

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département des sciences alimentaires

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état
en Contrôle de Qualité et Analyse

Thème :

***Activité antioxydante des extraits polyphénoliques
De l'aubépine***



Présenté par :

M^{elle} TIGRINE Souhila

M^{elle} MOUDACHE Kaissa

Jury

Présidente : M^{elle} BRAHMI.F

Promotrice : M^{elle} ISSAADI.O

Examinatrice : M^{elle} MEKHOUKHE.A

Examineur : M^f BACHIR BEY.M

Année Universitaire 2012-2013

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu de nous avoir donné courage et patience pour mener à terme cet humble travail.

Notre promotrice M^{elle} ISSAADI O pour avoir accepté de nous encadrer, orienter et donner les plus amples conseils précieux qui nous ont permis de s'affranchir des écueils rencontrés tout au long de la période de réalisation de notre travail et permettant ainsi le bon déroulement du travail.

Nous tenons à remercier vivement M^{elle} BRAHMI F d'avoir accepté de présider le jury et M^{elle}. MEKHOUKHE A et M^r BACHIR BEY M pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons aussi à remercier ainsi que tout le personnel du laboratoire pour leurs aides, leurs conseils et leurs gentillesse.

Un grand merci à toute personne ayant contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.

Merci

DEDICACES

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien moral et financier.

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

- .Mes frères (Khaled, Riad, Fahim, et Nadir) et sœurs (Nadira, et Souria) ;*
- .Mes oncles et tantes ;*
- . Tous mes cousins et cousines ;*
- . Tous mes amis (Salima , Warda , Siham, Toutou , Lynda.....)*
- .Ma binôme Kaissa et à toute sa famille ;*
- .Mes coupines de chambre : D 407*
- . Toute la promotion CQA 2012-2013.*
- .A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail*

Souhila

DEDICACES

*À toi mon père, toi qui m'aide beaucoup,
À toi ma mère, toi qui me comble d'amour et d'affection,
Ensemble vous avez su m'encourager et me soutenir tout
au long de mes études. Que dieu vous protège.*

*À vous tous mes chers frères : (Sofiane et Menad)
À toi ma chère sœur : (Yassmina)*

*À toutes ma famille, en particulier mes oncles et mes
tantes,
À vous mes adorables cousins et cousines,
À mes amis (es) : Lynda, Warda , Seham, Salima,
Lamia, Abd selam ...*

*À mon chère ami Mourad.
À ma camarade Souhila avec qui j'ai passé des moments
inoubliables et à toute sa famille,*

*À tous mes enseignants, du primaire à l'université,
À la promotion CQA de 2012/2013*

*Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu aboutir et voir
la lumière sans l'aide de dieu le tout puissant.*

Kaissa

SOMMAIRE

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Glossaire

Introduction.....1



I. Généralités sur l'aubépine

I.1. Description botanique et répartition géographique.....2

I.2. Etymologie et origine 2

I.3. Dénominations vernaculaires 2

I.4. Systématique 3

II. Composition chimique.....4

III. Données pharmacologiques5

IV. Toxicité5

V. Stress oxydatif6

VI. Antioxydants7

VI.1 Composés phénoliques8

VI.1.1 Acides phénoliques9

VI.1.2 Flavonoïdes9

VI.1.3 Flavonols11

VI.1.4 Flavanols12

VI.1.5 Tannins12

VI.1.5.1 Tannins hydrolysables12

VI.1.5.2 Tannins condensés13

VI.1.6 Anthocyanines13

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal	
1. Echantillonnage	15
2. Prétraitement des échantillons	16
2.1 Nettoyage, séchage et broyage.....	16
2.2 Tamisage et conservation	16
II-Dosage des antioxydants	16
II.1. Composés phénoliques.....	16
II.1.1 Extraction des composés phénoliques par micro-onde	16
II.2 Dosage des composés phénoliques	17
II.2.1 Polyphénols totaux	17
II.2.2 Flavonoïdes	17
II.2.3 Flavonols	18
II.2.4 Tannins condensés (proanthocyanidines)	18
II.2.5 Anthocyanines	18
III. Activité antioxydante.....	19
III.1 Pouvoir réducteur	19
III.2 Activité antiradicalaire de DPPH [•]	19
III.3 Activité antiradicalaire de l'ABTS ^{•+}	20
IV. Analyse statistique	20

Résultats et discussion

I. Antioxydants	21
I.1. Composés phénoliques totaux	21

I.2. Flavonoïdes.....	22
I.3. Flavonols.....	24
I.4. Tannins condensés (proanthocyanidines)	25
I.5. Anthocyanines	26
II. Activité antioxydante	28
II.1. Pouvoir réducteur	28
II.2. Activité antiradicalaire de DPPH'.....	29
II. 3. Activité antiradicalaire de l'ABTS⁺	31
Conclusion.....	33

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ABS	absorbance
ABTS	acide 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique.
ANOVA	Analysis of Variance.
DPPH	2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl.
EAG	équivalent d'acide gallique.
EOA	espèces oxygénées activées
FE	feuilles
FL	fleurs
FR	fruits
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance.
LDL	low density lipoprotein
MS	matière sèche
OPC	oligomères Procyanidines

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
01	Structure de base des flavonoïdes	9
02	Exemple de chélation de fer par les flavonoïdes	11
03	Structure chimique des tanins hydrolysables et les acides associés	12
04	Structure générale des tanins condensés	13
05	Structure générale des anthocyanines.	14
06	Différentes parties de <i>Crataegus Oxyacantha</i> .	16
07	Teneurs en polyphénols totaux des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine	22
08	Teneurs en flavonoïdes des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.	24
09	Teneurs en flavonols des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine	25
10	Teneurs en tannins condensés des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.	26
11	Teneurs en anthocyanines des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.	27
12	Pouvoir réducteur des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.	29
13	Activité antiradicalaire de DPPH [•] des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine	31
14	Activité antiradicalaire de l'ABTS ^{•+} des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.	32

Liste des tableaux

N° du tableau	Titre	Page
I	Noms vernaculaires	3
II	Classification taxonomique de <i>Crataegus oxyacantha</i>	3
III	Composition chimique de l'aubépine	4
IV	Caractéristiques des échantillons analysés	15

Glossaire

Anti-inflammatoire : se dit d'un médicament ou d'une substance propre à combattre l'inflammation.

Antioxydant : agent qui ralentit la dégradation des aliments et de certains matériaux ou composés organiques, due aux effets de l'oxydation.

Antispasmodiques : médicament destiné à combattre l'état spasmodique.

Cancer : Non générique des tumeurs malignes qui s'étendent rapidement et ont tendance à se généraliser.

Cardiovasculaire : tout ce qui concerne à la fois le cœur et les vaisseaux.

Diabète : Un trouble métabolique d'origine génétique ou hormonale.

Emotivité : Aptitude de chaque individu à réagir plus ou moins vivement aux impressions perçues.

Hypolipidémique : substance qui diminue la concentration de l'ensemble des lipides dans le sang.

Hypotensive : qui diminue la tension.

Insomnies : Absence de sommeil.

Sédatives : calmantes.

Surmenage : Etat résultant d'un exercice prolongé au-delà de la sensation de fatigue.

Tachycardie : Accélération de rythme des battements cardiaques.

Vasodilatatrices : qui augmente le calibre des vaisseaux.

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives. Elles représentent une source non négligeable pour de nombreuses populations, et elles possèdent bien des vertus thérapeutiques démontrées par les expériences (**Bouزيد, 2008**).

Le continent africain est l'un des continents qui sont dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Aberkane, 2006**).

L'aubépine est une plante médicinale couramment utilisée en phytothérapie pour ses propriétés sédatives, vasculoprotectrices et antioxydantes (**Bahorun, 1997**).

Les substances naturelles issues de l'aubépine ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés, les métabolites secondaires sont enregistrés dans une grande mesure et qui sont illustrés en thérapie (**Bahorun, 1997**).

Le but de notre étude est de comparer l'évaluation de l'apport en substances à activité antioxydante (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, flavonols, ...) et la détermination du potentiel antioxydant (activités antiradicalaires, pouvoir réducteur) des extraits de feuilles, fleurs et fruits d'aubépine d'un part, et d'autre part, entre les échantillons de même organe récoltés dans des régions différentes, pour évaluer les effets anatomiques et géographiques.

Synthèse
Bibliographique

I. Généralités sur l'aubépine

I.1. Description botanique

L'aubépine, un nom commun de toutes les espèces végétales du genre *Crataegus*, est un arbuste épineux ou petit arbre qui a des feuilles vertes claires, fleurs blanches, et baies rouges vives (**Chang et al., 2002**).

Elle appartient à la famille des *Rosaceae* et incluse de 150 à 1200 espèces, la taille normale des arbres peut atteindre une moyenne de 10 m. Cependant, les arbres d'aubépine varient entre 2 à 5 m (**Yanar et al., 2011**).

Les deux espèces communes *Crataegus laevigata* (*Crataegus oxyacantha*) et *Crataegus monogyna* sont les plus utilisées dans la médecine traditionnelle (**Svedstrom et al., 2002 ; Yao et al., 2008 ; Liu et al., 2010 ; Silva da Costa, 2011**).

I.2. Etymologie et origine

L'aubépine est un mot féminin qui vient du nom du latin "*alba spina*" épine blanche en raison de sa fleur blanche (du type de la rose) et des épines à la base. *Crataegus* vient du grec de *kratos* qui signifie force faisant allusion à la dureté de son bois. Elle est commune dans les haies des zones tempérées de l'hémisphère nord (**Zhang, 2002**), y compris ceux de l'Amérique du Nord, de l'Est d'Asie, de l'Asie centrale, et de l'Europe (**Edwards et al., 2012**).

En Algérie, elle est commune dans les forêts et les maquis de l'Atlas Tallien, elle peut être confondue avec d'autres espèces (**Bouziid, 2008**).

I.3. Dénominations vernaculaires

Plusieurs noms vernaculaires ont été attribués à l'aubépine dans différents pays du monde et parfois même au sein de la même région (tableau I).

Tableau I : Noms vernaculaires.

Langue	Nom vernaculaire	Références
Arabe	Zaarour Berri, Admam, Boumekhri, baba aajina	(Djerroumi et Nacef., 2004).
Berbère	Idhmim, atelmen, Zaarour	
Français	Épine blanche, Épine de mai, Valériane du cœur, Senellier	(Fabre et al., 1992).
Indien	Vansaangli	(Kashyap et al., 2012)
Anglais	Hawthorn, Quickthorn	(Zhang, 2002)

I.4. Systématique : la classification de *Crataegus* est donnée au tableau II.

Tableau II : Classification taxonomique de l'espèce *Crataegus oxyacantha* (Kashyap et al., 2012)

Règne	végétal
Division	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Sous-famille	Maloideae
Genre	Crataegus
Espèce	<i>Crataegus Oxyacantha L.</i>

II- Composition chimique

Des études réalisées par différents chercheurs montrent que l'aubépine est une source riche en plusieurs éléments important, ayant un effet positif sur la santé (tableau III).

Tableau III : Composition chimique de l'aubépine (Chang et al., 2002 ; Verma et al., 2007 ; Altinterim , 2012; Kumar et al., 2012)

Composé	
Vitamine C	
Flavonoïdes - (0,1%-1%) dans les fruits. - (1%-2%) dans les feuilles et fleurs.	Quercétine
	Hyperoside
	Rutine
	Flavones glycosylées
	Vitexine-4'-rhamnoside
Glycosides	
Catéchine et épicatechine des oligomères Procyanidines (OPC) ou Tannins condensés anthocyanidines (1%-3%) dans les fruits ou les feuilles et fleurs.	
Saponines et tannins	
Amines cardiotoniques	Phényle éthylamine
	Tyramine
	Isobutylamine
	Ométhoxyphényl éthylamine
Choline et acétylcholine	
Dérivés de purine	Adénosine
	Adénine
	Guanine
	Acide Caféique
Amygdaline	
Pectine	
triterpène - (0,5%-1,4%) dans les fruits	Acide d'ursolique
	Acide Oléonique
	Acide Cratégolique

III. Données pharmacologiques

Bien que traditionnellement, les fruits de l'aubépine fussent employés pour le traitement des troubles cardiaques d'origine nerveuse. Actuellement, ces extraits sont presque exclusivement préparés avec les feuilles et les fleurs de l'arbuste (**Degenring et al., 2003**).

Les sommités fleuries ont une action sédative sur le système nerveux et une action régulatrice sur le système cardio-vasculaire; elles corrigent les troubles du rythme cardiaque; elles sont hypotensives et antispasmodiques au niveau des muscles lisses vasculaires. Ces actions neurosedatives, cardiosedatives, vasodilatatrices et antispasmodiques peuvent être utilisées dans les insomnies, le nervosisme, l'émotivité et le surmenage (**Girre, 2000 ; Veveris et al., 2004; Cuit, 2006**).

Les décoctions des feuilles et des fruits de *Crataegus aronia* sont utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et l'impuissance sexuelle dans la médecine arabe traditionnelle (**Ljubuncic et al., 2005**).

L'activité antioxydante, anti-inflammatoire, hypotensive des extraits alcooliques de l'aubépine (fruits, fleurs et feuilles) a été prouvée *in vitro* (**Fong et Bauman, 2002; Maria et al., 2005**).

Des expériences réalisées *in vivo* par **Zhang et al., (2004)**, ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits du genre *Crataegus* augmente la concentration du α -tocophérol et inhibe l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) humaines.

En Europe, l'aubépine a un usage interne contre la tachycardie (**Garcia et al., 1997 ; Sparska et Martin, 1999**).

IV. Toxicité

Selon **Chang (2002)**, l'administration par voie orale, de l'extrait alcoolique à 10% (fruits et feuilles de l'aubépine), pourrait entraîner une toxicité aigue avec une dose létale à 50% (DL₅₀) de 18,5ml/ Kg chez les souris et 33,8 ml/kg chez les rats.

V. Stress oxydatif

L'organisme produit quotidiennement des radicaux libres, composés réactifs et nécessaires à des mécanismes vitaux, protection contre les micro-organismes pathogène, de diverses voies de signalisation cellulaire tel que l'induction enzymatique et hormonale) (**Milane, 2004 ; Jensen et al., 2008**).

Le stress oxydant est la perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres, et antioxydants de courte ou longue durée. Il provoque des effets délétères, nommé stress oxydant (**Biesalski et al., 1997**).

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (EOA), suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue d'EOA soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (**Defraigne et Pincemail, 2007**).

Un radical libre est un atome ou molécule chimique extrêmement réactive qui contient un ou plusieurs électrons non appariés, comme conséquence la perte d'un ou plusieurs électrons de l'orbite externe. Ils arrachent ces électrons des membranes cellulaires émanant ces dernières à avoir l'activité des radicaux libres. Ceci déclenche un cycle de destruction des cellules dénommé « la cascade des radicaux libres » (**Berger, 2006**).

Les radicaux libres sont très instables, leur durée de vie est généralement très courte (10^{-4} seconde). Leur réactivité réside dans la recherche d'un électron afin de ré-apparié leur électron célibataire ; elle entraîne la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical (**Milane, 2004**).

❖ Exemples de radicaux libres

a- L'anion superoxyde : $O_2^{\cdot -}$

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde.



Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

b- Le radical hydroxyle : OH^{\cdot}

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (**Milane, 2004**).

c- Le radical peroxyde : ROO[·]

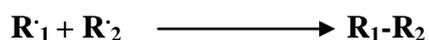
Les radicaux peroxydes se forment par l'addition d'oxygène moléculaire sur des radicaux libres carbonés. Ils sont peu réactifs, mais sont capables de diffuser à travers les membranes biologiques (Marfak, 2003).

d- L'oxygène singulet : O₂⁻

Forme «excitée» de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Milane, 2004).

Dans les milieux vivants, la diffusion du processus d'oxydation est limitée par la compartimentation tissulaire. D'une manière générale, la fin de la réaction en chaîne peut se produire par :

La recombinaison des radicaux entre eux : s'il s'agit de chaînes organiques contenant uniquement des liaisons saturées.



L'intervention de systèmes antioxydants entraînant le piégeage des radicaux libres (Milane, 2004).

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la destruction des cellules tumorales et la différenciation cellulaire (Favier, 2003).

VI. Antioxydants

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. (Bouzid , 2008).

L'organisme est capable, dans certaines mesures, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense développés au cours de l'évolution (Hennebelle, 2006).

Certains antioxydants sont synthétisés par les cellules, d'autres doivent être fournis par l'alimentation (Lako et al., 2007).

La toxicité des antioxydants synthétiques et la demande élevée des consommateurs pour les produits naturels ont attiré l'attention vers les produits végétaux comme sources d'antioxydants plus saines et plus efficaces (**Bandyopadhyay et al., 2008**).

Ces antioxydants agissent en formant des produits finis non radicalaires, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Mohammedi, 2006 ; Bandyopadhyay et al., 2008**).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction car leur structure est relativement stable (**Vansant, 2004**).

VI.1. Composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes, un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Les représentants les plus nombreux (plus de 5 000 molécules isolées) et les plus connus en sont les « flavonoïdes » (**Hannebelle, 2004**).

Les composés phénoliques présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits.

➤ Propriétés antioxydantes

Les composés phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapie comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiens, (**Djmai, 2008**).

Les constituants responsables des effets pharmacologiques dans l'aubépine sont les flavonoïdes et les proanthocyanidines. Ces derniers ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (**Zhang et al., 2001 ; Svedstrom et al., 2002**).

VI.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus dans les végétaux et diffèrent par le nombre de fonction OH et par la nature des autres substituants de la molécule (**Dziedzic et Hudson, 1984; Pratt et Hudson, 1990 ; Brand-Williams et al., 1995**). Ils peuvent être répartis en deux classes :

- Dérivés de l'acide benzoïque.
- Dérivés de l'acide cinnamique

a. Acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆-C₁. Ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glucoside et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tannins.

b. Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆-C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base sont l'acide p-coumarique et les acides caféique, férulique et sinapique (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

VI.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues de plantes, présentes dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration de fleurs, de fruits et de feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV. Ce sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (figure1).

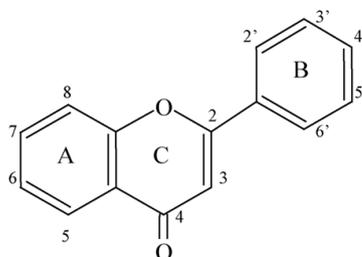


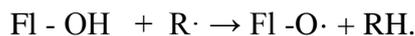
Figure1: Structure de base des flavonoïdes (**Cushnie et Lamb, 2005**).

➤ **Propriétés antioxydantes**

Les flavonoïdes ont une capacité de piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes ($\text{O}_2\cdot^-$) et radicaux peroxylipidiques. Dans l'organisme animal, ils présentent des effets protecteurs contre les réactions radicalaires et contre de nombreuses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète ainsi que les maladies cancéreuses (Miller, 1996 ; Milane, 2004)

• **Piégeage des radicaux libres**

L'interaction des flavonoïdes avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont Thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le Superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où $\text{R}\cdot$ représente l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle.

Le radical flavonoxy ($\text{Fl-O}\cdot$) peut réagir avec un autre radical pour former une Structure quinone stable (Marfak, 2003).

• **Chélation des ions métalliques**

Les ions du fer (Fe^{+2}) et du cuivre (Cu^+) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, Fe pour la catalase, et Cu et Zn pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène qui réagit avec le radical superoxyde (en présence de fer) (MarfaK, 2003 ; Lhuillier, 2007). Selon la réaction suivant :



Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques.

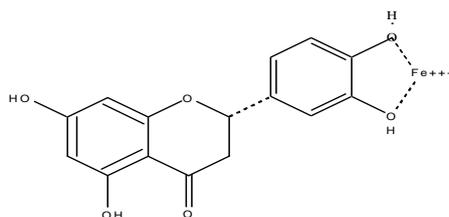


Figure 02 : Exemple de chélation de fer par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

- **Inhibition d'enzymes**

Les flavonoïdes inhibent la xanthine oxydase, source biologique importante du radical superoxyde ($O_2 \bullet$). Ils sont également connus pour inhiber d'autres enzymes impliquées dans la génération de ROS telles que les cyclooxygénases, les lipooxygénases monooxygénases microsomiales (Lhuillier, 2007).

- **Inhibition de la peroxydation lipidique**

Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Milane, 2004).

VI.1.3 Flavonols

Les flavonols possèdent en plus un groupement hydroxyle en C3 (Formica et Regelson, 1995). Les flavonols inhibent la peroxydation lipidique en retardant la formation des hydroperoxydes et que la quercétine inhibe fortement la xanthine oxydase (Selloum et al., 2001).

- **Propriétés antioxydantes**

La double liaison 2,3 en relation avec la fonction 4-oxo dans le noyau C de flavonols permet la délocalisation d'électron de noyau B. Par conséquent, elle manifeste un potentiel antioxydant important. La quercétine a une structure semblable à celle de la cyanidine dans les noyaux A et B (les substituants 3, 4-dihydroxy dans le noyau B et la conjugaison entre les noyaux A et B) et elles ont le même nombre et arrangement de cinq groupe d'hydroxyles. Ceci suggère que la quercétine peut contribuer de manière significative au potentiel antioxydant car sa structure satisfait efficacement la stabilisation du radical aryloxy en donnant un atome d'hydrogène (Zhao, 2007).

VI.1.4 Flavanols

Les flavanols existent sous formes monomérique (catéchine) et polymérique (proanthocyanidine). la catéchine et l'épicatéchine sont les flavanols principaux des fruits, contrairement à d'autres classes de flavonoïdes, les flavanols sont une classe non glycosylée (Manach *et al.*, 2004).

VI.1.5 Tannins

Les tannins sont utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux. Les tannins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et de leurs produits dérivés (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

En 1962, les tannins sont définis comme des composés phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, ayant la propriété de précipiter la gélatine et d'autres protéines et de se colorer par les sels ferriques (Zimmaer et cordesse, 1996).

On distingue deux grands groupes de tannins, qui diffèrent à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

VI.1.5.1 Tannins hydrolysables

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, l'acide éllagique et une partie non phénolique (figure3) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

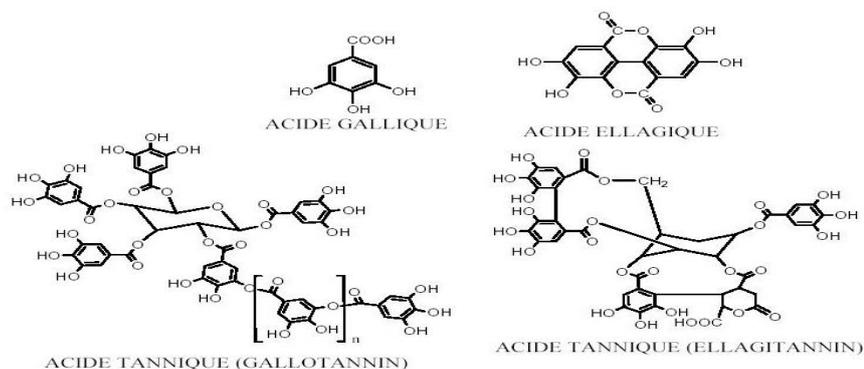


Figure 3 : Structure chimique des tanins hydrolysables et les acides associés (Sylvie, 2005).

VI.1.5.2 Tannins condensés

Ils sont des oligomères ou des polymères de flavane 3-ols (éventuellement de flavanes-3,4-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères et constituent la classe des tannins catéchique. Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rougeâtres et, pour cette raison, ils sont dénommés proanthocyanidine (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**) (Figure 4).

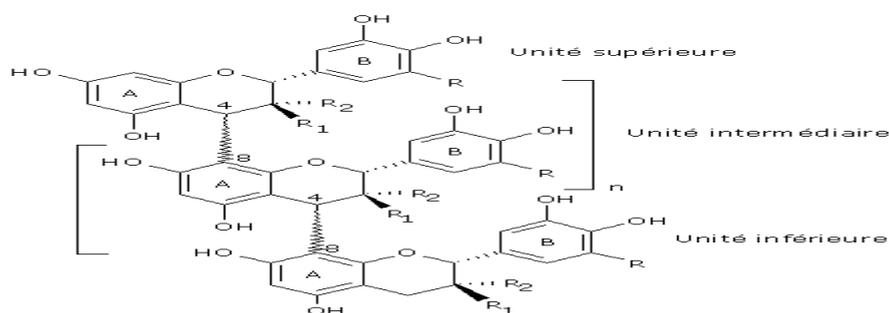


Figure 4 : Structure générale des tannins condensés (**Sylvie, 2005**).

➤ Propriétés antioxydantes

Les tannins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles et de brûlures. Ils sont utilisés comme anti-diarrhéiques et hémostatiques, mais surtout comme protecteur veineux dans le traitement des varices. En cosmologie, les tannins sont des astringents très utilisés, sous forme de lotions. Ils sont largement employés dans l'industrie, notamment dans l'industrie du cuir, des vernis et de la peinture (**Bouhadjera, 2004**).

VI.1.6 Anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments hydrosolubles, responsables de la plupart des couleurs, rouges, bleues et pourpres des tissus végétaux. Ils diffèrent aussi des flavonoïdes par leur capacité à former des structures de résonance par des changements de pH.

Ils existent sous 4 formes moléculaires dans une solution aqueuse, leur couleur relative dépend de pH (**Bagchi et al., 2004**).

Les anthocyanines sont des dérivés glycosylés polyhydroxylés ou polyméthoxylés des sels de 2-phénylbenzopyrylium ou de flavylium (**Zhao, 2007**) (Figure 5).

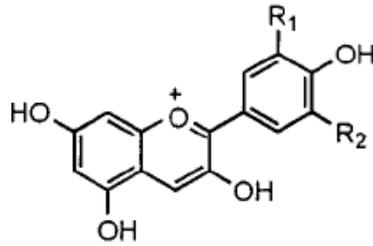


Figure 5 : Structure générale des anthocyanines (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ **Propriétés**

Les anthocyanosides sont des substances atoxiques avec un large spectre d'activité, on peut citer :

- traitements de certaines maladies vasculaires (diminuent la perméabilité des capillaires, augmentent leur résistance et insuffisance veineuse).
- favorisent la régularisation en cas de troubles circulatoires au niveau du pourpre rétinien.
- certains anthocyanosides sont des colorants végétaux à usage pharmaceutique et alimentaire.

(**Bouhadjera, 2004**).

Partie
Expérimentale

*Matériel et
méthodes*

I. Matériel végétal

1. Echantillonnage

Les échantillons (fleurs, feuilles et fruits) (Figure6) de l'aubépine ont été récoltés dans différentes régions qui sont mentionnées dans le tableau suivant (Tableau IV) :

Tableau IV : Caractéristiques des échantillons analysés.

Partie étudiée	Echantillon	Origine	date de récolte	Nom scientifique	Caractéristiques
Fleurs	FL 1	Tawrirthe-Ighil	08 /04/2011	<i>Crateagus. oxyacantha</i>	fleurs blanches, à odeur agréable.
	FL 2	Toudja	27/03/2011		
	FL 3	Oued-Ghir	27/03/2011		
	FL 4	El-Kseur	27/03/2011		
Feuilles	FE 1	Tawrirthe-Ighil	08/04/2011		feuilles d'un vert clair, largement ovales, dentées au sommet.
	FE 2	Toudja	27/03/2011		
	FE 3	Oued-Ghir	27/03/2011		
	FE 4	El-Kseur	27/03/2011		
Fruits	FR 1	Iaakouren	01/03/2013		fruit petit, du volume d'un pois, à saveur très fade.
	FR 2	Ait-Selam	01/03/2013		
	FR 3	Tasslent	23/02/2013		
	FR 4	Barbacha	18/03/2013		



Figure 6. Photographie de Différentes parties de l'espèce *Crataegus Oxyacantha*.

2-Prétraitement des échantillons

2-1 Nettoyage, séchage et broyage

Les parties étudiées (fruits, feuilles et fleurs) sont débarrassées des déchets tels que la poussière, les petites pierres, les autres organes (racine, tige, portions mortes ou altérées,...etc.). Les échantillons sont séchés à l'étuve à 40°C jusqu'à stabilisation du poids. Puis sont broyés séparément à l'aide d'un broyeur électrique.

2-2 Tamisage et conservation

La poudre ainsi obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamiseur électrique (de marque RETSH), contenant plusieurs tamis de différentes granulométries. Une poudre très fine de diamètre inférieur à 250 μm a été récupérée à la fin du tamisage, et conservée dans des flacons en verre, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

II-Dosage des antioxydants

II.1. composés phénoliques

II.1.1 Extraction des composés phénoliques par micro-onde

Le four micro-onde utilisé au niveau du laboratoire 3BS (Biochimie, Biophysique, Biomathématique scienthométrie, est un micro-onde domestique modifiée (multi-onde) qui fonctionne à une fréquence de 2450 MHz et une puissance de sortie maximale de 1000 W avec une incrémentation de 100 W. La dimension de la cavité de chauffage est de 22,5 cm ; 37,5 cm et 38,6 cm.

➤ **Mode opératoire**

Selon **Li et al. (2012)** avec quelques modifications, 0,5 g de poudre de fleurs, feuilles et fruits sont homogénéisées avec 50 ml de méthanol 50% dans une fiole jaugée de 250 ml, puis on place ce dernier au centre de l'appareil à micro-onde pendant un temps de 2 min, et à puissance de 500 W.

Après le refroidissement de l'extrait à une température ambiante, on le filtre avec une pompe sous vide de porosité 3 (16 à 40 µm).

Le filtrat obtenu est conservé à 4°C, jusqu'à son utilisation.

II.2 Dosage des composées phénoliques

II.2.1 Polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acides phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit en présence de polyphénols en un mélange bleu d'oxyde de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (**Riberau-Gayon, 1968**)

La teneur en polyphénols est déterminée selon la méthode de **Negi et al. (2003)** ; 200 µl d'extrait sont ajoutés à 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après trois minutes, 800µl de carbonate de sodium à 7,5% ont été ajoutés; l'absorbance est mesurée à 765 nm après 30 min d'incubation. Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (figure 1a, annexes) ; elles sont exprimées en mg d'acide gallique par 100g de matière sèche(MS).

II.2.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe en présence de chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ces complexes peuvent être utilisés pour la réalisation de spectres d'absorption de nombreux composés phénoliques des végétaux, dont la structure est *O*-dihydroxyphénols, hydroxy-3 et hydroxy-5 chromones (**Djeridane et al ., 2006**).

La teneur en flavonoïdes déterminée selon la méthode décrite par **Ordenez et al. (2006)** ; 1 ml d'extrait est mélangé avec 1ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3 2%). Après dix minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent quercétine par 100g MS, par référence à une courbe d'étalonnage (figure 1b, annexes).

II.2.3 Flavonols

Le dosage des flavonols est déterminé selon la méthode décrite par **Adedapo et al. (2008)**; 0,3 ml d'extrait est mélangé avec 0,3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3 2%) et 0,45 ml d'acétate de sodium. Après 40 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 440 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée avec la quercétine (figure 1c, annexes); les résultats sont exprimés en mg/100g MS.

II.2.4 Tannins condensés (proanthocyanidines)

100 μl d'extrait sont additionnés à 300 μl de vanilline (4%) dissoute dans le méthanol, après l'agitation on ajoute 500 μl d'acide chlorhydrique. L'absorbance est mesurée à 500 nm après 20 minute d'incubation (**Mélo et al., 2006**).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine/100g MS (figure 1e, annexes)

II.2.5 Anthocyanines

0,5g d'échantillon broyé sont additionnés à 10ml d'acétone à 80% contenant 0,2% d'acide formique. Après l'agitation pendant 40 minutes, le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 30 minutes à 4°C. Deux dilutions d'extrait sont préparées, l'une avec une solution tampon de potassium à pH=1 et l'autre avec le tampon acétate de sodium à pH=4,5. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 510 et 700 nm.

La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par 100 g de matière sèche en utilisant un coefficient d'extinction molaire(ϵ) de la cyanidine-3-glucoside.

Selon **Elisia et al. (2007)**, la teneur en anthocyanines est calculée selon la formule suivante :
 $c(\text{mg/l}) = A \cdot \text{MW} \cdot \text{FD} \cdot 1000 / \epsilon$.

MW (poids moléculaire) = 449,2 g /mol de cyanidine-3-glucoside.

ϵ (coefficient d'extinction molaire) = 26900 mol⁻¹ l cm⁻¹.

FD : facteur de dilution

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

III. Activité antioxydante

III.1 Pouvoir réducteur

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

Le pouvoir réducteur des extraits est mesuré selon la méthode décrite par **Gülçin et al. (2002)**. 250µl d'extrait sont additionnés à 250µl d'une solution tampon de phosphate (0.2M, pH 6.6) et de 250µl de ferricyanure de potassium (1%). Après une incubation de 20 minutes à 50°C ; 250 µl d'acide trichloroacétique (10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 minutes d'incubation, 500µl d'eau distillée et 100µl de chlorure ferrique (0,1 %) ont été ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm, après 10 minutes d'incubation. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g MS (figure 1d, annexes).

III.2 Activité antiradicalaire du DPPH

Le principe est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à neutraliser le radical libre DPPH (diphényl picryl-hydrate), relativement stable à température ambiante et qui se colore en violet lorsqu'il est dissout dans l'éthanol ou le méthanol. En présence d'un antioxydant, le DPPH est réduit en DPPH-H.

La capacité des extraits à fixer les radicaux libres est mesurée selon la méthode de **Jakobek et al. (2007)**.

100µl d'extrait ont été ajoutés à 900µl de solution de DPPH (60µM). Après une heure et 30 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Le pouvoir antiradicalaire de DPPH[•] est exprimé en pourcentage :

Pouvoir antiradicalaire de DPPH[•] = [(ABS témoin-ABS échantillon) /ABS témoin] x 100.

III.3 Activité antiradicalaire de l'ABTS^{•+}

Un des radicaux organiques le plus généralement utilisé pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des composés purs et les mélanges complexes, est le cation radical dérivé de l'acide 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) (Osman *et al*, 2006).

Une solution d'ATBS à 7 mM et 2,45 mM persulfate du potassium est préparée dans 25 ml d'eau distillée, cette solution est incubée à l'obscurité pendant 12-16 h à température de 4°C avant d'être utilisée. Cet intervalle de temps permet la formation du radical ABTS^{•+}.

La solution ainsi obtenue est bleu verte et stable. La solution concentrée d'ABTS a été diluée avec de l'éthanol à 95% pour avoir une solution d'absorbance finale de 0,70±0,002 à 734 nm.

Un volume de 100 µl d'extrait est additionné à un volume de 1000 µl ABTS^{•+}. La décoloration par rapport à un blanc ou 100 µl de solvant d'extraction (méthanol 50%) a été ajouté à 100µl de la solution d'ABTS^{•+}. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 734 nm après 2,5 min d'incubation à l'obscurité.

Pouvoir antiradicalaire de l'ABTS^{•+} = [(A Control – A échantillon / A Control) ×100]
(Gülçin *et al.*, 2007).

IV. Analyse statistique

Les résultats rapportés dans ce travail sont exprimés par les moyennes plus au moins les écarts types standards des trois mesures (essai). Le logiciel STATISTICA version 5.5 est utilisé pour l'analyse de la variance (ANOVA / MANOVA), en utilisant le test LSD ou comparaison planifiée à une probabilité de $P < 0,05$.

Résultats et discussion

I. Antioxydants

I.1. Composés phénoliques totaux

Les protocoles d'extractions des composés phénoliques par solvants sont très divers, le rendement de cette extraction dépend fortement de la nature du solvant, et de la méthode d'extraction, mais aussi du matériel végétal et ses composés bioactifs. Le solvant doit permettre une extraction maximale des polyphénols sans modifier leurs structures (**Contini et al., 2008**).

Selon **Proestos et al. (2006)**, le méthanol a un rôle protecteur en prévenant l'oxydation des composés phénoliques par des enzymes telles que la phénoloxydase.

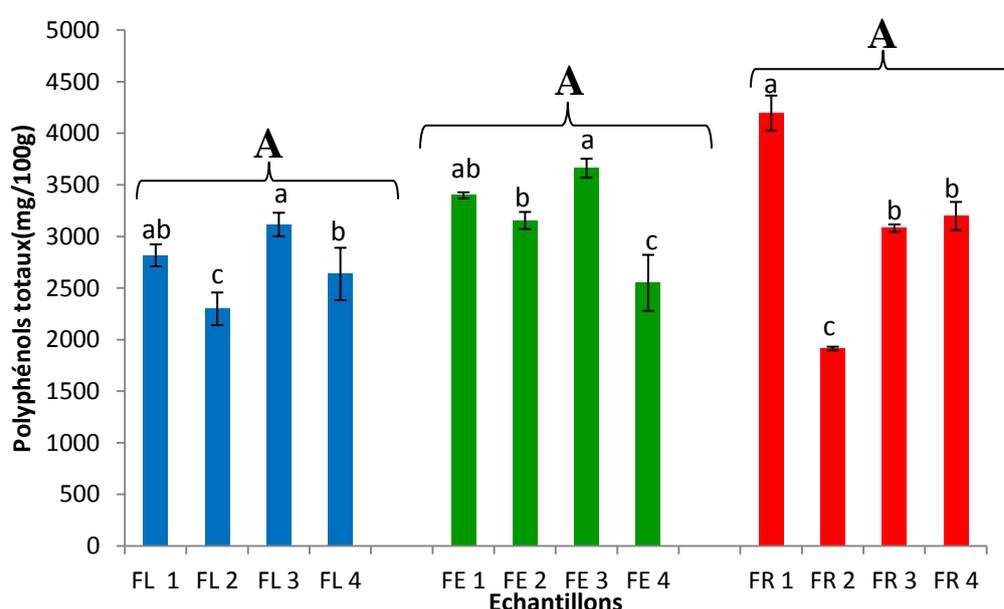
L'analyse statistique des résultats montre que les teneurs en composés phénoliques ne présentent aucune différence significative entre les 3 parties étudiées Fleurs (FL), Feuilles (FE), et Fruits (FR) ($p < 0,05$).

Pour les fleurs, les teneurs sont différentes significativement ($P < 0,05$). Les teneurs les plus élevées sont celles de FL₃ et FL₁ sans différence significative (3116,69 et 2817,99 mg/100g respectivement), alors que la teneur la plus faible est celle de FL₂ (2299,20 mg/100g). Concernant les feuilles, FE₃ et FE₁ ont les teneurs les plus élevées en composés phénoliques (3663 et 3399,67 mg/100g respectivement), tandis que la teneur la plus faible est celle de FE₄ (2550,73 mg/100g).

Pour les fruits, FR₁ est le plus riche en composés phénoliques (4197,51 mg/100g), alors la teneur la plus faible est celle de FR₂ (1914,03 mg/100g) (figure7).

La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, montre que les teneurs en polyphénols de nos extraits de feuilles sont plus supérieures à celle obtenue par **Yoo et ses collaborateurs. (2008)** (817 mg/100g avec des extraits méthanolique de feuilles de *Crataegus pinnatifida*). Par contre nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Li et al. (2010)** (3807 mg/100g) qui ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction, et ils sont inférieurs à ceux de **Barros et al. (2010)** pour les extraits méthanolique de fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* (33032 mg/100g et 24703 mg/100g respectivement).

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la littérature car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga, 2001; Pedneault et al., 2001; Fiorucci, 2006).



Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a > b > c > d$)
 A, B et C: effet de l'organe ; a, b, c et d: effet de l'échantillon pour chaque type d'organe

Figure 7: Teneurs en polyphénols totaux des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

I.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels qui interviennent non seulement dans la pigmentation des végétaux, mais aussi qui présentent des activités biologiques, telles que des actions antioxydantes (Sebastien, 2006).

En présence du chlorure d'aluminium, les flavonoïdes révèlent l'apparition de coloration jaune, qui est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones des flavonoïdes (**Zeghad, 2009**).

L'analyse statistique de nos résultats montre que les teneurs en flavonoïdes présentent des différences significatives entre les 3 parties étudiées, les fleurs s'avèrent les plus riches et les fruits sont les plus pauvres.

Pour les fleurs, les teneurs présentent des différences significatives ($P < 0,05$). La teneur la plus élevée en flavonoïdes est obtenue avec FL₁ (1296,77 mg/100g), et la teneur la plus faible avec FL₂ (500,21 mg/100g).

Concernant les feuilles, FE₃ a la teneur la plus élevée (799,80 mg/100g), alors que la teneur la plus faible est celle de FE₄ (565,65 mg/100g).

Pour les fruits, FR₄ et FR₂ sont les plus riches sans différence significative (473,17 et 431,53 mg/100g respectivement) alors que les teneurs les plus faibles sont celles de FR₁ et FR₃ sans différence significative (374,75 et 367,72 mg/100g respectivement) (figure 8).

Barros et al. (2010) ont rapporté des teneurs largement supérieures à celles de la présente étude avec les extraits méthanoliques de fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* qui varient de 10378 et 2170 mg/100g respectivement.

Froehlicher et al. (2009) ont enregistré une teneur proche à celle de la présente étude pour les fleurs (1050 mg/100g), et une teneur inférieure pour les fruits (150 mg/100g).

Les teneurs en flavonoïdes de nos échantillons sont relativement élevées à celles de **Bahri Sahloul et al. (2009)** qui ont rapporté une teneur pour les extraits de fleurs de *Crataegus azarulus L* égale à 346,4 mg/100g, et aussi pour les résultats de **Urbonaviciute et al. (2006)** qui ont noté des teneurs des extraits éthanoliques de feuilles *Crataegus monogyna* variant de 600 à 1600 mg/100g.

Les différences de la teneur en flavonoïdes sont dues peut être aux conditions de croissance de la plante, comme le sol, le lieu géographique, conditions ambiantes pendant le développement de l'organe, degré de maturité, la moisson et les différences génétiques (**Agata et al., 2009**).

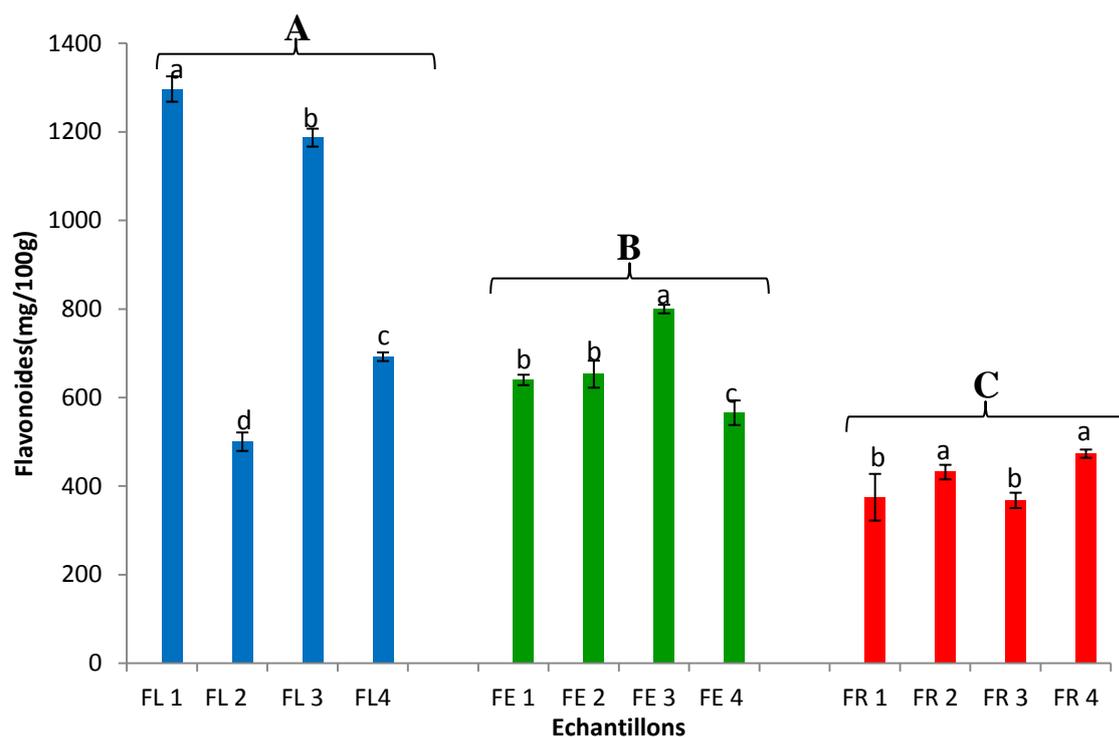


Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de fleurs, feuilles et fruits d’aubépine.

I.3. Flavonols

L’analyse statistique de la présente étude montre que les teneurs en flavonols varient significativement ($P < 0.05$) selon l’organe, les fleurs sont les plus riches que les feuilles et fruits qui ne présentent pas de différence significative ($P < 0.05$).

Concernant les fleurs, les teneurs en flavonols sont significativement différentes ($P < 0,05$). La teneur la plus élevée est obtenue avec FL₁ (990,13 mg/100g), et la plus faible avec FL₂ (371,06 mg/100g).

Pour les feuilles, FE₃ a la teneur la plus élevée (647,57 mg/100g), alors que la teneur la plus faible est celle de FE₄ (295,51 mg/100g).

Ainsi pour les fruits, la teneur la plus élevée est obtenue avec FR₁ (414,77 mg/100g), et la plus faible avec FR₃ (294,56 mg/100g) (figure9).

Les teneurs obtenues sont largement supérieures à celle de Liu *et al.* (2011) obtenus avec les extraits éthanoliques à 80% de fruits de *Crataegus pinnatifida* (42 mg/100g).

L'analyse statistique indique l'existence d'une bonne corrélation positive entre les teneurs en flavonols et en flavonoïdes des extraits étudiés ($r = 0,93$) (figure 2C, annexes).

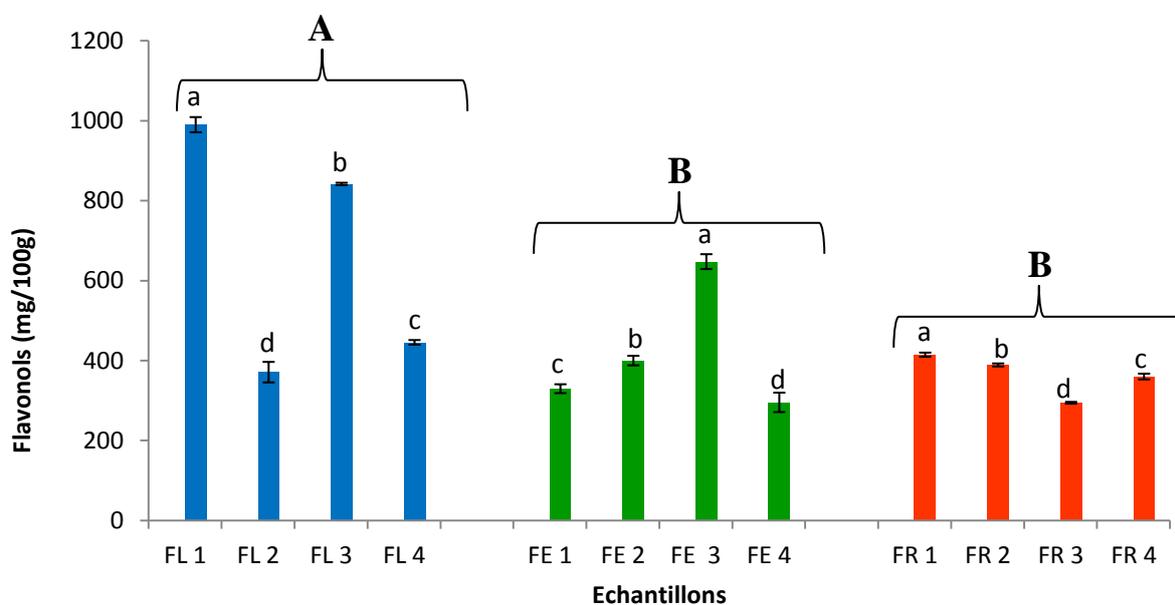


Figure 9: Teneurs en flavonols des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

I.4. Tannins condensés (proanthocyanidines)

L'analyse statistique de la présente étude montre que les teneurs en proanthocyanidines présentent des différences significatives entre les 3 parties étudiées Fleurs (FL), Feuilles (FE), Fruits (FR) ($p < 0,05$). Les fleurs s'avèrent les plus riches et les feuilles sont les plus pauvres.

Pour les fleurs, les teneurs présentent des différences significatives ($P < 0,05$). La teneur la plus élevée est celle de FL₁ (2069,54 mg/100g), par contre la teneur la plus faible est celle de FL₂ (810,17 mg/100g).

Concernant les feuilles, l'extrait de FE₄ a la teneur la plus élevée en proanthocyanidines (2189,86 mg/100g), tandis que la teneur la plus faible est celle de FE₁ (300,80 mg/100g).

Pour les fruits, la teneur la plus élevée est celle obtenue avec FR₁ (1864,99 mg/100g), et les teneurs les plus faibles sont celles de FR₃ et FR₄ sans différence significative (1002,68 et 874,34 mg/100g respectivement) (figure10).

Les teneurs obtenues sont trop faibles en comparant avec celles de **Skерget et al. (2005)** avec des extraits méthanoliques de feuilles de *C. oxyacantha* obtenue par la méthode d'extraction ultrasonique (4060mg/100g).

Nos résultats concordent avec ceux de **Svedstrom et al. (2002)** avec des extraits méthanoliques aqueux de feuilles, fleurs et fruits de *C. oxyacantha* obtenue par la méthode d'extraction ultrasonique.

Par contre nos résultats sont supérieurs à ceux de **Bahri-Sahloul et al. (2009)** qui ont enregistré des teneurs qui varient de 520, 9 à 925,3 mg/100g avec des extraits de fleurs de *Crataegus azarulus L.*

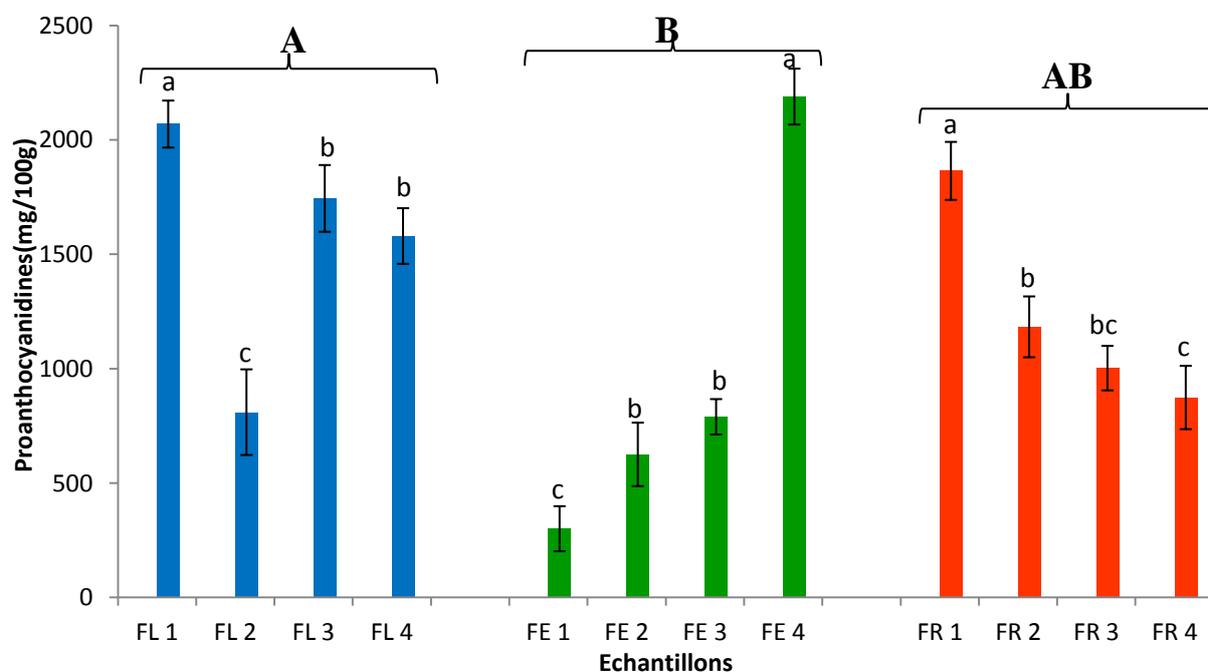


Figure 10: Teneurs en tannins condensés des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

I.5. Anthocyanines

L'analyse statistique de la présente étude montre que les teneurs en anthocyanines présentent des différences significatives ($P < 0,05$) entre les 3 parties étudiées, les feuilles sont beaucoup plus riches, et les fleurs sont les plus pauvres.

Pour les fleurs, les teneurs présentent des différences significatives ($P < 0,05$). La teneur la plus élevée est obtenue avec FL₄ (1,02 mg/100g), alors que les teneurs les plus faibles sont celles de FL₁ et FL₃ sans différence significative ($P < 0,05$) (0,45 et 0,33 mg/100g respectivement).

Pour les feuilles, les teneurs présentent des différences significatives ($P < 0,05$). FE₂ et FE₃ s'avèrent les plus riches sans différence significative (10,84 et 9,86 mg/100g), tandis que la teneur la plus faible est celle de FE₁ (2,59 mg/100g).

Concernant les fruits, FR₃ présente une teneur plus élevée (5,86 mg/100g), et la teneur la plus faible est obtenue avec FR₁ (1,32 mg/100g) (figure11).

Dans la littérature scientifique, aucune étude n'a porté sur le dosage des anthocyanines dans les organes d'aubépine hormis celle de **Chiang et Wrolstad. (2005)** qui ont dosé les anthocyanines des baies noirs et les teneurs obtenues s'étendent de 70,3 à 200 mg/100g qui sont supérieures aux notre.

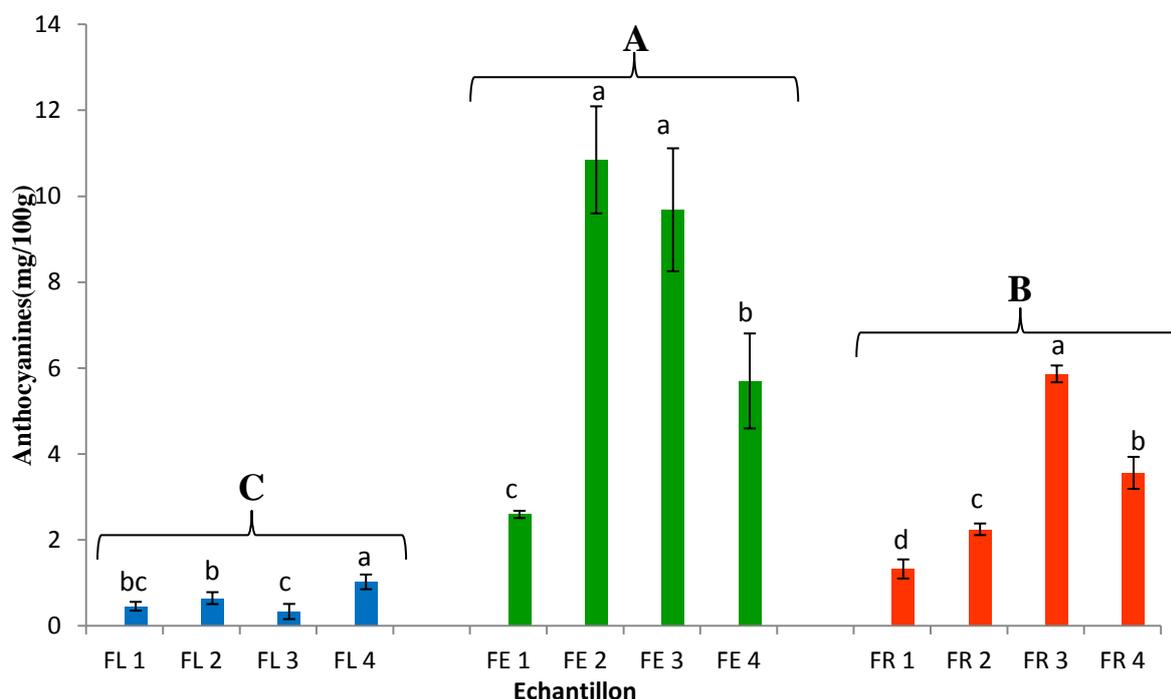


Figure 11 : Teneurs en anthocyanines des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

Les teneurs de fleurs, feuilles et fruits analysées en antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés et anthocyanines) sont différentes par rapport à celles indiquées dans la littérature. Ceci est probablement dues aux facteurs environnementaux, le degré de maturité à la récolte, la différence de la méthode d'extraction et de dosage utilisée, la nature et la concentration du solvant, les variations génétiques (variété, espèce, etc.), la durée et les conditions de conservation, mais aussi à d'autres facteurs (la température, le type de sol, ... etc.).

II. Activité antioxydante

II.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude d'un composé dit « antioxydant » à donner un électron et/ou un atome d'hydrogène ce qui permet de prévenir les biomolécules tels que les lipoprotéines et les acides gras polyinsaturés de l'action des espèces radicalaires (**Dorman et al., 2003**).

Le pouvoir réducteur des extraits de différents organes de l'aubépine analysés ne présente pas de différences significatives ($P < 0,05$)

Pour les fleurs, le pouvoir réducteur le plus élevé est obtenu avec FL₃ (685,87mg d'acide gallique/100g) alors que les pouvoirs réducteurs les plus faibles sont ceux de FL₄ et FL₂ sont différence significative (465,44 et 452,20 mg/100g respectivement).

Concernant les feuilles, les pouvoirs réducteurs les plus élevés sont obtenus avec FE₃ et FE₁ sans différence significative ($P < 0,05$) (686,81 et 661,98 mg/100g respectivement), cependant FE₄ présente le pouvoir réducteur le plus faible (513,69 mg/100g).

Pour les fruits, le pouvoir réducteur le plus élevé est obtenu avec FR₃ (644,71 mg/100g), alors que le pouvoir réducteur le plus faible est celui de FR₄ (527,17 mg/100g) (figure12).

Barros et al. (2010) ont rapporté des pouvoirs réducteurs largement supérieurs à ceux de la présente étude avec les extraits méthanoliques de fleurs et fruits de *Crataegus monogyna* (90850 et 377700 mg/100g respectivement). Cette différence pourrait être due à la méthode d'extraction utilisée.

Les résultats obtenus indiquent l'existence d'une bonne corrélation linéaire entre le pouvoir réducteur et les teneurs en composés phénoliques ($r = 0,63$) (figure 2A, annexes).

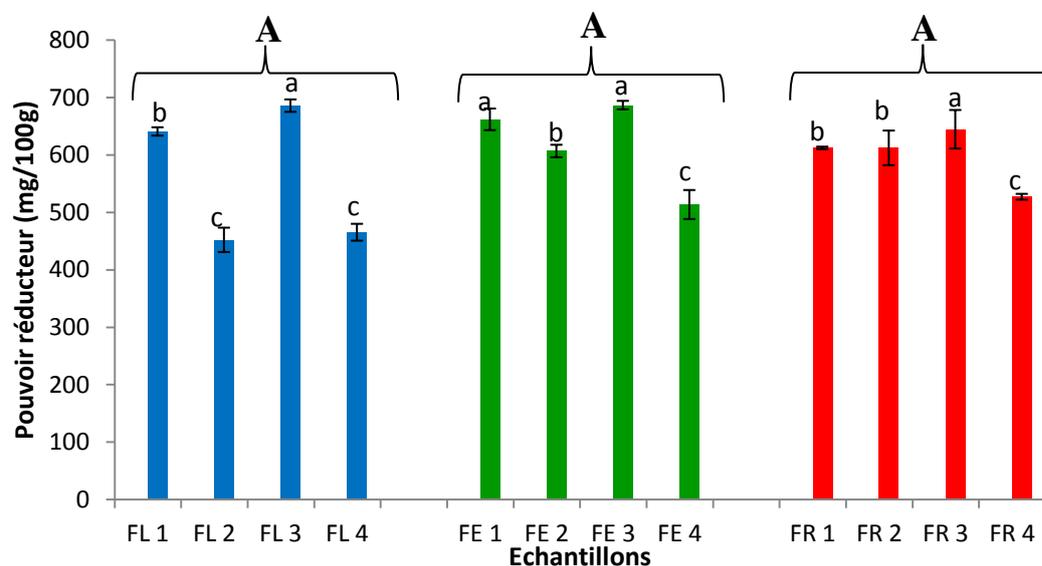


Figure 12 : Pouvoir réducteur des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

II.2. Activité antiradicalaire de DPPH

Le DPPH est largement utilisé pour examiner la capacité des composés d'agir en tant que piègeurs de radical ou donateurs d'hydrogène et d'évaluer l'activité antioxydante. Ce radical est stable à température ambiante et accepte un électron ou un hydrogène pour devenir une molécule paramagnétique stable.

Le DPPH, radical libre de couleur violet est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité (Kouamé et al., 2009).

L'analyse statistique de nos résultats montre que les activités antiradicalaires ne présentent aucune différence significative entre les 3 parties étudiées Fleurs (FL), Feuilles (FE), et Fruits (FR) ($p < 0,05$).

Pour les fleurs, l'activité antiradicalaire présentent des différences significatives ($P < 0,05$). FL₃ présente l'activité antiradicalaire la plus élevée (76,42%), l'activité antiradicalaire la plus faible est obtenue avec FL₂ (10,50 %).

Concernant les feuilles, l'activité antiradicalaire la plus élevée est obtenue avec FE₁ (78,09 %) et la plus faible avec FE₄ (15,83 %).

Pour les fruits, FR₁ et FR₃ présentent des activités antiradicalaires les plus élevées sans différence significative (52,31% et 56,10% respectivement); l'activité antiradicalaire la plus faible (29,15%) est obtenue avec FR₄ (figure13).

Nos résultats sont proches de ceux de **Yoo et al. (2008)** qui ont montré une forte activité antiradicalaire (84,5%) avec les extraits méthanoliques de feuilles de *Crataegus pinnatifida*. Ainsi, ils sont similaires à ceux de **Bernatoniene et al. (2008)** qui ont enregistré une activité antiradicalaire de 53% avec les extraits de fruits de *Crataegus monogyna*.

Il a été rapporté par **Chung et al. (2006)**, que l'activité scavenger du radical DPPH des extraits de plantes médicinales peut être attribué à la présence d'un groupement hydroxyle, à la structure moléculaire du composé, à la disponibilité de l'hydrogène phénolique, et à la possibilité de la stabilisation du radical formé résultant d'un donneur d'hydrogène.

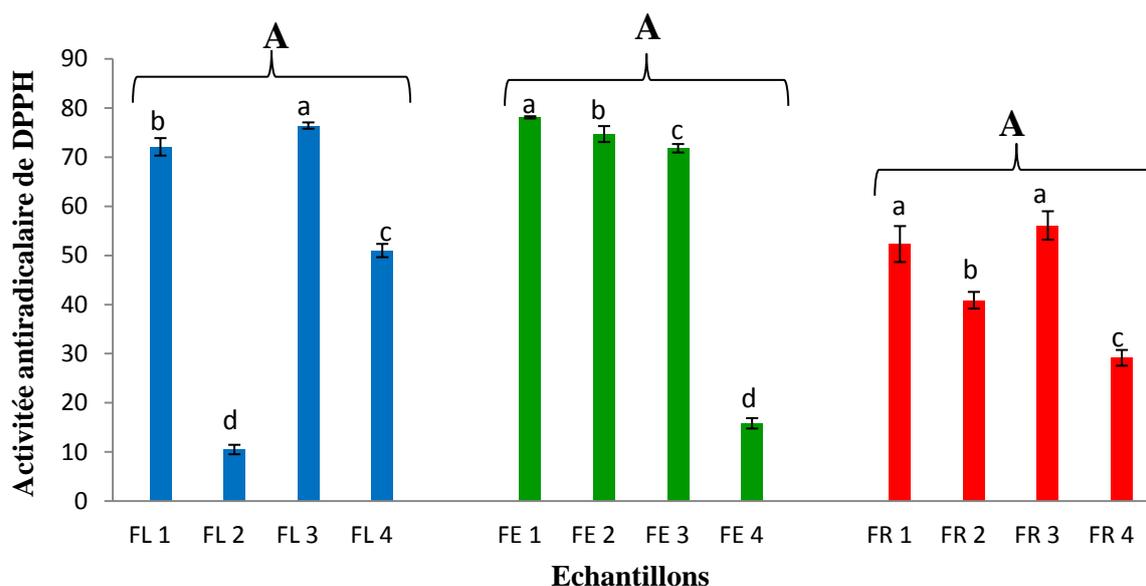


Figure 13 : Activité antiradicalaire de DPPH[•] des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

II. 3. Activité antiradicalaire de l'ABTS^{•+}

L'analyse statistique des résultats montre que l'activité antiradicalaire de l'ABTS^{•+} ne présentent aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les 3 parties étudiées Fleurs (FL), Feuilles (FE), et Fruits (FR).

Pour les fleurs, l'activité antiradicalaire de l'ABTS^{•+} présentent des différences significatives ($P < 0,05$). L'activité antiradicalaire de l'ABTS^{•+} la plus élevée est obtenue avec FL₃ (86,31 %), et la plus faible avec FL₄ (61,71 %).

Pour les feuilles, l'activité antiradicalaire la plus élevée est obtenue avec FE₃ (86,25 %) et la plus faible avec FE₄ (82,80%).

Pour les fruits, FR₃ et FR₄ présentent des activités antiradicalaires de l'ABTS^{•+} les plus élevées sans différence significative (82,13% et 81,02% respectivement), et celle de FR₂ est la plus faible (69,22%) (figure14).

Les résultats de la présente étude sont supérieurs à ceux de **Bernatoniene et al. (2008)** qui ont enregistré des activités antiradicalaires de l'ABTS^{•+} de 47% avec l'extrait éthanolique de fruits de *Crataegus monogyna*.

Il est relativement difficile de comparer les résultats de ce test avec ceux de la littérature. En effet, il existe une assez grande variation dans le choix des solvants d'extraction et dans celle de la méthode de mesure de l'activité antioxydante.

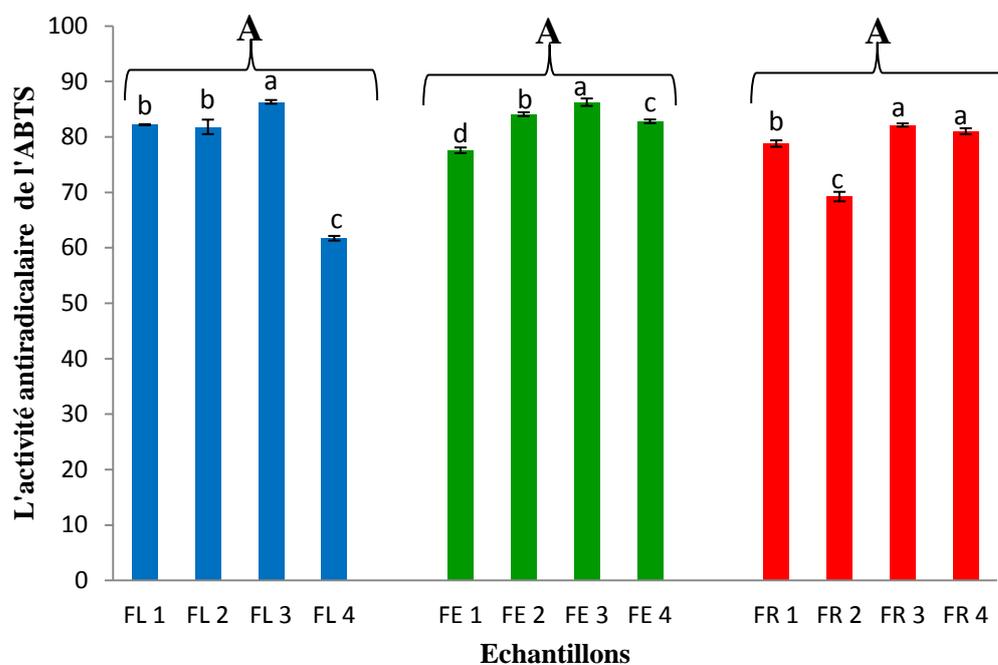


Figure14: Activité antiradicalaire de l'ABTS⁺ des extraits de fleurs, feuilles et fruits d'aubépine.

Conclusion

Conclusion

Ce présent travail a pour objectif le dosage de quelques classes d'antioxydants présents dans les fleurs, feuilles et fruits de *Crataegus Oxyacantha* et l'étude du pouvoir antioxydant de celles ci par la détermination de l'activité antioxydante totale et la détermination de leurs pouvoirs antiradicalaires.

Plusieurs constatations ressortent de l'analyse des résultats obtenus :

- Après le dosage des polyphénols totaux, aucune différence significative n'est enregistrée entre les fleurs, feuilles et fruits de *Crataegus Oxyacantha*. Les fruits d'Iaakouren sont les plus riches alors que celles d'Ait selam sont les plus pauvres.
- Les fleurs possèdent une teneur plus importante en flavonoïdes. Par contre, les fruits sont les plus pauvres. Les extraits de fleurs de Tawrirth-Ighil sont plus riches, tandis que, les fruits d'Iaakouren et celles de Tasslent sont plus pauvres.
- Le dosage des proanthocyanidines montre une différence significative entre les fleurs, feuilles et fruits d'aubépine. Les feuilles de Oued-Ghir sont les plus riches en proanthocyanidines alors que celles de Tawrirth-Ighil sont les plus pauvres.
- Les feuilles de Toudja et El-Kseur ont des teneurs plus élevées en anthocyanines. Alors que, les fleurs de ces régions sont les plus pauvres.
- L'analyse statistique de pouvoir réducteur des extraits d'aubépine indique l'absence de différence significative entre les fleurs, feuilles, fruits. La même chose est notée pour les activités antiradicalaires (DPPH[•] et ABTS^{•+}).
- Les pouvoirs réducteurs de feuilles de Thawrirth-Ighil et de fleurs d'El-Kseur sont significativement plus élevés, par contre ceux de feuilles d'Oued-Ghir et fleurs de Toudja sont plus faibles.
- L'activité antiradicalaire de DPPH[•] de feuilles de Toudja est meilleure que celle des fleurs de cette région et celle de fruits de Tasslent.

Les résultats de cette étude montrent que les différences des teneurs en antioxydants ainsi que les activités antioxydantes pourraient être dues aux facteurs géographiques et climatiques de site de récolte.

Enfin, il serait souhaitable d'élargir l'échantillonnage à l'ensemble du territoire algérien, voir les pays voisins pour mieux appuyer nos résultats et d'étudier l'effet géographique à un spectre plus large et aussi évaluer les différences liées aux sous-espèces. Il serait aussi intéressant d'identifier les composés phénoliques d'aubépine, et mesurer leurs quantités par d'autres méthodes telles que HPLC. Il est aussi important de suivre cette étude par des applications *in vivo* afin d'évaluer l'effet d'aubépine sur l'organisme vivant.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

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

Aganga A.A., Mosase K.W. (2001). Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91:107-113.

Agata M.P., Fabiano C. and Alessandra B. (2009). Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. *Food Chemistry*, 115: 450–455.

Altinterim Başa .(2012). Alıç Bitkisinin (*Crataegus Monogyna*) Kardiyovasküler Etkileri. *KSU Doğa Bil. Derg.* 15(3) .

Bagchi D., Sen C.K., Bagchi M. and Atalay M. (2004). Anti-antigenic, Antioxidant, and Anti-carcinogenic Properties of a Novel Anthocyanin-Rich Berry Extract Formula. *Biochemistry (Moscow)* 69(1): 75-80.

Bahorun. T. (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agriculture Research Council, Réduit, Mauritius: 84-85.

Bahri-Sahloul.R., Ammar.S., Fredj.R.B., Saguem.S., Grec.S., Trotin.F and Skhiri.F.H. (2009). Polyphenol content and Antioxidant activities of Extracts from Flowers of Two *Crataegus azarulus* L –Varieties. *Pakistan journal of Biological Science* 12(9):660-668.

Bandyopadhyay M., Chakraborty R., Raychaudhuri U. (2008). Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment. *LWT*. 41: 816-825.

Barros L., Carvalho.A.M., and Ferreira.I.C.F.R. (2010). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal*

Berger M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des Connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20:48-53.

Bernatoniene.J., Masteikova. R., Majienė .D., Savickas. A., Kėvelaitis.E., Bernatoniene. R., Dvoráčková.K., Civinskienė.G., Lekas. R., Vitkevičius.K., Pečiūra.R. (2008). Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina (Kaunas)*: 44(9):706-712.

Biesalski H. K., Böhles H., Esterbauer H., Fürst P., Gey F., Hundsdörfer G. et al. (1997). Antioxidant vitamins in prevention. *Consensus statement. Clinical Nutrition*,16:151-155.

Bouhadjera K. (2004). Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales Saharienne. *Oudneya ; africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de doctorat d'état. Université Abou Bekr Belkaid. p28-29.

Bouزيد.W. (2008). Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire de Magistère. Université-El hadj Lakhder –Batna. p16.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. et Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluated antioxidant activity. *Lebensm Wissenu Technol*, **28**: 25-30.

Chang Q, Zuo Z., Harrisson F., Chow M.S. (2002). Hawthorn. *Journal Clinical Pharmacology*, **42**:605-612.

Chiang H.J., Wrolstad R., (2005). Anthocyanin pigment composition of black berries. *Journal of food chimestry and toxicology*. **70**: 198 – 202.

Chung.Y.C., Chien.C.T., Teng .K.Y., Chou.S.T. (2006). Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc. *Food Chemistry* **97**: 418–425.

Cushnie T.P. Tim., Andrew J., Lamb. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids: *International Journal of Antimicrobial Agents* **26**: 343–356.

Contini M., Baccelloni S., Massantini R., Anelli G. (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chemistry*. **110**: 659–669

Cuit T., Nakamura K., Tians S., Kayhara H and Tian L. (2006). Polyphenolic content and physiological activities of chinese hawthorn extracts. *Biochemistry*, **70**(12): 2948-2956.

Defraigne J.O., Pincemail J. (2007). Stress oxydants et antioxydants mythes et réalités. Service de Chirurgie Cardiovasculaire et Laboratoire de chirurgie expérimentale (CREDEC), CHU Sart Tilman, Liège : **62** :4 .

Degenring F.H., Suter A., Weber M., Saller R. (2003). A randomised double blind placebo controlled clinical trial of standardised extract of fresh *Crataegus* berries in the treatment of patients with congestive heart failure NYHA II. *Phytomedicine*, **10**: 363-369.

Djemai Z.S. (2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister. Département de biologie .Université -El Hadj Lakhder –Batna .06P .

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

Dorman H.J.D., Peltoketoa A., Hiltunen R., Tikkanen M.J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*. **83**: 255–262

- Dziedzic S.Z. et Hudson B.J.F. (1984).** Phenolic acids and related compounds as antioxydants for edible oils. *Food Chemistry*, **14**: 45-51.
- Edwards.J.E., Brown.P.N., Talent.N., Dickinson.T.A., Shipley.P.R. (2012).** A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry* **79**: 5–26.
- Elisia I., Hu C., Popovich D.G. and Kitts D.D. (2007).** Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, **101**: 1052-1058.
- Fabre.M.C., Genin A., Merigoux.J., Moget.É. (1992).** Des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples. *Herboristerie Familiale*. P : 1-103.
- 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
- Fiorucci S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, 211p.
- Fong H.s., Bauman J.L. (2002).** Hawthorn. *Journal of Cardiovascular Nursing*, **16**(4):1-8.
- Formica J. V. and Regelson W. (1995).** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chemistry Toxicology*, **33** (12): 061-1080.
- Froehlicher.T., Hennebelle.T., Nizard.F.M., Cleenewerck P., Hilbert J.L., Trotin F., Grec S. (2009).** Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry* **115**: 897–903.
- Garcia M.D., Saenz M.T., Ahumadam.C., Cert A. (1997).** Isolation of three triterpenes and several aliphatic alcohols from *Crataegus monogyna* Jacq. *Journal of Chromatography*, **76**(7):340-342.
- Girre L. (2000).** Les plantes médicinales. Ouest-France (Ed). Rennes, 30p
- Gülçin.İ., Elias.R., Gepdiremen.A., Boyer.L., Köksal. E. (2007).** A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *African Journal of Biotechnology*, **6** (4): 410-418
- Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu İ., Aslan A. (2002).** Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* **79**: 325-329.
- Hannebelle T. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques* .1 :3-6
- Havsteen, BH. (2002).** The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacol Therap*, **96**:67-202.

Hennebelle T. (2006). Investigation Chimique, Chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodicatammus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (verbénacées). Thèse Doctorat en Chimie Organique et macromoléculaire de l'université des sciences et technologies de Lille-Lille1. 234.

Jakobek L., Šeruga M., Medvidovic-Kosanovic M. and Novak I. (2007). Antioxidant Activity and Polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **72** (4): 301-306.

Jensen G.S., Wu X., Patterson K.M., Barnes J., Carter S.G., Scherwitz L., Beaman R., Endres J.R. and Schauss A.G. (2008). In vitro and in vivo Antioxidant and Anti-inflammatory capacities of an Antioxidant-Rich fruit and Berry juice Blend. Results of a pilot and Randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *Agriculture Food Chemistry*, **56**:8326-8333.

Kashyap.CP., Arya.V., Thakur.N. (2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus oxyacantha* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 1194-1199.

Kouamé J., Gnoula C., Palé E., Bassolé H. I. Guissoul I.P., Simporé J. et Nikiéma J. B., (2009). Etude des propriétés cytotoxiques et anti radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*. Vol. **32**: n° 1 et 2.

Kumar.D., Arya.V., Bhat .Z.q.A., Khan.A.N., Prasad.D.N. (2012). The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **22**(5): 1187-1200.

Lako J., Trenery V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. et Premier R. (2007). Phytochemicals flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food chemistry*. **101**: 1727-1741.

Ljubuneire P., portonaya I., Cognan U., Azaich H, and Bomzon A. (2005). Antioxydant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of Euthopharmacology*, **101**:153-161.

Li.H, Deng. Z, Wuc .T, Liu.R, Loewen. S, Tsao. R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, **130** :928–936.

Lhuillier A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook. F ex oliver, *Agauia polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa Trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.

Liu.P., Kallio.H., Lü.D., Zhou.C., Yang B. (2011). Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chemistry*, **127**:1370–1377

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

Marfak A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides. Thèse de Doctorat de l'université de Limogne .p40- 43.

Maria A, Vera V., Juan A., Monotoya S., Calva G., Emma G., Raminrez R. (2005). Extraction, thermal stability and kenetic behavior of pectin methylestearase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. **5**:2-6.

Mélo E.A., Lima V.L.A.G., Maciel M.I.S., Caetano A.C.S. and Leal F.L.L. (2006). Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. *Braz. Journal Food Technology.* **9** (2): 89-94.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres .Etudes et applications thérapeutiques. Thèse doctorat, université de Louis Pasteur.

Miller A. L. (1996). Antioxydant flavonoides: structure, fonction and clinical usage. *Altirnative Midicine Review.* **1**(2): 103-111

Mohammedi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Université Abou Bakr Belkaïd.

Negi .P.S., Jayaprakasha.G.K., Jena. B.S. (2003). Antioxydant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food chemistry,* **80**: 393–397

Ordenez.A.A.L., Gomez.J.D., Vattuone.M.A., Isla.M.I. (2006) .Antioxydant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chemistry,* **97**:452–458

Osman.A.M., Wong.K.K.Y., Fernyhough.A. (2006). ABTS radical-driven oxidation of polyphénols : Isolation and structrural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* **346**:321–329

Pedneault K., Leonharts., Angenol., Gosselin A., Ramputh A., Arnason J. T., 2001. Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composes secondaires des organes végétaux. Texte de conférence. Canada, 1-5.

Pratt E. et Hudson B.J.F. (1990). Naturel antioxydants not exploited commercially.in: Hudson B.J.F. *Food antioxydants.* Elsevier Applied Science, Londres, 171-192.

Proestos C., Sereli D., Komaitis M. (2004). Détermination des composés phénoliques aux plantes aromatiques par RP-HPLC et GC-MS. *Chimie alimentaire ,* **95**: 44-52

Ribereau-Gayon P. (1968). Les composes phénoliques des végétaux. Edition, DUNOD, Paris: 1-191.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). Composés phénoliques de la plante structure, biosynthèse, répartition et rôle. In «Les polyphénols en agroalimentaire». Edition Tec et Doc. Lavoisier: 3.

Selloum L., Reichl S., Müller M., Sebihi L. and Arnold J. (2001). Effects of flavonols on the generation of superoxide an ion radicals by xanthine oxidase and stimulated neutrophils. Archives of Biochemistry and Biophysics, **395** (1): 49-56.

Silva da costa.J.F. (2011).Crataegus sp., uma planta com interesse terapêutico.Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde.

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

Sparska T.H., Martin T. (1999). Yields of hawthorn *Crataegus monogyna* berries under different hedgerow management. Agricultur. Ecosystems and Environnement, **72**: 107-110.

Svedstrom.U., Vuorela.H., Kostianen.R., Huovinen.K., Laakso.I., Hiltunen.R.(2002). High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidines from dimers up to the hexamer in hawthorn. Journal of chromatography A, **968**: 53–60.

Svedstrom U., Vuorela H., Kostianen R., Leak I., Hiltunen R. (2006). Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoides prior to high performance liquid chromatography. Journal of chromatography A, **11**(12):103-111.

Svedstrom U., Vuorela H., Kostianen R., Tuominen J., Kokkonen J., and Rauha J.P. (2002). Isolement et identification des procyanidins oligomères des feuilles et des fleurs de crataegus. Photochemistry. **60** (8): 821-825.

Sylvie, P. (2005). La perception gustative et la consommation des tanins chez le maki (lemur Catta). Thèse pour obtenir le grade de docteur du Meséum National D’Histoire Naturelle : p 24-25.

Urbonaviciute.A., Jakstas.V., Kornysova.O., Januli.V., Maruska.A. (2006). Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. Journal of Chromatography A, **1112** : 339–344.

Vansant, D.G. (2004).Radicaux libres et antioxydants : Principe de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ».Institut Danone : 1-2.

Verma, S.K, Jain, V, Verma, D. and Khamesra.R. (2007). *Crataegus Oxyacantha*. A Cardioprotective Herb. Journal of herbal medicine and toxicology, **1**(1) 65-71.

Verzelloni E., Tagliazucchi D. and Conte A. (2007). Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoids content in traditional balsamic vinegar. Food Chemistry **105**: 564-571.

Veveris M., Kock E., Chatterjee S.S.(2004). *Crataegus* special extract WS1442 improves cardiac function and reduces infarct size in a rat model of prolonged coronary ischemia and reperfusion. *Life science*, **74**:1945-1955.

Yanar M, Ercisli S, Yilmaz KU, 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**(1): 35-38.

Yao.M., Ritchie.H.E., Woodman.P.D.B.(2008). A reproductive screening test of hawthorn. *Journal of ethnopharmacology* **118**: 127–132.

Yoo.K.M., Lee C.H., Lee.H., Moon .B., Lee C. Y.(2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food chemistry*, **106** : 929–936

Zeghad N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine. Thèse de magister. p11.

Zhang D.L., Zhang Y.T., Yin J.J., zhao B.L. (2004). Oral administration of *Crataegus* flavonoids protects against ischemia reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of Neurochemistry*, **90**:211-219.

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

Zhang Z., Chang Q., Zhu M., Huang Y., Ho W. K. Chen Z. (2001). Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *Journal of nutritional biochemistry*, **12**: 144–152.

Zhang Z., Hoa K.K., Huang Y.,Cena zhen Y.(2006). Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit in mediated by regulation of cholesterol-7- hydroxylase and acyl coa: cholesterol acyl transferase. *Food Research*, **35**:885-891.

Zhao Y. (2007). Berry fruit Value-Added products for Health Promotion. In” Food science and technology”. Editions CRC press. 430 pages.

Zimmer N., Cordess R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Inra Prod Anim* .**9**(3) : 167-179.

Annexes

Figure 1 : Courbes d'étalonnage des composés phénoliques(a), du flavonoïdes(b), des flavonols(c), du pouvoir réducteur(d), et des tannins condensés(e).

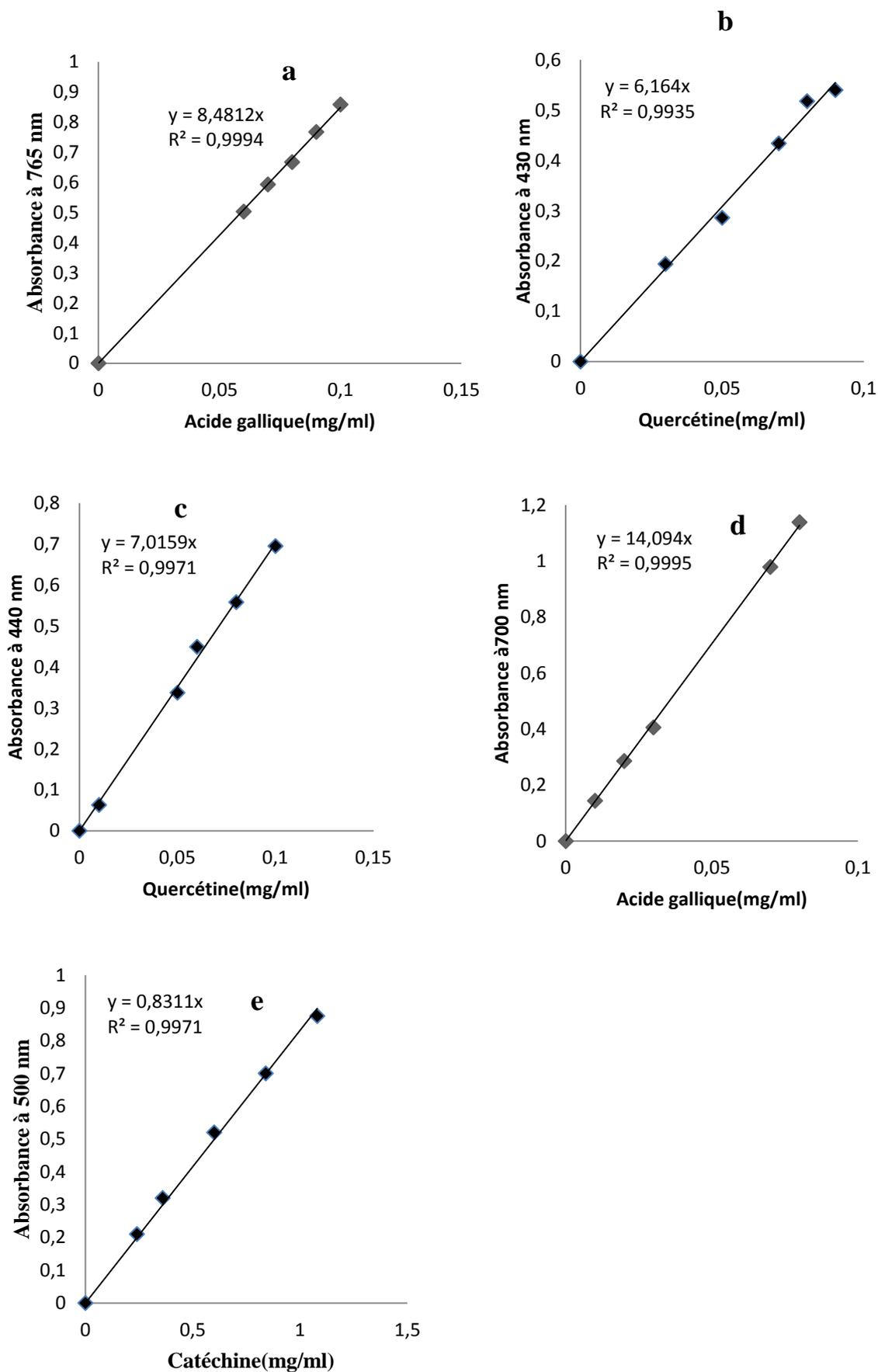
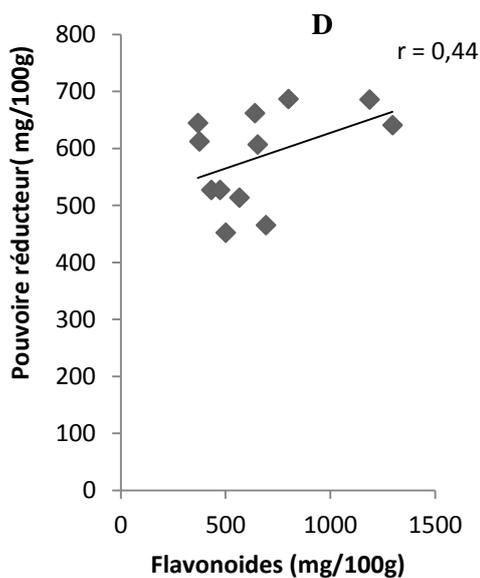
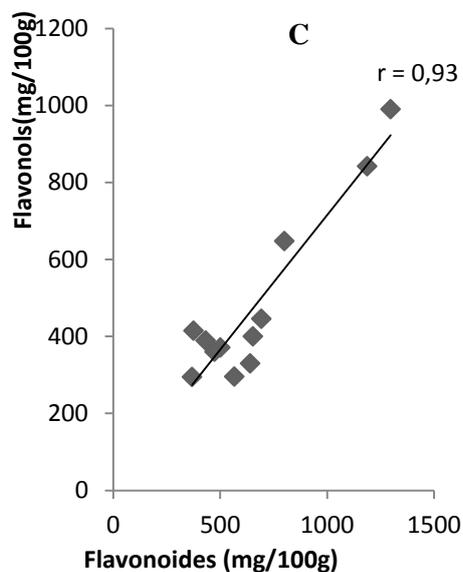
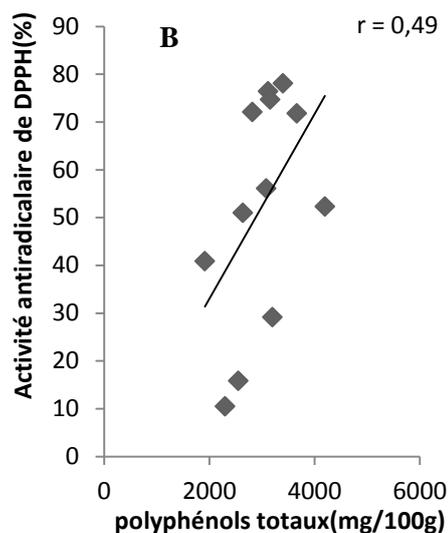
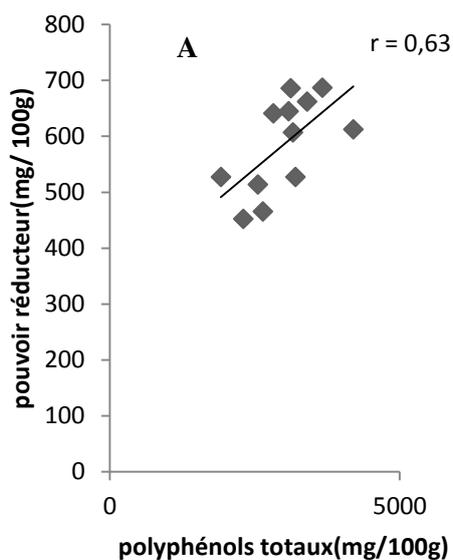
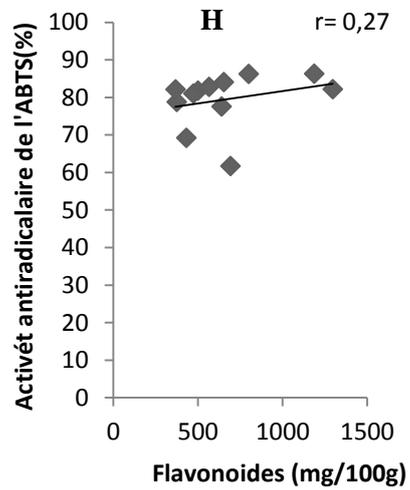
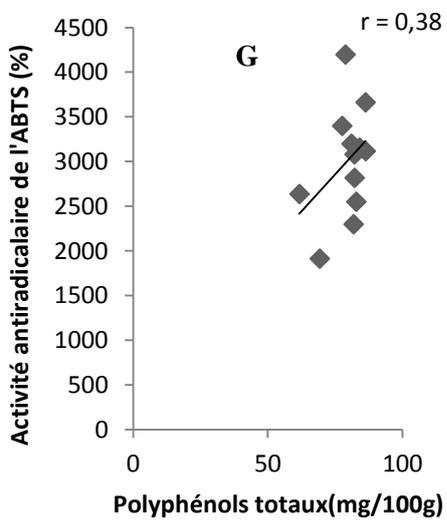
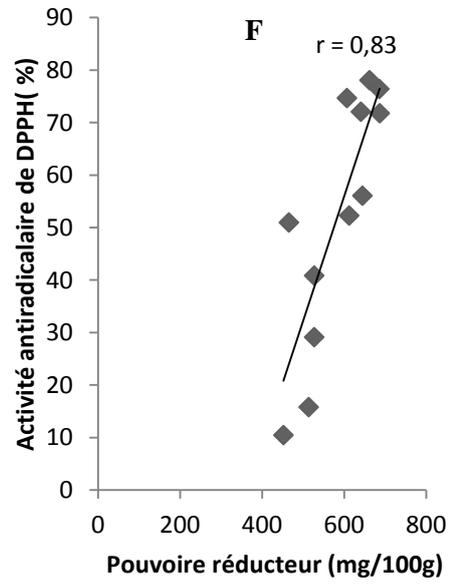
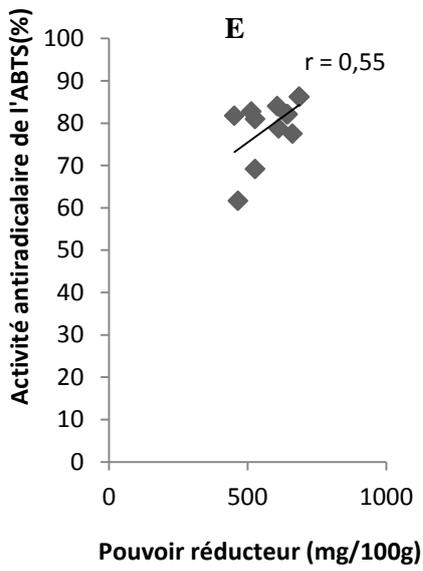


Figure 2 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et en pouvoir réducteur (**A**), et entre polyphénols totaux, activité antiradicalaire de DPPH \cdot (**B**), et entre flavonoïdes, flavonols (**C**), et entre pouvoir réducteur, flavonoïdes (**D**), et entre activité antiradicalaire de l'ABTS $^{\cdot+}$, pouvoir réducteur (**E**), et entre activité antiradicalaire de DPPH \cdot , pouvoir réducteur (**F**), et entre activité antiradicalaire de l'ABTS $^{\cdot+}$, polyphénols(**G**), et entre flavonoïdes, activité antiradicalaire de l'ABTS $^{\cdot+}$ (**H**).





Matériel et réactifs utilisés

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> -Micro-onde -Pompe sous vide - Balance de précision (BP 310 P). - Broyeur électrique (IKA-WORKS, TYPE A11.basic) - Centrifugeuse (PHYWE). - Etuve ventilée (BINDER, MEMMERT, BD53) - pH mètre (HANNA pH 210). -Spectrophotomètre UV-VIS(SHIMACLZU 1240 MINI) - Tamis électrique (RETSH) -Eprouvettes 10, 50, 100 ml. -(Erlenmeyer en verre 100,250, 500, 1000mL. - Bêchers de 25,100, 250,500, 1000 ml. -Micropipettes de 100,200 et 1000 µl. .-Plaque agitatrice (VELP Scientifica). -Réfrigérateur (PHYWE). -Tubes à essai en verre. -Vortex (Tehtnica). 	<ul style="list-style-type: none"> -Acétone 80% (PROLABO) -Acétate de sodium -Acide formique (0,2%) - Acide trichloracétique (10%) - AlCl₃ (2%) (PROLABO) -ABTS - Carbonate de sodium (PROLABO) - Chlorure ferrique FeCl₃ (0,1%) - DPPH (Sigma) - Ethanol 95% (PROLABO) - Ferricyanure de potassium (1%) - HCl (PROLABO) -KCL - Méthanol (PROLABO) -Méthanol 50%(PROLABO) - Phosphate de sodium -Persulfate de potassium - Réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma) -Standards polyphénols (Sigma) : acide gallique, quercétine et catéchine - TCA - Tampon phosphate (pH 6,6 ; 0,2M) -Tampon acétate de sodium (PH4,5) -Tampon de potassium(PH1) -Vanilline 4%

Préparation des solutions

1- Dosage des composés phénoliques

1.1. Dosage des polyphénols totaux

Solutions	Préparation des solutions
Solution de Carbonates de Sodium (7,5%)	7,5 g de Na ₂ CO ₃ sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée.

1.2. Dosage des flavonoïdes

Solutions	Préparation des solutions
Solution d'AlCl ₃ (2%)	2g d'AlCl ₃ sont dissoutes dans 100ml de méthanol 50%

1.3. Dosage des flavonols

Solutions	Préparation des solutions
Solution d'AlCl ₃ (2%)	2g d'AlCl ₃ sont dissoutes dans 100ml de méthanol 50%
Acétate de sodium (5%)	5g d'acétate de sodium sont dissoutes dans 100ml de méthanol 50%

1.4. Dosage des tannins

Solutions	Préparation des solutions
Solution de vanilline (4%)	4g de vanilline sont dissoutes dans 100ml de méthanol

1.5. Dosages des anthocyanines

Solutions	Préparation des solutions
Solution d'acide formique (0,2%)	0,2 ml d'acide formique ajouté à 100ml de méthanol 50%
Tampon de potassium (PH=1, 0,025M)	KCl (0.025M), HCl 0,93g de KCl (0,025M) dans 50ml d'eau distillée ajusté avec HCl
Tampon acétate de sodium (PH4, 5 0,4M)	Acétate de sodium (0,4M) 1,64g d'acétate de sodium (0,4M) dans 50ml d'eau distillée.

2- Activité antioxydante

2.1. Détermination du Pouvoir réducteur

Solutions	Préparation des solutions
Tampon Phosphate (0,2 M. PH = 6,6)	1,42g de Na_2HPO_4 dans 50ml d'eau distillée. 1,2g de NaH_2PO_4 dans 50ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions jusqu'à l'obtention d'une solution à un pH 6,6.
Ferricyanure de K (1%)	0,5g de Ferricyanure de K dans 10ml d'eau distillée
Solution de trichloracétique TCA (10%)	5g de TCA dans 50ml d'eau distillée.
$FeCl_3$ (0,1%)	0,05g de $FeCl_3$ dans 50ml d'eau distillée.

2.2. Méthode 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Solutions	Préparation des solutions
DPPH ($6,10^{-5}M$)	2,36 mg sont dissous dans 50ml de méthanol.

2. 3. Méthode d'acide 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique(ABTS)

Solutions	Préparation des solutions
ABTS (7mM)	38,409 mg sont dissous dans 10ml d'eau distillée.
Persulfate de potassium	6,62mg sont dissous dans 10ml distillée.

Résumé : la présente étude nous a permis, de comparer les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols, anthocyanines et tannins condensés ainsi que l'activité antioxydante (activité antiradicalaire de DPPH[·] et d'ABTS^{·+}, pouvoir réducteur) de trois organe d'aubépine (fleurs, feuilles et fruits) en utilisant le méthanol 50%. Les résultats montrent que les teneurs en antioxydants varient en fonction de type d'organe et d'origine géographique. Les résultats de dosages des polyphénols ne montrent aucune différence significative entre les fleurs, feuilles et fruits d'aubépine. Les fruits d'Iaakouren sont les plus riches en polyphénols alors que celles d'Ait selam sont les plus pauvres. Les fleurs sont plus riches en flavonoïdes que les fruits. Le pouvoir réducteur des extraits d'aubépine ne présente pas de différence significative entre les feuilles, fleurs et fruits d'aubépine, La même chose est notée pour l'activité antiradicalaire de DPPH[·] et d'ABTS^{·+}. Les feuilles de Thawrirth-Ighil et fleurs d'El-Kseur présentent des pouvoirs réducteurs plus élevés que les feuilles d'Oued-Ghir et les fleurs de Toudja. Des teneurs élevées en composés phénoliques ainsi qu'une activité antioxydante importante ont été détectées. Par conséquent ces organes peuvent être considérés comme des sources importantes d'antioxydants.

Mots clés : Aubépine, polyphénols, flavonoïdes, flavonols, tannins condensé, activité antioxydante.

Abstract: This study allowed us, to compare the levels of polyphenols, flavonoids, flavonols, anthocyanins and condensed tannins as well as antioxidant activity (radical-scavenging activity of DPPH[·] and ABTS^{·+}, reducing power) of three organ (flowers, leaves and fruits) using methanol 50%. The results show that the contents of antioxidants vary according to the type of organ and geographical origin. The results of the quantifying of polyphenols show no significant difference between the flowers, leaves and fruits of hawthorn. The Iaakouren fruits are rich in polyphenols, while those of Ait selam are the poorest. The flowers are rich in flavonoids than the fruits. The reducing power of extracts of hawthorn shows no significant difference between the leaves, flowers and fruits of hawthorn, the same is noted for the radical scavenging activity of DPPH[·] and ABTS^{·+}. The leaves of Thawrirth-Ighil and flowers of El-Kseur have higher reducing powers than Oued-Ghir leaves and Toudja flowers. High content of phenolic compounds and as well as a significant antioxidant activity have been detected in the three organ. Therefore, these organs can be considered as important sources of antioxidants.

Keywords: Hawthorn, polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins, antioxidant activity.