG/100g de MS respectivement.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les feuilles des extraits acétoniques qui sont riches en composés phénoliques et les extraits méthanoliques des feuilles qui enregistrent une faible teneur en composés phénoliques. Par contre elle révèle aucune différence significative entre l'extrait méthanolique des feuilles et l'extrait acétonique des écorces.

Cette distribution des composés phénoliques entre les différents solvants est due certainement à la différence de polarités des solvants utilisés et le degré de polarité des composés phénoliques que contiennent les écorces et les feuilles de la plante de *Juglans régia*.

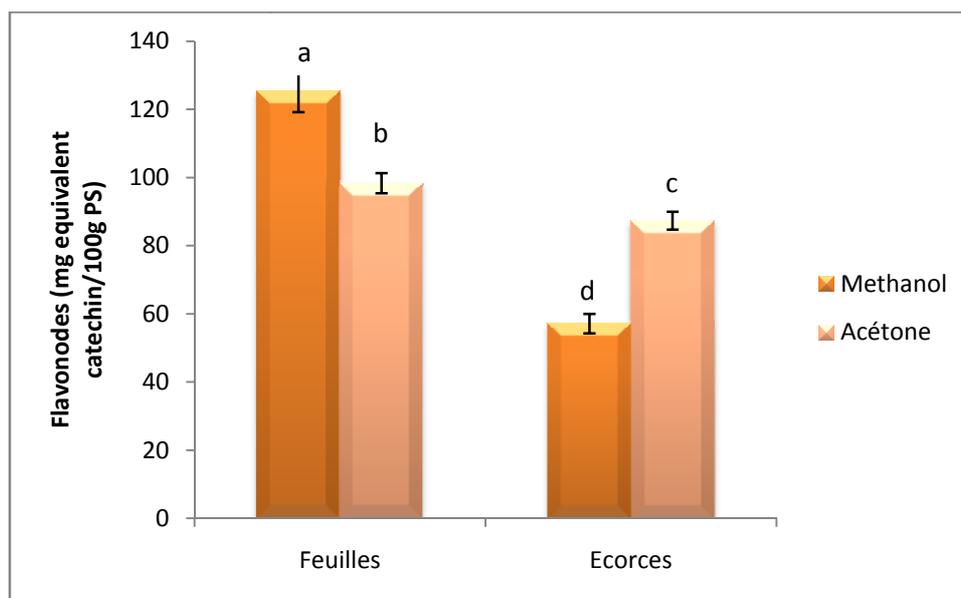
En comparaison avec les résultats obtenus par Oliveira et al, (2008) pour le dosage des polyphénols totaux des écorces et des feuilles de la même espèce dont les taux trouvés 43.77 mg EAG/g de MS des écorces et 69.18 mg/g de MS des feuilles, nous constatons que nos échantillons sont moins riches en composés phénoliques.

Selon Dugald *et al.* (2004) les facteurs environnementaux tels que : la température, la géographie, la durée du jour et les éléments nutritifs, influencent fortement sur la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante.

3-2-Dosage des flavonoïdes

Les résultats présentés dans la Figure 17 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits selon la partie de la plante et le type du solvant.

Résultats et discussion



La même lettre indique l'absence de différence significative pour $p < 0,05$ (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

Figure 17 : Teneur en flavonoïdes des extraits méthanoliques et acétoniques des feuilles et des écorces de *Juglans régia*.

L'extrait méthanolique des feuilles enregistre des teneurs plus élevées en flavonoïdes avec 125.54 ± 8.07 mg EC /100g de MS par rapport à l'extrait acétonique avec 98.48 ± 9.63 mg EC /100g de MS. Tandis que l'extrait méthanolique des écorces renferme des teneurs plus faibles avec 57.18 ± 2.73 mg EC/100g de MS par rapport à l'extrait acétonique qui renferme des teneurs plus élevées avec 87.40 ± 2.91 mg EC/100g de MS.

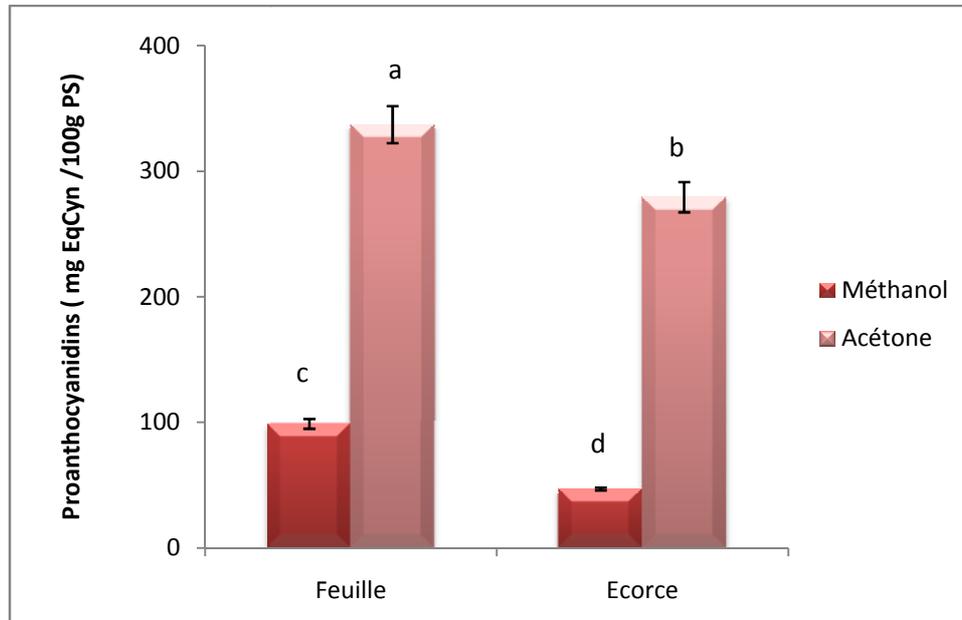
D'après l'étude statistique, les teneurs en flavonoïdes sont significativement plus élevées au niveau des feuilles des extraits méthanoliques. Il existe une différence significative entre les différents extraits des feuilles et des écorces.

En comparaison avec les résultats obtenus par Vali Akbari (2012) pour le dosage des flavonoïdes des écorces verts de la fruit de noix (*Juglans régia L.*) dont le taux trouvés 10.69 mg EC/100g de PS, les extraits méthanolique et acétonique des écorces renferment des taux plus élevés en flavonoïdes. Plus riches aussi par rapport aux teneurs trouvées par Joanna Rywaniak et al (2015) dont le taux et de 0.347 mg EC/100g MS.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante, dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits.

3-3-dosage des proanthocyanidines

Les résultats présentés dans la (Figure 18) montrent que les teneurs en proanthocyanidines varient considérablement entre les différents extraits selon la partie de la plante et le type du solvant.



La même lettre indique l'absence de différence significative pour $p < 0,05$ (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

Figure 19: Teneur en proanthocyanidines des extraits méthanolique et acétoniques des feuilles et des écorces de *Juglans régia*. Les valeurs sont la moyenne de trois essais.

Les résultats de la teneur en proanthocyanidines des différents extraits consignés dans la figure dont les teneurs les plus élevées en proanthocyanidines est celles de l'extrait acétonique des feuilles et des écorces de l'ordre 337.11 ± 14.76 et 279.41 ± 12.04 mg EqCyn/100g de MS respectivement. Par contre les extraits méthanolique des feuilles et des écorces sont plus faible avec des teneurs 98.9 ± 3.88 et 46.98 ± 1.16 mg EqCyn/100g de MS respectivement.

L'étude statistique révèle qu'il existe une différence significative dans la teneur en proanthocyanidines dans l'extrait acétonique la teneur est plus élevée que l'extrait méthanolique.

Selon (Chavan U.D et al 2001 et Wiley.J 2002). L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires et l'acétone possède la capacité de solubiliser les proanthocyanidines qui ne sont pas solubles dans le méthanol et nos résultats révèlent que la technique de macération avec le solvant acétonique

Résultats et discussion

est plus efficace pour l'extraction des proanthocyanidines des feuilles et des écorces de *Juglans régia*.

La teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et proanthocyanidines dépend de différents facteurs: nature de l'espèce, conditions physiologiques, type d'extraction: le solvant, le mode à froid ou à chaud, agitation ou non (Proestos et al., 2006).

4-Activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits issus des écorces et des feuilles de la plante *Juglans régia* étudiées par trois méthodes différentes, le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur et le piégeage du radical peroxyde d'hydrogène.

4-1-Activité anti-radicalaire au DPPH :

Le changement de la couleur de la solution méthanolique de DPPH en présence de chacun des extraits méthanoliques et acétoniques des écorces et des feuilles à tester ont été mesuré à 517 nm, les résultats figurant dans les figures ci-après illustrent le pouvoir anti radicalaire des différents extraits vis-à-vis du radical libre DPPH.

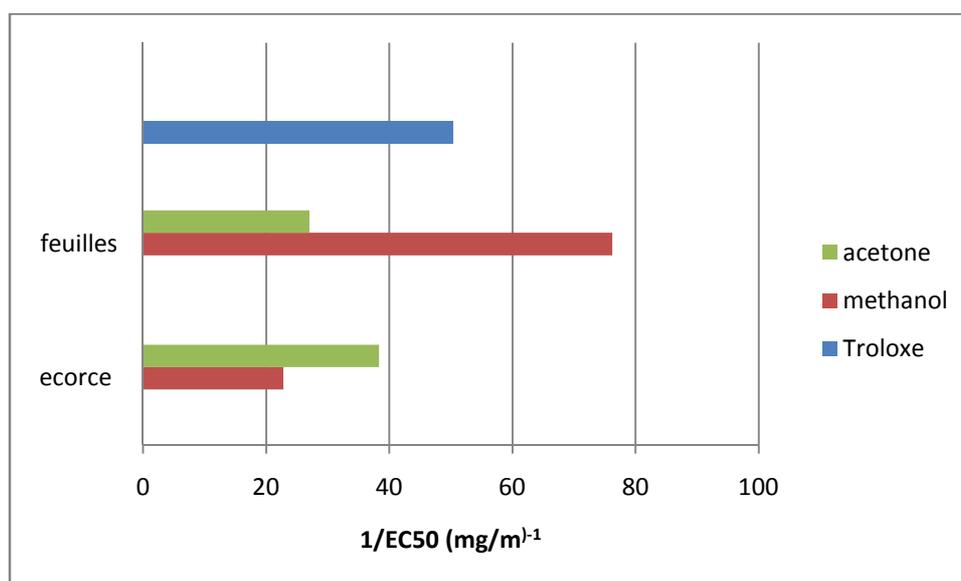


Figure20: Activité antioxydante exprimée en valeurs $1/IC_{50} (mg/ml)^{-1}$ des extraits des écorces et des feuilles de *Juglans régia*. et du standard Trolox .

L'extrait méthanolique des feuilles possède une activité antiradicalaire $1/IC_{50}$ de $76.22 (mg/ml)^{-1}$ supérieur à celle de l'extraits acétonique et du Trolox avec 27.01 et $50.44 (mg/ml)^{-1}$ respectivement, par contre l'extrait acétonique des écorces possède une activité antiradicalaire $1/IC_{50}$ plus élevées que celle de l'extrait méthanolique .

Résultats et discussion

L'étude statistique révèle qu'il existe une différence significative entre les différents extraits. L'effet «scavenger» des extraits méthanoliques des feuilles est largement plus grand que celui des autres extraits.

Nous remarquons que la concentration inhibitrice 50 % des radicaux libres de DPPH des feuilles trouvé par (Jose´ Alberto Pereira et al 2007) de l'ordre 0.202 mg/ml est très faible par rapport à nos résultats.

Quantitativement, tous les extraits étudiés présentent une activité antioxydante élevée (valeurs IC50 inférieures à 1 mg / mL) et l'extrait méthanolique des feuilles est plus efficace (**Tableau IV**).

Tableau IV- Activité antiradicalaire des feuilles et des écorces de noix

Echantillons	IC50	Ecartype	1/IC50
Trolox	0.020	0.001	50.45
Feuilles methanol	0.013	0.007	76.22
Feuille acetone	0.037	0.003	27.01
Ecorce methanol	0.044	0.007	22.80
Ecorce acetone	0.026	0.008	38.30

4-1-1-Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, proanthocyanidines et la capacité du piégeage des radicaux libres de DPPH

Les composés phénoliques, les flavonoïdes et les proanthocyanidines semblent contribuer de manière importante à piéger les radicaux libre de DPPH présent dans le différent extrait testé. Les coefficients de corrélations linéaires r entre ces classes et le pourcentage d'inhibition des différents extraits sont de 0.83 et 0.94 et 0.79 respectivement.

On conclut que les feuilles de *Juglans régea* qu'on à étudier constituent une source substantielle d'antioxydants vu sa teneur élevée en flavonoïdes (125.54mg EC /100g de MS) à cause de leurs capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxide (O_2^*), hydroxyle (OH^*), peroxyde (ROO^*) et alkoxyde (RO^*). cité par Sebastien, F (2006).

Par ailleurs ces résultats indiquent que les deux méthodes d'extraction sont plus ou moins similaires.

Résultats et discussion

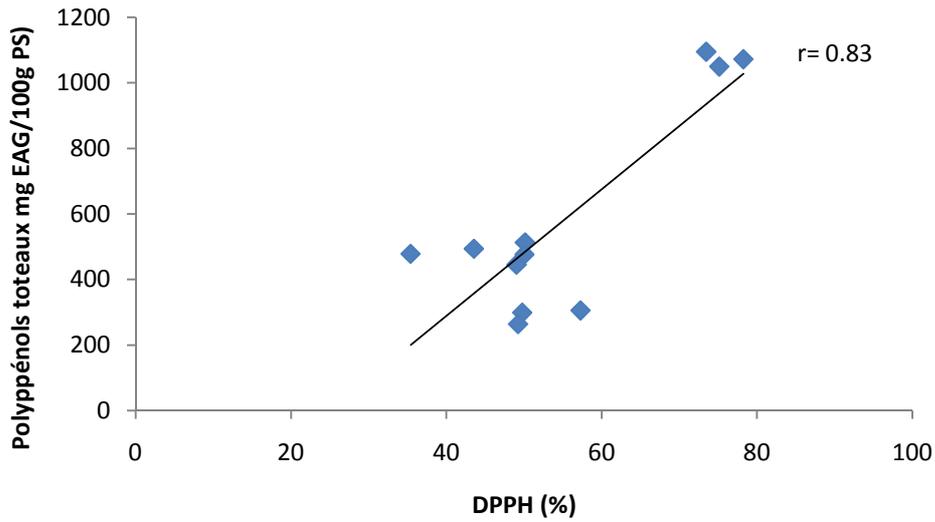


Figure 21 : Corrélation linéaire entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en polyphénols totaux.

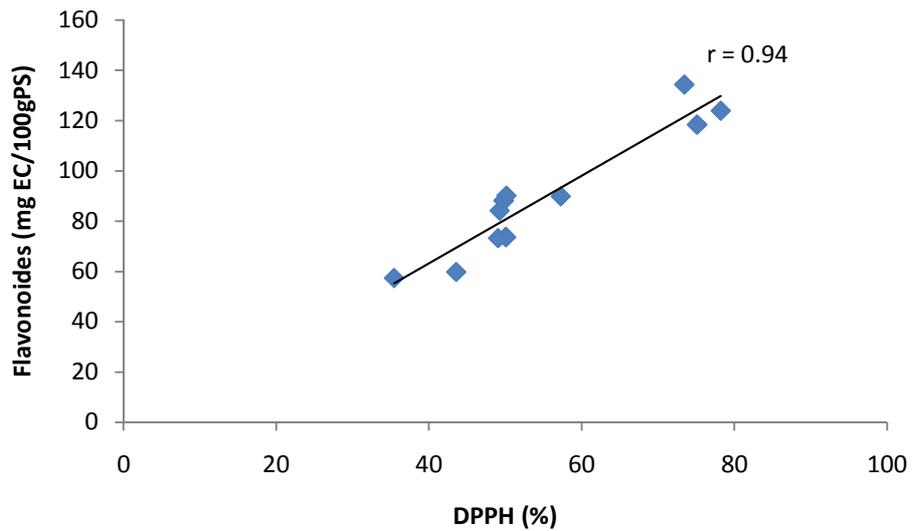


Figure 22 : Corrélation entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en Flavonoïdes.

Résultats et discussion

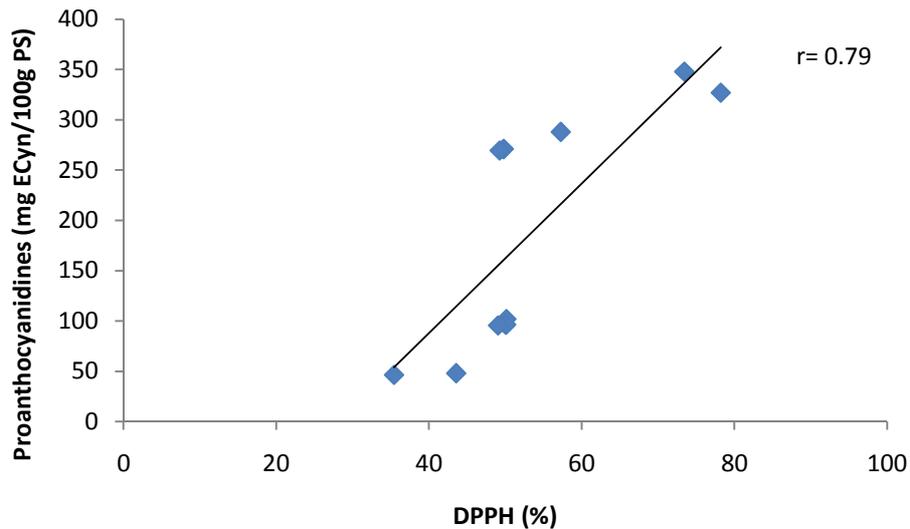


Figure 23 : Corrélation entre la capacité du piégeage du radical DPPH exprimée en % et les teneurs en proanthocyanidines.

4-2- Pouvoir réducteur:

Le pouvoir réducteur est l'aptitude d'une substance à transférer un électron ou à donner un atome d'hydrogène. Même si plusieurs mécanismes sont attribués aux antioxydants, de nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme un indicateur significatif de son potentiel antioxydant.(Perreira et al .2007)

Les pouvoirs réducteurs des extraits analysés sont représentés dans la figure 24.

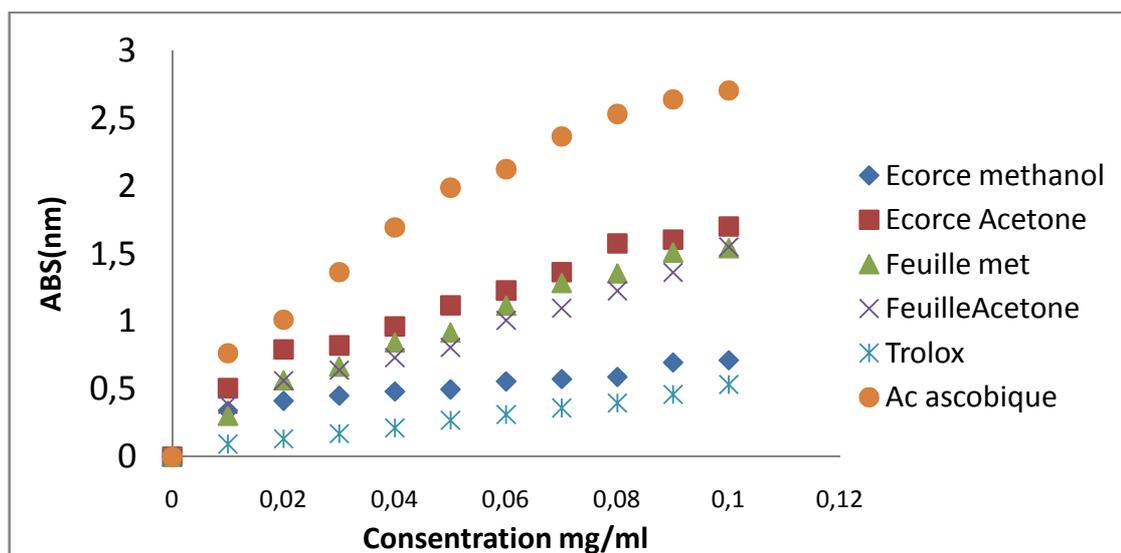


Figure 24 : Pouvoir réducteur des extraits hydro méthanolique et hydro acétonique des écorces et des feuilles de la plante *Juglans régia*.

Résultats et discussion

Le pouvoir réducteur de l'extrait acétonique des écorces et des feuilles s'élèvent de 1,699 et 1,539 respectivement et celui de l'extrait méthanolique des écorces et des feuilles s'élèvent de 0,712 et de 1,55 respectivement à la concentration de 0.1mg/ml.

L'absorption plus élevée de la réaction indique un plus grand pouvoir réducteur (Vali Akbari et al 2012), donc l'extrait acétonique des écorces (1,699) ont un pouvoir réducteur plus élevé que ceux obtenus à partir des autres extraits et celui méthanolique des écorces (0,712) était le plus faible.

En comparaison avec les standards de concentration 0.1mg/ml nous remarquons que tout l'extrait présente une forte activité antioxydante comparable à celle du Trolox (0,533nm) et une faible activité par rapport à l'acide ascorbique (2,704).

4-2-1-Corrélation entre les teneurs (phénols totaux, flavonoïdes, proanthocyanidines) et le pouvoir réducteur des différents extraits

Les teneurs en composés phénoliques ne semblent pas contribuer au pouvoir réducteur observé dans les extraits testés. Le coefficient de corrélation entre eux est négative de l'ordre $r = -0.30$.

Les flavonoïdes et Les proanthocyanidines ne présentent pas une bonne contribution au pouvoir réducteur observé dans les extraits testés. Les coefficients de corrélations entre eux est de 0.43 et 0.55 respectivement

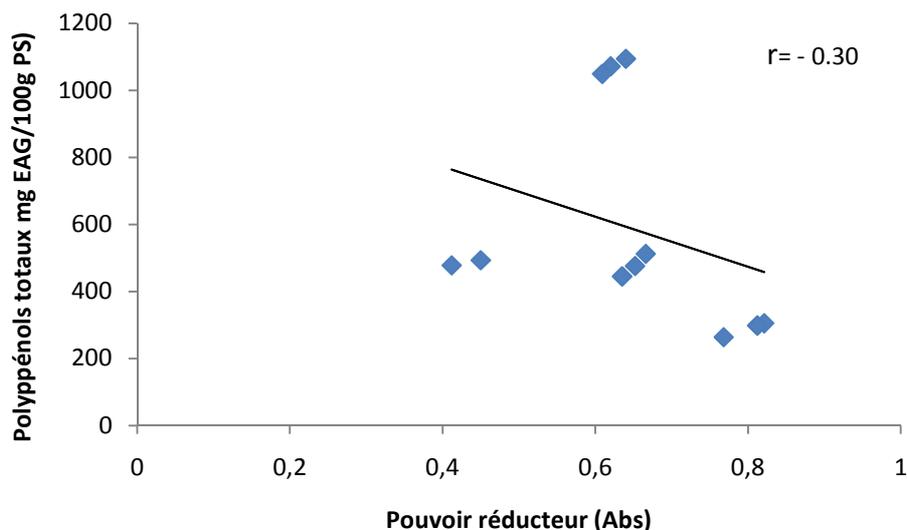


Figure25 : Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en Abs et les teneurs en phénols totaux.

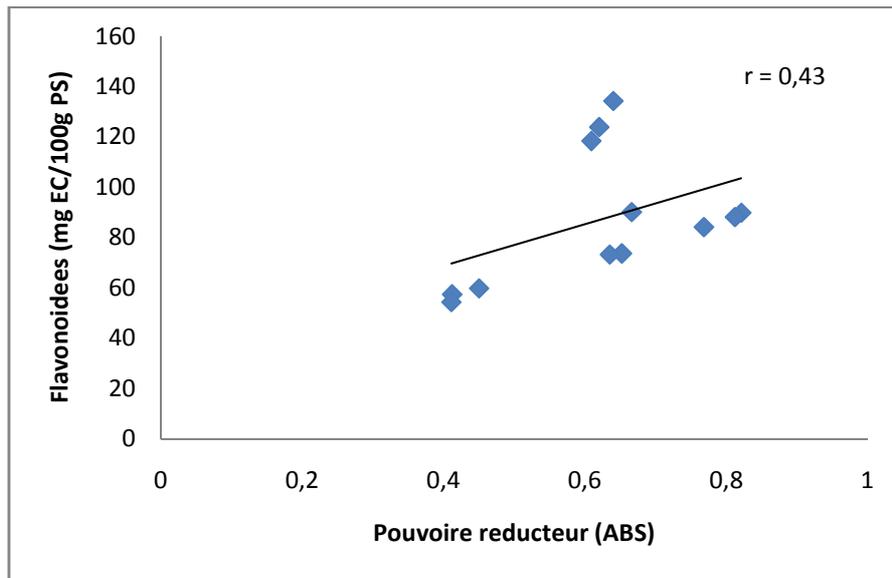


Figure 26: Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en Flavonoïdes.

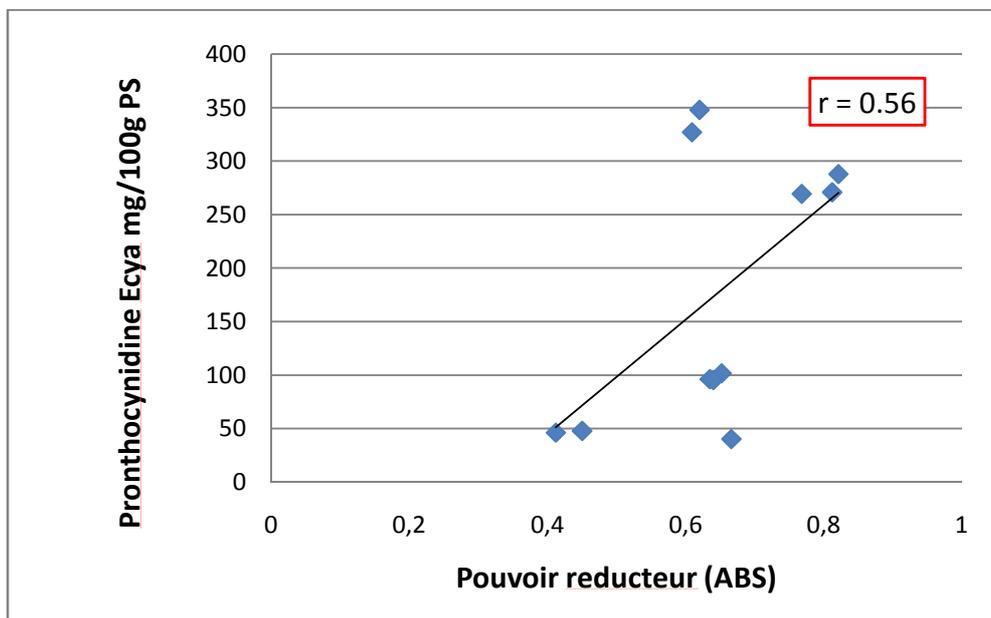


Figure 27: Corrélation entre le pouvoir réducteur des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en .

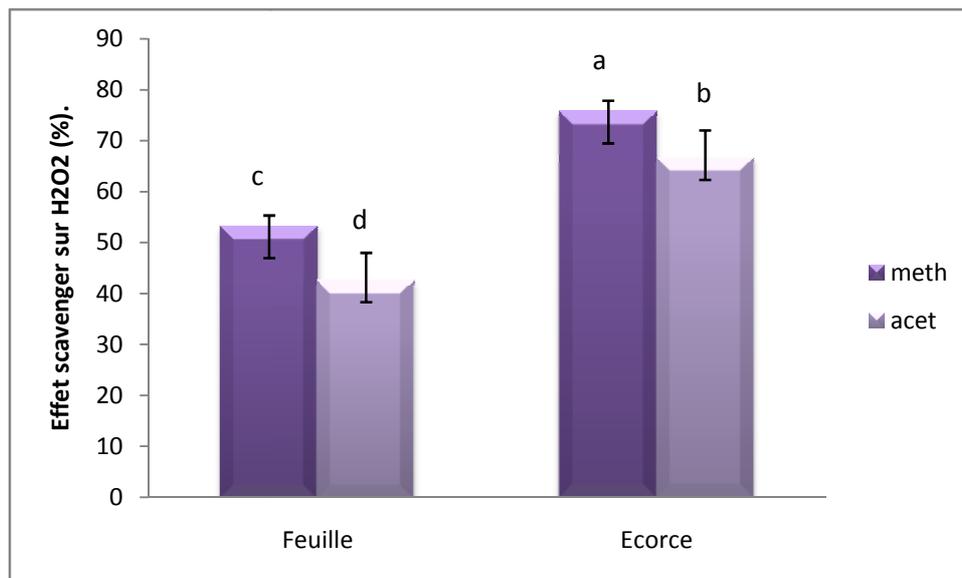
4-3-Activité scavanger sur le peroxyde d'hydrogène

Le Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui n'est pas un radical libre peut être formé secondairement à la dismutation de (O_2) par la superoxyde-dismutase ou produit par

Résultats et discussion

réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase,...etc (Jadot, G.1994).

Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, G.2010).



La même lettre indique l'absence de différence significative pour $p < 0,05$ (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

Figure 28: Activité scavenger des feuilles et des écorces de *Juglans regia* sur le peroxyde d'hydrogène.

La figure 27 montre les taux d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des différents extraits Méthanoliques et acétonique des écorces et des feuilles des noix. . D'après ces résultats, concernant les feuilles des extraits méthanoliques ; le taux d'inhibition de H₂O₂ est de 53.21% et pour l'extrait acétonique est de 42.57%. et pour l'écorce des extraits méthanolique le taux d'inhibition de H₂O₂ est de 75.74% et pour l'extrait acétonique est de 66.85%.

L'étude statistique révèle que l'effet «scavenger» des écorces est plus grand que celui des feuilles sans différence significative.

4-3-1-Corrélation entre les teneurs (phénols totaux, flavonoïdes, tannins) et le peroxyde d'hydrogène des différents extraits

Les flavonoïdes semblent être impliqués dans l'effet «scavenger» sur le H₂O₂ observé dans les extraits testés. Leurs coefficients de corrélations est de l'ordre 0.75.

Il n'existe pas une bonne corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les proanthocyanidines qui peuvent être impliqués dans l'effet «scavenger» sur le H₂O₂ observé dans les extraits testés. Le coefficient de corrélation entre eux est de l'ordre 0.48 et 0.69 respectivement.

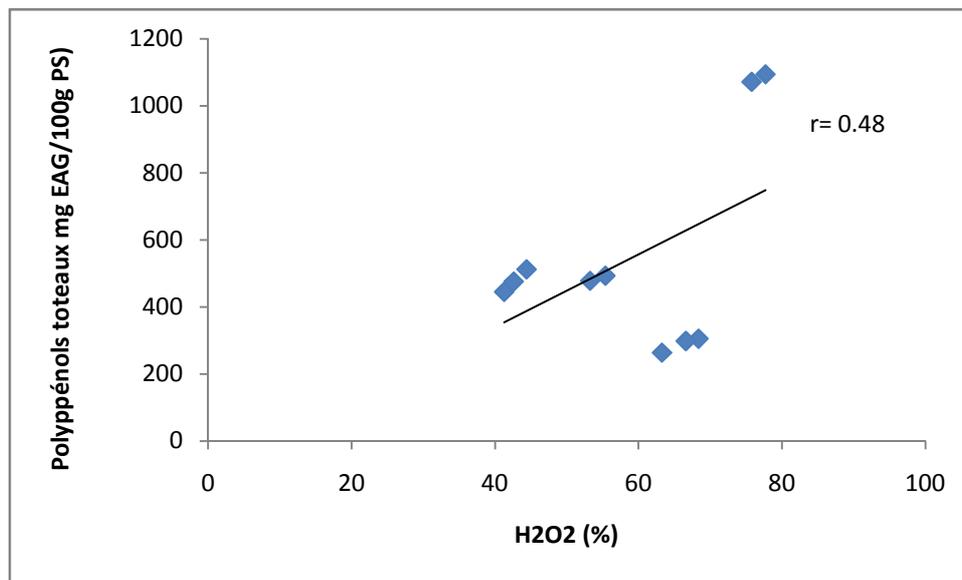
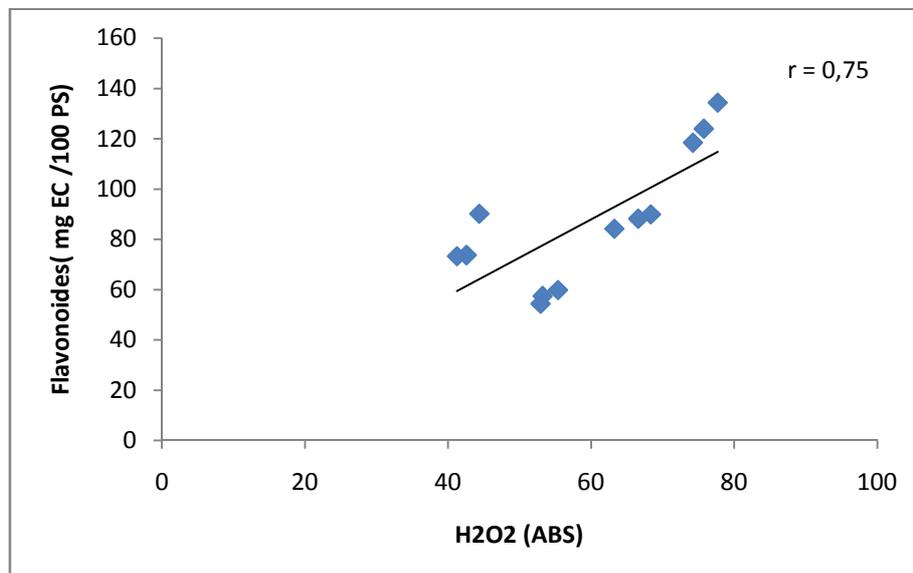


Figure29 : Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en phénols totaux.



Résultats et discussion

Figure 30: Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en Flavonoïdes.

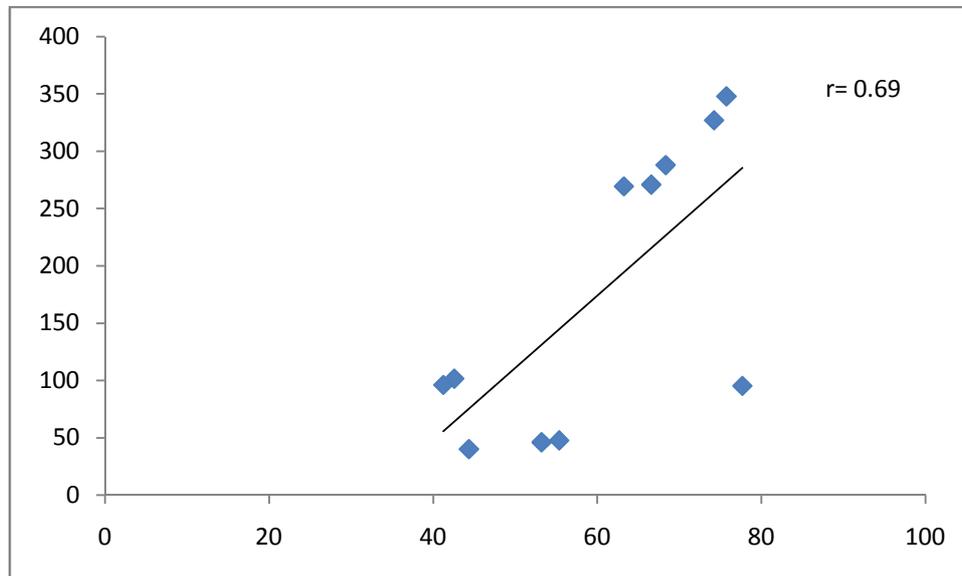


Figure 31: Corrélation entre le peroxyde d'hydrogène des différents échantillons exprimée en ABS et les teneurs en proanthocyanidines.

Conclusion

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques mais, comme c'est le cas pour la plus part des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes et les stades physiologiques, dont certains phénols sont alors de bon marqueurs de stade physiologique.

Notre travail est consacré aux dosages des antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes, et proutocyanidines) contenus dans différents extraits méthanoliques et acétoniques et l'évaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des écorces de *Juglans regia*.

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant des feuilles et des écorces de *Juglans regia* été examinées et regroupées selon leurs principes. Le test DPPH+ (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) est basé sur la mesure de la capacité de piégeage de radicaux à l'aide de radical stable DPPH. Le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity) permet l'évaluation de la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Pouvoir réducteur les extraits étaient déterminés pour leur réduction de la puissance de modifier.

Le coefficient de corrélation entre les composés phénoliques et l'activité anti radicalaire sur le DPPH est très élevé ($r = 0.83$; $r = 0.94$; $r = 0.79$ respectivement). ce qui suggère que les composés phénoliques des feuilles et des écorces étudiées participent de manière importante à leurs activité antioxydante.

Les polyphénols totaux, les flavonoïdes et proutocyanidine ne contribuent pas ou contribuent très faiblement au pouvoir réducteur.

Nos résultats suggèrent que les polyphénols, les flavonoïdes et les proutocyanidines peuvent être de composés antioxydants importants dans les feuilles et des écorces de noix (*Juglans regia L.*), sur la base des résultats obtenus, qui peuvent jouer un rôle bénéfique pour la santé.

A la lumière de ces résultats, cette étude préliminaire nécessite d'autres recherches qui s'intéressent à :

L'utilisation d'autres solvants organiques (acétone, éthanol, ...) pour extraire le maximum de composants chimiques

Conclusion

L'évaluation de l'activité antioxydante par d'autres méthodes *in vitro*: ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter)

Etude d'autres activités biologiques; comme antidiabétique ou antimicrobienne.

Amaral J.S., Seabra R.M., Andrade P.B., Valentao P., Pereira J.A, et Ferreres F. (2004). Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia L.*) leaves. *Food Chemistry*. 88: 373–379.

Amaral J.S., Valentão P., Andrade P.B., Martins R.C., et Seabra R.M. (2008). Do cultivar, geographical location and crop season influence phenolic profile of walnut leaves? *Molecules*. 13:1321-1332 .

Ait youssef, M. (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press 349 p.

Barboni T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. *Thèse de doctorat*. Université de Corse Pascal Paoli.

Békro Y.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana (baill.)

herend et zarucchi (caesalpinaceae). *Sciences & nature*. vol 4 n° 2: 217 – 225

Bonev I.(1973). Note technique sur le noyer, production des plants greffés et création des noyeraies. Ed. Bibliothèque forestière. Alger.31p.

Blumenthal M., (2000). Herbal Medicine Expanded Commission E. Monographs. 1st ed. American Botanical Council., p. 401.

Bounatirou S. et al. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoffm. & Link. *Food Chem.*, 105, 146-155.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3eme ed. Lavoisier, Paris. 1120 p.

Chavan U.D., Shahidi and M. Nacz. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *J. Food Chem*. Vol. 75. pp. 509-512.

Chou S.T., Chao W.W. and Chung Y.C. (2003). Antioxidative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus radiatus L. var. Aurea*). *Journal of Food Science*, 68(1): 21-25.

Cushine T P T and Lamb A J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agent*, 26, 343-356.

Chung, K., Wong, T.Y., Wei, C., Huang, Y., Lin, Y. (1998). Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 38: 421-464.

Chu, Y., Sun, J., Wu, X., & Liu, R. H . (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6910–6916.

Das H C, Wang J H and Lien E. (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoides: a structure system-activity relationship analysis. *Journal of Food Engineering*, 69, 133-136.

Dupéron , J . (1988). Les bois fossiles de Juglandaceae : inventaire et révision (.Fossil woods of the Juglandaceae : inventory and révision) .Rev . Palaeobot. Palynol. 53 :251-282..

Dugald C., Closea B.C., Arthura B.L., Pietrzykowskia E. et Patersona S.(2004). Evaluating effects of nursery and post-planting nutrient regimes on leaf chemistry and browsing of eucalypt seedlings in plantations. *Forest Ecology and Management*. 200,101-112.

Erdemoglu N., Küpeli E., Ilada EY. (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharmacol* 89: 23-129.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C.(2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*, 331: 372–379.

Formica J V and Regelson W. (1995). Review of the biology of quercetine and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol*, 33, 1061-1080.

Frutos P, Hervás G, F Giráldez and A Mantecón .(2004). Review : Tannins and ruminant nutrition.*Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 191-202.

Garavel L., (1959). La culture du Noyer. J.B. Baillière et fils, Paris, 285 p.

Germain E. (1992). Le noyer. In: A. Gallais et H. Bannerot (Eds), Amélioration des espèces végétales cultivées, objectifs et critères de sélection, INRA, Paris, pp 620-632.

Ghedira K., 2005. Les flavonoïdes :structure, propriétés biologiques, role prophylactique et emplois en thérapeutique.*Phytothérapie*, pp.162-169.

Gurgnard J.L. (2000). Biochimie végétale, Préface de Pierre Potier, 2ème édition de l'abrégé Ed : Dunod, Paris : 163-175.

Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Riechel, T.L. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants, *Journal Agric Food Chem*, 1998, Vol 46 (5), pp 1887-1892.

Hakala P, Lampi A-M, Ollilainen V , Werner U, MURkovic M, Wahala K, Karkola S, Pironen (2002).Steryl phenolique acid esters in cereals and their milling fractions. *J Agric Food Chem*, 50 : 5300-5307

Harborne JB(1989).General procedures and measurement of total phenolics.. In : Har-borne JB. Plant Phenolics . Academic Press,Londres,1-28.

Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139: 1–21.

Jadot, G. (1994). Antioxydants et vieillissement, *Edition John Libbey Eurotext*, p 35

Karp, G. (2010). Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments. *Edition De Boeck Supérieur*, p 35.

Kim H P, Son K H, Chang H W and kong S S .(2004). Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *J Pharmaco .Sci*, 96, 229-254.

Leong, LP., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.

Liu Y. M., Xu Y. P., Gao J. M., Yang X. P. et Liu Y. S. (2004). Analysis of volatile components from leaves of *Juglan sregia* by GC/MS. *Acta Bot. Boreali-occidentalia Sin.* 24:1100–1102.

Łuczak S., Świątek L., et Zadernowski R. (1989). Phenolic acids in leaves and pericarpium of walnut *Juglans regia* L. *ActaPolon.Pharm.* 46: 494-499.

Makoi JHR, Ndakidemi PA. (2007) .Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic .

Macranahan G.H., Leslie C., (1990). Walnuts (Juglans). In: Genetic resources of temperate fruit and nut crops, *Acta Horticulturae*, 290(2) : 907-951.

Mabberley, D. J. (1987). The Plant Book. A portable dictionary of the higher plants., Cambridge University Press.

Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. and Kefalas P. 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, **89**: 411–420.

Mcgranahan G., Chuck L. (2009). Breeding Walnuts (*Juglans Regia*) 249-275pp. In Mohan Jain., Priyadarshan P.M. Breeding Plantation tree crops temperate species. Springer édition.

Naczek M and Shahidi F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography* vol.1054, pp095-111.

Oliveira, Anabela Sousa, Isabel C.F.R. Ferreira, Albino Bento, Letícia Estevinho, José Alberto Pereira. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2008) 2326–2331

Ounis M., Zitouni A. (1996). Le noyer commun (*Juglans regia* L.). Le connaître pour mieux le développer. *Rev la forêt algérienne* n°2. Ed. INRF Algérie. pp15-20.

PASTRE J., PRIYMENKO N. (2007). Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4) :187p.

Pereira J.A., Oliveira I., Sousa A., Valentão P., Andrade P.B., Ferreira I.C., Ferreres F., Bento A., Seabra R., et Estevinho L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem Toxicol.* 45: 2287-2295.

PELLETIER E., CAMPBELL P., DENIZEAU F. (2004). *Ecotoxicologie moléculaire*. Ed. Presses de l'université du Québec. Canada : 182p

Peronny S. La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline Eco-Ethologie. 2005, pp 151

PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., DEFRAIGNE JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*. Vol4(5):133–8.

Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power

assay. *J. Agric. Food Chem.* 2000 (48), 3396–3402.

Qiang He, Yuanping L. V and Yao K. (2006). Effects of tea polyphenols on the activities of amylase, pepsin, trypsin, and lipase. *Food Chemistry* vol. 101, pp. 11782.

Ribereau-Gayon P., 1968. *Les composés phénoliques des végétaux*, Dunod, Paris, p254.

Ruch RJ, Cheng SJ, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* 1989;10:1003-8.

Sebastien F. (2006). *Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire*. Thèse de doctorat de chimie. Université Nice-Sophia Antipolis Faculté des Sciences 209 p.

Silva, B.M., Andrade, P.B., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R.M., Ferreira, M.A. (2004). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4705–4712.

TANGUY M. (2009). *Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation . Médecine*. Vol 5 (6):256-260.

Vanacker, S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, W.J.F. (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56:935– 943.

Vanier P. (1999) . *Plantes médicinales*. 231 compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *Afr J Biotechnol* 6:1358-1368.

Vali Akbari , Rashid Jamei , Reza Heidari , Ali Jahanban Sfahlan . (2012). Antiradical activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. *Food Chemistry* 135 2404–2410.

Vermerris W. et Nicholson R . (2006) . *Phenolic compound biochemistry Pouvoir reducteur*.

Wichtl M. (2004). *Juglandis folium*. Walnut leaf In: *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Medpharm GmbH Scientific Publisher, Stuttgart: 281-282.

Wiley J. Proanthocyanidins. (2002). Extraction, Purification and Determination of Subunit Composition by HPLC. *Cur. Prot. Food Anal. Chem* Doi: 11.4.1-11.4.11.

Winkel-Shirley, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.* **2001**, 126(2), 485-493

Yochum L, Kusli L, Meyer K and Folsom A . (1999). Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiol*, 149, 943-949.

Zupko, I., Hohmann, J., Redei, D., Falkay, G., Janicsak, G., Mathe, I. (2001). Antioxidant activity of leaves of *Salvia* species in enzyme-dependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. *Planta Med.* 67, 366–368.

ANNEXES

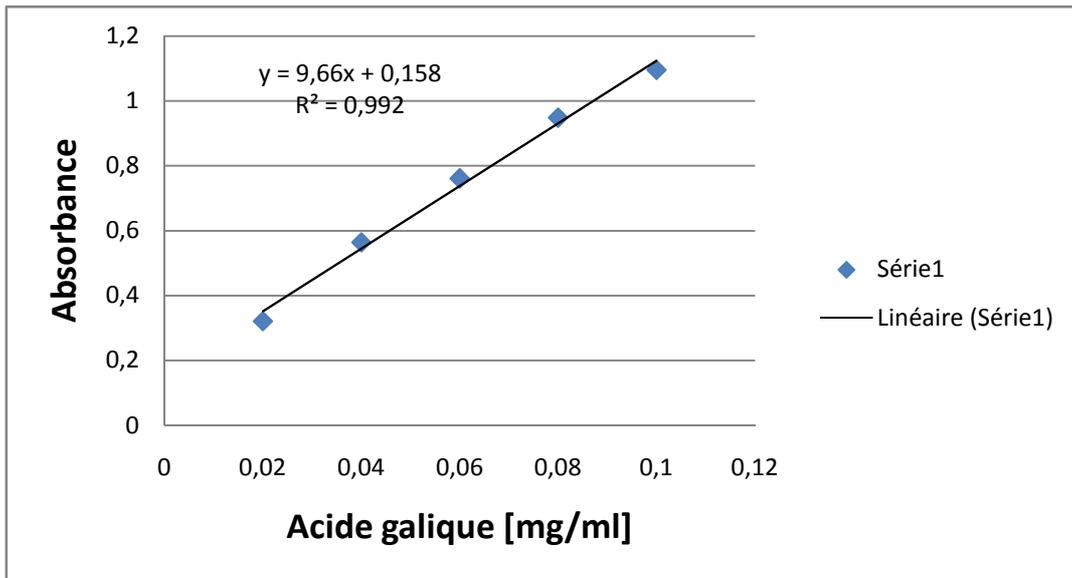


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

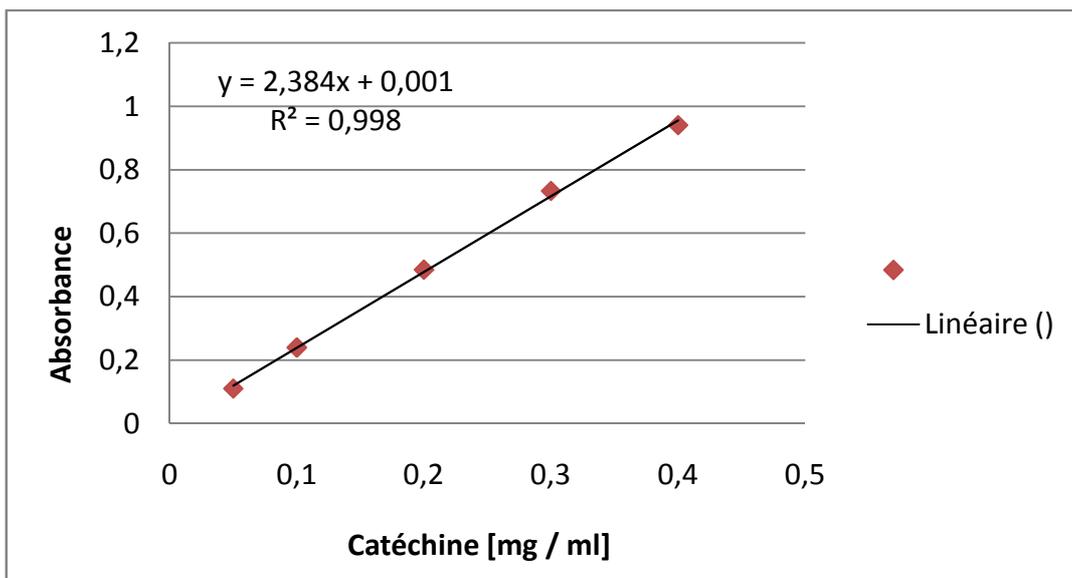


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la Catéchine.

Résumé

L'objectif de cette étude est porté sur l'étude phytochimique de différents extraits des feuilles et des écorces de *Juglans régia* L : extrait méthanolique, et acétonique. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins par le réactif du Folin-Ciocalcu, par le trichlorure d'aluminium et par le test de n-butanol respectivement. La deuxième partie est l'étude de l'activité antioxydante des extraits de plantes en utilisant ainsi trois techniques : piégeage du radical DPPH, piégeage du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et le pouvoir réducteur. Les dosages montrent que les feuilles sont riches en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (1071.42 mg EAG/100g de PS, 125.54mg EC/100g de PS, 337.11 mgEqCyn/100g de PS) par rapport aux écorces qui représentent les valeurs des teneurs suivantes (487,11mg EAG/100g de PS, 87.40mg EC/100g de PS, 279.41 mgEqCyn/100g de PS). Les méthodes de l'activité antioxydante montrent que les extraits de la plante étudiée présente des propriétés antioxydantes à différents niveaux. Les résultats mesurés avec le test au DPPH montrent que l'activité anti-radicalaire des extraits méthanoliques des feuilles donne une meilleure activité .

Les résultats trouvés dans cette étude suggèrent que les feuilles et les écorces de noix (*Juglans régia*) peuvent être considérées comme une source intéressante d'antioxydants pour les industries pharmaceutiques et agroalimentaires.

Mots clés : *Juglans régia* , métabolisme secondaire , composés phénoliques, flavonoïdes, proanthocyanidines, activité anti oxydante.

Abstract

The objective of this study is focused on the phytochemical study of different extracts of the leaves and bark of *Juglans Regia* L: hydro methanolic extract, and hydro acetonetic. The first part of this study concerns the extraction and the quantification of total phenolics, flavonoids and tannins by the Folin-Ciocalcu reagent, the aluminium trichloride and the n-butanol test respectively. The second part is the study of the antioxidant activity of the plants extracts using three techniques: DPPH radical scavenging, proxym of hydrogen H₂O₂ and reducing power. The assays show that the leaves are rich in total polyphenols, flavonoids and condensed tannins (1071.42 mg EAG / 100g DM, 125.54mg EC / 100g DM, 337.11 mgEqCyn / 100g DM) compared to the barks that represent the values. Following levels (487.11mg EAG / 100g MS, 87.40mg EC / 100g MS, 279.41 mgEqCyn / 100g MS). The methods of antioxidant activity show that the extracts of the plant studied have antioxidant properties at different levels. The results measured with the DPPH test show that the anti-radical activity of the methanolic extracts of the leaves gives a better activity with high correlation coefficients.

The results found in this study suggest that the leaves and barks of *Juglans Regia* can be considered as an interesting source of antioxidants for the pharmaceutical and agri-food industries.

Key words: *Juglans regia*, secondary metabolism, phenolic compounds, flavonoids, proanthocyanidins, antioxidant activity.