

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

Réf :.....

# Mémoire

Présenté par

**MEZZAI Kahina & OUBOUZID Amira**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master Académique**

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

**Optimisation d'extraction des composés bioactifs des extraits de  
*Crataegus monogyna***

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mme. ALLILI S	MCA	Présidente
Mr. NABET N	MCA	Encadrant
Mme. ARKOUB L	MCB	Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

# Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu, notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadreur **Mr NABET Nacim** qui nous a proposé le thème de ce mémoire, pour sa disponibilité, son aide, son soutien, ses conseils, la confiance qu'il nous a accordé et ses directives du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement **Mme ALLILI S** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Mme ARKOUB L** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et évaluer ce mémoire.

Nos sincères remerciements vont à notre chef de département **Mr NOURI H.**

Sincères remerciements à tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de la faculté Science de la Nature et de la Vie.

Finalement, nos remerciements vont aussi à tous à nos professeurs, enseignants et à tous les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# *Dédicaces*

*Mes chaleureuses dédicaces :*

*A mes très chers parents «Kamel et Noria» qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont soutenu tout au long de mes études, que dieu vous protège en bonne santé.*

*A Mes chers frères «Adem et Fares».*

*A toute ma famille.*

*A mes chères amies et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, et ceux qui ont veillé de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.*

*A toute la promotion BVP 2023-2024.*

*A la fin je dédie très chaleureusement ce mémoire à ma binôme OUBOUZID Amira et sa famille.*

*Kahina*

# *Dédicaces*

*Mes chaleureuses dédicaces :*

*A mes très chers parents « Mustapha et Mahdjouba » qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont soutenu tout au long de mes études, que dieu vous protège en bonne santé.*

*A Mes chers frères « Hamza et Sofiane ».*

*A mes neveux « Fadi, Soheib et Mohamed Amine » et à toute ma famille.*

*A mes chères amies et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, et ceux qui ont veillé de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.*

*A toute la promotion BVP 2023-2024.*

*A la fin je dédie très chaleureusement ce mémoire à ma binôme **MEZZAI Kahina** et sa famille.*

*Amira*

## TABLE DES MATIERES

Liste des figures .....	I
Liste des tableaux .....	III
Liste des abréviations .....	IV
Glossaire .....	V
Introduction .....	1

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA PLANTE *C. MONOGYNA*

1. Origine et aires de répartition .....	3
2. Description botanique.....	3
3. Classification botanique .....	4
4. Exigences climatiques .....	4
5. Domaines d'utilisations .....	5
5.1. Utilisations thérapeutiques .....	5
5.2. Utilisations alimentaires.....	5
6. Toxicité.....	5
7. Composition biochimique.....	6
7.1. Composition en métabolites primaires .....	6
7.2. Composition en métabolites secondaires .....	7
7.1.1. Composés phénoliques.....	7
7.2.2. Acides triterpéniques .....	9
8. Pouvoir gélifiant de <i>Crataegus monogyna</i> .....	9
8.1. Cellulose.....	9
8.2. Pectine.....	10
9. Activité antioxydante.....	10
9.1. Antioxydants .....	10
9.2. Stress oxydatif .....	11
9.3. Radicaux libres .....	11

9.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	12
--	----

## **CHAPITRE II : TECHNIQUES D'EXTRACTION DES COMPOSES BIOACTIFS**

<b>1. Extraction assistée par ultrasons .....</b>	<b>13</b>
1.1. Principe .....	13
1.2. Paramètres influents l'extraction assistée par ultrasons .....	14
1.3. Avantages et inconvénients de l'extraction assistée par ultrasons .....	14
<b>2. Extraction par Soxhlet.....</b>	<b>15</b>
2.1. Principe .....	15
2.2. Avantages et inconvénients de l'extraction par le Soxhlet .....	15
<b>3. Extraction par macération .....</b>	<b>16</b>
3.1. Principe .....	17
3.2. Avantages et inconvénients de l'extraction par macération.....	17

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES**

<b>1. Matériel végétal .....</b>	<b>18</b>
1.1. Récolte .....	18
1.2. Lavage et Séchage .....	18
1.3. Broyage et Tamisage .....	18
<b>2. Analyses phyto-chimiques .....</b>	<b>19</b>
2.1. Test d'humidité.....	19
2.2. Taux de cendres .....	19
2.3. Teneur en caroténoïdes .....	20
2.4. Teneur en pectines .....	20
2.5. Teneur en sucres totaux .....	21
2.6. Teneur en protéines.....	22
2.7. Extraction des composés phénoliques .....	22
2.7.1. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques.....	23
• Model expérimental .....	23

2.7.2. Extraction des composés phénoliques par ultrasons .....	24
• Principe .....	24
• Mode opératoire .....	24
2.7.3. Extraction des composés phénoliques par la macération .....	25
2.7.4. Extraction des composés phénoliques par le Soxhlet .....	25
<b>2.8. Dosage des composés phénoliques .....</b>	<b>25</b>
2.8.1. Dosage des polyphénols totaux .....	25
• Principe .....	25
• Mode opératoire .....	25
2.8.2. Dosage des flavonoïdes .....	26
2.8.3. Dosage des tannins condensés .....	26
2.9. Détermination de l'activité antioxydante .....	27
2.9.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH .....	28
2.9.2. Test de piégeage des radicaux cationiques ABTS .....	29
2.9.3. Test du pouvoir réducteur .....	29
<b>3. Analyse statistique .....</b>	<b>30</b>

## **CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>1. Taux d'humidité .....</b>	<b>31</b>
<b>2. Taux de cendres .....</b>	<b>32</b>
<b>3. Teneur en caroténoïdes.....</b>	<b>33</b>
<b>4. Teneurs en pectines.....</b>	<b>34</b>
<b>5. Teneur en sucres totaux.....</b>	<b>35</b>
<b>6. Teneurs en protéines.....</b>	<b>36</b>
<b>7. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de <i>C. monogyna</i> obtenus par ultrasons .....</b>	<b>37</b>
7.1. Optimisation de la teneur en polyphénols totaux .....	38
7.2. Optimisation de l'effet de piégeage du radical libre DPPH <sup>+</sup> .....	40
7.3. Optimisation de l'effet de piégeage du radical cationique ABTS <sup>+</sup> .....	41
7.4. Optimisation des réponses des surfaces multiples des extraits de <i>C. monogyna</i> .....	43

<b>8. Teneurs en composés phénoliques des extraits de <i>C. monogyna</i> obtenus par différentes techniques d'extraction</b> .....	<b>44</b>
8.1. Teneurs en polyphénols totaux .....	44
8.2. Teneurs en flavonoïdes .....	45
8.3. Teneurs en tannins condensés .....	46
<b>9. Activité antioxydante des extraits de <i>C. monogyna</i> obtenus par différentes techniques d'extraction</b> .....	<b>47</b>
9.1. Effet de piégeage du radical libre DPPH <sup>+</sup> .....	47
9.2. Effet de piégeage du radical cationique ABTS <sup>+</sup> .....	48
9.3. Pouvoir réducteur .....	49
<b>Conclusion</b> .....	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>53</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>65</b>



## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Présentation de l'espèce <i>C. monogyna</i> . (a) : l'arbre au moment de fructification. (b) : les fleurs de <i>C. monogyna</i> .....	4
<b>Figure 2</b> : Structures chimiques des acides phénoliques .....	8
<b>Figure 3</b> : Structures chimiques des flavonoïdes.....	8
<b>Figure 4</b> : Structures chimiques des proanthocyanidines (tannins condensés) .....	8
<b>Figure 5</b> : Structures chimiques des acides triterpéniques.....	9
<b>Figure 6</b> : Différents systèmes à ultrasons utilisés au niveau du laboratoire pour divers applications : bain à ultrasons (A) et une sonde ultrasons (B) .....	15
<b>Figure 7</b> : Dispositif d'extraction par Soxhlet.....	16
<b>Figure 8</b> : Dispositif d'extraction par macération .....	17
<b>Figure 9</b> : Fruits de <i>Crataegus monogyna</i> .....	18
<b>Figure 10</b> : présentation de l'appareil ultrason. (a) : Sonde à ultrason. (b) : La sonde à ultrasons pendant l'extraction.....	24
<b>Figure 11</b> : Teneur en humidité du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	31
<b>Figure 12</b> : Teneur en cendres du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	32
<b>Figure 13</b> : Teneur en caroténoïdes du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	33
<b>Figure 14</b> : Rendements d'extraction en pectine du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	34
<b>Figure 15</b> : Teneur en sucres totaux du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	35

<b>Figure 16 :</b> Teneurs en protéines du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	36
<b>Figure 17 :</b> Diagramme de Pareto des polyphénols de <i>C. monogyna</i> .....	38
<b>Figure 18 :</b> Diagramme de Pareto pour le test DPPH de l'extrait de <i>C. monogyna</i> .....	40
<b>Figure 19 :</b> Diagramme de Pareto pour le test ABTS de l'extrait de <i>C. monogyna</i> .....	42
<b>Figure 20 :</b> Schéma tridimensionnel de la surface de réponse des effets de temps, de solvant (EtOH) et d'amplitude sur la désirabilité de l'extrait de <i>C. monogyna</i> obtenu par extraction assistée par ultrason.....	43
<b>Figure 21 :</b> Teneurs en polyphénols totaux du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	44
<b>Figure 22 :</b> Teneurs en flavonoïdes du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	45
<b>Figure 23 :</b> Teneurs en tannins du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	46
<b>Figure 24 :</b> Effet de piégeage du radical libre DPPH <sup>+</sup> du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	47
<b>Figure 25 :</b> Piégeage du radical cationique ABTS <sup>+</sup> du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	48
<b>Figure 26 :</b> Pouvoir réducteur du fruit de <i>C. monogyna</i> .....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Certains composants chimiques de la partie comestible du <i>Crataegus monogyna</i> .....	6
<b>Tableau II :</b> Plan d'expérience utilisé pour l'extraction des composés phénoliques de <i>Crataegus monogyna</i> .....	23
<b>Tableau III :</b> Plan d'expérience et résultats des réponses étudiées des extraits de <i>C. monogyna</i> obtenus par ultrasons .....	37
<b>Tableau IV :</b> Résultats prédits et résultats expérimentaux des réponses étudiées obtenus dans les conditions optimales d'extraction de l'extrait de <i>C. monogyna</i> .....	44

## Liste des abréviations

**µg** : microgramme.

**Abs** : Absorbance.

**ABTS<sup>•+</sup>** : Acide 2, 2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**BSA** : Bovine Serum Albumin.

**DPPH<sup>•+</sup>** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**EAG** : Equivalents de l'acide gallique.

**EQ** : Equivalent Quercétine.

**ET** : Equivalent en Trolox.

**EtOH** : Ethanol.

**kHz** : kilohertz.

**LSD** : Low Significant Difference.

**Mmol** : millimole.

**MS** : Matière sèche.

**NaOH** : d'hydroxyde de sodium.

**Nm** : Nanomètre.

**Rpm** : rotation par minute.

**RSM** : Response Surface Method.

**TPT** : Teneur en polyphénols totaux.

**Trolox** : Acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetraméthylchromane-2-carboxylique.

**UV-Vis** : Ultraviolet-visible.

## Glossaire

**In vivo** : Est une expression latine qualifiant des recherches ou des examens pratiqués sur un organisme vivant.

**Angiospermes** : Des plantes à fleurs, ils ont comme organe reproducteur la fleur qui a deux organes le pistil (organe femelle) et les étamines (organe mâle).

**Corolle** : L'ensemble des pétales d'une fleur.

**Calice** : L'ensemble des sépales d'une fleur.

**Hypertension** : Correspond à une pression trop élevée dans les vaisseaux sanguins.

**Hyperlipidémie** : Est le fait d'avoir un taux élevé de lipides dans le sang.

**Gastro-intestinales** : Une inflammation se la paroi de l'estomac et de l'intestin.

**Antiagglomérant** : Additif alimentaire qui empêche l'agglomération des particules dans un produit en poudre et ainsi assure sa fluidité.

**Emulsifiant** : Additif alimentaire utilisé pour aider à mélanger deux substances qui normalement se séparent lorsqu'elles sont combinées.

## *Introduction*

## Introduction

L'Afrique est l'un des continents les plus abondantes en biodiversité au monde. L'Algérie possède une grande diversité de plantes médicinales, avec des milliers d'espèces qui présentent différents intérêts et qui constituent un sujet de recherche scientifique pour les substances naturelles (**Aberkane, 2006**).

Les plantes médicinales sont des sources de substances bioactives. Ces ressources jouent un rôle crucial pour de nombreuses populations, et elles présentent de nombreuses propriétés thérapeutiques prouvées par les expériences (**Bouziid, 2009**).

Environ 25 % des médicaments prescrits leurs composés actifs proviennent des plantes. Il existe de nombreuses espèces de plantes thérapeutiques en Algérie, mais très peu d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques en laboratoire (**Djahra, 2014**). Parmi la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés à l'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna*), appartenant à la famille des rosacées, utilisée en phytothérapie en raison de ses propriétés apaisantes, protectrices des vaisseaux sanguins et antioxydantes (**Bahorun, 1997**).

En effet, de nombreuses études sont menées sur les antioxydants naturels, en particulier les composés phénoliques (**Chanwitheesuk et al., 2005**). Ces derniers, possèdent des propriétés antioxydantes et sont employés dans le domaine de la chimiothérapie et dans le traitement de divers cancers (**He et Giusti, 2010**). Ainsi ils sont responsables de l'inhibition d'oxydation des lipides dans le secteur alimentaire. En cosmétologie, ils sont destinés à traiter le vieillissement cellulaires et à préserver la peau (**Joshi et Pawar, 2015**).

L'extraction des composés phénoliques à partir d'un matériel végétal à une importance capitale pour leur détermination et leur mesure. Les techniques vertes d'extraction assistée par ultrasons et par micro-ondes sont réputées pour leurs avantages tels que l'augmentation du rendement d'extraction, l'utilisation de faibles quantités de solvant, une durée d'extraction courte et une consommation d'énergie réduite (**Azmir et al., 2013**).

D'autres techniques sont utilisés pour l'extraction des composés phénoliques tels que la macération et le Soxhlet, qui sont des techniques d'extraction classiques qui requièrent habituellement une grande quantité de solvant et une utilisation de températures élevées pendant une période de traitement prolongée (**Pradal et al., 2016**).

Notre étude a pour objectif principal d'optimiser les conditions d'extraction des composés bioactifs du fruit de *Crataegus monogyna* avec la méthode de l'extraction assistée par ultrasons. L'optimisation est effectuée en utilisant un plan d'expérience (Box-Behnken) constitué de trois variables indépendantes qui sont le temps d'extraction (2 ; 4,5 et 7min), l'amplitude (20 ; 60 et 100 %) et la concentration du solvant (0, 50 et 100%) et de trois réponses (la teneur en polyphénols totaux, test DPPH et test ABTS). La deuxième partie de ce travail consiste à faire une étude comparative de la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante de l'extrait obtenu par ultrasons dans les conditions optimales et des extraits obtenus par deux techniques d'extraction conventionnelles la macération et le Soxhlet.

Ce mémoire est divisé en deux parties distinctes qui sont la partie bibliographique et la partie expérimentale.

- La partie bibliographique se compose de deux chapitres:
  - Chapitre I: Généralités sur la plante *Crataegus monogyna*,
  - Chapitre II: Techniques d'extraction des composés bioactifs.
- La partie expérimentale est divisée en deux chapitres:
  - Chapitre III: Matériel et méthodes,

Il résume les différentes méthodes utilisées dans la réalisation de ce travail.

- Chapitre IV: Résultats et discussion,

Il regroupe les résultats obtenus de chaque expérience et se termine par une conclusion et des perspectives.



## *Synthèse bibliographique*

*Chapitre I : Généralités sur la plante C. monogyna*

## Chapitre I : Généralités sur la plante *Crataegus monogyna*

L'aubépine fait partie de la famille des rosacées, elle compte entre 150 et 1200 espèces. En général, il s'agit d'une plante à plusieurs branches, allant des arbustes aux petits arbres (Yanar *et al.*, 2011).

### 1. Origine et aires de répartition

Le genre *Crataegus* tire son nom d'un mot grec qui signifie la dureté du bois. À l'échelle mondiale, *Crataegus monogyna* s'étend de l'Europe, de l'Afrique du nord et de l'Asie occidentale jusqu'à l'Inde (Koyuncu *et al.*, 2007). Elle se situe principalement entre l'altitude 30° et 50° N (Kashyap *et al.*, 2012). En Algérie, elle se rencontre dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tellien et peut être confondue avec d'autres espèces (Farhat, 2007).

Toutes les espèces végétales du genre *Crataegus* sont appelées aubépines (Verma *et al.*, 2007). L'espèce *C. monogyna* a connu plusieurs noms dans divers pays du monde et parfois même au sein de la même région, quelques-uns sont énumérés:

- **Le nom Français :** Aubépine monogyne (Lazli *et al.*, 2019).
- **Le nom Anglais :** Hawthorn (Zhang, 2002).
- **Le nom Arabe :** Zaarour Berri (Djerroumi et Nacef, 2004).
- **Le nom Berbère :** Idhmim (Djerroumi et Nacef, 2004).

### 2. Description botanique

Les aubépines moyennes mesurent entre 2 et 5 mètres de haut (Yanar *et al.*, 2011). *Crataegus monogyna* est un arbuste de 4 à 10 mètres de haut, avec une écorce lisse d'un gris pâle, puis brune et écailleuse (Gire, 2000). De plus, Les rameaux sont denses et épineux de couleur brun foncé, ligneux de 1 à 2,5 mm de diamètre et sont couverts de feuilles alternes, pétiolées divisées en 3 ou 5 lobes acuminés. Les fleurs sont abondantes au mois de mai, blanches, dégagent une odeur puissante plutôt désagréable, leur calice tubulaire vert-brun est constitué de 5 sépales libres, réfléchis, une corolle composée de 5 pétales libres de couleur blanche, jaune ou brunâtre, arrondis ou approximativement ovales, brièvement onguculés et de nombreuses étamines. Le calice est soudé à l'ovaire, qui contient une seule carpelle, surmontée d'un long style qui explique le nom de l'espèce *monogyna* et contient un seul ovule.

Le fruit entouré par les lobes du calice, il s'agit d'une drupe de petite taille de 8 à 10 mm de long, charnue, ovoïde, glabre, rouge ou jaunâtre avec une pulpe farineuse à 1 noyau. Ce fruit est parfois appelé cenelle en français (**Hamdaoui, 2018**).



**Figure 1:** Présentation de l'espèce *C. monogyna*. (a) : l'arbre au moment de fructification. (b) : les fleurs de *C. monogyna*.

### 3. Classification botanique

La classification botanique est réalisée selon **Martinelli et al. (2021)**.

**Règne :** Plantes,

**Sous règne :** Plantes vasculaires,

**Embranchement :** Spermaphytes,

**Sous-embranchement :** Angiospermes,

**Classe :** Dicotylédones,

**Sous classe :** Rosidae,

**Ordre :** Rosales,

**Famille :** Rosaceae,

**Genre :** *Crataegus*,

**Espèce :** *Crataegus monogyna*.

### 4. Exigences climatiques

*C. monogyna* s'adapte à tous les sols, mais elle préfère les sols calcaires et apprécie les plus secs. Cette espèce apprécie les endroits ensoleillés, avec une terre légère et peu argileuse. Elle peut se développer dans des sols acides, neutres et même alcalins (**Brosse, 2000**). Ainsi elle peut pousser dans des endroits froids et côtiers et présente une grande tolérance à

l'humidité excessive, à la sécheresse et à la pollution atmosphérique (Yalçın Dokumacı *et al.*, 2021).

## 5. Domaines d'utilisations

### 5.1. Utilisations thérapeutiques

*C. monogyna* est une plante antidiabétique essentielle dans la médecine traditionnelle grâce à ses vertus relaxantes, protectrices des vaisseaux sanguins et antioxydantes. Les fruits non mûrs sont également utilisés dans des produits cosmétiques et pour certaines utilisations cutanées, telles que l'arthrite et les douleurs musculaires (Radi *et al.*, 2023).

*C. monogyna* est utilisée pour les traitements cardiaques, l'hypertension, l'hyperlipidémie. Elle a été également utilisée pour les troubles gastro-intestinaux, la distension épigastrique, les douleurs abdominales et la diarrhée (Nabavi *et al.*, 2015). En effet, *C. monogyna* est indispensable pour la prévention et le traitement de rhumes, d'infections, de bronchite, de pneumonie, ainsi que pour la gestion de cellulite, l'obésité et les problèmes de ménopause (Barros *et al.*, 2011).

### 5.2. Utilisations alimentaires

Les fruits de *C. monogyna* sont utilisés de manière fraîche ou cuite, principalement utilisés comme un aliment de famine. Ainsi il est possible d'extraire des farines, des jus, des marmelades, des gelées, des boissons, des sirops et des vins à partir des fruits. Les grains de fruit de l'aubépine sont torréfiés et remplacent le café (Leung et Foster, 1996 ; koyuncu *et al.*, 2007 ; Vivar-Vera *et al.*, 2007). Par contre, les fleurs de cette espèce sont utilisées pour aromatiser les sirops et les desserts (Keser *et al.*, 2014).

## 6. Toxicité

Une faible dose de l'extrait de l'aubépine n'a pas signalé d'effets indésirables, mais des doses plus élevées augmentent le risque d'effets indésirables tels que des troubles cardiaques, des troubles respiratoires, des troubles digestifs légers et des allergies cutanées légères. Il est déconseillé d'utiliser l'extrait de l'aubépine chez les enfants de moins de 2 ans. Toutefois, il est recommandé d'éviter l'aubépine, de préférence pendant la grossesse, en raison de son effet indésirable prouvé sur l'utérus (réduction du tonus et de la mobilité) (Verma *et al.*, 2007).

## 7. Composition biochimique

### 7.1. Composition en métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules présentes dans l'ensemble des cellules végétales et indispensables à la survie de la plante. La machinerie moléculaire de la cellule repose sur eux. Les glucides, les lipides et les acides aminés constituent des métabolites primaires essentiels (Hopkins, 2003).

Le fruit de *C.monogyna* renferme une grande quantité de glucides, en particulier des polysaccharides et des protéines. En général, le fruit renferme des acides aminés aromatiques, et une grande quantité de vitamines E et C, ainsi que de minéraux (Tableau I) (Herrara, 1984).

Le Tableau I représente les teneurs des composés primaires et secondaires du fruit de *C. monogyna*.

**Tableau I** : Certains composants chimiques de la partie comestible du *Crataegus monogyna*

Fraction		Teneurs	Références
Protéines (g /100g de matière sèche)		2,5	Herrara, (1984)
Lipides (g /100g de matière sèche)		2,3	
Éléments minéraux (g/100g de matière sèche)	K <sup>+</sup>	1,25	
	Ca <sup>2+</sup>	0,44	
	Mn <sup>2+</sup>	0,33	
	Mg <sup>2+</sup>	0,06	
	P	0,05	
Glucides (g/100g de matière sèche)	Sucres totaux	11,45	(Mouni <i>et al.</i> , 2012)
	Sucres réducteurs	7,87	
	Saccharose	3,59	
	Cellulose	11,40	
	Pectines	1,60	
Vitamines (mg/100g de matière fraîche)	Tocophérols	0,79	Boudraa, (2010)
	Carotène	1,37	
	Vitamine C	4,07	
	Thiamine B1	0,05	

Selon Ozcan *et al.* (2005) le taux d'humidité de la partie comestible du *Crataegus monogyna* est de 64,26% et le taux de cendre est 2,28%.

## 7.2. Composition en métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes peuvent être décrits comme des molécules indirectement nécessaires à la vie des plantes, contrairement aux métabolites primaires qui alimentent les principales voies du métabolisme basal. Ces métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans l'adaptation des plantes à leur milieu, attaques de pathogènes, prédatons d'insectes, sécheresse, lumière UV....) (**Colmar, 2007**). Il est possible de classer ces métabolites secondaires en trois catégories principales : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Cuendet, 1999**).

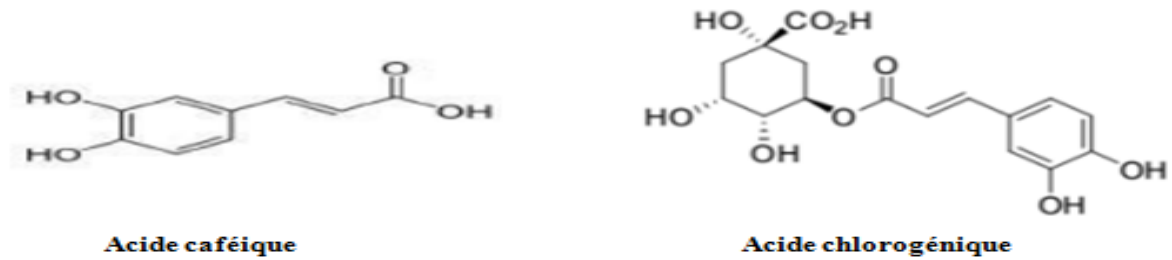
### 7.2.1. Composés phénoliques

Différents groupes de composés phénoliques, tels que les procyanidines, les flavanols, les flavonols, les flavonesglycosylés, les acides phénoliques, les anthocyanines et les lignanes ont été identifiés dans diverses parties des aubépines. Les oligomères procyanidines et leurs glycosides sont les principaux composés phénoliques présents dans les fruits, tandis que les flavonoles, les flavonolsglycosylés et les flavonesglycosylés dominant dans les feuilles (**Liu et al., 2011**).

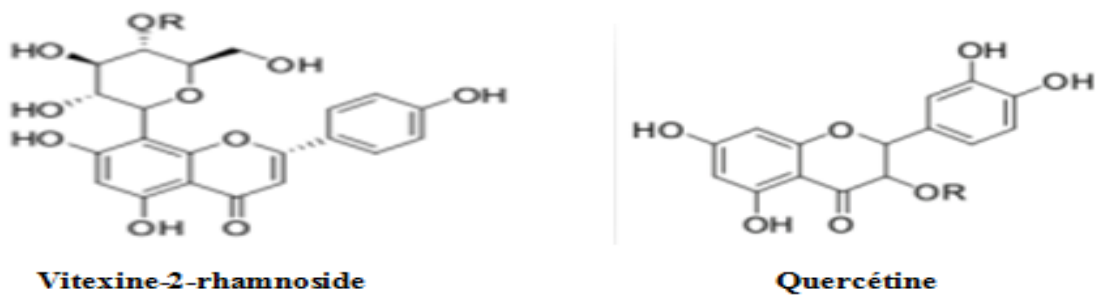
Selon **Chang et al. (2002)** ; **Dinesh et al. (2012)** les composants suivants ont été identifiés dans la partie charnue de *Crataegus monogyna* :

- Acides phénoliques
  - Acide chlorogénique.
  - Acide caféique.
- Flavonoïdes
  - Vitexin.
  - Quercétin.
  - Vitexine 2 rhamnoside.
- Tanins.

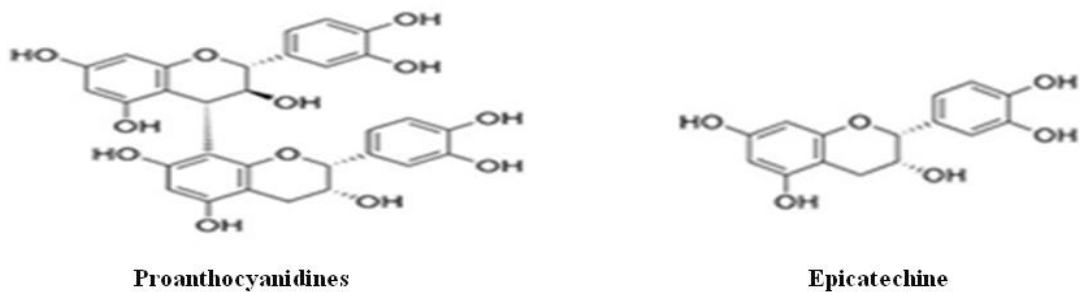
- Quelques structures chimiques de composés phénoliques isolés dans le fruit de *Crataegus monogyna* selon Chang *et al.* (2002) ; Dinesh *et al.* (2012).



**Figure 2 :** Structures chimiques des acides phénoliques



**Figure 3 :** Structures chimiques des flavonoïdes



**Figure 4 :** Structures chimiques des proanthocyanidines (tannins condensés)



### 7.2.2. Acides triterpéniques

Les acides triterpéniques ont été identifiés comme un autre groupe de composés bioactifs dans les espèces du genre *Crataegus monogyna*. Ils ont des effets bénéfiques très importants tels que l'activité anticancérogène.

L'acide oléanolique et l'acide ursolique sont les majeurs acides triterpéniques déterminés dans les fruits de *Crataegus monogyna*, (Hamdaoui, 2018).

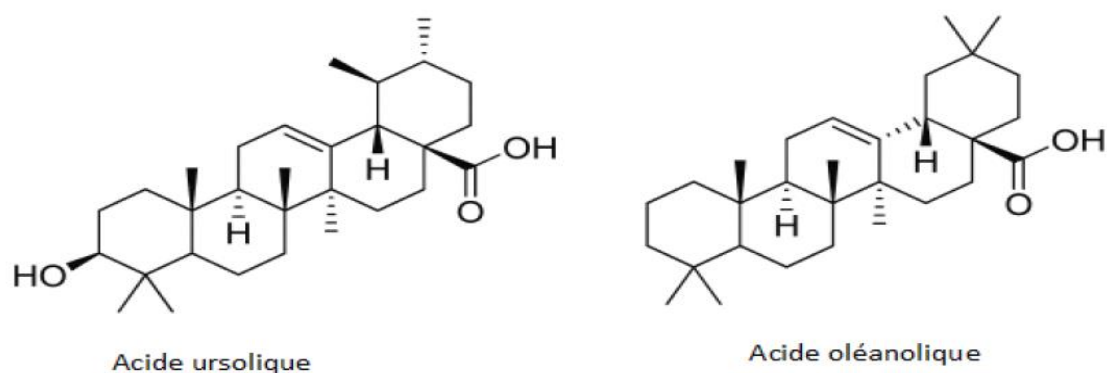


Figure 5 : Structures chimiques des acides triterpéniques (Hamdaoui, 2018)

## 8. Pouvoir gélifiant de *Crataegus monogyna*

Les fruits de *Crataegus monogyna* sont riches en glucides, en particulier les polysaccharides (la cellulose et la pectine). Les taux moyens de cellulose et de pectine dans 100g de matière sèche de fruit de *C. monogyna* sont respectivement de 11,40g et de 1,60g (Tableau I) (Mouni *et al.*, 2012).

### 8.1. Cellulose

La cellulose joue un rôle essentiel en garantissant la structure et la rigidité de la paroi cellulaire des végétaux. La cellulose présente diverses fonctionnalités telles que antiagglomérant, émulsifiant, épaississant, gélifiant et agent absorbant l'eau (Dilmi-Bouras, 2004).

La cellulose est entièrement insoluble dans l'eau et extrêmement résistante aux mécanismes de dégradation chimique. Elle ne subit que partiellement la dégradation par les enzymes digestives (Seyer, 2005).

La cellulose est très employée dans l'industrie agro-alimentaire de même que ses dérivés, en l'occurrence le carboxyméthyl cellulose qui est très utilisé comme améliorants dans les crèmes glacées, pour la conservation des farines et participent à leur rigidité, ainsi il accélère et stimule le fonctionnement des intestins (Dilmi-Bouras, 1998).

## 8.2. Pectine

La pectine est un composé polymère d'acide galacturonique qui se trouve principalement dans les parois cellulaires des plantes. Il est possible de l'extraire des pépins des fruits, de la pulpe et de l'écorce (Gray, 2005).

La pectine est aussi utilisée dans l'industrie alimentaire en tant que agent liant et épaississant. Ainsi, il est possible de réaliser une confiture et de gelées en utilisant le fruit de *C. monogyna*. De plus, on peut extraire ces pectines et les utiliser pour augmenter et améliorer le pouvoir gélifiant de certains fruits dont le pouvoir gélifiant est faible, comme les raisins qui sont pauvres en pectines (Saadoudi, 2008).

## 9. Activité antioxydante

L'étude des molécules antioxydants et de leurs effets sur les radicaux libres est une partie importante de la recherche (Rios-Evans, 1997). Dans les conditions habituelles, l'organisme produit des radicaux libres en petites quantités. Des systèmes de défense maîtrisent parfaitement cette production physiologique. Cependant, il peut arriver que la production devienne excessive ou entraîne des phénomènes toxiques extérieurs, ce qui oblige l'organisme à se protéger de ces excès en utilisant divers systèmes antioxydants (Favier, 2003).

### 9.1. Antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser des radicaux libres qui sont à l'origine de diverses affections. Les antioxydants sont des substances qui empêchent ou retardent l'oxydation en empêchant l'apparition ou la diffusion des chaînes de réactions oxydatives (Behara *et al.*, 2006).

Il existe deux type d'antioxydant:

- **Les antioxydants enzymatiques** : ils impliquent principalement des enzymes spécifiques tels que le super oxyde dismutase ou SOD ; la catalase et le glutathion peroxydase ou Gpx.
- **Les antioxydants non enzymatiques** : sont des molécules anti radicalaires, qui piègent les radicaux libres tels que les vitamines A, C, E et  $\beta$ -carotène, les polyphénols et les flavonoïdes (**Vouldoukis *et al.*, 2004**).

## 9.2. Stress oxydatif

L'organisme dispose de ses propres moyens de défense qui lui permettent de combattre les radicaux libres. Lorsque ce système de protection perd son efficacité (mutation, inactivation d'enzyme,...) ou lorsque le nombre de radicaux libres augmente considérablement, il y a un stress oxydatif (**Favier, 2003**).

Le stress oxydatif peut être décrit comme un déséquilibre entre les systèmes qui produisent des espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants, au bénéfice des premiers (**Mathew et Abraham, 2006**).

## 9.3. Radicaux libres

Un radical libre correspond à une molécule ou à un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend très réactif. On désigne généralement tous les radicaux libres et leurs précurseurs sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**).

Les radicaux libres peuvent être neutres ou chargés électriquement (ioniques) et incluent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée), etc (**Oueslati, 2017**).

Les principaux radicaux libres selon **Bensakhria, (2018)** ; **Haleng, (2007)** sont :

- L'anion super oxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ) : Lorsqu'une quantité d'énergie adéquate est présente, la molécule d'oxygène peut prendre un électron supplémentaire et former ainsi l'anion super oxyde. Cet anion joue un rôle d'oxydant dans de multiples réactions.

- Le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>) : est extrêmement réactif à l'égard des structures organiques et joue un rôle clé dans l'activité d'auto-oxydation des lipides.
- Le radical peroxyde (ROO<sup>•</sup>) : sont des radicaux secondaires produits lors de l'oxydation de substances organiques, initiée par l'oxygène singulet ou le radical hydroxyle.
- L'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) : est la forme excitée de l'oxygène moléculaire, souvent considéré comme un radical libre en raison de sa grande réactivité.

#### 9.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation du pouvoir antioxydant peut être réalisée de manière qualitative ou quantitative. Les techniques qualitatives, employées afin de détecter l'activité antioxydante de composé s'impliquent généralement la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants (**Li et al., 1999**).

Il existe de nombreuses méthodes qui permettent d'estimer directement l'activité antioxydante :

- La méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (**Cao et al., 1993**).
- La méthode d'ABTS (piégeage du radical 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulphonique) (**Maamri, 2008**).
- La méthode du radical DPPH<sup>•</sup> (piégeage du radical 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) (**Uchiyama et al., 1968 ; Himed, 2011**).
- La méthode de DMPD (du radical N, N-diméthyl-p-phénylènediamine) (**Li et al., 1994**).

*Chapitre II : Techniques d'extraction des composés  
bioactifs*

## Chapitre II : Techniques d'extraction des composés bioactifs

L'extraction est considérée comme la première étape pour séparer les composés bioactifs souhaités de la matière première (**Hidayat et Patricia Wulandari, 2021**).

Il existe plusieurs techniques permettant d'extraire les composés bioactifs à haute valeur présents dans les végétaux. Ces techniques dites non conventionnelles telles que l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par enzymes et l'extraction assistée par microondes.....etc et conventionnelles telles que l'extraction par Soxhlet, la macération et l'hydrodistillation (**Azmir et al., 2013**).

### 1. Extraction assistée par ultrasons

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquences entre 20 kHz et 100 MHz. Ce processus produit un phénomène appelé cavitation, qui signifie production, croissance et effondrement de bulles (**Azmir et al., 2013**).

L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en un court temps (quelques minutes) avec une grande reproductibilité (**Chemat et al., 2011**). Les ultrasons sont appliqués en utilisant les plus souvent deux systèmes : un bain à ultrasons ou une sonde à ultrasons (**Figure 6**).

#### 1.1. Principe

Le principe de l'extraction assistée par ultrasons implique la formation des cavitations acoustiques dont l'effondrement conduit aux différents phénomènes tels que la fragmentation, l'érosion localisée, la formation de pores, la force de cisaillement, l'augmentation de l'absorption et de l'indice de gonflement dans la matrice cellulaire de la plante. La collision intermoléculaire entraîne une fragmentation des particules permettant une meilleure solubilisation des composés due à la diminution de leur taille particulaire. La sonoportation est également un autre phénomène résultant de l'effondrement des cavitations à la surface des cellules conduisant à l'augmentation du taux de transfert avec le solvant d'extraction comme montré dans la (**Figure 6**) (**Picó, 2013 ; Kumar et al., 2021**).

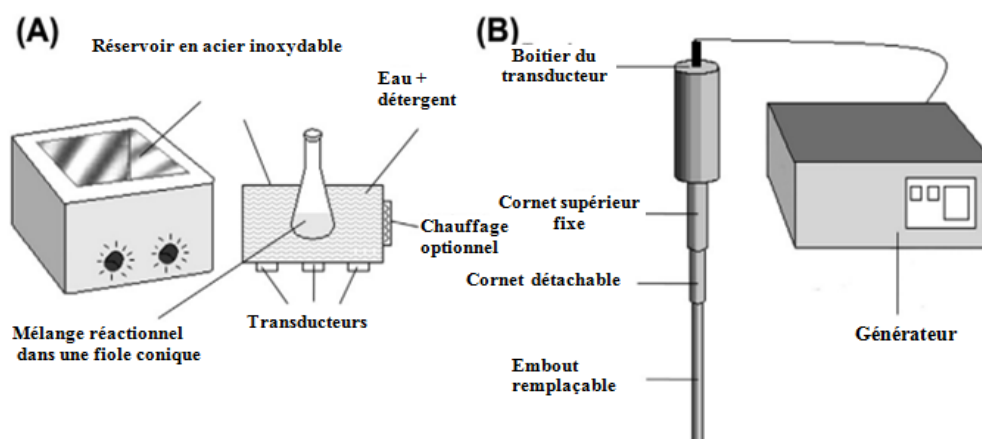
### 1.2. Paramètres influents l'extraction assistée par ultrasons

Les paramètres les plus importants affectant la cavitation acoustique et le processus d'extraction sont les suivants: la fréquence, la puissance et l'amplitude de l'onde mécanique. Le choix approprié du solvant, de la température, le temps d'extraction, la conception du réacteur et la forme de la sonde est tous aussi importantes. L'optimisation de ces paramètres permet un meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques (**Wang et Weller, 2006 ; Rutkowska *et al.*, 2017**).

### 1.3. Avantages et inconvénients de l'extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux techniques d'extraction conventionnelles. Les principaux avantages de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction solide-liquide sont l'augmentation du rendement de l'extraction et la réduction des coûts et une cinétique plus rapide. Durant l'extraction par les ultrasons les températures d'extraction peuvent également être réduites ce qui permet l'extraction de composés thermolabiles. Comparé à d'autres nouvelles techniques d'extraction telles que l'extraction assistée par micro-ondes, l'appareil à ultrasons est moins cher et plus facile à utiliser. En outre, l'extraction assistée par ultrasons, comme l'extraction par le Soxhlet, peuvent être utilisées avec n'importe quel solvant pour extraire une grande variété de composés naturels (**Wang et Weller, 2006**).

Par contre, du point de vue inconvénients, cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus d'extraction (**Penchev, 2010**), d'une part et l'effet délétère de l'énergie ultrason sur les constituants actifs des plantes médicinales par la formation des radicaux libres et par conséquent des changements indésirables dans les molécules médicamenteuses (**Handa, 2008**).



**Figure 6 :** Différents systèmes à ultrasons utilisés au niveau du laboratoire pour divers applications : bain à ultrasons (A) et une sonde ultrasons (B) (Lavilla et Bendicho, 2017).

## 2. Extraction par Soxhlet

Le Soxhlet, qui est utilisé depuis longtemps, est une technique standard et la principale référence pour l'évaluation d'autres méthodes d'extraction solide-liquide. L'extraction au Soxhlet est bien établie, d'ailleurs elle surpasse en performance les autres techniques d'extraction conventionnelles (Wang et Weller, 2006).

### 2.1. Principe

Placer l'échantillon dans une cartouche et remplir de solvant frais le ballon à distiller, ce dernier est porté à ébullition (Figure 7). Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire l'extrait du porte-cosses et le décharge dans le ballon de distillation, entraînant ainsi les solutés extraits. Cette opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction soit terminée (Luque De Castro et Priego-Capote, 2010).

### 2.2. Avantages et inconvénients de l'extraction par le Soxhlet

Les avantages de l'extraction conventionnelle par le Soxhlet comprennent le déplacement de l'équilibre de transfert par l'apport répété de solvant frais en contact avec le solide. Le maintien d'une température d'extraction relativement élevée grâce à la chaleur du ballon de distillation et l'absence d'obligation de filtration après la lixiviation. En outre, la méthode Soxhlet est très simple et bon marché.



Les principaux inconvénients de l'extraction par le Soxhlet sont les suivants : le temps d'extraction est long ; une grande quantité de solvant est utilisée. L'agitation ne peut être assurée dans le dispositif de Soxhlet pour accélérer le processus ; la grande quantité de solvant utilisée nécessite une procédure d'évaporation/concentration et la possibilité de décomposition thermique des composés ciblés ne peut être ignorée car l'extraction se produit généralement au point d'ébullition du solvant pendant une longue période (Wang et Weller, 2006).

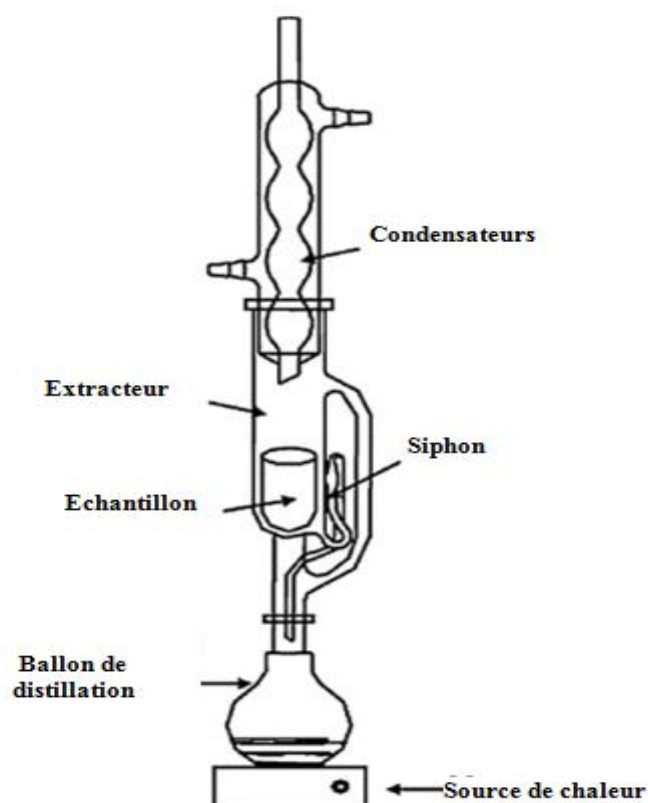


Figure 7 : Dispositif d'extraction par Soxhlet (Luque De Castro et Priego-Capote, 2010)

### 3. Extraction par macération

La macération est utilisée depuis longtemps dans la préparation artisanale de toniques. Elle est devenue un moyen populaire et peu coûteux d'obtenir des composés bioactifs (Azmir *et al.*, 2013).

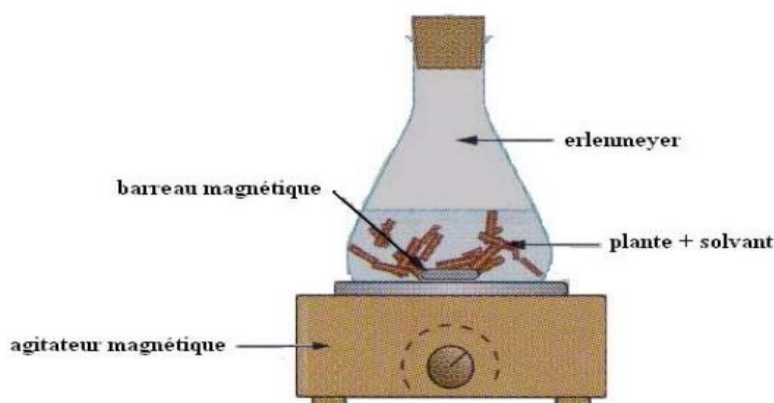
### 3.1. Principe

La méthode la plus facile d'extraction solide-liquide est la macération. Cela implique de mettre en contact le matériel végétal avec le solvant, que ce soit avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée, pendant une période spécifique (**Figure 8**). Elle repose sur la capacité des composés bioactifs à se dissoudre dans un solvant d'extraction et elle est influencée par divers facteurs tels que la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction, etc. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**Grigoras, 2012**).

### 3.2. Avantages et inconvénients de l'extraction par macération

L'avantage de cette méthode est qu'elle peut être utilisée pour l'extraction de composants thermolabiles. Tandis que les inconvénients sont un temps d'extraction long et d'une faible efficacité d'extraction (**Loum et al., 2021**).

Certains facteurs d'extraction peuvent entraîner une dégradation rapide des molécules actives. En vue de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et dans certains cas avec des températures basses (**Ben Amor, 2008**).



**Figure 8** : Dispositif d'extraction par macération (**Bouhekrit, 2023**)

## *Partie expérimentale*

## ***Chapitre III : Matériel et méthodes***

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 1. Matériel végétal

L'étude a été menée sur les fruits d'une plante de la famille des rosacées, *Crataegus monogyna* (Figure 9).



**Figure 9** : Fruits de *Crataegus monogyna*

#### 1.1. Récolte

Les fruits de *Crataegus monogyna* ont été collectés durant la période de fructification au mois d'octobre 2023 à Adekar dans la wilaya de Bejaïa (latitude 36°43'09.6" (N), longitude 4°38'41.7" (E) et altitude 693 (m).

#### 1.2. Lavage et Séchage

Les fruits de *C. monogyna* ont été débarrassés des mauvaises herbes après la récolte, puis lavés avec de l'eau du robinet pour éliminer toute poussière. Les fruits ont été séchés à une température de 40°C dans une étuve ventilée (Binder, Allemagne) pendant 3 à 4 jours, jusqu'à stabilisation de leur poids.

#### 1.3. Broyage et Tamisage

Un broyeur domestique (Moulinex, France) a été utilisé pour réduire en poudre les fruits secs de *C. monogyna*. Après le broyage, les particules sont tamisées à l'aide de tamiseurs manuels avec des diamètres d'ouverture de 250 à 500 µm, dans le but d'obtenir des poudres fines et homogènes. La poudre obtenue est stockée dans une boîte en verre hermétique dans un lieu sec et à l'abri de la lumière.

## 2. Analyses phyto-chimiques

### 2.1. Test d'humidité

Le taux d'humidité du fruit de *C. monogyna* est déterminé selon la méthode décrite par **Ngargueudedjim et al. (2015)**. 2 g de fruits frais de *Crataegus monogyna* ont été placés dans une étuve (Binder GmbH, Allemagne) à une température de  $105\pm 2^\circ\text{C}$  pendant 2 heures (**Annexe 4**). Le test a été effectué 3 fois.

La formule suivante permet de calculer le taux d'humidité :

$$H\% = \frac{P_2 - P_0}{P_1} \times 100; \text{ où}$$

**H%** : Taux d'humidité en pourcentage ;

**P0** : poids de boîte de pétri vide en gramme ;

**P1** : Poids de l'échantillon avant séchage en gramme ;

**P2** : Poids de boîte de pétri et de l'échantillon après séchage en gramme.

### 2.2. Taux de cendres

La présence de cendre est due à la présence des minéraux extraits du sol par la plante. Il repose sur l'élimination des composés organiques d'un échantillon en le calcinant à une température spécifique pendant un laps de temps spécifique. Il représente le pourcentage(%) de la masse du résidu obtenu après calcination par rapport à la masse initiale de l'échantillon. (**Ngargueudedjim et al., 2015**).

Le taux de cendres a été calculé en utilisant la méthode mentionnée par **Ngargueudedjim et al. (2015)**. Le prélèvement de 1g de poudre sèche de *Crataegus monogyna* a été effectué et placé dans un creuset préalablement préparé. Le Creuset et l'échantillon ont été mis dans un four à moufle (Nabertherm GmbH, Allemagne) à une température de  $450^\circ\text{C}$  pendant une durée de 6 heures. Suite à une période de 6 heures, le contenu est retiré du four pour le refroidissement(**Annexe 4**), puis la pesée est réalisée. L'analyse est répétée trois fois.

La formule suivante permet de calculer le taux de cendre :

$$TC \% = \frac{P_2 - P_0}{P_1} \times 100; \text{Où}$$

**TC %** : Taux de cendre en pourcentage ;

**P0** : Poids du creuset vide en gramme ;

**P1** : Poids initial de l'échantillon avant la calcination en gramme ;

**P2** : Poids final du creuset et de l'échantillon calciné en grammes.

### 2.3. Teneur en caroténoïdes

La teneur des caroténoïdes de la plante étudiée a été réalisée selon la méthode décrite par **Sass-Kiss et al. (2005)**. 1g de poudre de *C. monogyna* a été introduit dans un bécher de 50ml couvert d'aluminium contenant un volume de 20ml du mélange hexane/acétone/éthanol (2:1 :1) (v/v/v). Le mélange (solvant, poudre) est soumis à une agitation pendant 10 minutes à l'abri de la lumière. Après cette période, les deux phases ont été séparées et la même procédure a été effectuée sur la phase solide (résidu). Après filtration, les extraits obtenus ont été récupérés dans une ampoule à décanter. Un volume de 30 ml d'eau distillée a été ajouté afin de laver et décanter les deux phases (**Annexe 5**). La phase hexanique (de couleur jaune) a été récupérée et son absorbance a été déterminée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon).

Une courbe d'étalonnage a été préparée avec le  $\beta$ -carotène afin de déterminer la teneur en caroténoïdes (**Annexe 1**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent  $\beta$ -carotène/gramme de matière sèche (mg  $\beta$ -carotène/g MS).

### 2.4. Teneur en pectines

Le fruit de *C. monogyna* est très riche en pectines. De ce fait, une étude a été menée sur l'effet de trois différents solvants à savoir l'eau, l'acide chlorhydrique et l'acide citrique à pH de 7,2 ; 2 ; 2, respectivement sur le rendement d'extraction en pectine.

1g de poudre du fruit de *C. monogyna* a été mélangé avec 50 ml du solvant en question dans un erlenmeyer. Le mélange est mis au bain-marie (Memmert GmbH, Allemagne) sous agitation à 80°C pendant une période d'une heure et demi (**Annexe 5**). Après refroidissement

de l'extrait, ce dernier est filtré. 70 ml d'éthanol pur ont été ajoutés au filtrat afin de précipiter les pectines. Mélanger avec une tige à verre et laissé reposer le mélange pendant une nuit, en suite une centrifugation à 4000 rpm pendant 20 minutes a été appliquée. Les pectines obtenues ont été séchées dans une étuve (Binder GmbH, Allemagne) à 40°C jusqu'à stabilisation de leurs poids (**Annexe 6**) (**Li et al., 2022**).

Le rendement d'extraction en pectine a été calculé selon la loi ci-dessous

$$RP (\%) = \frac{M2-M1}{M0} * 100 \quad \text{où :}$$

**RP (%)** : Rendement d'extraction en pectine exprimé en pourcentage ;

**M0** : Masse initiale de la poudre de *C. monogyna* en gramme ;

**M1** : Masse de tube vide ;

**M2** : Masse de tube vide et de la pectine extraite après séchage.

## 2.5. Teneur en sucres totaux

La détermination de la teneur en sucres totaux du fruit de *C. monogyna* a été réalisée par la méthode de l'antrone décrite par **Berrios et al. (2010)**. L'hydrolyse acide de l'échantillon a été réalisée en mélangeant 0,5 grammes de poudre de *C. monogyna* prétraités avec 15ml de l'acide perchlorique (HClO<sub>4</sub>) à 52%, et laissé agir pendant 18h à l'ombre. Par la suite, un volume d'eau distillée a été ajouté au mélange, suivi d'une filtration et ajuster le volume du filtrat jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution a été diluée à un dixième (1/10). 1 ml d'antrone à 0,1 % préparé avec de l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pur a été ajouté à 500 µl du filtrat dilué obtenu au préalable. Le mélange a été porté à ébullition dans un bain marie pendant 12 minutes. Un complexe de couleur verte apparait suite à l'interaction de l'antrone avec les sucres totaux disponibles dans l'échantillon. L'absorbance de ce complexe a été mesurée à une longueur d'onde de 630 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon). Le dosage a été tripliqué.

Une courbe d'étalonnage a été préparée à l'aide du glucose comme standard avec une série de dilutions de 10 à 200 µg/ml (**Annexe 1**). La teneur en sucre du fruit a été déterminée en g de glucose/100g MS de fruit.



## 2.6. Teneur en protéines

L'extraction des protéines du fruit de *C. monogyna* a été réalisée avec la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) selon la méthode décrite par **Akasha et al. (2012)**. 0,5g de poudre du fruit de *C. monogyna* ont été dissoutes dans 50ml d'eau distillée qui a été ajustée par la solution de NaOH à 0,1 M jusqu'à un pH =10. Agité le mélange pendant une heure à température ambiante, en suite une centrifugation à 4000 rpm pendant 20 min a été appliquée, puis le surnageant a été récupéré. L'extraction a été répétée dans les mêmes conditions avec le résidu et les surnageants ont été additionnés. Une autre extraction des protéines a été réalisée dans les mêmes conditions qu'auparavant, à l'exception de la température qui a été fixée à 55°C dans un bain marie doté d'une plaque agitatrice.

Le dosage des protéines à été réalisé selon la méthode de **Bradford, (1976)**. A l'abri de la lumière, 30µl de l'extrait ont été ajoutés à 1,5 ml de la solution de bleu de Coomassie et laissé aigre pendant 15 min. Par la suite un complexe de couleur bleu apparait suite à l'interaction de bleu de Coomassie avec les protéines disponibles dans l'échantillon. L'absorbance de ce complexe a été mesurée à une longueur d'onde de 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon). Le dosage a été tripliqué.

Une courbe d'étalonnage a été préparée à l'aide de la BSA (Bovin Serum Albumin) comme standard avec une série de dilutions de 100 à 1000 µg/ml (**Annexe 1**). Les teneurs en protéines ont été déterminées en mg BSA/g MS.

## 2.7. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques à partir du fruit de *C. monogyna* a été réalisée avec trois méthodes différentes, qui sont l'extraction assistée par ultrasons (UAE), l'extraction par la macération et par le Soxhlet. La méthode d'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été utilisée afin d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques du fruit de *C. monogyna* suivant un plan d'expérience. Les résultats obtenus seront comparés à ceux des deux autres techniques conventionnelles.

### 2.7.1. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques

- **Model expérimental**

Afin d'optimiser les conditions optimales d'extraction des composés phénoliques et l'activité antioxydant des extraits de *Crataegus monogyna*, un plan d'expérience à 15 tests dont trois points centraux a été réalisé à l'aide d'un logiciel Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies, USA). Trois variables indépendantes : le temps d'extraction (2 ; 4,5 ; 7min), l'amplitude (20 ; 60 ; 100%) et la concentration en solvant (% en éthanol) (0 ; 50 ; 100%) ont été étudiées. Ainsi trois réponses qui sont la teneur en polyphénols totaux (TPT) (mg EAG/g MS), le piégeage du radical ABTS (mmol ET/g MS) et le piégeage du radical libre DPPH ( $\mu\text{g}$  EAG/ml) ont été déterminées (**Tableau II**).

L'optimisation des conditions d'extraction est réalisée avec la méthode de surface de réponse (RSM) et le plan mathématique de Box-Behnken (**Jeganathan et al., 2014**).

**Tableau II** : Plan d'expérience utilisé pour l'extraction des composés phénoliques de *Crataegus monogyna*.

Test	Temps (min)	EtOH (%)	Amplitude (%)
<b>1*</b>	<b>4,5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>
2	2	50	20
3	7	50	100
4	4,5	100	100
5	2	0	60
<b>6*</b>	<b>4.5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>
7	4.5	100	20
8	7	100	60
<b>9*</b>	<b>4.5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>
10	4.5	0	100
11	2	50	100
12	7	50	20
13	4.5	0	20
14	2	100	60
15	7	0	60

\* : Points centraux du plant d'expériences.

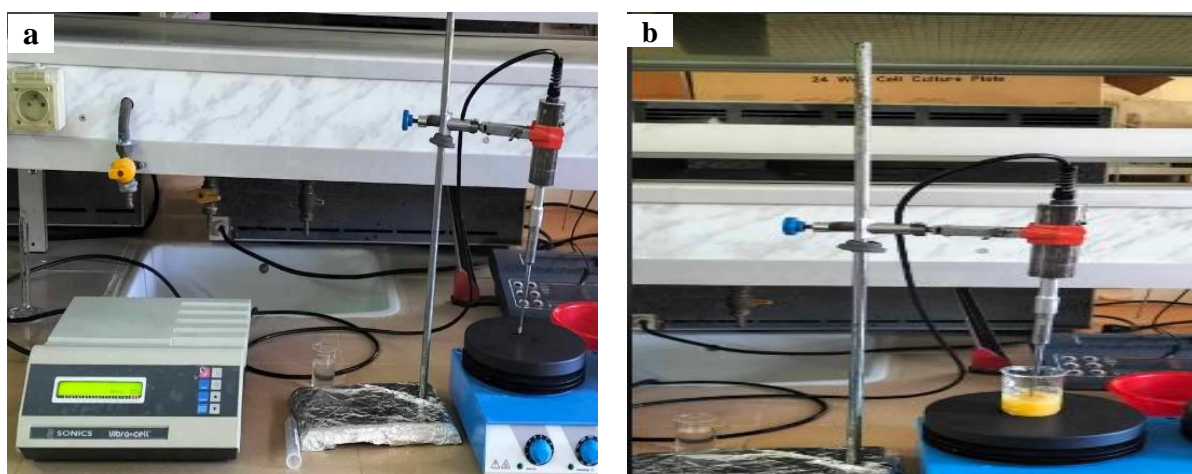
### 2.7.2. Extraction des composés phénoliques par ultrasons

- **Principe**

Les ultrasons entraînent des cycles d'expansion et de compression des cellules dans un milieu liquide, créant ainsi des bulles microscopiques qui se développent de manière excessive près des parois cellulaires, cela entraîne une augmentation de la température, de la pression et la destruction des parois cellulaires (Wang *et al.*, 2006).

- **Mode opératoire**

1 g de poudre séchée du fruit de *C. monogyna* a été placé dans un petit flacon contenant 20 ml de solvant d'extraction adéquat (voir le plan d'expérience). On a procédé à une extraction par ultrasons du mélange obtenu à l'aide d'un sonicateur (Sonics Materials TM, USA) (**Figure 10**), en respectant les conditions définies (temps d'extraction, concentration en éthanol et l'amplitude) dans le plan d'expérience regroupé dans le **Tableau II**. Le mélange est ensuite filtré et centrifugé à une vitesse de 4000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant est conservé dans des flacons étiquetés, fermés et conservés dans un congélateur pour des analyses ultérieures. Les analyses effectuées sur les extraits obtenus par l'extraction assistée par ultrasons sont la teneur en polyphénols totaux (TPT) et l'activité antioxydant (test DPPH et test ABTS). Par ailleurs, les résultats de l'extrait issu à partir des conditions optimales avec l'utilisation des ultrasons ont été comparés à ceux obtenus par les techniques conventionnelles.



**Figure 10** : présentation de l'appareil ultrason. (a) : Sonde à ultrason. (b) : La sonde à ultrasons pendant l'extraction.

### 2.7.3. Extraction des composés phénoliques par la macération

0,5 g de poudre du fruit de *C. monogyna* ont été introduites dans un bêcher contenant 50 ml d'éthanol à 50%. Le mélange a été agité pendant 1 heure à température ambiante.

Les analyses phyto-chimiques réalisées sur les extraits obtenus par la macération sont les dosages de TPT, des flavonoïdes, des tannins condensés et la détermination de l'activité antioxydant par trois tests (DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur).

### 2.7.4. Extraction des composés phénoliques par le Soxhlet

3 g de poudre du fruit de *C. monogyna* ont été introduites dans une cartouche en papier, la poudre a été couverte de coton. Le système de reflux a été assuré avec un volume de 180 ml d'éthanol à 50% qui ont été introduites dans un ballon de 250 ml. Une température de 80°C a été utilisée avec un temps d'extraction de 2 heures (**Annexe 5**). L'extrait obtenu a été filtré et centrifugé à 4000 rpm pendant 15 min. Le surnageant a été récupéré et utilisé pour les dosages ultérieurs.

Les analyses phyto-chimiques réalisées sur l'extrait obtenu par le Soxhlet sont les dosages de TPT, des flavonoïdes, des tannins condensés et la détermination de l'activité antioxydante par trois tests (DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur).

## 2.8. Dosage des composés phénoliques

### 2.8.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le Folin-Ciocalteu est un réactif composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3P MO_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des phénols, il est transformé en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est liée à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Jeganathan et al., 2014**).

- **Mode opératoire**

Le réactif du Folin-Ciocalteu a été employé afin d'évaluer la teneur totale en polyphénols, conformément à la méthode décrite par **Nabet et al. (2019)**. 30 µl de chaque extrait ont été additionnés à 1800 µl d'eau distillée et 150 µl du réactif du Folin-Ciocalteu.

Après avoir agité pendant une minute, 450 µl de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 20% et 570 µl d'eau distillée ont été ajoutés. Incuber le mélange pendant 2 heures à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique afin de mesurer la quantité en polyphénols totaux (**Annexe 2**). Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en mg EAG/g MS).

### 2.8.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols, ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

- **Mode opératoire**

Les teneurs en flavonoïdes présents dans les extraits des fruits de *C. monogyna* obtenus avec les différentes méthodes d'extraction ont été déterminées selon la méthode décrite par **Djeridane et al. (2006)**. 1ml de la solution de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 2 % (2 g de chlorure d'aluminium dissous dans 100ml de méthanol) ont été ajoutés à un volume de 1ml d'extrait. Après un temps de contact de 15 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon)

En utilisant la quercétine comme standard, une courbe d'étalonnage a été établie pour évaluer la concentration en flavonoïdes (**Annexe 2**). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg EQ /g MS.

### 2.8.3. Dosage des tannins condensés

- **Principe**

Les tannins sont des polymères caractérisés par la présence d'un nombre suffisant de groupes hydroxy phénoliques permettant des combinaisons plus stables avec les protéines et les alcaloïdes (**Quettier-Deleu et al., 2000**). En présence de sels ferriques les tannins

hydrolysables donnent des précipités bleu-noirs et les tannins condensés des précipités brun-verdâtres (Bruneton, 1999).

- **Mode opératoire**

La teneur en tannins condensés des extraits des fruits de *C. monogyna* a été déterminée selon la méthode proposée par Vermerris et Nicholson (2008). Une solution de sulfate ferrique acide  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  a été préparée avec la dissolution de 77 mg de sulfate d'ammonium ferrique  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  dans 500mL de n-Butanol/HCl (3:2) (v/v). 2,5ml de la solution ferrique ont été mélangés avec 250 $\mu\text{L}$  de l'extrait. Après incubation à 95°C pendant 50 minutes, l'absorbance a été mesurée à 530 nm au spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon)

Les résultats sont déterminés à l'aide de la formule ci-dessous en utilisant la cyanidine comme standard.

$$A_{530\text{nm}} * \text{FD} * \text{MM} / (\epsilon * \text{L}) \quad \text{Où ;}$$

**FD** : Facteur de dilution ;

**MM** : Masse molaire de la cyanidine égale à 287,24 g/mol ;

$\epsilon$  : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine égale à 34700  
L/mol/cm ;

**L** : Largeur de la cuve (1cm).

Les teneurs en tannins sont exprimées en mg équivalent de cyanidine par g de matière sèche (mg EC/g MS).

## 2.9. Détermination de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de fruits de *C. monogyna* a été réalisée avec l'utilisation de trois méthodes différentes à savoir le test DPPH, le test d'ABTS et le pouvoir réducteur.

### 2.9.1. Test de piégeage des radicaux libres DPPH

- **Principe**

Le DPPH<sup>+</sup> est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène (**Yang et al., 2008**). Le principe est basé sur la réduction de la solution alcoolique radicalaire de DPPH<sup>+</sup> en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène et la formation de la forme non radicalaire DPPH-H (**Gulçin et al., 2006**). La capacité de réduction des radicaux DPPH<sup>+</sup> est déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm, visuellement perceptible comme une décoloration du violet au jaune (**Yang et al., 2008**).

- **Mode opératoire**

L'effet du piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> des extraits de *C. monogyna* a été déterminé selon la méthode rapportée par **Brand-Williams, (1995)**. Un volume de 1450 µl de DPPH<sup>+</sup> préparé avec du méthanol à une concentration de 6.10<sup>-5</sup> mM est additionné à 50 µl de l'extrait à tester. Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 30 min à température ambiante. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon) à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition (I%) des radicaux libres DPPH<sup>+</sup> a été calculé selon la formule suivante :

$$I \% = \frac{\text{Abs blanc} - \text{Abs écha}}{\text{Abs blanc}} \times 100 \text{ Avec :}$$

**Abs blanc** : Absorbance du contrôle à T= 0 min ;

**Abs écha** : Absorbance de l'échantillon à T= 30 min.

Une courbe d'étalonnage a été préparée avec l'utilisation d'acide gallique (0,3 à 3 µg/ml) afin de déterminer l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (**Annexe 3**). Les résultats obtenus ont été exprimés en µg équivalent acide gallique par ml (µg EAG/ml).

### 2.9.2. Test de piégeage des radicaux cationiques ABTS

La méthode de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> est parmi les méthodes les plus couramment employées pour évaluer l'activité antioxydante.

- **Principe**

Cette méthode repose sur la neutralisation d'un radical cationique. Ce dernier est formé en oxydant le persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ), ce qui donne une solution colorée en vert bleu (Jiri et al., 2010). En ajoutant un antioxydant à la solution radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup>, ce radical est réduit et l'absorbance de la solution radicalaire diminue (Prouillac, 2006).

- **Mode opératoire**

La méthode décrite par Re et al. (1999) a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *C. monogyna*. Une solution d'ABTS de 7 mM en utilisant de l'eau distillée a été préparée. Le mélange de la solution d'ABTS avec la solution de persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) a permis d'obtenir les radicaux cationiques ABTS<sup>•+</sup>. Le mélange a été incubé à l'ombre et à une température ambiante pendant 12 à 16 heures. La solution radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec une solution tampon de phosphate de sodium à 5 mM et à pH de 7,4 afin d'obtenir une absorbance comprise entre 0,68 et 0,72 à 734 nm. 2 ml de la solution radicalaire d'ABTS<sup>•+</sup> ont été ajoutés à 20 µL de l'échantillon. Après une incubation de 45 minutes à température ambiante, une analyse des absorbances à 734 nm a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon).

Une courbe d'étalonnage a été préparée avec l'utilisation du Trolox. Des concentrations de 0,25 jusqu'à 2 mmol ont été utilisées pour la préparation de cette courbe (Annexe 3). Les résultats ont été exprimés en mmol équivalent Trolox /g de matière sèche (mmol ET/g MS).

### 2.9.3. Test du pouvoir réducteur

- **Principe**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). La forme réduite du complexe ferricyanure donne une couleur verte proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Odabasoglu et al., 2004).



- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur des extraits du fruit de *C. monogyna* a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu, (1986)**.

500  $\mu$ L d'extrait ont été mélangées à 1250  $\mu$ L de tampon de phosphate de sodium (0,2 M, pH 6) et de 1250  $\mu$ L de  $[K_3Fe(CN)_6]$  à 1 %. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. 1250  $\mu$ L d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % ont été ajoutés puis le tout a été centrifugé à 1500 rpm pendant 10 minutes. 1250  $\mu$ L du surnageant ont été mélangés avec 1250  $\mu$ L d'eau distillée et 0,25 ml de chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) à 0,1 %, en fin l'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-1800 SHIMADZU, Japon) L'analyse a été tripliquée pour tous les échantillons.

Une courbe d'étalonnage a été préparée avec l'utilisation d'acide gallique afin de déterminer le pouvoir réducteur des extraits. Des concentrations de 10 jusqu'à 200  $\mu$ g/ml ont été utilisées pour la préparation de cette courbe (**Annexe 3**). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide gallique / g de matière sèche (mg EAG /g MS).

### **3. Analyse statistique**

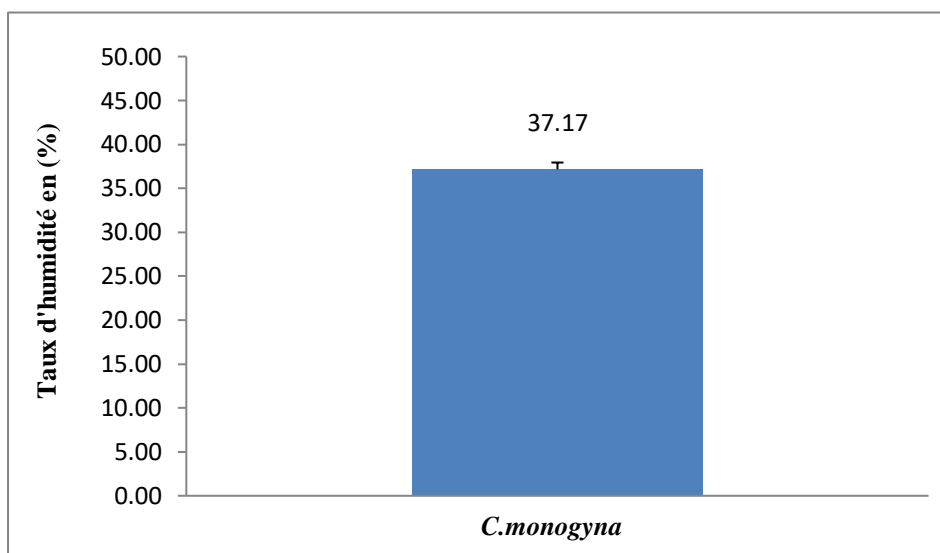
Tous les tests effectués ont été triplés. Les moyennes et les écarts ont été calculés avec l'Excel de Microsoft Office 2007. Le logiciel STATISTICA 12 a été utilisé pour l'analyse statistique. L'analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA- Tukey) a été réalisée pour la détermination de la plus faible différence significative (LDS) à une probabilité de  $P \leq 0,05$ .

## ***Chapitre IV : Résultats et discussion***

## Chapitre IV : Résultats et discussion

## 1. Taux d'humidité

La teneur en humidité du fruit de *C. monogyna* est représentée dans la **Figure 11**.



**Figure 11** : Teneur en humidité du fruit de *C. monogyna*

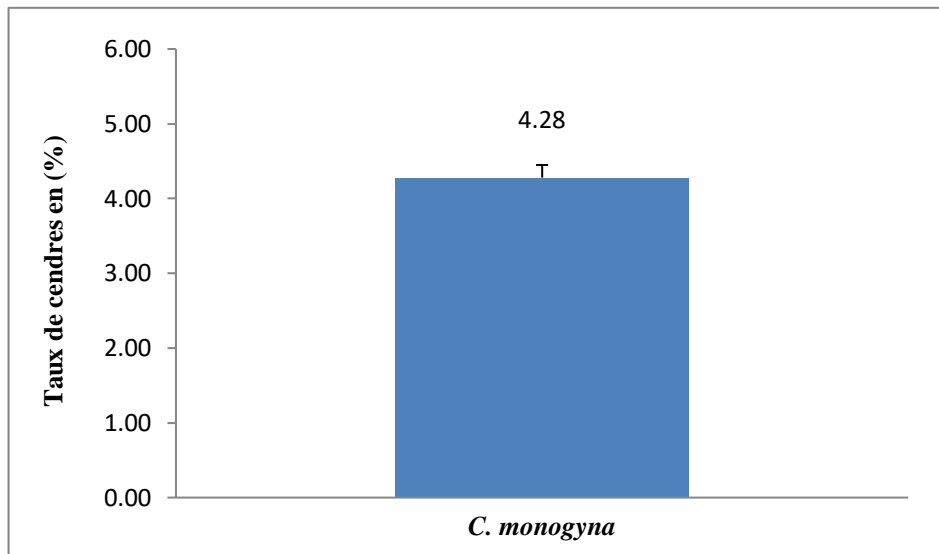
Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des fruits de *C. monogyna*. Les résultats de ce test montrent que le taux d'humidité est de  $37,17 \pm 0,76$  % du poids total du fruit de *C. monogyna*. Ce qui signifie que 62,83% représentent le taux de matière sèche.

Les teneurs en humidités des fruits de *C. monogyna* récoltés au Portugal et en Turquie sont  $60,00 \pm 6,10\%$  et  $68,98 \pm 2,20\%$ , respectivement (**Barros et al., 2011 ; Yalçın Dokumacı et al., 2021**). Une autre étude, menée par **Boudraa et al. (2010)** montre que les fruits de *C. monogyna* et de *C. azarolus*, récoltés dans la wilaya de Batna en Algérie, présentent des taux d'humidité de  $35,52 \pm 3,40\%$  et de  $70,22 \pm 8,06\%$  respectivement.

La variation des teneurs en humidité peut être expliquée par la différence de plusieurs paramètres tels que l'espèce et la partie de la plante étudiée, la saison et la région de la récolte ainsi qu'aux facteurs environnementaux (**Barros et al., 2011 ; Boudraa et al., 2010 ; Yalçın Dokumacı et al., 2021**).

## 2. Taux de cendres

Le taux de cendre du fruit de *C. monogyna* est représenté dans la **Figure 12**.



**Figure 12** : Teneur en cendres du fruit de *C. monogyna*

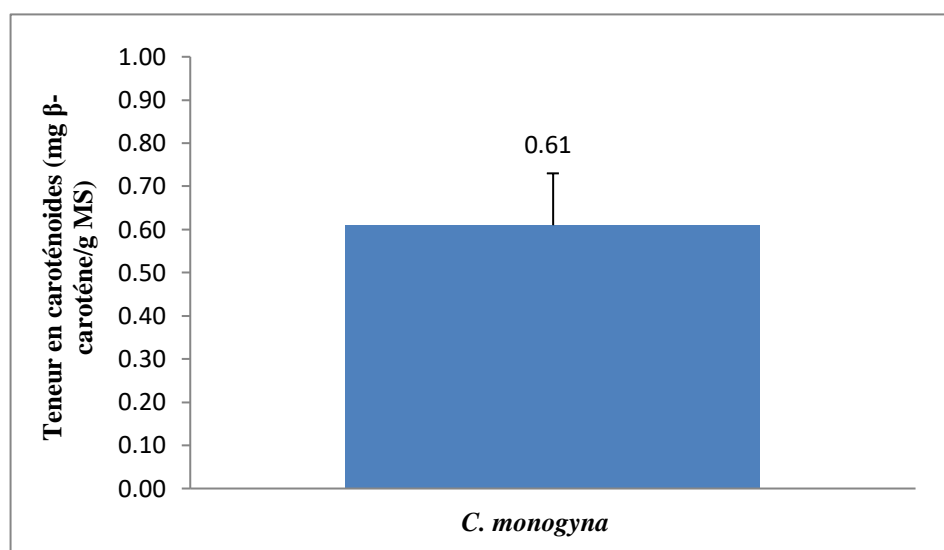
Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présent dans le fruit de *C. monogyna*. Le taux de cendres de fruit de *C. monogyna* récolté dans la région d'Adekar wilaya de Béjaïa est de  $4,28 \pm 0,17\%$ .

Les taux de cendres des fruits de *C. monogyna* récoltés au Portugal et en Turquie sont de  $3,21 \pm 0,09\%$  et de  $2,77 \pm 0,11\%$ , respectivement (**Barros et al., 2011 ; Yalçın Dokumacı et al., 2021**). Par ailleurs, les fruits de *C. monogyna* et de *C. azarolus*, récoltés dans la wilaya de Batna en Algérie, présentent des taux de cendres de  $5,00 \pm 0,07\%$  et de  $4,10 \pm 0,1\%$ , respectivement, (**Boudraa et al., 2010**).

Les taux de cendres rapportés dans la littérature sont très proches de celui trouvé dans notre étude.

### 3. Teneur en caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes du fruit de *C. monogyna* est représentée dans la **Figure 13**.



**Figure 13** : Teneur en caroténoïdes du fruit de *C. monogyna*

La teneur en caroténoïdes du fruit de *C. monogyna* récolté dans la région d'Adekar wilaya de Béjaïa est de  $0,61 \pm 0,12$  mg  $\beta$  carotène/g MS.

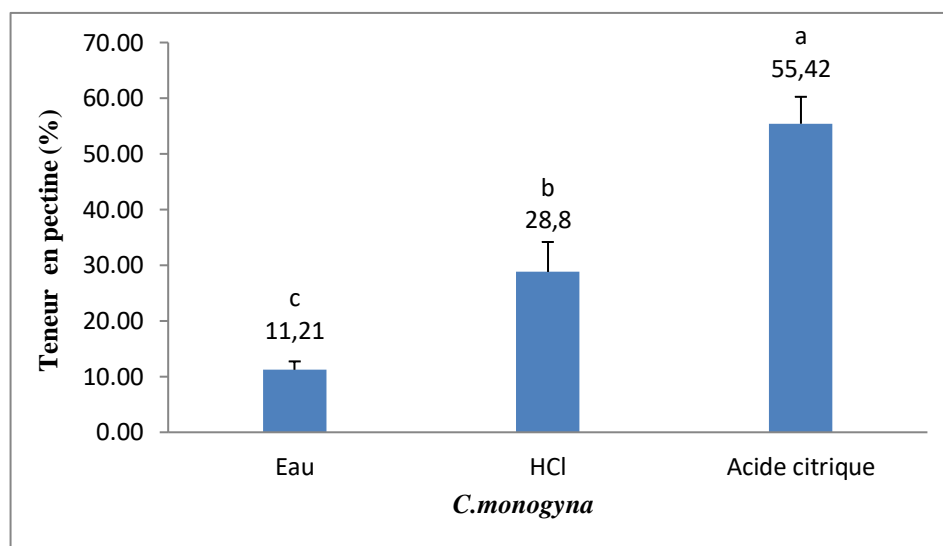
**Alirezalu et al. (2020)** rapportent dans leur étude que la teneur en caroténoïdes du fruit de *C. monogyna* de la région d'Iran est de  $282,74 \pm 6,66$   $\mu\text{g/g}$  MS. Cette teneur est deux fois moins importante à celle trouvée dans notre étude. De plus, il existe des teneurs de différentes variétés des fruits de *Crataegus* récoltés en Iran, qui varient de  $86,84 \pm 2,65$  à  $405,79 \pm 5,64$   $\mu\text{g/g}$  MS.

La teneur en caroténoïdes du fruit de *C. mexican* récolté au Mexique est de  $26,4 \pm 0,02$  mg  $\beta$  carotène/g MS (**José Antonio et Margarita, 2015**). Par ailleurs, une autre étude a été menée sur 24 génotypes du fruit du genre *Crataegus*, montre des teneurs en caroténoïdes qui varient de 3,95 à 42,35  $\mu\text{g}$   $\beta$  carotène/g de matière fraîche (**Perez-Lainez et al., 2019**).

La teneur en caroténoïdes varie avec la variation de plusieurs paramètres tels que l'espèce étudiée, la méthode d'extraction utilisée, la période de récolte ou les conditions géographiques de la plante (**Alirezalu et al., 2020 ; José Antonio et Margarita, 2015 ; Perez-Lainez et al., 2019**).

#### 4. Teneurs en pectines

La **Figure 14** représente les rendements d'extraction en pectine au niveau du fruit de *C. monogyna* obtenus avec l'utilisation de trois solvants à savoir l'eau, l'HCl et l'acide citrique.



**Figure 14 :** Rendements d'extraction en pectine du fruit de *C. monogyna*  
Les résultats qui portent différentes lettres (a>b>c) montrent des différences significatives à  $p \leq 0.05$

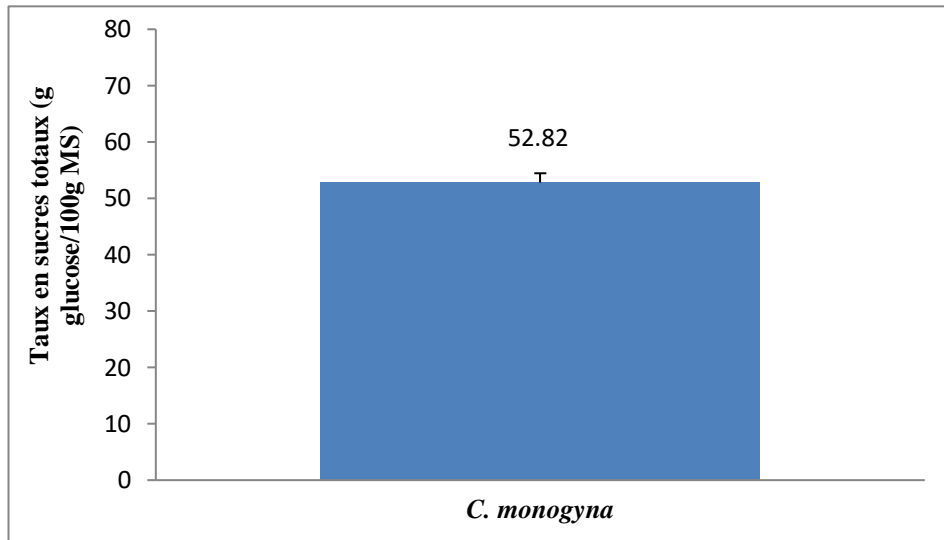
Le test de comparaison multiple de moyenne (LSD) montre qu'il existe une différence significative entre les rendements d'extraction en pectine obtenus avec les trois solvants à  $p \leq 0,05$ . Le meilleur rendement d'extraction en pectine est obtenu avec l'acide citrique à pH = 2, qui est de  $55,42 \pm 4,83\%$ . Par contre, le plus faible rendement en pectine est obtenu dans le cas de l'extrait aqueux qui est cinq fois moins important par rapport à celui obtenu par l'acide citrique (**Figure 14**).

Les teneurs en pectine des fruits de *C. monogyna* et de *C. azarolus* récoltés en Algérie sont de 1,6 et 2,61 %, respectivement (**Mouni et al., 2012**). Ces teneurs sont très faibles par rapport à celles trouvés dans notre étude par les différents solvants utilisés.

Une méthode enzymatique a été utilisée pour l'extraction des pectines de fruit de *Crataegus pinnatifida* Bunge récolté en Chine. Le rendement d'extraction en pectine obtenu est de  $61,07 \pm 1,37\%$  (**Zhu et al., 2019**).

## 5. Teneur en sucres totaux

La teneur en sucres totaux du fruit de *C. monogyna* est représentée dans la **Figure 15**.



**Figure 15** : Teneur en sucres totaux du fruit de *C. monogyna*

La teneur en sucre totaux du fruit de *C. monogyna* de la région d'Adekar est de  $52,82 \pm 1,63$  g glucose/100g MS.

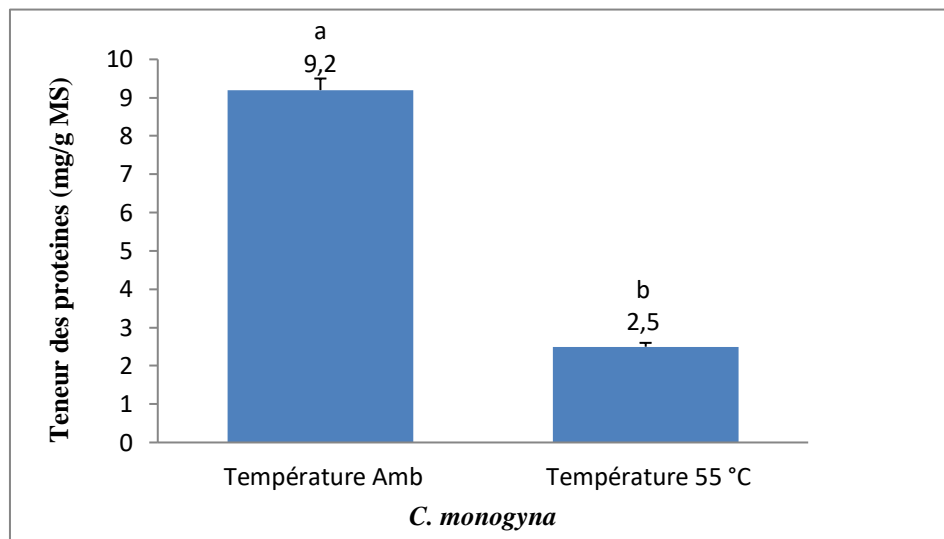
Les taux de sucres totaux de différents stades de maturité de fruit de *C. monogyna* (fruit avant maturité, fruit mûr et fruit après maturité) récoltés au Portugal, déterminés à l'aide d'HPLC méthode sont de  $2,21 \pm 0,06$  ;  $41,03 \pm 3,12$  et  $56,07 \pm 1,07$  g /100g MS, respectivement (**Barros et al., 2011**).

D'après les résultats rapportés par **Mouni et al. (2012)**, les teneurs en sucres totaux des fruits de *C. monogyna* et de *C. azarolus* récoltés en Algérie sont de 11,45% et 9,86%, respectivement. Ces teneurs sont très faibles par rapport à celles trouvés.

La teneur en sucres totaux en varie avec la variation de plusieurs paramètres tels que l'espèce étudiée, la méthode d'extraction utilisée, la période de récolte ou les conditions géographiques de la plante (**Barros et al., 2011 ; Mouni et al., 2012**).

## 6. Teneurs en protéines

La **Figure 16** représente les teneurs en protéines au niveau du fruit de *C. monogyna* obtenues par extraction à une température ambiante et à une température de 55°C.



**Figure 16 :** Teneurs en protéines du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres (a>b) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

Le test de comparaison multiple de moyennes (LSD) montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en protéines obtenus dans les deux cas (température ambiante et à 55°C) à  $p \leq 0,05$ . La plus forte teneur en protéines est obtenue dans le cas de la température ambiante, qui est de  $9,2 \pm 0,30$  mg BSA/g MS. Par contre, dans le cas d'extraction à une température de 55°C la teneur en protéines obtenue est très faibles (**Figure 16**).  $0,92$  g/ 100g.

Les teneurs en protéines de différents stades de maturité du fruit de *C.monogyna* (fruit avant maturité, fruit mûr et fruit après maturité) récoltés au Portugal, sont de  $5,57 \pm 0,30$ ;  $3,97 \pm 0,09$  et  $3,40 \pm 0,20$  g/100g MS, respectivement (**Barros et al., 2011**).

**Yalçın Dokumacı et al. (2021)** rapportent dans leur étude, la teneur en protéines du fruit de *C. monogyna* récolté en Turquie, qui est de  $3,06 \pm 0,10$  %.

Les teneurs en protéines rapportées dans la littérature sont supérieures à celles trouvés dans notre étude.



## 7. Résultats d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de

### *C. monogyna* obtenus par ultrasons

Le **Tableau III** représente un plan d'expérience à trois variables et les résultats de trois réponses étudiées des extraits de *C. monogyna* obtenus par ultrasons.

**Tableau III** : Plan d'expérience et résultats des réponses étudiées des extraits de *C. monogyna* obtenus par ultrasons.

Test	Temps (min)	EtOH (%)	Amplitude (%)	TPT (mg EAG/g MS)	DPPH (µgEAG/ml)	ABTS (mmolET/gMS)
<b>1*</b>	<b>4,5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	32,56±0,96	76,63±0,93	32,40±1,87
2	2	50	20	35,55±0,49	76,20±0,34	28,75±1,52
3	7	50	100	33,01±0,87	75,81±0,25	31,55±1,48
4	4,5	100	100	9,86±0,57	78,16±1,77	12,56±0,53
5	2	0	60	7,97±0,29	59,09±1,51	10,94±0,52
<b>6*</b>	<b>4,5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	33,99±1,86	75,92±0,16	32,65±0,96
7	4,5	100	20	6,86±0,21	75,43±2,84	19,18±1,45
8	7	100	60	8,45±0,11	77,18±0,99	21,03±1,41
<b>9*</b>	<b>4,5</b>	<b>50</b>	<b>60</b>	36,41±2,18	75,92±0,43	34,99±1,32
10	4,5	0	100	7,56±0,19	65,21±2,30	19,60±1,64
11	2	50	100	33,15±0,24	75,92±0,33	28,90±1,00
12	7	50	20	35,77±1,44	77,23±0,16	29,09±1,29
13	4,5	0	20	8,01±0,38	51,00±1,28	14,06±0,43
14	2	100	60	6,63±0,23	70,13±3,69	10,77±0,52
15	7	0	60	12,17±0,53	74,72±1,65	13,30±0,33

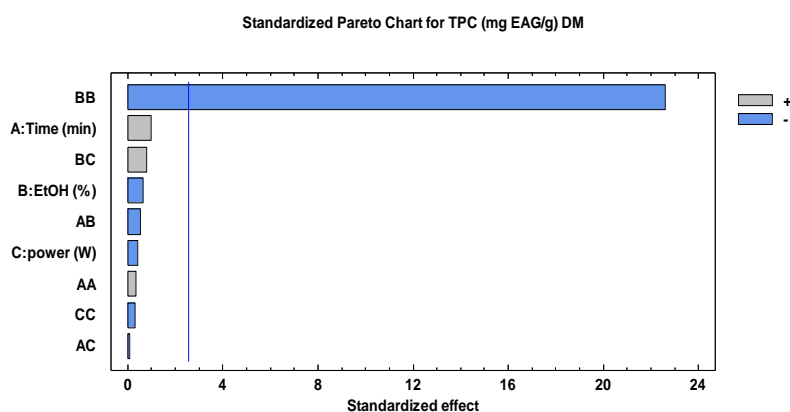
\* : Points centraux du plan d'expériences.

### 7.1. Optimisation de la teneur en polyphénols totaux

La plus forte teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *C. monogyna* est obtenue dans les conditions d'extraction suivantes : 4,5 min, 50% EtOH et 60% d'amplitude, avec une teneur de 36,41 mg EAG/g MS (test 9\*), Par contre, la plus faible teneur en polyphénols totaux est obtenue à 2 min, 100% EtOH et 60% d'amplitude, avec une teneur de 6,63 mg EAG/g MS (test 14) (**Tableau III**).

L'étude statistique montre que les 3 variables étudiées (le temps, % en éthanol et l'amplitude) ne possèdent aucun effet significatif positif sur la TPT de l'extrait de *C. monogyna*. Par contre, l'effet quadratique du % EtOH possède un fort effet significatif négatif sur la TPT (**Figure 17**).

La plus forte teneur en polyphénols totaux de l'extrait de fruit de *C. monogyna* qui est de 35,62 mg EAG/g MS, proposée par le modèle ( $R^2 = 99,04\%$ ) dont les conditions optimales d'extractions sont : 7 min, 48,41 % EtOH et 33,99 % d'amplitude.



**Figure 17** : Diagramme de Pareto des polyphénols de *C. monogyna*

Le modèle mathématique proposé par le logiciel afin d'optimiser la TPT est comme suit :

$$\text{TPT (mg EAG/g MS)} = 8,49896 + 0,0336 \cdot \text{Temps (min)} + 1,02202 \cdot \text{EtOH (\%)} - 0,000075 \cdot \text{amplitude (\%)} + 0,0626 \cdot \text{Temps (min)}^2 - 0,00476 \cdot \text{Temps (min)} \cdot \text{EtOH (\%)} - 0,0009 \cdot \text{Temps (min)} \cdot \text{amplitude (\%)} - 0,0103625 \cdot \text{EtOH (\%)}^2 + 0,00043125 \cdot \text{EtOH (\%)} \cdot \text{amplitude (\%)} - 0,000213281 \cdot \text{amplitude (\%)}^2.$$

**Mebirouk-Boudechiche et al. (2014)** ont montré dans leur étude que la teneur en composés phénoliques des feuilles *C. monogyna* récoltées pendant la floraison à la wilaya d'El Tarf en Algérie est de 83,18 mg équivalent acide tannique/g MS.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique à 80% de fruit de *C. monogyna* récolté en Iran qui est de  $35,85 \pm 0,25$  mg EAG/g MS (**Alirezalu et al., 2020**), corrobore à celles trouvées dans notre étude (**Tableau III**). Ainsi que, il a été rapporté que les extraits méthanoliques à 80% des fruits de *C. atrosanguinea* ; *C. meyeri* et *C. azarolus* var. *aronia* récoltés en Iran possèdent une teneur en polyphénols totaux de  $61,60 \pm 0,52$  ;  $58,17 \pm 0,82$  et de  $27,09 \pm 0,63$  mg EAG/g MS, respectivement (**Alirezalu et al., 2020**).

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de *C. monogyna* récoltées en Turquie sont de  $72,54 \pm 2,58$  et  $92,69 \pm 1,87$  mg quercétine /g MS, respectivement. Les TPT des extraits aqueux et éthanolique des feuilles *C. monogyna* sont de  $106,24 \pm 3,48$  et  $86,88 \pm 1,85$  mg quercétine/g MS, respectivement. Par ailleurs, Les TPT des extraits aqueux et éthanolique des fruits *C. monogyna* sont de  $70,58 \pm 1,66$  et  $71,69 \pm 1,45$  mg quercétine/g MS, respectivement (**Keser et al., 2014**).

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de différentes parties (fleurs, feuilles et fruits) de *C. monogyna* rapportées dans la littérature sont supérieurs à celles trouvés dans notre étude.

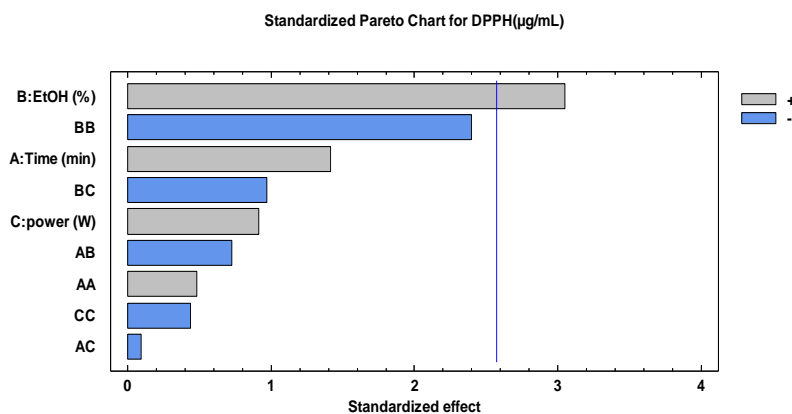
Ces variations des teneurs en polyphénols totaux peuvent être expliquées par plusieurs facteurs tels que la partie de l'espèce étudiée, la méthode d'extraction utilisée, le temps et la température d'extraction utilisés, le solvant utilisé, l'âge et la période de récolte de la plante (**Keser et al., 2014 ; Mebirouk-Boudechiche et al., 2014 ; Alirezalu et al., 2020**).

## 7.2. Optimisation de l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup>

Le plus fort effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> de l'extrait de *C. monogyna* est obtenu dans les conditions d'extraction suivantes : 4,5 min, 100 % EtOH et 100% d'amplitude, avec une teneur de 78,16 µg EAG/ml (test 4). Par contre, le plus faible effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> de *C. monogyna* est obtenu à 60 min, 0% EtOH et 20% d'amplitude avec une teneur de 51,00 µg EAG/ml (test13) (**Tableau III**).

L'étude statistique montre que la concentration en éthanol (% EtOH) possède un effet significatif positif sur l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup>. Par contre, les deux autres variables indépendantes (temps d'extraction et amplitude) n'ont aucun effet significatif. De plus, l'effet quadratique des trois variables ne possède aucun effet significatif sur l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (**Figure 18**).

Le modèle ( $R^2=79,90\%$ ) propose le plus fort effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> qui est de 81,34 µg EAG/ml dont les conditions optimales d'extraction sont un temps d'extraction de 7 min, un pourcentage en éthanol de 61,21% et une amplitude de 74,47%.



**Figure 18** : Diagramme de Pareto pour le test DPPH de l'extrait de *C. monogyna*

Le modèle mathématique proposé par le logiciel afin d'optimiser l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> est comme suit :

$$\text{DPPH } (\mu\text{g/mL}) = 47,1022 + 0,0754 \cdot \text{Temps (min)} + 0,584853 \cdot \text{EtOH } (\%) + 0,233325 \cdot \text{amplitude } (\%) + 0,237067 \cdot \text{Temps}(\text{min})^2 - 0,01716 \cdot \text{Temps (min)} \cdot \text{EtOH } (\%) - 0,00285 \cdot \text{Temps}(\text{min}) \cdot \text{amplitude } (\%) - 0,00294333 \cdot \text{EtOH } (\%)^2 - 0,001435 \cdot \text{EtOH } (\%) \cdot \text{amplitude } (\%) - 0,000842708 \cdot \text{amplitude } (\%)^2.$$

L'étude rapportée par **Abuashwashi et al. (2016)** montrent que l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>) des extraits méthanoliques de la partie aérienne de *C. monogyna* de différents échantillons récoltés en Espagne pendant la période de floraison, varie entre 2,67±0,14 et 3,76 ± 0,67 µg/ml.

L'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>) des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de *C. Monogyna* récoltées en Turquie sont de 56,79±0,87 et 58,15±0,45 µg/ml, respectivement. L'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>) des extraits aqueux et éthanolique des feuilles du *C. monogyna* sont de 59,18±0,32 et 67,57±0,89 µg/ml respectivement. Par ailleurs, l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>) des extraits aqueux et éthanolique des fruits *C. monogyna* sont de 27,63±0,35 et 33,24±0,28 µg/ml, respectivement (**Keser et al., 2014**).

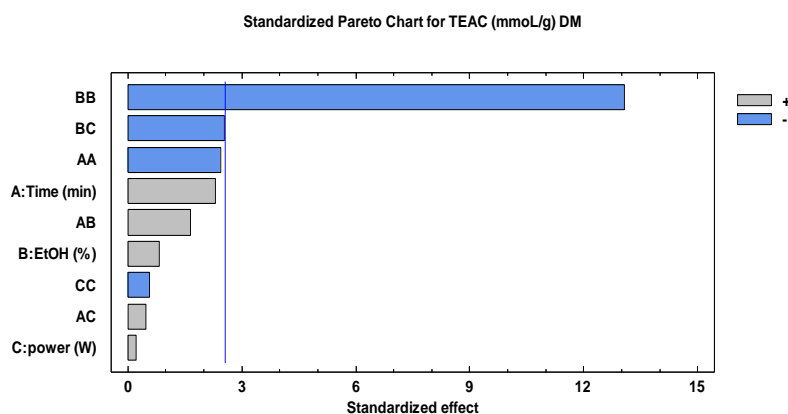
**Barros et al. (2011)** ont montré que l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>) de l'extrait de fruit de *C.monogyna* récolté au Portugal est de 121,31±14,10 µg/ml.

### 7.3. Optimisation de l'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup>

Le plus fort effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> des extraits de *C. monogyna* est obtenu dans les conditions d'extraction suivantes : 4,5 min, 50 % EtOH et une amplitude de 60%, avec une teneur de 34,99 mmol ET/g MS (test 9\*). Par contre, le plus faible effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> des extraits de *C. monogyna* est obtenu à 2 min, 100% EtOH et une amplitude de 60% avec une teneur de 10,77 mmol ET/g MS (test14) (**Tableau III**).

D'après l'étude statistique les trois variables étudiées n'ont aucun effet significatif sur l'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup>. Par contre, l'effet quadratique du solvant éthanol (%EtOH) montre un effet significatif négatif sur l'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> (**Figure 19**).

Le plus fort effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> qui est de 33,71 mmol ET/g MS, obtenu par le modèle (R<sup>2</sup>= 97,42) dont les conditions optimales d'extraction sont un temps d'extraction de 5,36 min, un pourcentage en éthanol de 51,07 % et une amplitude de 69,10 %.



**Figure 19** : Diagramme de Pareto pour le test ABTS de l'extrait de *C. monogyna*

Le modèle mathématique proposé par le logiciel afin d'optimiser l'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> est comme suit :

$$\text{ABTS (mmol/g MS)} = 1,59882 + 4,0462 * \text{Temps (min)} + 0,685383 * \text{EtOH (\%)} + 0,108575 * \text{amplitude (\%)} - 0,489133 * \text{Temps (min)}^2 + 0,0158 * \text{Temps (min)} * \text{EtOH (\%)} + 0,005775 * \text{Temps (min)} * \text{amplitude (\%)} - 0,00651183 * \text{EtOH (\%)}^2 - 0,00152 * \text{EtOH (\%)} * \text{amplitude (\%)} - 0,000448177 * \text{amplitude (\%)}^2.$$

D'après le diagramme de Pareto pour le test ABTS<sup>•+</sup> de l'extrait de *C. monogyna*, il existe une interaction entre la concentration en solvant (% EtOH) et l'amplitude, avec un effet significatif négatif.

L'effet de piégeage de radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de l'espèce *C. monogyna* est des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de *C. monogyna* récoltées en Turquie sont de 97,30±0,82 et 97,90±0,71 µg/ml, respectivement. L'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> des extraits aqueux et éthanolique des feuilles du *C. monogyna* sont de 97,50±0,57 et 97,60±0,46 µg/ml respectivement. Par ailleurs, cet effet des extraits aqueux et éthanolique des fruits *C. monogyna* sont de 50,76±0,66 et 52,50±0,56 µg/ml, respectivement (**Keser et al., 2014**).

Un taux piégeage des radicaux ABTS<sup>•+</sup> des extraits méthanolique à 80% et d'acide citrique de *C. Monogyna* récolté en Pologne est de 55% et 52%, respectivement (**Pliszka et al., 2016**).

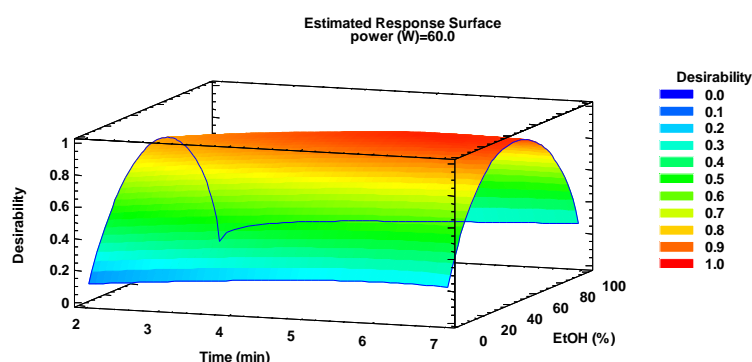
#### 7.4. Optimisation des réponses des surfaces multiples des extraits de *C. monogyna*

Au niveau du **Tableau IV** sont regroupés les résultats prédits et les résultats expérimentaux des réponses étudiées obtenus dans les conditions optimales d'extraction de l'extrait de *C. monogyna* par la méthode d'extraction assistée par ultrasons qui sont : un temps d'extraction de 5,72min et un pourcentage en éthanol de 50,60% et une amplitude de 63,31%.

**Tableau IV** : Résultats prédits et résultats expérimentaux des réponses étudiées obtenus dans les conditions optimales d'extraction de l'extrait de *C. monogyna*.

Réponses	Résultats prédits	Résultats expérimentaux	% RSD
TPT (mg EAG/g MS)	34,74	35,85±1,48	2,22
DPPH <sup>•+</sup> (µg EAG/mL)	78,16	72,10±0,25	5,70
ABTS <sup>•+</sup> (mmol Trolox/g MS)	33,61	36,35±0,06	5,54

Le modèle propose un facteur de désirabilité de 0,96 % (**Figure 20**) avec une teneur en polyphénols totaux de 34,74 mg EAG/g MS, un effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> de 78,16 µg EAG/ml et un effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de 33,61 mmol Trolox/g MS. Ces teneurs sont très proches à celles trouvées dans l'expérimentale. Par conséquent, le modèle proposé par le logiciel Statgraphics est validé.



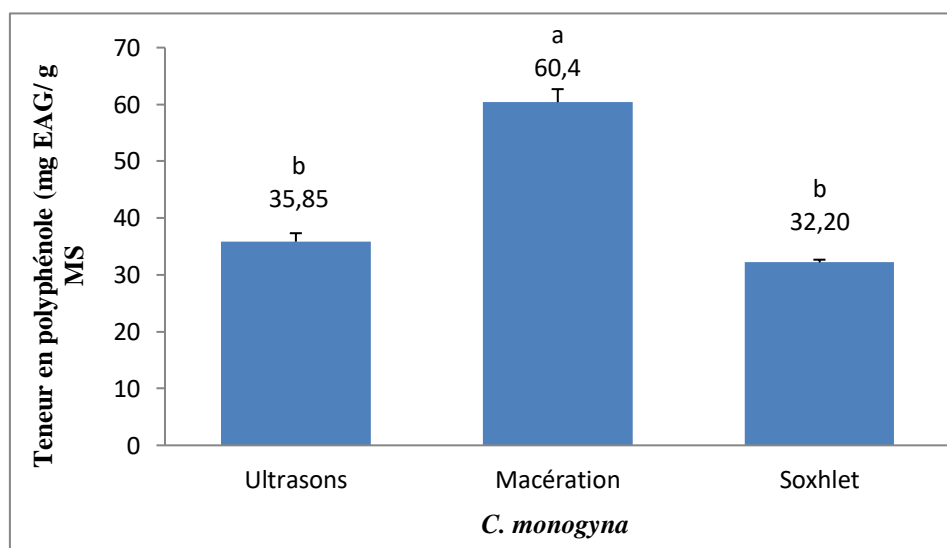
**Figure 20** : Schéma tridimensionnel de la surface de réponse des effets de temps, de solvant (EtOH) et d'amplitude sur la désirabilité de l'extrait de *C. monogyna* obtenu par extraction assistée par ultrason

## 8. Teneurs en composés phénoliques des extraits de *C. monogyna* obtenus par différentes techniques d'extraction

Les résultats des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des tannins des extraits de *C. monogyna* obtenus par la macération et le Soxhlet ont été comparés à ceux obtenus par la méthode d'extraction assistée par ultrasons.

### 8.1. Teneurs en polyphénols totaux

La figure ci-dessous représente les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits du fruit de *C. monogyna* obtenus par différentes techniques d'extraction.



**Figure 21** : Teneurs en polyphénols totaux du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres ( $a > b$ ) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

L'étude statistique montre que les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les ultrasons et le Soxhlet ne présentent pas de différences significatives (**Figure 21**). La plus forte teneur en polyphénols totaux ( $60,4 \pm 2,39$  mg EAG/g MS) est obtenue avec la technique d'extraction par macération. Cette teneur est deux fois plus importante à celles trouvés avec les deux techniques (ultrason, Soxhlet).

Selon les études menées par **Andreea-Adelina et al. (2022)**, la teneur en polyphénols totaux du fruit de *C. monogyna*, extrait par macération est de  $105,10 \pm 03,01$  mg EAG/g MS. Cette teneur est très forte par rapport à celles trouvées dans notre étude.

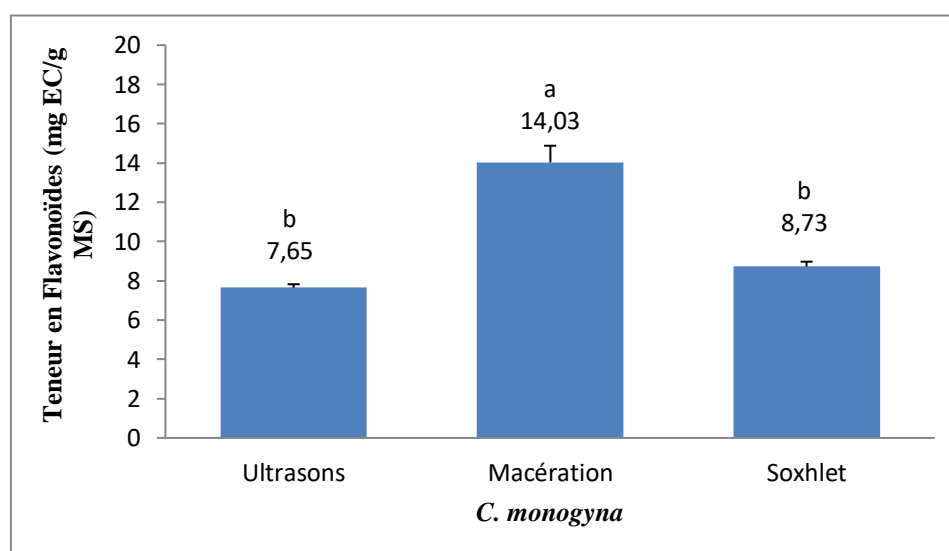


Une autre étude réalisée par **Shortle *et al.* (2014)** montre que les teneurs en polyphénols totaux du fruit de *C. monogyna* récolté en Irlande, extrait par ultrason et macération sont de  $0,032\pm 0,001$  et  $0,800\pm 0,011$  mg EAG/g MS, respectivement. Ces teneurs sont très faibles par rapport à celles trouvées dans notre étude.

**Alirezalu *et al.* (2020)** rapportent dans leur étude que la teneur en polyphénols totaux du fruit de *C. monogyna* de la région d'Iran extrait par les ultrasons est de  $35,85\pm 0,25$  mg EAG/g MS. Cette teneur est similaire à celle des extraits obtenus par ultrasons dans notre étude.

## 8.2. Teneurs en flavonoïdes

La figure ci-dessous représente les teneurs en flavonoïdes des différents extraits du fruit de *C. monogyna* obtenues par différentes techniques d'extraction.



**Figure 22 :** Teneurs en flavonoïdes du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres ( $a > b$ ) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

L'étude statistique montre que les teneurs en flavonoïdes obtenues par les ultrasons et le Soxhlet ne présentent pas de différences significatives à  $p \leq 0,05$  (**Figure 22**). La plus forte teneur en flavonoïdes obtenue avec la technique d'extraction par macération est de  $14,03\pm 0,85$  mg EQ/g MS. Cette dernière est deux fois plus importante à celles obtenues avec les ultrasons et le Soxhlet (**Figure 22**).

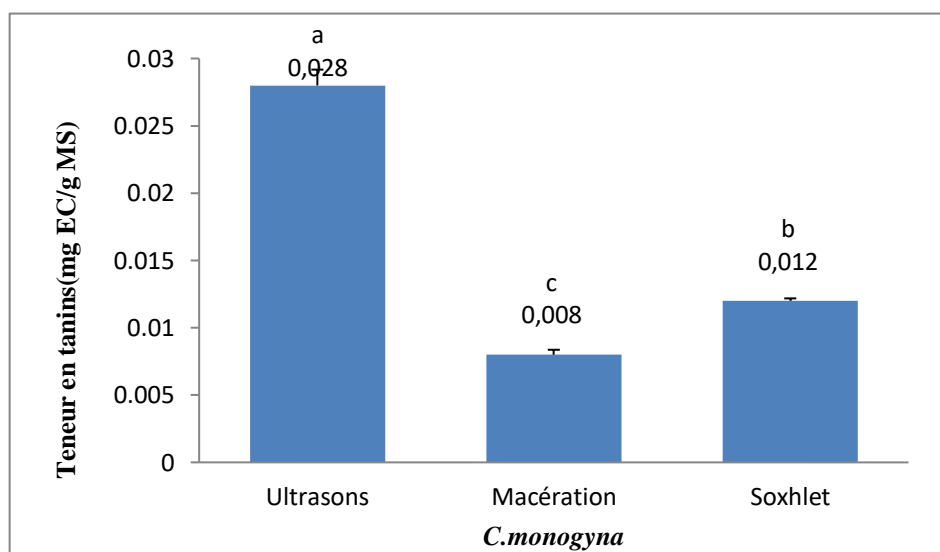
La teneur en flavonoïdes du fruit de *C. monogyna* extrait par macération est de  $5,12 \pm 0,23 \mu\text{g EGA/mg MS}$  (Andreea-Adelina *et al.*, 2022).

Les teneurs en flavonoïdes de différents stades de maturité du fruit de *C. monogyna* (fruit avant maturité, fruit mûr et fruit après maturité) récoltés au Portugal, sont de  $436,34 \pm 43,36$  ;  $21,70 \pm 0,82$  et  $22,26 \pm 0,45 \text{ g/100 g MS}$ , respectivement (Barros *et al.*, 2011).

Alirezalu *et al.* (2020) rapportent dans leur étude que la teneur en flavonoïdes du fruit de *C. monogyna* de la région d'Iran extrait par les ultrasons est de  $5,77 \pm 0,09 \text{ mg EC/g MS}$ . Cette teneur est très proche à celle trouvée dans notre étude.

### 8.3. Teneurs en tannins condensés

La figure ci-dessous représente les teneurs en tannins condensés des différents extraits du fruit de *C. monogyna* obtenues par différentes techniques d'extraction.



**Figure 23 :** Teneurs en tannins du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres ( $a > b > c$ ) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en tannins obtenues par les différentes techniques d'extraction à  $p \leq 0,05$  (Figure 23). La plus forte teneur en tannins ( $0,028 \pm 0,0001 \text{ mg EC/g MS}$ ) est obtenue avec la technique d'extraction par ultrasons suivie par le Soxhlet et en dernier lieu la macération.

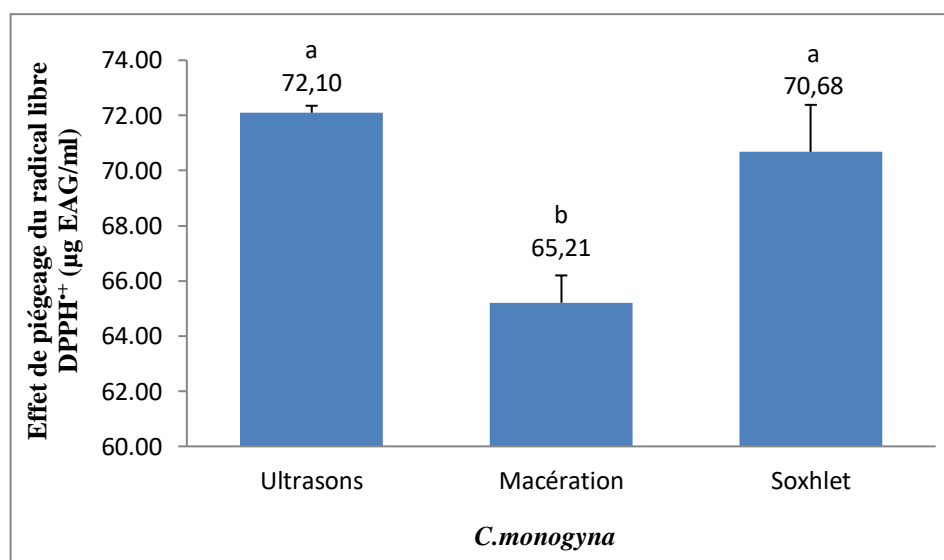
**Mebirouk-Boudechiche *et al.* (2014)** ont montré dans leur étude que la teneur en tannins condensés des feuilles *C. monogyna* récoltées pendant la floraison à la wilaya d'El Tarf en Algérie est de 19,29 g équivalent leucocyanidine/kg MS. Par ailleurs, La teneur en tannins condensés de l'extrait méthanolique pure des feuilles de *C. monogyna* récoltée à Bejaïa est de 10,73 mg/g MS (**Mekhoukhe *et al.*, 2016**).

### 9. Activité antioxydante des extraits de *C. monogyna* obtenus par différentes techniques d'extraction

Les résultats de l'activité antioxydante (test DPPH, test ABTS et pouvoir réducteur) des extraits de *C. monogyna* obtenus par la macération et le Soxhlet ont été comparés à ceux obtenus par la méthode d'extraction assistée par ultrasons.

#### 9.1. Effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup>

La figure ci-dessous représente les effets de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> des différents extraits du fruit de *C. monogyna* obtenus par différentes techniques d'extraction.



**Figure 24 :** Effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> du fruit de *C. monogyna*  
Les résultats qui portent différentes lettres (a>b) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

L'étude statistique montre que l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> des extraits de *C. monogyna* obtenus par les ultrasons et le Soxhlet ne présentent pas de différences significatives à  $p \leq 0,05$ . Tandis que l'effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup> de l'extrait

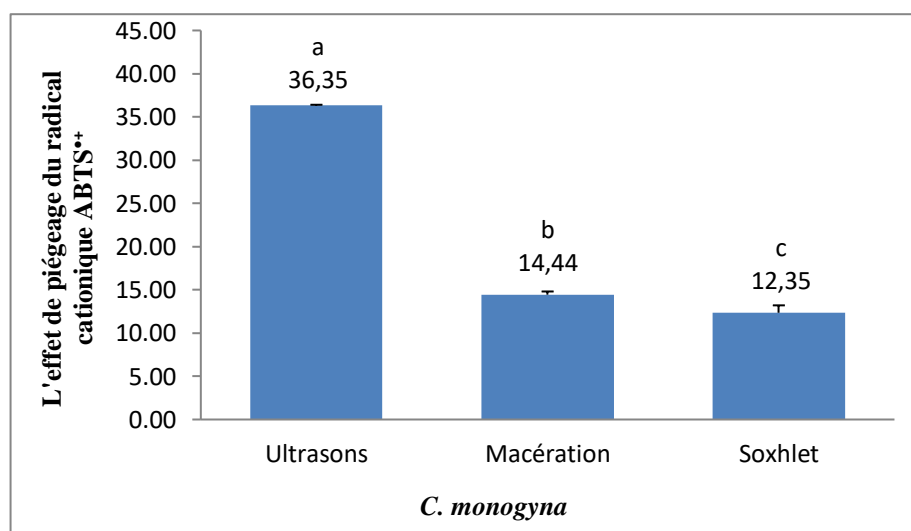
obtenu par macération présente une différence significative à  $p \leq 0,05$  par rapport à ceux obtenus par les ultrasons et le Soxhlet (**Figure 24**).

Le plus fort effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> est obtenu avec l'extraction assistée par ultrasons et le Soxhlet qui est de  $72,10 \pm 1,70$   $\mu\text{g}$  EAG/ml.

L'effets de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> du fruit de *C. monogyna* extrait par macération est de  $18,21 \pm 1,83$  (IC<sub>50</sub>)  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (**Andreea-Adelina et al., 2022**). De plus, l'effets de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> de l'extrait méthanolique pure des feuilles de *C. monogyna* récoltées à Béjaïa obtenu par la macération est de  $61,04 \pm 0,86\%$  (**Mekhoukhe et al., 2016**).

## 9.2. Effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup>

La figure ci-dessous représente l'effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> des différents extraits du fruit de *C. monogyna* obtenu par différentes techniques d'extraction.



**Figure 25** : Piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres ( $a > b > c$ ) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

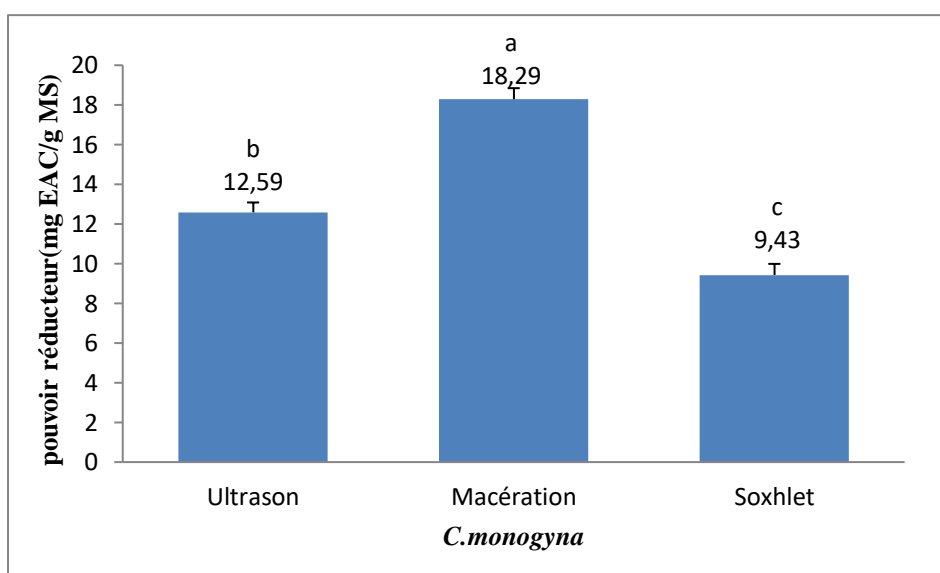
L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative des effets de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> obtenus par les différentes techniques d'extraction à  $p \leq 0,05$  (**Figure 25**).

Le plus fort effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> est obtenu avec la technique d'extraction par ultrasons, qui est de  $36,35 \pm 0,06$  mmol ET/g MS. Cette dernière est trois fois plus importante par rapport à celle obtenue par le Soxhlet.

Un taux piégeage des radicaux ABTS<sup>•+</sup> des extraits éthanolique à 40% obtenus par les ultrasons de *C. pinnatifida* récolté en Chine est de  $0,86 \pm 0,001$  mmol ET/g MS (Luo *et al.*, 2015).

### 9.3. Pouvoir réducteur

La figure ci-dessous représente les teneurs du pouvoir réducteur des différents extraits de fruit de *C. monogyna* obtenues par différentes techniques d'extraction.



**Figure 26** : Pouvoir réducteur du fruit de *C. monogyna*

Les résultats qui portent différentes lettres ( $a > b > c$ ) montrent des différences significatives à  $p \leq 0,05$

L'étude statistique montre qu'il existe des différences significatives du pouvoir réducteur des extraits obtenus par les trois différentes méthodes d'extraction à  $p \leq 0,05$  (Figure 26).

L'ordre croissant du pouvoir réducteur des extraits du fruit de *C. monogyna* obtenu avec le Soxhlet, les ultrasons et la macération, présente des teneurs de  $9,43 \pm 0,49$  ;  $12,59 \pm 0,56$  et  $18,29 \pm 0,56$  mg EAG/ g MS, respectivement.

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de *C. monogyna* récoltées en Turquie sont de 0,09 et 0,102, respectivement. Ainsi que, le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de la même espèce sont de 0,039 et 0,076, respectivement. Par ailleurs, le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique des fruits de *C. monogyna* sont de 0,123 et 0,109, respectivement (**Keser et al., 2014**).

Le pouvoir réducteur (EC<sub>50</sub>) de différents stades de maturité du fruit de *C. monogyna* (fruit avant maturité, fruit mûr et fruit après maturité) récoltés au Portugal, sont de 17,42±1,33 ; 55,80±2,78 et 75,54±4,43 µg ET/ml, respectivement (**Barros et al., 2011**).

## *Conclusion*

### **Conclusion**

Les résultats de cette étude montre que le fruit de *C. monogyna* est une source considérable en composés phénoliques et présente une forte activité antioxydante.

Les teneurs en humidité et en cendres retrouvées dans le fruit de *C. monogyna* sont de  $37,17 \pm 0,76$  % et  $4,28 \pm 0,17$  %, respectivement.

L'extrait de *C. monogyna* possède une teneur très faible en caroténoïdes qui est de  $0,61 \pm 0,12$  mg  $\beta$ -carotène/g MS.

Le fruit de *C. monogyna* est une source importante en pectine et en sucre totaux. Le meilleur rendement d'extraction en pectine est obtenu avec l'acide citrique à pH = 2, qui est de  $55,42 \pm 4,83$  %. Par ailleurs, la teneur en sucre totaux est de  $52,82 \pm 1,63$  g glucose/100g MS.

Il a été démontré dans cette étude que l'augmentation de la température a un effet défavorable sur la teneur en protéines. En effet, la plus forte teneur en protéines est obtenue à température ambiante, qui est de  $9,2 \pm 0,30$  mg BSA/g MS.

La plus forte teneur en polyphénols totaux qui est de 35,62 mg EAG/g MS, proposée par le plan d'expérience Box-Benken pour l'extrait de *C. monogyna*, dont les conditions optimales sont : 7 min, 48,41 % EtOH et 33,99 % d'amplitude.

Le plus fort effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>+</sup>, proposé par le plan d'expérience Box-Benken est de 81,34  $\mu$ g EAG /ml. Ce dernier est obtenu dans les conditions optimales suivantes : 7 min, 61,21 % EtOH et 74,47 % d'amplitude.

Le plus fort effet de piégeage du radical libre ABTS<sup>+</sup> de l'extrait de *C. monogyna* est de 33,71 mmol ET/g MS, proposé par le plan d'expérience Box-Benken dont les conditions optimales sont : 5,36 min et 51,07 % EtOH et 69,10 % d'amplitude.

L'optimisation des réponses de surfaces multiples du fruit de *C. monogyna* extrait par les ultrasons permis d'identifier les conditions optimales d'extraction qui sont : 5,72 min, 50,60 % EtOH et 63,31 d'amplitude. Ces derniers, permettent d'avoir une teneur en



polyphénols totaux de  $35,85 \pm 1,48$  mg EAG/g MS, un effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> est de  $72,10 \pm 0,25$  µg EAG/ml et un effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de  $36,35 \pm 0,06$  mmol ET/g MS.

L'extrait éthanolique à 50% obtenu par la macération montre les plus fortes teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes qui sont de :  $60,4 \pm 2,29$  mg EAG/g MS et  $14,03 \pm 0,85$  mg EQ/g MS, respectivement.

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits du fruit de *C. monogyna* varient en fonction de la méthode d'extraction utilisée. En effet, le meilleur effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> est enregistré dans le cas des extraits obtenus par les ultrasons et le Soxhlet qui est de  $72,10 \pm 0,25$  µg EAG/ml. Par ailleurs, Le meilleur effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> est obtenu dans le cas de l'extraction assistée par les ultrasons qui de  $36,35 \pm 0,06$  mmol ET/g MS. De plus, le plus fort pouvoir réducteur des ions ferriques est obtenu dans le cas de la macération qui de  $18,28 \pm 0,56$  mg EAG/ g MS.

En termes de perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- ✓ D'étudier d'autres facteurs et conditions qui pourraient influencer l'optimisation de l'extraction des composés bioactifs du fruit de *C. monogyna* (la température, la puissance et le ratio),
- ✓ Détermination du profil en composés phénoliques des extraits de *C. monogyna* obtenus par ultrasons (optimum), macération et par le Soxhlet avec la méthode LC/MS,
- ✓ Utilisation d'autres solvants d'extraction (méthanol...),
- ✓ Etudier d'autres parties de la plante (fleur, feuille),
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, antibactérienne, anticancéreux...),
- ✓ De faire une étude *in vivo* pour vérifier l'efficacité des antioxydants dans l'organisme,
- ✓ Etudier la possibilité d'utilisation de la pectine dans le domaine agro-alimentaire (des poudres pour yaourt, des confitures, des gelées pour les gâteaux), ainsi dans la fabrication des milieux de culture au lieu d'utiliser l'agar à agar.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

## A

**Aberkane M.C. (2006).** Etude photochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Batna, 163p.

**Abuashwashi, M.A., Palomino, O.M., Gómez-Serranillos, M.P. (2016).** Geographic origin influences the phenolic composition and antioxidant potential of wild *Crataegus monogyna* from Spain. *Pharmaceutical Biology* 54, 2708–2713.

**Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., Sonboli, A., Alirezalu, K., Mousavi Khaneghah, A., Barba, F.J., Munekata, P.E.S., Lorenzo, J.M. (2020).** Physicochemical Characterization, Antioxidant Activity, and Phenolic Compounds of Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits Species for Potential Use in Food Applications. *Foods* 9, 436.

**Amor, B.B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC).

**Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117, 426–436.

## B

**Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source D'approvisionnement potentiel. *Food and Agricultural Research*. Conseil Mauritus, Amas.

**Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2011).** Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus Monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical Analysis* 22, 181–188.

**Behera J. N. and Rao J. (2006).** A Ni<sup>2+</sup> (S = 1) Kagome Compound Templated by 1,8.

**Bensakhria, a. (2018).** Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.

**Bouhekrit, (2023).** TP 2 Méthodes d'extraction. Centre universitaire Abd-Elhafid BOUSSOUF, Mila. Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

**Boudraa S. (2008).** Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphuslotus* L. Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el Hadj Lakhdar. Batna, 151 p.

**Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., Boudraa, H. (2010).** Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L. , *Crataegus azarolus* L ., *Crataegus monogyna* Jacq ., *Elaeagnus angustifolia* L . et *Zizyphus lotus* L. *Fruits* 65, 75–84.

**Boullin, D.J., Grimes, R.P., Orr, M.W. (1975).** The actions of flupenthixol upon 5-hydroxytryptamine-induced aggregation and the uptake of 5- hydroxytryptamine and dopamine by human blood platelets. *Br J Pharmacol* 55, 555–557.

**Bouzid W. (2009).** Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna* jacq. Mémoire de Magister. Université Elhadj Lakhder -Batna.

**Bradford, M. M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28, 25–30.

**Brosse J. (2000).** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed). Canada, 576p.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3ème édition. TEC et DOC : Lavoisier, Paris.

## C

**Cao, G. H., Alessio, H. M. & Cutler, R. G. (1993).** Oxygen–radical absorbency capacity assay for antioxydants, *Free Radic. Biol. Med.* 14: pp 303-311.

**Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., Chow, M.S.S. (2002).** Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharma* 42, 605–612.

**Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Rakariyatham, N. (2005).** Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*, 92, 491–497.

**Chemat, F., Zill-e-Huma, Khan, M.K. (2011).** Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, 813–835.

**Colmar N. (2007).** Etude de la voie de biosynthèse des fucoumarine. Qualité des fruits et métabolisme secondaire, technologie plante à traiter. UMR.INPL (ENSAIA)-INRA agronomie et environnement.

**Cuendet, M. (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fragaria blumei* (Rosaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula*. Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, Faculté des sciences, p : 24.

## D

**Dilmi- Bouras A. (1998).** Les constituants alimentaires et leurs rapports avec la santé, Office des publications universitaires (Ed), Alger. 272p.

**Dilmi-Bouras A. (2004).** Biochimie alimentaire, Edition 4329, Alger, 128p.

**Dinesh K., Vikrant A., Zulfi qar A.B., Nisar A K., Deo N.P. (2012).** The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Brazilian Journal of Pharmacognosy. The genus *Crataegus*: chemical and Aop05712 .ISSN 0102-695X.

**Djahra A.B. (2014).** Etude photochimique et activité antimicrobienne, antioxydant, Antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de Doctorat, Université Annaba.

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

**Djerroumi, A., Nacef, M. (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Palais du livre. 51-108.

## F

**Farhat, R. (2007).** Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el Hadj Lakhdar. Batna, 109p.

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 108-115.

**Feknous, S., Saidi, F., Said, R.M., n.d.** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). . A.

## G

**Ghiteșcu, R.-E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A.-M., Gilca, I.A., Popa, V.I. (2015).** Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry* 22, 535–541.

**Girre L. (2000).** Les plantes médicinales. Ouest-France (Ed). Rennes, 30 p.

**Gray J. (2005).** Glucides : aspects nutritionnels et santé. International Life Sciences Institut. 1-15.

**Grigoraș, C. G. (2012).** Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse en cotutelle internationale. École Doctorale Sciences et Technologies.

**Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R. (2006).** Screening of antiradical and antioxidant activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. *Phytomedicine* 13, 343–351.

## H

**Haleng, j., pincemail, j, defraaigne, j. o., charlier, c., & chapelle, j.p. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de liège*, 62(10).

**Hamdaoui, M. (2008).** Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Thèse de Doctorat en science. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

**Handa, S. (2008).** Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.

**Harbertson, J.F., Kennedy, J.A., Adams, D.O. (2002).** Tannin in Skins and Seeds of Cabernet.

**He, J., & Giusti, M. M. (2010).** Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annuals Review Food Science Technology*, 1, 163–87.

**Herrera, C.M. (1984).** Seed dispersal and fitness determinants in wild rose: Combined effects of hawthorn, birds, mice, and browsing ungulates. *Oecologia* 63, 386–393.

**Hidayat, R., Patricia Wulandari. (2021).** Methods of Extraction: Maceration, Percolation and Decoction. *Eu Herb Ina* 2, 73–79.

**Himed, L. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à lamargarine. Thèse de Magister, Université Mentouri– Constantine, p 13.

**Hopkins W.G. (2003).** Physiologie végétale. édition de boeck université-Bruxelles p: 267-283.

## J

**Jeganathan, P.M., Venkatachalam, S., Karichappan, T., Ramasamy, S. (2014).** Model development and process optimization for solvent extraction of polyphenols from red grapes using box–behnken design. *preparative biochemistry and biotechnology* 44, 56–67.

**José Antonio, B.-T., Margarita, C.-R. (2015).** Biological Properties and Antioxidant Activity of Hawthorn *Crataegus mexicana*. *J Pharmacogenomics Pharmacoproteomics* 06.

**Joshi, L. S., & Pawar, H. A. (2015).** Herbal Cosmetics and Cosmeceuticals: An Over view. *Natural Products Chemistry & Research*, 3, 1-8.

## K

**Kashyap, C., Arya, V., Thakur, N. (2012).** Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha* Linn. – A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2, S1194–S1199.

**Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, O., Turkoglu, I. (2014).** The Investigation of Some Bioactive Compounds and Antioxidant Properties of Hawthorn (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* jacq.). *J Intercult Ethnopharmacol* 3, 51.

**Koyuncu, T., Pinar, Y., Lule, F. (2007).** Convective drying characteristics of azarole red (*Crataegus monogyna* Jacq.) and yellow (*Crataegus aronia* Bosc.) fruits. *Journal of Food Engineering* 78, 1471–1475.

**Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V.S. (2021).** Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compound from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 70, 105325.

## L

**Lavilla, I., Bendicho, C. (2017).** Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction, in: *Water Extraction of Bioactive Compounds*. Elsevier, pp. 291–316.

**Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N.E.H. (2019).** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous: (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien). *Bull. Soc. Roy. Sc. de Liège* 22–43.

**Leung, A.Y., Foster, S. (1996).** "Encyclopedia of Common Natural Ingredients.

**Li, C., Oldham, C. D., & May, S. W. N. (1994).** N-Dimethyl-1,4- phenylenediamine as alternative reductantfor peptidylglycine-amidating mono-oxygenase catalysis. *Journal of Biochem.* 300, pp 31-36.

**Li, L., Wang, B., Wang, Y., Liu, J. (2022).** Effect of drying methods on the characterisation of pectin extracted from dried hawthorn fruit. *Food Measure* 16, 3670–3681.



**Li, P., Hopia, A., Jaris, S., Teijo, Y. & Heikki, V. (1999).** TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistry and Nutrition*, 10, pp 123-187.

**Liu, P., Yang, B. et Kallio, H. (2011).** "Phenolic Compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening". *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11141– 11149.

**López-Bascón, M.A., Luque De Castro, M.D. (2020).** Soxhlet Extraction, in: *Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, pp. 327–354.

**Loum, J., Byamukama, R., Wanyama, P.A.G. (2021).** Efficient Extraction of Natural Dyes from Selected Plant Species. *Chemistry Africa* 4, 677–689.

**Luque De Castro, M.D., Priego-Capote, F. (2010).** Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A* 1217, 2383–2389.

## M

**Maamri, S. (2008).** Etude de *Pistacia atlantica* de deux regions de sud algérien: dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Thèse de Magister, Université M'Hamed Bougara Boumerdes, p 108.

**Martinelli, F., perrone, a., yousefi, s., papini, a., castiglione, s., guarino, f., amp;salami, s. a. (2021).** Botanical, phytochemical, anti-microbial pharmaceutical characteristics of hawthorn (*Crataegus monogyna* jacq.), rosaceae. *molecules*, 26, ,72-66.

**Mathew, S., Abraham, T.E. (2006).** Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry* 94, 520–528.

**Moon, J.-K., Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem.* 57, 1655–1666.

**Mouni, S., Leila, H., Mohamed, A. (2012).** Study of the Glucidic Fraction of *Celtis Australis* L, *Crataegus Azarolus* L, *Crataegus Monogyna* Jacq., *Elaeagnus Angustifolia* L. and *Zizyphus Lotus* L. Fruits.

## N

**Nabavi, S., Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. (2015).** Polyphenolic Composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: From Chemistry to Medical Applications. *Nutrients* 7, 7708–7728.

**Nabet, N., Boudries, H., Chougui, N., Loupassaki, S., Souagui, S., Burló, F., Hernández, F., Carbonell-Barrachina, Á.A., Madani, K., Larbat, R. (2017).** Biological activities and secondary compound composition from *Crithmum maritimum* aerial parts. *International Journal of Food Properties* 20, 1843–1855.

**Nabet, N., Gilbert-López, B., Madani, K., Herrero, M., Ibáñez, E., Mendiola, J.A. (2019).** Optimization of microwave-assisted extraction recovery of bioactive compound from *Origanum glandulosum* and *Thymus fontanesii*. *Industrial Crops and Products* 129, 395–404.

**Ngargueudedjim, K., Ngarmaïm, N., Bassa, B., Allarabeye, N., Annouar, D., Abdel-Rahim, M., Fotsing, B.S., Fogue, M. (2015).** Caractéristiques physiques du bois Rônier (*Borassus aethiopicum* Mart., *Arecaceae*) du Tchad / Afrique Centrale [ Physical characteristics of tall-palm (*Borassus Aethiopicum* Mart., *Arecaceae*) of Chad / Central Africa ] 13.

## O

**Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Halici, M., Bayir, Y. (2004).** Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytotherapy Research* 18, 938–941.

**Oueslati, K. (2017).** Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande.

**Oyaizu. (1986) (1).pdf, n.d.**

**Ozcan, M., Hacisefrog-ullari H., Marakoglu, T., Arslan, D. (2005).** "Hawthorn (*Crataegus spp*) fruit: some physical and chemical properties". *J. Food Engineering*, 69: 409-413.

## P

**Perez-Lainez, M.D., Corona-Torres, T., García-Mateos, M.D.R., Winkler, R., Barrientos-Priego, A.F., Nieto-Ángel, R., Aguilar-Rincon, V.H., García-Velázquez, J.A. (2019).** Metabolomic study of volatile compounds in the pigmented fruit from Mexico *Crataegus* genotypes. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 15-23 Pages.

**Picó, Y. (2013).** Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 43, 84–99.

**Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., Dimitrov, K. (2016).** Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. *Ultrasonics Sonochemistry* 32, 137–146.

**Prouillac, C. (2006).** Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, 254p.

## Q

**Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., Trotin, F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 35–42.

## R

**Radi, F.Z., Bencheikh, N., Bouhrim, M., Saleh, A., Al Kamaly, O., Parvez, M.K., Elbouzidi, A., Bnouham, M., Zair, T. (2023).** Phytochemical Analysis, Antioxidant, and Antihyperglycemic Activities of *Crataegus monogyna* Jacq Aqueous Extract. *Natural Product Communications* 18, 1934578X231195157.

**Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231–1237.

**Rios-Evans, C., Miller, N.J., Paganga, G.C. (1997).** Antioxydant properties of phenolic compound. *Trend in Plant Sciences* 2, 152-159.

**Rutkowska, M., Namieśnik, J., Konieczka, P. (2017).** Ultrasound-Assisted Extraction, in: *The Application of Green Solvents in Separation Processes*. Elsevier, pp. 301–324.

## S

**Saadoudi M. (2008).** Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Département d'agronomie. Université el hadj Lakhdar. Batna, 80p.

**Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., Toth-Markus, M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International* 38, 1023–1029.

**Scott, D.M., Mazurkiewicz, M., Leeman, P. (1976).** The long-term monitoring of ventilation rhythms of the polychaetous annelid *Nereis virens* sars. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 53, 65–68.

**Seyer M. (2005).** Les fibres alimentaires et le pain de blé entier. Mémoire du grade de maîtres sciences. 98p.

**Shortle, E., O'Grady, M.N., Gilroy, D., Furey, A., Quinn, N., Kerry, J.P. (2014).** Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat Science* 98, 828–834.

**Sochor, J., Ryvolova, M., Krystofova, O., Salas, P., Hubalek, J., Adam, V., Trnkova, L., Havel, L., Beklova, M., Zehnalek, J., Provaznik, I., Kizek, R. (2010).** Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules* 15, 8618–8640.

**Stamm, O., Latscha, U., Janecek, P., Campana, A. (1976).** Development of a special electrode for continuous subcutaneous pH measurement in the infant scalp. *Am J Obstet Gynecol* 124, 193–195.

## T

**Tamaoki, H., Minato, S., Takei, S., Fujisawa, K. (1975).** A clinical method for the determination of serum gamma-glutamyl transpeptidase. *Clin Chim Acta* 65, 21–27.

## U

**Uchiyama, M., Suzuki, Y., & Fukuzawa, F. (1968).** Etude biochimique de la fonction physiologique du tocopheronolactone. *Yakugazu Zasshi*. 88: pp 678-683.

## V

**Verma, S.K., Jain, V., Verma, D., Khamesra, R. (2007).** *Crataegus oxyacantha*-cardioprotective herb. *Journal herbalmedicaltoxicological* 1: 65-71.

**Vermerris, W., Nicholson, R. (2008).** *Phenolic Compound Biochemistry*. Purdue University, West Lafayette, IN, U.S.A, p : 24.

**Vivar-Vera, M.A., Salazar-Montoya, J.A., Calva-Calva, G., Ramos-Ramírez, E.G. (2007).** Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. *LWT - Food Science and Technology* 40, 278–284.

**Vouldoukis I., Conti m., Krauss P., Blazquez S., Tefit M., Mazier D., CaldendA A., and Dugas B. (2004).** Supplementation with gliad in-combined plant superoxide.

## W

**Wang, L., Weller, C.L. (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology* 17, 300–312.

## Y

**Yalçın Dokumacı, K., Uslu, N., Haciseferoğulları, H., Örnek, M.N. (2021).** Determination of Some Physical and Chemical Properties of Common Hawthorn (*Crataegus Monogyna* Jacq. Var. *Monogyna*). *Erwerbs-Obstbau* 63, 99–106.

**Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I., and Celik, F. (2011).** Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific research and essays*, 6, 35-38.

**Yang, J., Guo, J., Yuan, J. (2008).** In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT - Food Science and Technology* 41, 1060–1066.

**Yoshimura, F., Suzuki, T. (1975).** Calcium-stimulated adenosine triphosphatase in the microsomal fraction of tooth germ from porcine fetus. *Biochim Biophys Acta* 410, 167–177.

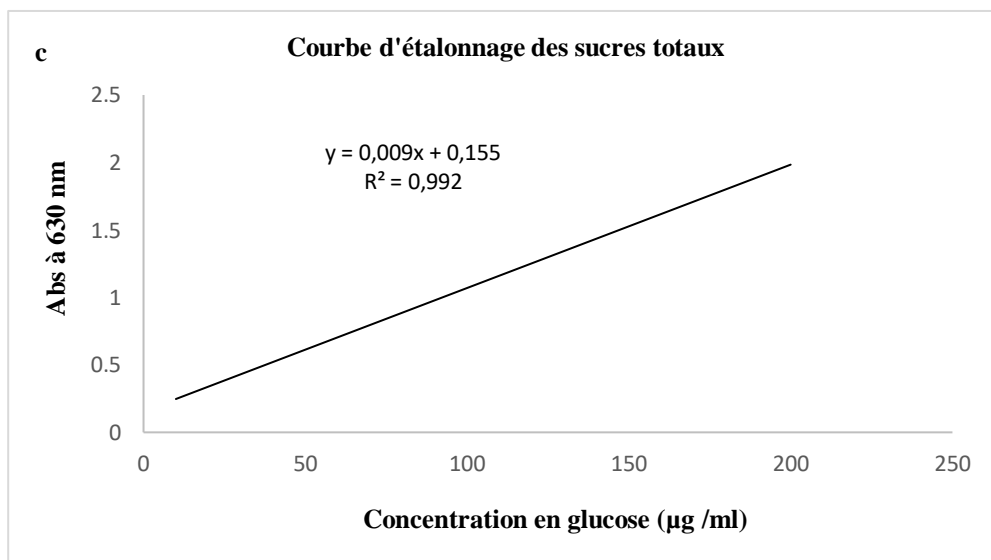
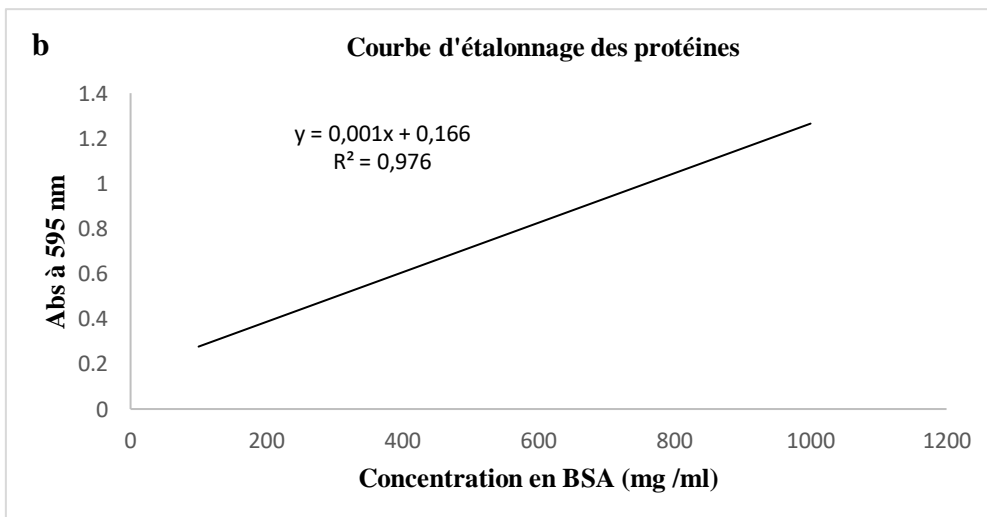
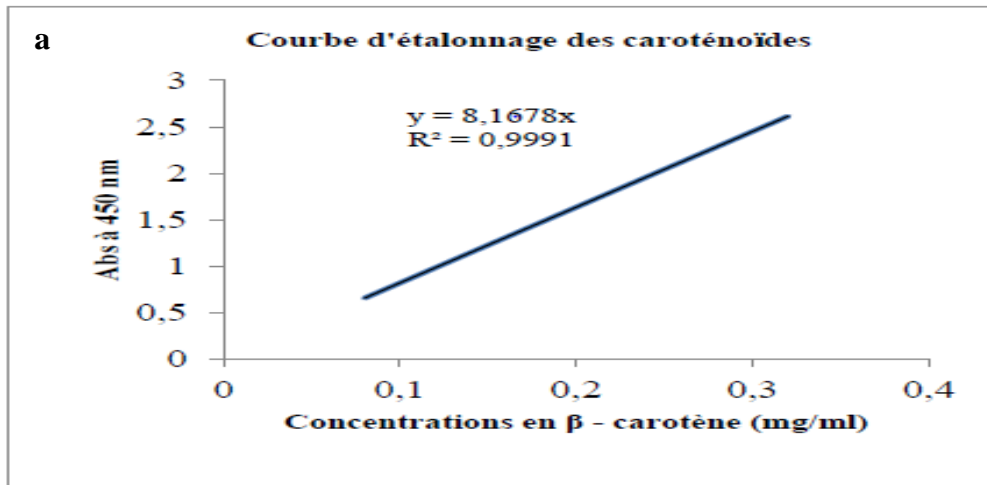
**Z**

**Zhang, X., (2002).** WHO monographs on selected medicinal plants Volume 2. World Health Organisation, 69-329.

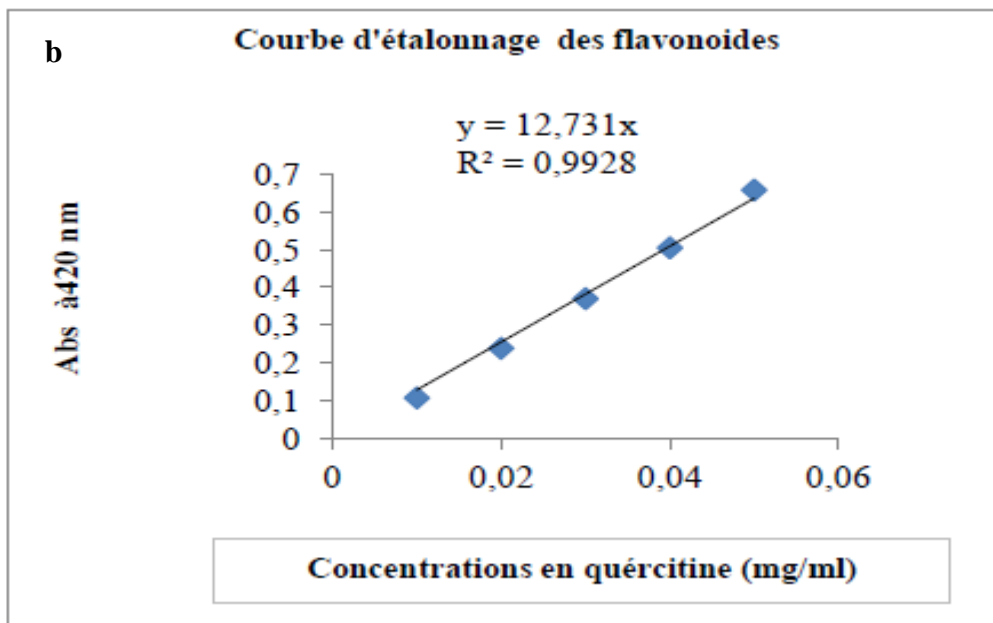
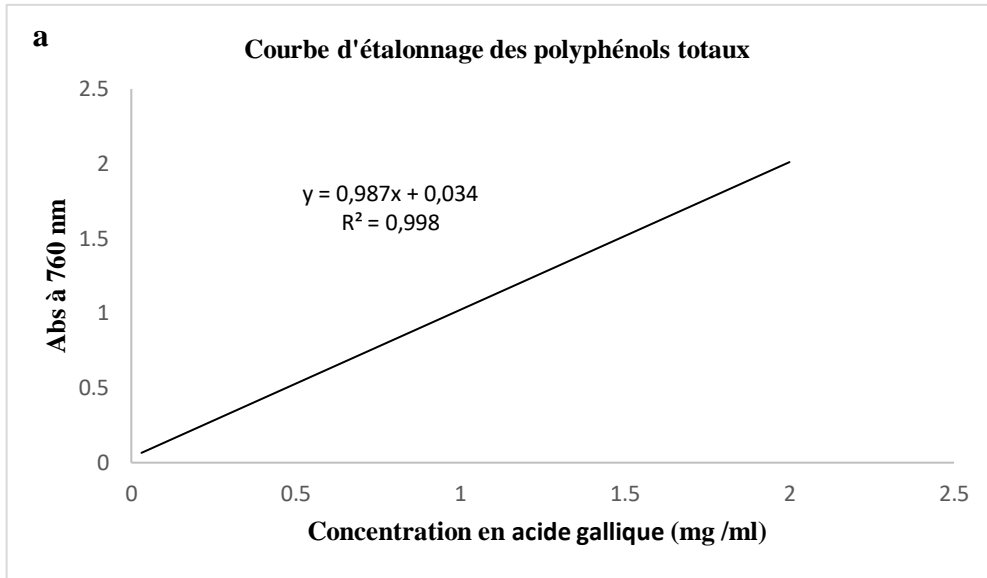
**Zhu, R., Hong, M., Zhuang, C., Zhang, L., Wang, C., Liu, J., Duan, Z., Shang, F., Hu, F., Li, T., Ning, C., Chen, G. (2019).** Pectin oligosaccharides from hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bunge. Var. major) inhibit the formation of advanced glycation end products in infant formula milk powder. *Food Funct.* 10, 8081–8093.

# *Annexes*

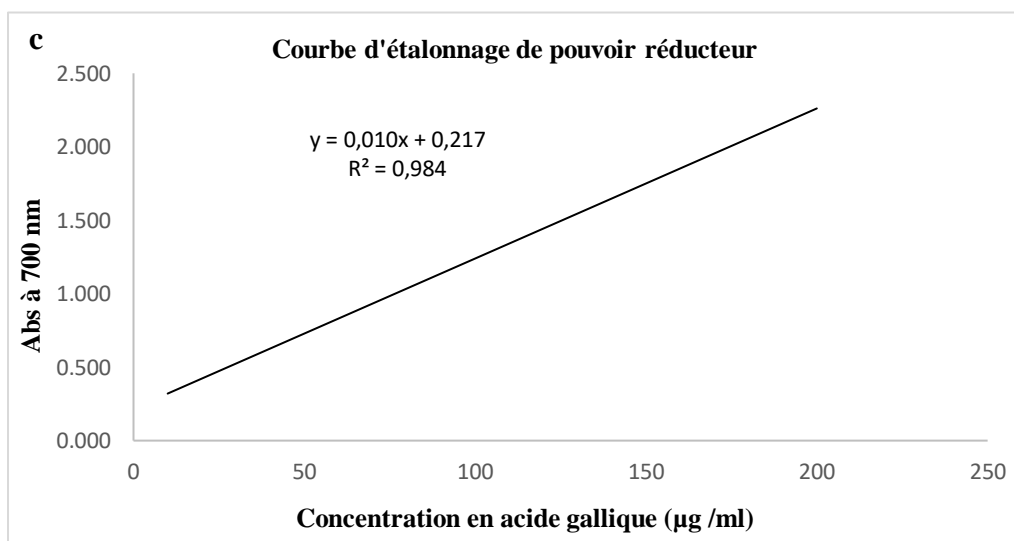
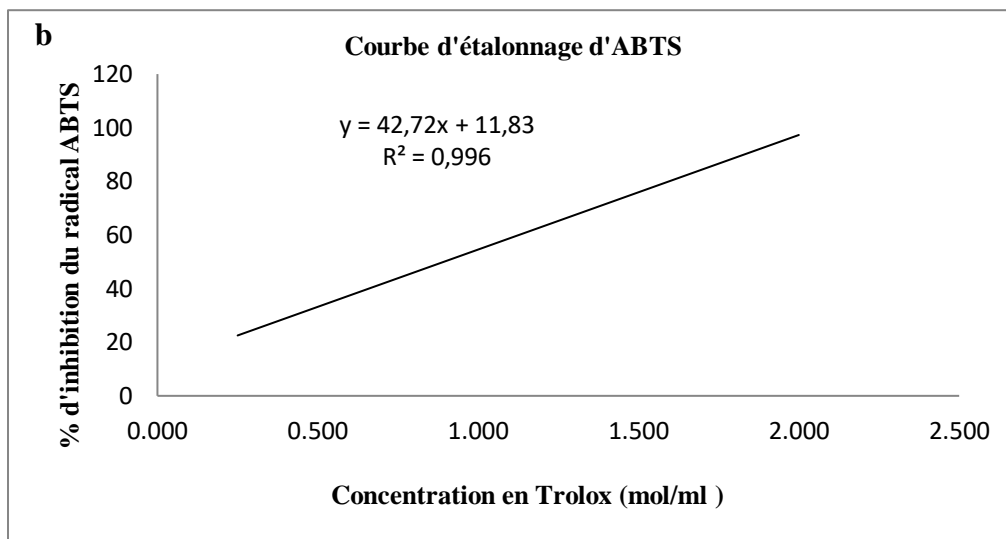
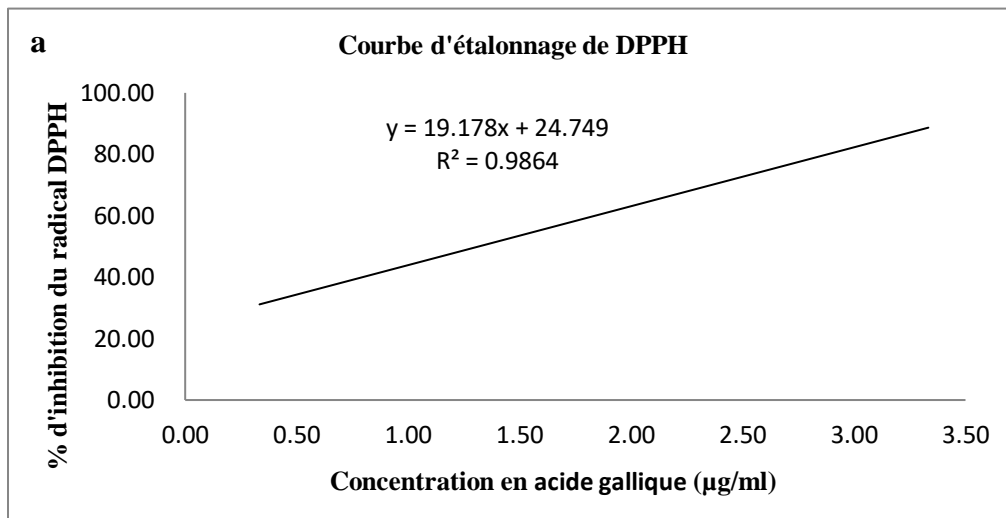
**Annexe 1** : Courbes d'étalonnages des caroténoïdes(a) ; des protéines(b) ; des sucres totaux(c) ;



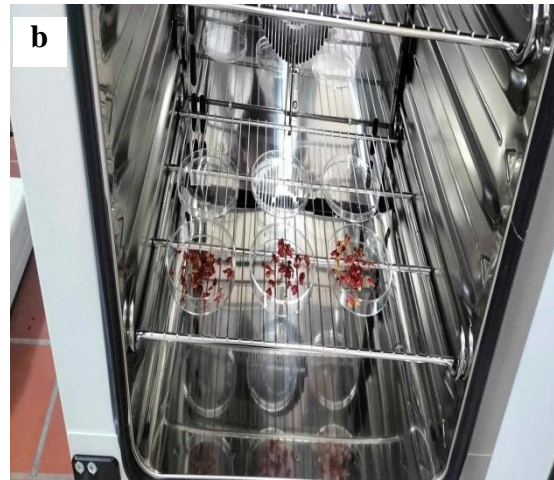


**Annexe 2 : Courbes d'étalonnages des polyphénols totaux(a) ; des flavonoïdes(b).**

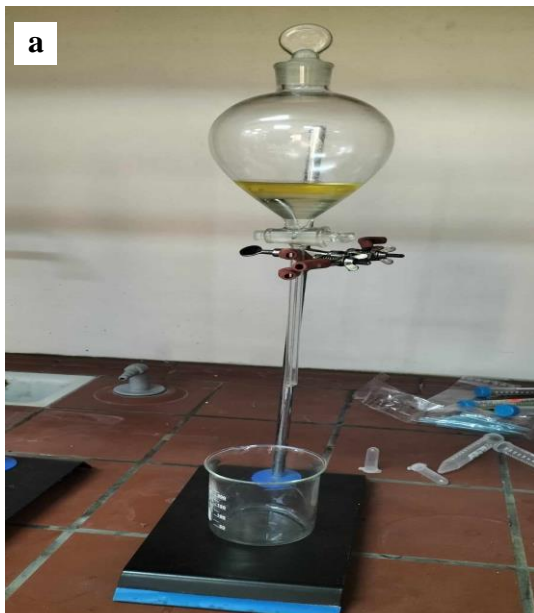
## Annexe 3 : Courbes d'étalonnages de DPPH(a) ; ABTS(b) ; Pouvoir réducteur(c)



**Annexe 4 :** Les tests réalisées : (a) test de cendre (après calcination) ; (b) test d'humidité (après séchage)



**Annexe 5 :** Techniques d'extractions : (a) extraction des caroténoïdes par ampoule à décanter ; (b) extraction des composés phénoliques par Soxhlet ; (c) extraction des pectines dans bain-marie agitateur





Annexe 6 : Résultats des pectines : (a) après l'extraction ; (b) après le séchage



# *Résumé*

**Résumé :** Notre étude a pour objectif principal d'optimiser les conditions d'extraction des composés bioactifs du fruit de *Crataegus monogyna* avec la méthode de l'extraction assistée par ultrasons. L'optimisation est effectuée en utilisant un plan d'expérience (Box-Behnken) constitué de trois variables indépendantes qui sont le temps d'extraction (2 ; 4,5 et 7min), l'amplitude (20 ; 60 et 100 %) et la concentration en éthanol (0, 50 et 100%) et de trois réponses (la teneur en polyphénols totaux, test DPPH et test ABTS). Par ailleurs, la teneur en humidité, en cendres, en caroténoïdes, en sucre totaux et en protéines du fruit de *C. monogyna* ont été déterminées. En outre, l'effet de trois solvant l'eau, l'acide chlorhydrique et l'acide citrique sur le rendement d'extraction en pectines et une étude comparative des teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'extrait obtenu par ultrasons dans les conditions optimales et des extraits obtenus par deux techniques d'extraction conventionnelles la macération et le Soxhlet ont été étudiés. Les teneurs en humidité, en cendres, en caroténoïdes, en sucre totaux et en protéines sont de  $37,17 \pm 0,76$  % ;  $4,28 \pm 0,17$  % ;  $0,61 \pm 0,12$  mg  $\beta$ -carotène/g MS ;  $52,82 \pm 1,63$  g glucose/100g MS et  $9,2 \pm 0,30$  mg BSA/g MS, respectivement. Le meilleur rendement d'extraction en pectines est obtenu avec l'acide citrique qui est de  $55,42 \pm 4,83$  %. L'optimisation des réponses de surfaces multiples des extraits du fruit de *C. monogyna* a permis d'avoir une TPT de  $35,85 \pm 1,48$  mg EAG/g MS, un effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> de  $72,10 \pm 0,25$   $\mu$ g EAG/ml et un effet de piégeage du radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de  $36,35 \pm 0,06$  mmol ET/g MS dont les conditions optimales d'extraction sont de 5,72 min, 50,60 % EtOH et 63,31% d'amplitude. L'extrait éthanolique à 50% qui est obtenu par la macération montre les meilleurs TPT et en flavonoïdes qui sont de  $60,4 \pm 2,29$  mg EAG/g MS et  $14,03 \pm 0,85$  mg EQ/g MS, respectivement. Ainsi, le meilleur effet de piégeage du radical libre DPPH<sup>•+</sup> de l'extrait éthanolique à 50% qui est obtenu par les ultrasons et le Soxhlet est de  $72,10 \pm 0,25$   $\mu$ g EAG/ml. De plus, le meilleur effet de piégeage du radical libre ABTS<sup>•+</sup> de l'extrait éthanolique à 50% qui est obtenu par les ultrasons est de  $36,35 \pm 0,06$  mmol ET/g MS. Le meilleur pouvoir réducteur est obtenu dans le cas de la macération qui de  $18,28 \pm 0,56$  mg EAG/ g MS.

**Mots clés :** *Crataegus monogyna*, Optimisation, Box-Behnken, Plan d'expérience, Polyphénols, Activité antioxydante, Caroténoïdes, Sucre totaux, Protéines, Ultrason, Macération et Soxhlet.

**Abstract :** The main aim of our study is to optimize the conditions for extracting bioactive compound from *Crataegus monogyna* fruit using the ultrasound-assisted extraction method. Optimization is carried out using a Box-Behnken design consisting of three independent variables: extraction time (2, 4.5 and 7 min), amplitude (20, 60 and 100%) and ethanol concentration (0, 50 and 100%), and three responses (total polyphenol content, DPPH test and ABTS test). In addition, the moisture, ash, carotenoid, total sugar and protein content of *C. monogyna* fruit were determined. In addition, the effect of three solvents water, hydrochloric acid and citric acid on pectin extraction yield and a comparative study of the phenolic compound content and antioxidant activity of the extract obtained by ultrasound under optimal conditions and extracts obtained by two conventional extraction techniques maceration and Soxhlet were studied. Moisture, ash, carotenoid, total sugar and protein contents were  $37.17\pm 0.76\%$ ;  $4.28\pm 0.17\%$ ;  $0.61\pm 0.12$  mg  $\beta$ -carotene/g DM ;  $52.82\pm 1.63$  g glucose/100g DM and  $9.2\pm 0.30$  mg BSA/g DM, respectively. The highest extraction yield of pectins was obtained with citric acid, at  $55.42\pm 4.83\%$ . Optimization of the multiple surface responses of *C. monogyna* fruit extracts resulted in a TPT of  $35.85\pm 1.48$  mg EAG/g MS, a DPPH<sup>+</sup> free radical scavenging effect of  $72.10\pm 0.25$   $\mu$ g EAG/ml and an ABTS<sup>+</sup> cationic radical scavenging effect of  $36.35\pm 0.06$  mmol ET/g MS with optimal extraction conditions of 5.72 min, 50.60% EtOH and 63.31% amplitude. The 50% ethanolic extract obtained by maceration showed the best TPT and flavonoid content, at  $60.4\pm 2.29$  mg EAG/g DM and  $14.03\pm 0.85$  mg EQ/g DM respectively. Thus, the best DPPH<sup>+</sup> free radical scavenging effect of the 50% ethanolic extract that is obtained by ultrasound and Soxhlet is  $72.10\pm 0.25$   $\mu$ g EAG/ml. Furthermore, the best free radical scavenging effect ABTS<sup>+</sup> of the 50% ethanolic extract that is obtained by ultrasound is  $36.35\pm 0.06$  mmol ET/g MS. The best reducing power is obtained in the case of maceration, at  $18.28\pm 0.56$  mg EAG/g MS.

**Key words :** *Crataegus monogyna*, Optimization, Box-Behnken, Experimental design, Polyphenols, Antioxidant activity, Carotenoids, Total sugars, Proteins, Ultrasonics, Maceration and Soxhlet.