

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BENSMINE Hadjer**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCE ALIMENTAIRE**

**Spécialité: nutrition et pathologie**

THÈME

# Etude de l'activité antioxydante de *l'Annona cherimola*

Soutenu publiquement le 04/07/2019

DEVANT LE JURY

Président	A. CHAALEL	Grade	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	N. BOUKEZZOULA	Grade	MAA	U. Mostaganem
Co-Encadreur	D. HAMED	Grade	Ingénieur	U. Mostaganem
Examineurs	K. ZERROUKI	Grade	MAA	U. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire des Microorganismes bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS)*

*Année universitaire 2018 / 2019.*

## Remerciement

*En premier lieu, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*Mes remerciements à notre Professeur, RIAZI Ali responsable du master en Nutrition et pathologie, et directeur du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) .Merci d'avoir accepté de nous accueillir dans votre laboratoire.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements, à Mme BOUKEZZOULA Nawal, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*J'exprime aussi mes remerciements à Mme ZEROUKI.K pour l'honneur qu'elle me fait d'examiner ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr.CHAALEL Abdelmalek Maitre de Conférences « A » à l'université de Mostaganem, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de l'Université de Mostaganem pour leur gentillesse et leurs conseils spécialement a Mme HAMED Djahira pour sa gentillesse, sa patience, ses encouragement et ses aides dans la réalisation de ce travail .*

*Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

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

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère  
qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice  
et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes  
études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*A mes frères: el-Hachemi et Ilyes.*

*A mes chères tantes : Sabria et Khadidja.*

*A mes chères cousines : Baya, Meriem, Sara, Malek, Nounou, Maria et Aya.*

*A ma sœur et ma chère Amina et mon oncle Mustapha.*

*Spécialement à mes fidèles amies :*

*Khadidja bensmaine, Khadidja benahmed, Nacera, Wissem et Mansour.*

*Et enfin a tous ceux que j'aime et toute ma famille, proche ou éloignée.*



# Résumé

## Résumé

Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies. Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) et l'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait de l'*Annona cherimola*.

L'*Annona cherimola* est un fruit exotique indigène qui a suscité ces dernières décennies un intérêt croissant en raison de son goût savoureux, sa valeur nutritive et son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Comme d'autres fruits et légumes c'est une source importante de différents antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, acide ascorbique, ect) ces composés ont des effets bénéfiques sur la santé humaine car ils possèdent de nombreuses activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, ce qui protège et inhibe les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain.

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante d'extrait d'*Annona cherimola*.

Les résultats indiquent un rendement en extrait brut de 13.48%, se caractérise par a un taux important en Polyphénols totaux qui est égal a **475** mg GAE/g ES et une teneur en flavonoïdes de **93.03** mg/ml.

Les résultats obtenus confirment que l'*Annona cherimola* est une source importante de composés phénoliques que de flavonoïdes, et par rapport a d'autres espèces elle a une activité antioxydante plus importante.

**Mots-Clés** : *Annona cherimola*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, FRAP.

## Abstract

Antioxidant compounds are the subject of much research because, in addition to their use as preservatives in food by replacing synthetic antioxidants, they are involved in the treatment of many diseases. As part of the discovery of new antioxidants from natural sources, we have been interested in this work to study phenolic compounds (polyphénols and flavonoid) and evaluate the antioxidant activity of *Annona cherimola* extract.

*Annona cherimola* is an indigenous exotic fruit that has attracted increasing interest in recent decades due to its delicious taste, nutritional value and use in traditional medicine.

Like other fruits and vegetables it is an important source of different antioxidants (phenolic compounds, flavonoids, ascorbic acid, etc.) these compounds have beneficial effects on human health because they possess many biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial activity, which protects and inhibits the harmful effects of free radicals on the human body.

The objective of this work is to evaluate the antioxidant activity of *Annona cherimola* extract.

The results indicate a crude extract yield of **13.48%**, characterized by a high level of total polyphenols which is equal to **475** mg GAE/g ES and a flavonoid content of **93.03** mg/ml.

The results obtained confirm that *Annona cherimola* is an important source of phenolic compounds than flavonoids, and compared to other species it has a higher antioxidant activity.

**Keywords:** *Annona cherimola*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

## ملخص

المركبات المضادة للأكسدة هي موضوع العديد من الدراسات لأنه، بالإضافة إلى استخدامها كمواد حافظة في الأغذية عن طريق استبدال المواد المضادة للأكسدة الاصطناعية، وأنهم متورطون في علاج الكثير من الأمراض. كجزء من اكتشاف مضادات الأكسدة جديدة من مصادر طبيعية، ونحن مهتمون في هذا العمل لدراسة المركبات الفينولية واستخراج النشاطات المضادة للأكسدة للقشطة.

القشطة هي ثمرة ذات أصل غريب التي أثارت في العقود الأخيرة اهتماما متزايدا بسبب طعمها اللذيذ والقيمة الغذائية لها، واستخدامها في الطب التقليدي.

مثل الفواكه والخضروات وغيرها لها مصدرا هاما لمختلف المواد المضادة للأكسدة (الفينولات، فلافونيدات وحمض الأسكوربيك، الخ) هذه المركبات لها آثار مفيدة على صحة الإنسان لأن لديها أنشطة بيولوجية بما في ذلك العديد من النشاطات المضاد لأكسدة والمضادة لالتهابات ومضاد للجراثيم والحماية ويمنع التأثيرات الضارة للجذور الحرة على الجسم البشري.

والهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة من القشطة، أشارت النتائج إلى العائد من استخراج نسبة 13.48% من البوليفينول، وهي نسبة عالية من إجمالي البوليفينول، وهو ما يعادل 475 ملغ / GAE ز ES ومحتوى الفلافونويد من 93.03 ملغ / مل.

وتؤكد النتائج أن القشطة هي مصدرا هاما من المركبات الفينولية و الفلافونويد، وفيما يتعلق بالأنواع الأخرى لديها النشاط المضاد للأكسدة أعلى.

العلامات: القشطة ، البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH ، FRAP.

# Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	2

## Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. L' <i>Annona cherimola</i> .....	5
I.1.1. Généralités .....	5
I.1.2. Caractères morphologiques .....	5
I.1.3. Classification, noms populaires et description botanique .....	6
a. Classification.....	6
b. Noms communs du fruit <i>Annona cherimola</i> .....	7
c. Description botanique .....	7
I.1.4. Propriétés thérapeutiques .....	8
I.1.5. Usages .....	8
I.1.6. Composition nutritionnelle .....	9
I.1.7. Constituants phytochimiques .....	9
I.2. L'inflammation et la production des radicaux libres .....	10
I.2.1. Introduction .....	10
I.2.2. Les différentes phases de l'inflammation .....	10
I.2.3. La production de radicaux libres ou agents du stress oxydant .....	11
I.2.4. Le stress oxydant .....	12
I.2.5. Aspect d'activité antioxydante .....	13
a. Stress oxydatif .....	13
b. Espèces réactives (RS) .....	13
I.2.6.. Antioxydants .....	14

I.2.6.1. Antioxydants endogènes enzymatiques .....	14
I.2.6.2. Antioxydants endogènes non enzymatiques .....	15
a. Glutathion (GSH) .....	15
b. Acide urique .....	15
c. Bilirubine .....	16
d. Mélatonine .....	16
e. Coenzyme Q10 (CoQ10).....	16
I.2.6.3. Antioxydants exogènes .....	16
a. Vitamine C .....	16
b. Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) .....	17
c. Caroténoïdes .....	17
I.2.6.4. Polyphénols .....	17
a. Structure chimique des polyphénols .....	18
b. Classes majeures des polyphénols .....	18
I.2.6.5.. Flavonoïdes .....	20
a. Classes majeures des flavonoïdes .....	20
b. Tannins.....	20
I.2.7. Activité antioxydante des polyphénols .....	21
I.2.7.1. Relation structure-activité antioxydante des polyphénols (SAR) .....	21
I.2.7.2.SAR des acides phénoliques .....	22
I.2.7.3.SAR des acides flavonoïdes .....	22

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

II.1. Objectif .....	25
II.2. Echantillon .....	25
II.3. Extraction et dosage des polyphénols .....	25
a. Extraction .....	25
b. Macération .....	27

c. Evaporation .....	28
II.4. Dosage des antioxydants .....	29
II.4.1. Dosage des composés phénoliques .....	29
a. Dosage des polyphénols totaux .....	29
b. Dosage des flavonoïdes.....	30
II.5. Mesure de l'activité antioxydante .....	30
II.5.1.Évaluation du pouvoir anti radicalaire .....	30
a. Le test de piégeage du radical DPPH .....	30
b. Test de la réduction du fer FRAP .....	32

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Taux d'extraction .....	35
III.2. Dosage des composés phénoliques totaux .....	35
III.3. Dosage des flavonoïdes .....	37
III.4. Détermination du potentiel antioxydant d'extrait d'annone .....	38
III.4.1. Méthode de FRAPP .....	38
III.4.2. Evaluation de pouvoir anti radicalaire par DPPH .....	41
Conclusion .....	46
Références bibliographiques .....	48
Annexes .....	60

## Liste des abréviations

**CAT** : catalase

**CoQ10** : Coenzyme Q10

**Cu** : cuivre

**DO** : Densité Optique

**DPPH** : radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl

**Eb** : Extrait brut

**FRAP** : Ferric reducing-antioxidant power

**GPx** : la glutathion peroxydase

**GSR** : Glutathion réductase

**GSH** : Glutathion

**HOCl** : Acide hypochloreux

**IC50** : Concentration Inhibitrice 50

**Kcal** : Kilo calories

**LDL** : Lipoprotéines de densité légère

**Mn** : Manganèse

**NADH** : La nicotinamide adénine dinucléotide

**NO** : Oxyde nitrique

**pH** : Potentiel hydrogène

**R**: Rendement

**RCS** : Reactive Chlorine Species

**RL** : Radicaux libres

**RNS** : Reactive Nitrogen Species

**ROS** : Reactive Oxygen Species (espèces réactives de l'oxygène)

**RS** : Espèces réactives

**SAR** : Structure-Activity Relationships (Relation structure-activité antioxydante)

**Se** : Sélénium

**SM** : Solution mère

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TP** : Tampon phosphate

**UV** : Ultraviolet

**XVI<sup>o</sup>** : 14<sup>ème</sup> siècle

**Zn** : Zinc

**µm**: nanomètre

**µg** : Microgramme

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b> : Représentation des différents noms populaires de l'annone dans différents pays.	<b>7</b>
<b>Tableau 02</b> : Composition nutritionnelle de 100 g de pâtes d' <i>Annona cherimola</i> .	<b>9</b>
<b>Tableau 03</b> : Classes des composés phénoliques des plantes.	<b>18</b>

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01 :</b> Représentation des différents caractéristiques morphologiques (arbre, feuilles, fruit et graines) du fruit <i>Annona cherimola</i> .	<b>6</b>
<b>Figure 02 :</b> Les principales étapes de la réaction inflammatoire.	<b>11</b>
<b>Figure 03 :</b> Les principales sources des radicaux libres.	<b>12</b>
<b>Figure 04 :</b> Vue d'ensemble des voies antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques impliquées dans le contrôle des RS dans les systèmes biologiques.	<b>15</b>
<b>Figure 05 :</b> Structure chimique générale des acides hydroxybenzoïques à gauche et des acides hydroxycinnamiques à droite.	<b>19</b>
<b>Figure 06 :</b> Structure chimique générale des flavonoïdes.	<b>20</b>
<b>Figure 07 :</b> Exemple d'unité structurelle de base des tanins condensés.	<b>21</b>
<b>Figure 08 :</b> structure chimique de l'acide gallique et l'acide syringique.	<b>22</b>
<b>Figure 09 :</b> Diagramme représentant les étapes adoptées pour l'extraction des composés phénoliques totaux.	<b>26</b>
<b>Figure 10 :</b> Etapes d'extraction par macération.	<b>27</b>
<b>Figure 11 :</b> représentation de l'évaporateur rotatif.	<b>28</b>
<b>Figure 12:</b> Structure chimique du radical libre DPPH.	<b>31</b>
<b>Figure 13 :</b> Structure chimique de réduction du radical DPPH.	<b>31</b>

<b>Figure 14 :</b> Taux d'extraction des polyphénols de l'échantillon d'écorce d'annone.	<b>35</b>
<b>Figure 15 :</b> Teneur en phénols totaux dans l'extrait d'écorce d'annone.	<b>36</b>
<b>Figure 16 :</b> Teneur en flavonoïdes dans l'extrait d'annone.	<b>37</b>
<b>Figure 17:</b> Pouvoir réducteur de l'extrait d'annone a différentes concentration.	<b>39</b>
<b>Figure 18:</b> Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% du fer de l'extrait en mg/ml par rapport à l'acide ascorbique.	<b>40</b>
<b>Figure 19 :</b> Pouvoir réducteur du DPPH de l'extrait d'annone.	<b>42</b>
<b>Figure 20:</b> Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% de radicaux libre (DPPH) de l'extrait par rapport à l'acide ascorbique.	<b>43</b>

# Introduction

## Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle. Selon (Mokkadem, 1999), l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques, ces espèces à vertus médicinales, peuvent être utilisées comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols, vitamines). Ainsi, la valorisation de ces plantes à des fins thérapeutiques, pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques a fait l'objet de plusieurs recherches.

L'anone appelée aussi chérimole est le fruit du chérimolier (*Annona cherimola*), arbre tropical rencontré principalement en Amérique du Sud, dans la Cordillère des Andes d'où il est originaire et où il se fait appeler Cherimoya, Chirimoya ou Churimoya (Park et al., 2011).

D'un point de vue médicinal, l'anone est un laxatif naturel qui peut traiter la constipation passagère. Il a aussi une action favorable sur le taux de cholestérol, l'hypertension artérielle, et les troubles cardiaques. Par contre, aucune étude scientifique clinique ne démontre que l'anone a une action préventive contre le cancer, ni curative concernant le diabète, malgré ce qui peut être écrit sur certains sites (Monica et al., 2012).

Le genre *Annona* est l'un des plus riches en espèces avec 118 espèces connues dont 108 originaires d'Amérique tropicale et 10 d'Afrique tropicale et de Madagascar. Ses caractéristiques botaniques sont homogènes ; les fruits sont pseudosyncarpiques charnus, permettant de les classer dans la sous famille des Annonoïdeae (Park et al., 2011).

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur des composés phénoliques et flavonoïdes dans la pulpe du fruit *Annona cherimola*. Ensuite d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique de fruit étudié par:

- Evaluation des teneurs en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes) et l'activité antioxydante (pouvoir réducteur, l'activité anti-radicalaire DPPH et FRAP) de l'extrait de pulpe du fruit *Annona cherimola*.

Notre travail est organisé en plusieurs parties:

- La première est consacrée à une étude bibliographique sur la plante, afin de regrouper les informations essentielles
- La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées : extraction du fruit *Annona cherimola*, détermination de l'activité antioxydante depuis l'extrait obtenu.

- Dans la troisième partie, les résultats sont exposés et discutés en les comparant à ceux publiés dans la littérature scientifique internationale.
- L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir.

**Chapitre I**

**Revue**

**bibliographique**

## **I.1. L'*Annona cherimola***

### **I.1.1. Généralités**

L'*Annona cherimola* de la famille des *Annonacées*, est considéré de point de vue qualité, comme le meilleur fruit du genre *Annona* et même comme un des meilleurs fruits subtropicaux, d'où son nom « Reine des fruits subtropicaux » (**Xavier, 2002**)

L'*Annona cherimola* est principalement cultivée dans les hautes terres de niveau de la mer jusqu'à environ 1400 m d'altitude. Dans la Colombie et en Équateur, elle pousse naturellement en altitude entre 1400-2000 m où la température varie entre 17-20°C (**Arun et al., 2011**).

Le fruit est pseudosyncarpique, ovoïde ou réniforme. D'une longueur de 15 à 20 cm, voire 30 cm, et d'une largeur pouvant atteindre 15 cm, sa masse varie de 0,7 à 2 ou 3 kg selon les variétés. La peau, tendre, au goût amer, est hérissée d'épines souples. Sa couleur varie du vert sombre pour le fruit immature au jaune vert à maturité (**Jessica, 2012**).

Le fruit peut se séparer en carpelles et l'endocarpe, blanc crème, a un aspect granuleux. Dans chaque carpelle fertile on trouve une graine noire ovale, aplatie, dure et lisse, mesurant de 1 à 2 cm de long. Un gros fruit peut contenir de quelques dizaines à 200 graines à l'intérieur (**Kirk et al., 2009**).

### **I.1.2. Caractères morphologiques**

L'*Annona cherimola* est un semi-décidue ou arbuste ou petit arbre atteignant 7 m de hauteur (**Arun et al., 2011**).

- Les feuilles sont brièvement caduques à semi-caduques. Elles sont alternatives, deux rangées, avec des pétioles velus minutieusement ; ovées à elliptiques, l'apex obtus a obtusément aigu au sommet, légèrement pubescentes sur la face supérieure, velouté sur la surface inférieure (**Xavier, 2002**).
- Fleurs parfumées, de couleur blanc verdâtre ou jaunâtre, solitaires ou en groupe de deux ou trois, courtes surtiges velues, avec trois tépales pétales verdâtres, charnus, allongés et trois tépales intérieurs plus petits (**Arun et al., 2011**).

- Le fruit est conique ou un peu en forme de cœur, de 10 à 20 cm de long et jusqu'à 10 cm de largeur. La peau peut être lisse avec des marques comme impression doigt ou recouverte de protubérances coniques ou arrondies. Le fruit peut se séparer en carpelles et l'endocarpe, crème blanc, a un aspect granuleux. Dans chaque carpelle fertile on trouve des graines noires ovales, aplaties, dures et lisses, mesurant de 1.25 à 2 cm de long (Xavier, 2002).



**Figure 01** : Représentation des différentes caractéristiques morphologiques (arbre, feuilles, fruit et graines du fruit *Annona cherimola* ([fr.wiktionary.org](https://fr.wiktionary.org))).

### I.1.3. Classification, noms populaires et description botanique

#### a. Classification (Fries, 1989)

- **Nom commun** : Chérimolier. Anone chérimolier.
- **Nom du fruit** : Chérimole.
- **Nom scientifique** : *Annona cherimola*.
- **Ordre** : Magnoliales.
- **Famille** : Annonaceae – Annonacées.
- **Genre** : *Annona* L.

## b. Noms communs du fruit *Annona cherimola*

Les noms populaires du fruit *Annona cherimola* dans différents pays sont représentés dans le tableau (**tableau 01**).

**Tableau 01** : Représentation des différents noms populaires de l'annone dans différents pays (**Chauvet, 2018**).

<b>Français</b>	Chérimolier, chérimoyer, chirimoya, annone, corossol du Pérou
<b>Anglais</b>	Cherimoya
<b>Allemand</b>	Cherimolia, Cherimoyabaum, Peruanischer Fraschenbaum (Fouqué) ; Cherimoya
<b>Italien</b>	chirimoyo / anona, annona, chirimoya
<b>Espagnol</b>	anón (Gua), chirimoya (Es, Aml), chirimoya del Peru (Es), chirimorrinón (Vén) (Fouqué) ; chirimoyo / chirimoya
<b>Portugais</b>	anona do Chile (Bré), chirimolia (Fouqué) ; cherimóia

## c. Description botanique

L'*Annona cherimola* est un arbuste persistant de 3 à 7 m de haut. Ses feuilles, oblongues à ovales, mesurent de 6 à 20 cm de long et de 2 à 6 cm de large, à la base arrondie à cunéiformes. Celles-ci sont alternes, épaisses, luisantes sur la face supérieure, glabres, plus ou moins acuminées (**Kirk et al., 2009**). L'apex est aigu à obtus. Elles sont courtement pétiolées. Fleurs, solitaires, d'un diamètre d'environ 4 cm, peuvent apparaître partout sur le tronc ou les branches. Elles sont de couleur jaunâtre, avec des sépales pétaloïdes charnus, les 3 pétales internes étant plus petits que les 3 pétales externes.

Le fruit est pseudosyncarpique, ovoïde ou réniforme. D'une longueur de 15 à 20 cm, voire 30 cm, et d'une largeur pouvant atteindre 15 cm, sa masse varie de 0,7 à 2 ou 3 kg selon les variétés. La peau, tendre, au goût amer, est hérissée d'épines souples. Sa couleur varie du vert sombre pour le fruit immature au jaune vert à maturité (**Kirk et al., 2009**).

Le fruit peut se séparer en carpelles et l'endocarpe, blanc crème, a un aspect granuleux. Dans chaque carpelle fertile on trouve une graine noire ovale, aplatie, dure et lisse, mesurant de 1 à 2 cm de long. Un gros fruit peut contenir de quelques dizaines à 200 graines. Utilisation alimentaire, en médecine traditionnelle et en phytothérapie ([Kirk et al., 2009](#)).

### **I.1.4. Propriétés thérapeutiques**

Grâce à ses riches composants formés entre autres par des acides aminés, vitamines et minéraux, l'*Annona cherimola* est un allié thérapeutique entièrement naturel et ne produit certainement pas d'effets secondaires inopinés à condition de le consommer.

En jus de fruit, sorbet ou confiture, le chérimole est recommandé dans des cas d'insomnie, de dépression et de troubles nerveux. C'est en outre un agent antimicrobien pour les infections bactériennes, parasitaires et fongiques. Il est aussi bon pour le cœur et stimule la digestion ([Jessica, 2012](#)).

### **I.1.5. Usages**

L'*Annona cherimola* est essentiellement un dessert qui est consommé frais. Il peut également être utilisé pour faire de la crème glacée, des milkshakes ou des sorbets et est aussi transformé en yaourts, jus et flans. En raison de ses caractéristiques enzymatiques, l'anone ne peut pas être soumise à des procédés thermiques et pour son traitement s'est conseillé d'utiliser la réfrigération ou bien la congélation avec l'ajout d'antioxydants pour éviter l'oxydation enzymatique ([Arun et al., 2011](#)).

Traditionnellement, les graines d'anone sont broyées et utilisées comme insecticides, surtout pour tuer les poux et la guérison des affections cutanées parasitaires. Une décoction de l'écorce est utilisée comme un tonique et un remède contre la diarrhée. La racine est mâchée pour soulager les maux de dents et une décoction de la racine est utilisée pour traiter les fièvres. Une décoction de feuilles est utilisée pour traiter les vers. Ces derniers servent aussi à tanner le cuir ([Xavier, 2002](#)).

Biochimiquement, les graines d'anones sont une source importante d'acétogénines, un type d'alcaloïde, qui montrent des activités antiparasitaires et cytotoxiques qui sont utilisées dans l'industrie pharmaceutique ([Patricia et al., 2015](#)).

### I.1.6. Composition nutritionnelle

La composition nutritionnelle de l'anone est celui d'un fruit doux mais avec une teneur élevée en glucides et faible teneur en gras (**tableau 02**). Sa teneur en vitamine A est modeste, mais c'est une bonne source de thiamine, riboflavine, niacine, fer, calcium et de phosphore (**Arun et al., 2011**)

**Tableau 02** : Composition nutritionnelle de 100 g de pâtes d' *Annona cherimola* (**Arun et al., 2011**).

Constituants	Quantité (par 100g de la partie comestible)
Eau	77.1g
Protéines	1.9g
Graisses	0.1g
Glucides	18.2g
Fibres	2g
Cendres	0.7g
Calcium	32mg
Phosphore	37mg
Fer	0.5mg
Vitamine A	0.01IU
Thiamine (Vitamine B1)	0.1mg
Riboflavine (Vitamine B2)	0.14mg
Niacine	0.9mg
Acide ascorbique (Vitamine C)	5mg
Calories	73Kcal

### I.1.7. Constituants phytochimiques

- L' *Annona cherimola* contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des glycosides, des saponines, des tanins, des glucides, des protéines, des composés phénoliques, des phytostérols et des acides aminés (**Arun et al., 2011**).
- Les divers constituants chimiques isolés de tige et des graines de la plante y compris l'annochérine A et B, cherianoïne, aromina, N-cis-cafféoyltyramine, dihydroféruoyltyramine, N-trans-feruoylméthoxytyramine et N-cis

feruloyltyl-methoxytyramine. Les graines contiennent des cyclopeptides : cherimolacyclopeptide A, B, C, D et E (Arun *et al.*, 2011).

- Les constituants volatils de l'écorce de *Annona cherimola* ont été identifiés à partir de l'huile essentielle obtenue par distillation et étudiés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et spectrométrie de masse. Les principaux composés ont été identifiés comme butanoate de méthyle, butanoate de butyle, 3-méthyle butanoate et 5-hydroxyméthyl-2-furfural (Arun *et al.*, 2011).

## **I.2. L'inflammation et la production des radicaux libres**

### **I.2.1. Introduction**

Toute agression ou lésion tissulaire quelle que soit sa cause (infectieuse, physique, chimique ou ischémique) produit une réaction inflammatoire. L'inflammation est un processus dynamique, constitué par un ensemble de réactions vasculaires, cellulaires et humorales. Elle permet l'élimination de l'agent agresseur et des débris cellulaires et la réparation des tissus lésés (Zeghal et Sahnoun, 2013).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (Schorderet et Dayer, 1998).

Deux stades de l'inflammation existent, l'inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), qui est médiée par l'activation du système immunitaire. Ce type d'inflammation persiste seulement pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte. Si l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation ou inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer (Lin *et al.*, 2007).

### **I.2.2. Les différentes phases de l'inflammation**

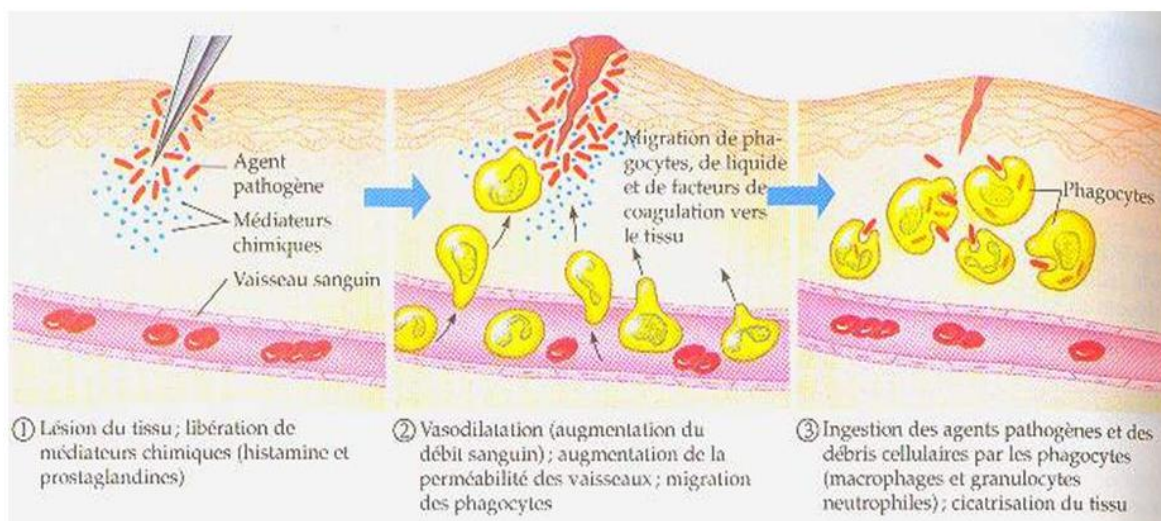
La réaction inflammatoire comprend quatre phases qui se chevauchent dans le temps : une phase vasculo-exsudative qui correspond à une congestion active des vaisseaux associée à une exsudation inflammatoire formant un œdème (**figure 02**). Elle s'accompagne aussi d'une migration par diapédèse de leucocytes au lieu de l'inflammation pour constituer la phase du granulome inflammatoire. Cette dernière est ensuite suivie d'une phase de détersion qui

comporte l'élimination des tissus nécrotiques, des germes, des corps étrangers éventuels et du liquide d'œdème (Zeghal et Sahnoun, 2013).

On distingue :

- La détersion interne assurée par l'action phagocytaire des macrophages ;
- La détersion externe qui peut être naturelle (fistulisation à la peau d'un abcès des parties molles) ou artificielle (drainage chirurgical d'un abcès).

Enfin, se manifeste la phase de cicatrisation qui comporte la formation d'un bourgeon charnu qui évoluera vers une fibrose cicatricielle. Elle débute sous forme de tissu de granulation (fait de bourgeons capillaires, de phagocytes et de fibroblastes) qui se développe à la base du tissu inflammatoire. Les cellules inflammatoires diminuent tandis que les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules endothéliales se divisent et repeuplent ce tissu inflammatoire (Zeghal et Sahnoun, 2013).

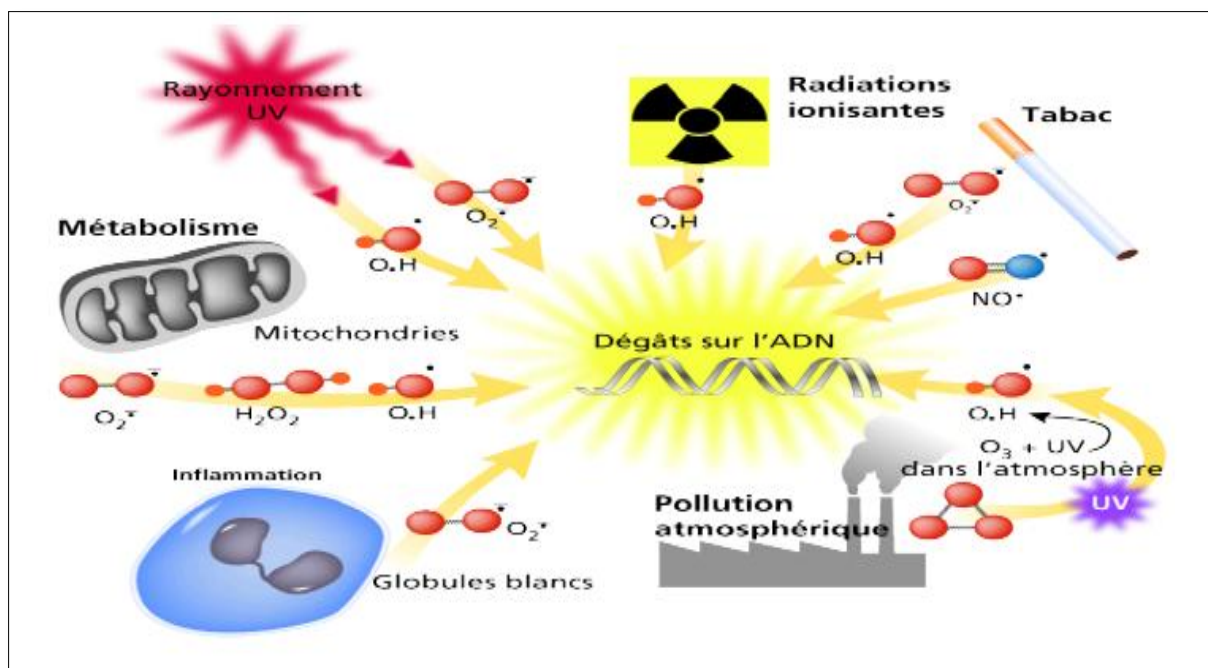


**Figure 02** : Les principales étapes de la réaction inflammatoire ([leshaberges.ac-besancon.fr](http://leshaberges.ac-besancon.fr)).

### I.2.3. La production de radicaux libres ou agents du stress oxydant

Le stress oxydant peut avoir diverses origines ; tel que des facteurs environnementaux comme, l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les

mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (**figure 03**) (**Thanan et al., 2014**).



**Figure 03** : Les principales sources des radicaux libres (**Paincmail et al., 2008**).

Au cours de l'inflammation, les mastocytes et les leucocytes sont recrutés sur le site de la lésion, ce qui conduit à une "stimulation du métabolisme oxydatif", due à une assimilation accrue de l'oxygène et, par conséquent, une libération et une accumulation accrue d'espèces réactives de l'oxygène sur le site de dommage (**Hussain et al., 2009**).

Il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée de radicaux libres ou par une diminution des systèmes de défense (enzymatiques et non enzymatiques), ou encore par une association de ces deux phénomènes. Un tel déséquilibre entre systèmes producteurs d'ERO et systèmes de défense caractérise l'état de stress oxydant, sans qu'il soit aisé de déterminer si ce dernier est causal ou s'il constitue seulement une réponse de l'organisme à des stimuli, notamment inflammatoires (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

## **I.2.4. Le stress oxydant**

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydante, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et

acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (**Belaïch *et al.*, 2015 ; Belaïch et Boujraf, 2016**).

Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (**Reuter *et al.*, 2009**). La balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. En médecine la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé (**Davies *et al.*, 1999; Finkel and Holbrook, 2000**). Son déséquilibre est sujet de nombreux problèmes comme les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives.

Cette balance est dynamique et est maintenue dans son bon équilibre par des mécanismes enzymatiques ou par des apports extérieurs de molécules très actives (**Nogueira *et al.*, 2008**). Dans les conditions normales, les antioxydants doivent être plus importants que les pro-oxydants, mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (**Reuter *et al.*, 2009**).

## **I.2.5.Aspect d'activité antioxydante**

### **a. Stress oxydatif**

Le stress oxydant a été défini par Sies en 1991 comme une perturbation dans le statut antioxydant/pro-oxydant (**Halliwell, 2007**). En d'autres termes, le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre la production des espèces réactives (RS) et les capacités antioxydantes de l'organisme. Bien que le stress oxydant excessif peut entraîner des dommages oxydatifs, il est en soi pas nécessairement dommageable et peut être transitoire et réversible (**Winterbourn, 2015**).

### **b. Espèces réactives (RS)**

Les espèces réactives (RS) ou entités oxydantes sont souvent des radicaux libres qui sont des atomes ou groupes d'atomes ayant un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs orbitales ultrapériphériques. Ces électrons célibataires ne sont pas compensés ce qui provoque des dérèglements dans leur champs magnétiques, rendant ainsi ces espèces très instables. Elles vont alors tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme les substrats biologiques, en les oxydant (**Halliwell, 2007**).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives: les ROS et les espèces réactives d'azote RNS (Reactive Nitrogen Species) (Wu *et al.*, 2013). Il existe d'autres variétés d'entités oxydantes ou de radicaux, tel que: les espèces réactives du chlore RCS (Reactive Chlorine Species) comme l'acide hypochlorique, HOCl (Auberval, 2010), les radicaux centrés du carbone et les radicaux centrés du soufre (Wu *et al.*, 2013).

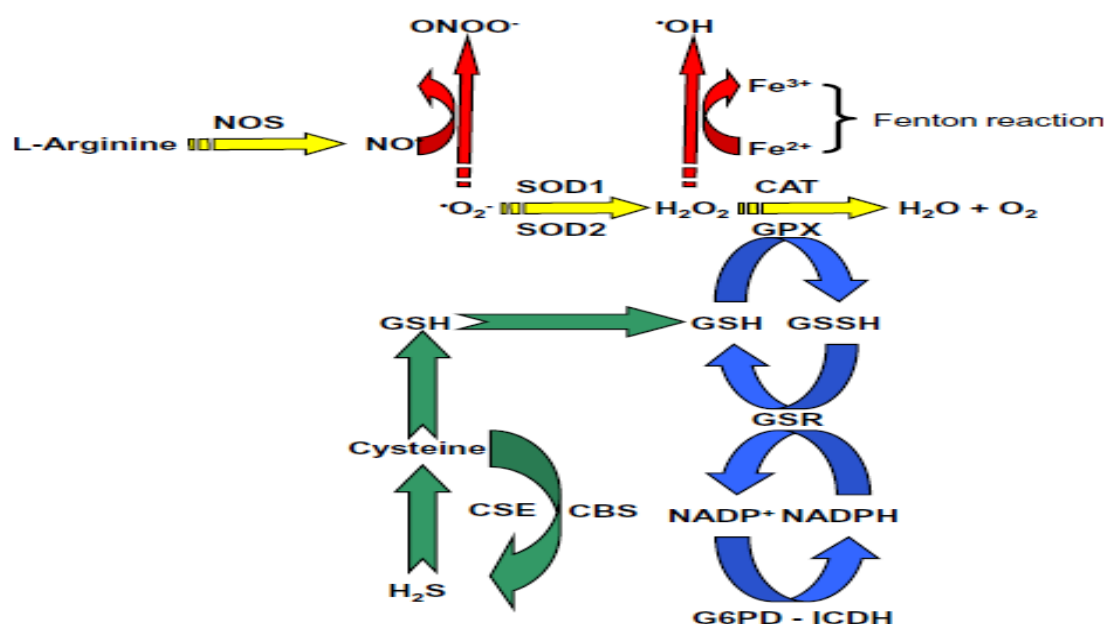
### **I.2.6. Antioxydants**

Le concept d'antioxydant biologique se réfère à toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable, elle retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat de manière significative (Halliwell et Gutteridge, 1999).

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent donner des électrons et / ou des atomes d'hydrogène aux oxydants, ainsi arrêter les réactions en chaîne et par ce fait ils vont réduire le stress oxydatif et leur paramètres de dommages cellulaires (Litescu *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2013 ; Siti *et al.*, 2015). Ils sont classés en antioxydants endogènes qui peuvent être enzymatiques et non enzymatiques et en antioxydants exogènes.

#### **I.2.6.1. Antioxydants endogènes enzymatiques**

Les enzymes antioxydantes sont la première ligne de défense contre les entités oxydantes. Leur rôle est de diminuer la quantité des ROS présentes dans la cellule. Parfois ces enzymes nécessitent des oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Se, Fe) comme cofacteurs pour pouvoir exercer leur activité enzymatique (Auberval, 2010). Les enzymes principales sont les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT), les Glutathion peroxydases (GPx) et les Glutathion réductases (GSR) (figure 04).



**Figure 04 :** Vue d'ensemble des voies antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques impliquées dans le contrôle des RS dans les systèmes biologiques (Al-Gubory, 2014).

## 1.2.6.2. Antioxydants endogènes non enzymatiques

### a. Glutathion (GSH)

Le GSH est un tripeptide formé dans le foie par la condensation de trois acides aminés, à savoir l'acide glutamique, la glycine et la cystéine; ( $\gamma$ -L-Glutamyl-cystéinyl-glycine). La synthèse de GSH est catalysée séquentiellement, par deux enzymes cytosoliques; la  $\gamma$ -glutamyl-cystéine synthétase et la GSH synthétase (Gu *et al.*, 2015 ; Maurya *et al.*, 2016).

Le GSH est le principal antioxydant endogène produit par les cellules; participe directement à la neutralisation des ROS, et au maintien des antioxydants exogènes, tels que les vitamines C et E, sous leurs formes réduites (Rajendran *et al.*, 2014).

Il est intéressant que d'autres thiols par leur pouvoir d'interagir avec l'oxyde nitrique (NO) et de le neutraliser, en même temps il fournit un mécanisme de régulation supplémentaire pour les processus liés aux ROS comme le s-nitrosylation (Uys *et al.*, 2014 ; Lushchak, 2014).

### b. Acide urique

L'acide urique a prouvé sa capacité à éliminer les radicaux libres résultant des processus délétères, tels que l'auto-oxydation de l'hémoglobine et les peroxydes produits par les macrophages. C'est un piègeur efficace de l'oxygène singulet et des radicaux peroxydes et hydroxyles, ainsi il protège la membrane érythrocytaire de la peroxydation lipidique. L'acide urique peut perdre leur activité antioxydante dans les milieux lipidiques hydrophobes et

devenir un oxydant sous l'effet des lipides oxydés, des hydroperoxydes lipidiques et des ions de cuivre (Pisoschi et Pop, 2015).

### **c. Bilirubine**

Au contraire du glutathion hydrosoluble qui protège essentiellement les protéines solubles dans l'eau, la bilirubine lipophile empêche la peroxydation des lipides membranaires. Malgré, les quantités de bilirubine qui sont des milliers de fois plus petites que celles du glutathion, elle peut agir efficacement, en raison du cycle de sa régénération à partir de la biliverdine, impliquant la biliverdine réductase. En présence de la biliverdine, la bilirubine s'est révélée un bon piègeur des radicaux peroxydes et a également confirmé sa capacité à diminuer l'influence mutagène des espèces oxydantes, des hydrocarbures aromatiques polycycliques et des amines hétérocycliques (Pisoschi et Pop, 2015).

### **d. Mélatonine**

La mélatonine joue un rôle important dans les processus antioxydants et neuroprotecteurs, c'est un antioxydant amphiphile capable de piéger à la fois des espèces oxygénées et azotées telles que le OH·, le O<sub>2</sub>·<sup>-</sup> ou l'ON· (Vielma *et al.*, 2014; Arnao et Hernandez-Ruiz, 2006), et de présenter une excellente activité protectrice contre le stress oxydatif mitochondrial (Lowes *et al.*, 2013). Cette hormone et ses métabolites régularisent également les enzymes prooxydantes et pro-inflammatoires telles que l'oxyde nitrique synthase et la cyclooxygénase-2.

Elle peut déclencher le complexe mitochondrial (I), augmentant ainsi la production d'ATP en limitant le flux d'électrons et empêchant l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (Acuna-Castroviejo *et al.*, 2003 ; Hardeland, 2005).

### **e. Coenzyme Q10 (CoQ10)**

Le coenzyme Q10 est un antioxydant puissant qui confère la résistance aux dommages mitochondriaux provoqués par les ROS ou RNS et qui peut supprimer la production de substances pro-inflammatoires, tel que l'expression du gène codant le facteur nucléaire  $\kappa$  B (NF  $\kappa$  B) et la production des cytokines pro-inflammatoires (Maes *et al.*, 2011).

## **I.2.6.3. Antioxydants exogènes**

### **a. Vitamine C**

La vitamine C (acide ascorbique), est l'un des antioxydants exogènes hydrosolubles les plus répandus (Spector et Johanson, 2014). Elle est un bon scavenger des RS dans les milieux biologiques, en particulier des radicaux hydroxydes, alcoxydes et d'anions

superoxydes, en formant l'acide semi-déhydroascorbique, et par conséquent, elle empêche la dégradation oxydative des biomolécules essentielles ([Sung et al., 2004](#); [Du et al., 2012](#)).

Elle protège également les phospholipides membranaires des dommages de la peroxydation lipidique, par le piégeage des radicaux libres dans le cerveau ([May, 2012](#) ; [Pisoschi et Pop, 2015](#)).

L'efficacité de l'acide ascorbique comme antioxydant primaire dans le plasma, a été rapportée comme la plus grande, suivi par la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, et de la vitamine E ([Pisoschi et Pop, 2015](#)).

### **b. Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. L'  $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols, sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe ([Singh et al., 2005](#)).

La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) lutte contre la peroxydation lipidique des membranes cellulaires et peut arrêter la chaîne de radicaux libres en formant des dérivés de faible réactivité, incapables d'attaquer les substrats lipidiques. Ainsi, la vitamine E joue un rôle dans la préservation de la membrane contre les dommages des radicaux libres promu par les lipoprotéines de faible densité (LDL) ([Pisoschi et Pop, 2015](#)).

### **c. Caroténoïdes**

Ils sont majoritairement représentés par la  $\beta$ -carotène, appelée aussi « pro-vitamine A ». La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singlet et ainsi empêchent l'oxydation de plusieurs substrats comme les acides gras polyinsaturés ([Pisoschi et Pop, 2015](#)).

### **I.2.6.4. Polyphénols**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal ([Haslam, 1993](#)). Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. Ils sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (tabac, pollution, infections...).

Selon les chercheurs, l'effet protecteur des fruits, légumes et plantes médicinales vis-à-vis des maladies de civilisation (maladies cardiovasculaires, diabète...) serait d'ailleurs lié à la présence de polyphénols, flavonoïdes et acides phénoliques, dans ces aliments ([Edeas, 2006](#)).

### a. Structure chimique des polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent un large groupe de produits naturels largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires dérivés des voies : pentoses phosphate, shikimate et phénylpropanoïdes dans les plantes (Balasundram *et al.*, 2006). Ces composés sont d'une importance physiologique et morphologique considérable chez les végétaux, ils jouent un rôle important dans leur croissance, leur reproduction, leur pigmentation et dans leur mécanisme de défense contre les rayonnements ultraviolets et les agents pathogènes (Hu et Luo, 2016).

Structurellement, les composés phénoliques comprennent un ou plusieurs cycles aromatiques, portant un ou plusieurs groupements hydroxyle (-OH), et vont de simples molécules phénoliques à des composés hautement polymérisés. La plupart des composés phénoliques d'origine naturelle sont présents sous formes conjuguées; des mono- et des polysaccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénoliques, et peuvent également se produire sous forme de dérivés fonctionnels, tels que des esters et des esters méthyliques (Molino *et al.*, 2016).

### b. Classes majeures des polyphénols

En fonction du nombre de cycles phénoliques et les propriétés structurelles de liage, les polyphénols peuvent être classés en plusieurs catégories, comme indiqué dans le (tableau 03). Parmi ceux-ci, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux composés phénoliques alimentaires (Balasundram *et al.*, 2006).

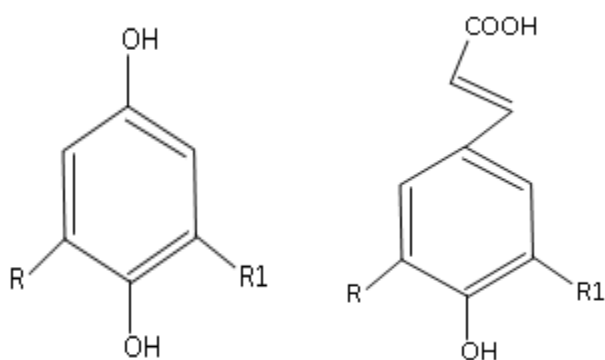
La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford, 1999 ; D'Archivio, 2007).

**Tableau 03** : Classes des composés phénoliques des plantes (Balasundram *et al.*, 2006).

Classes phénoliques	Structure
<b>Polyphénols simples</b>	
Composés phénoliques simples, benzoquinones	C6
Acide Hydroxybenzoïque	C6-C1
Acétophénones, acides phénylacétique	C6-C2

Acide Hydroxycinnamique, phénylpropanoïdes (coumarines, isocoumarines, chromones, chromènes)	C6-C3
Naphtoquinones	C6-C4
<b>Polyphénols complexes (tanins)</b>	
Xanthones	C6-C1-C6
Stilbenes, anthraquinones	C6-C2-C6
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6-C3-C6
Lignanes, néolignanes	(C6-C3) <sub>2</sub>
Biflavonoïdes	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>
Lignines	(C6-C3) <sub>n</sub>
Tanins Condensés (proanthocyanidines ou flavolanes)	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>

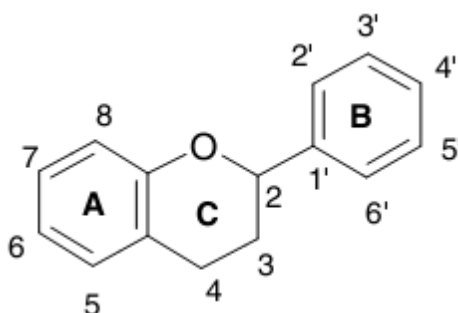
Les acides phénoliques sont généralement divisés en deux groupes principaux: les acides benzoïques, contenant sept atomes de carbone (C6-C1) et les acides cinnamiques, comportant neuf atomes de carbone (C6-C3) (**Figure 05**). Ces composés existent principalement sous forme d'acides hydroxybenzoïques et d'acides hydroxycinnamiques qui peuvent se produire soit sous leur forme libre ou conjuguée ([Martins \*et al.\*, 2011](#) ; [Garrido et Borges, 2013](#)).



**Figure 05** : Structure chimique générale des acides hydroxybenzoïques à gauche et des acides hydroxycinnamiques à droite.

### I.2.6.5.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe importante de polyphénols abondamment présents dans les légumes, les fruits et différentes plantes; ils sont généralement de couleur jaune. Le chrysin a été le premier flavonoïde isolé en 1814, mais actuellement plus de 4000 flavonoïdes sont isolés et identifiés et plusieurs autres sont encore à découvrir (**Du et al., 2012**). Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire, constitués de quinze atomes de carbone, disposés dans une configuration en C6-C3-C6. Essentiellement, la structure se compose de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont de 3-carbones, habituellement sous la forme d'un noyau hétérocyclique, C (**Figure 06**). Le cycle aromatique A est dérivé de la voie d'acétate / malonate, tandis que le cycle B est dérivé de phénylalanine par la voie shikimate (**Balasundram et al., 2006**).



**Figure 06** : Structure chimique générale des flavonoïdes (**Kumar et Pandey, 2013**).

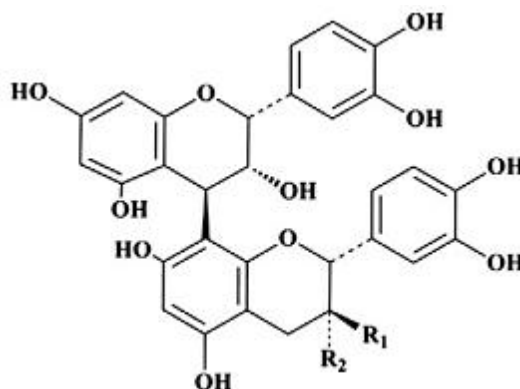
#### a. Classes majeures des flavonoïdes

Les variations des modèles de substitution dans l'anneau C donnent lieu aux classes majeures de flavonoïdes, à savoir, les flavones, flavonols, flavanols (ou catéchines), flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines, dont les flavones et les flavonols sont les plus largement répandues et structurellement diverses. Tandis que, les substitutions dans les cycles A et B donnent lieu à des différents composés à l'intérieur de chaque classe de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent inclure l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation, et la sulfatation (**Balasundram et al., 2006 ; Kumar et Pandey, 2013**).

#### b. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques polymérisés, de poids moléculaire élevé et présentant des propriétés astringentes, qui peuvent provoquer la précipitation des protéines. Ils peuvent être subdivisés en tanins hydrolysables et condensés. Les premiers sont des esters de l'acide gallique, tandis que les seconds (également connu sous le nom de proanthocyanidines)

sont des polymères de polyhydroxyflavan-3-ol (**figure 07**). Une troisième subdivision, les phlorotannins constitués entièrement de phloroglucinol, ont été isolés à partir de plusieurs genres d'algues brunes, mais ceux-ci ne sont pas significatifs dans l'alimentation humaine (**Balasundram *et al.*, 2006**).



**Figure 07** : Exemple d'unité structurale de base des tanins condensés (**Garrido et Borges, 2013**).

### **I.2.7. Activité antioxydante des polyphénols**

Les composés phénoliques ont reçus beaucoup d'attention pour leurs propriétés antioxydantes efficaces, et leurs effets bénéfiques. Ces antioxydants naturels ont la capacité d'améliorer la qualité et la stabilité des aliments et peuvent également agir comme nutraceutiques de mettre fin à des réactions en chaîne des radicaux libres dans les systèmes biologiques. Donc ils peuvent offrir des avantages supplémentaires pour la santé humaine et aider à réduire le risque de nombreuses pathologies (**Zhao *et al.*, 2014**).

Les mécanismes d'action antioxydante des polyphénols peuvent comprendre la suppression de la formation des ROS, soit par inhibition des enzymes impliquées dans leur production tels que la microsomes monooxygénase, glutathion S-transférase, succinoxydase mitochondrial, NADH oxydase, etc. ou par chélation d'oligo-éléments impliqués aussi dans la génération de radicaux libres; le piégeage des ROS; et la surexpression ou la protection des systèmes de défenses antioxydantes (**Kumar et Pandey, 2013**).

#### **I.2.7.1. Relation structure-activité antioxydante des polyphénols (SAR)**

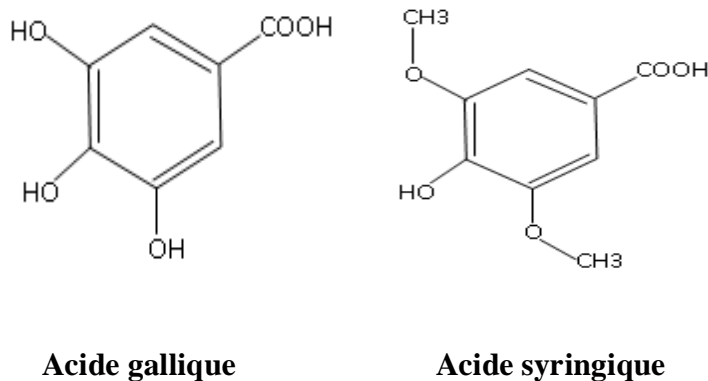
L'activité antioxydante des composés phénoliques est due principalement à leur capacité à piéger les radicaux libres, à donner des atomes d'hydrogène ou des électrons, ou à chélater des cations métalliques. Cette activité est déterminée essentiellement par la structure des

composés phénoliques, ce qui est appelé des relations structure-activité (Structure-Activity Relationships (SAR)) (Balasundram *et al.*, 2006 ; Kumar et Pandey, 2013).

### I.2.7.2.SAR des acides phénoliques

Dans le cas des acides phénoliques, l'activité antioxydante dépend du nombre et des positions des groupements hydroxyle (-OH) reliés au groupe fonctionnel carboxylique.

L'activité antioxydante augmente avec l'augmentation du degré d'hydroxylation, comme dans le cas de l'acide gallique tri-hydroxylé, qui montre une forte activité antioxydante. Alors que, la substitution des groupes hydroxyle en position 3 et 5 par des groupes méthoxyl (-OCH<sub>3</sub>) comme dans le cas de l'acide syringique, réduit l'activité (Rice-Evans *et al.*, 1996).



**Figure 08 :** structure chimique de l'acide gallique et l'acide syringique (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Les acides mono-hydroxybenzoïques avec le groupement -OH en position ortho- ou para- de la fonction -COOH ne présentent aucune activité antioxydante, mais la même chose n'est pas vraie pour l'acide *mé*ta-hydroxybenzoïque qui est actif (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Les acides hydroxycinnamiques présentent une activité antioxydante plus élevée par rapport aux acides hydroxybenzoïques correspondants. L'activité plus élevée des premiers pourrait être due au groupe CH=CH-COOH, qui assure une plus grande capacité de donner l'hydrogène (H) et la stabilisation radicalaire par rapport au groupe -COOH dans les acides hydroxybenzoïques (Rice-Evans *et al.*, 1996).

### I.2.7.3.SAR des Flavonoïdes

L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend fortement de la disposition des groupements fonctionnels sur la structure nucléaire. Cependant, la configuration, la

substitution, et le nombre total de groupes hydroxyle influent considérablement sur plusieurs mécanismes d'action antioxydante des flavonoïdes tels que le piégeage des radicaux libres et la chélation des ions métalliques.

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

## Chapitre II : Matériels et méthodes

### II.1. Objectif

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS), université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. Le but de cette étude était d'étudier l'effet antioxydant des composés bioactifs de l'extrait de l'*Annona cherimola*.

L'étude comporte deux parties :

Partie 1 : Extraction du matériel végétal à partir du fruit *Annona cherimola*.

Partie 2 : Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* d'extrait d'*Annona cherimola*.

### II.2. Echantillon

Dans notre étude, l'échantillon du fruit utilisé a été obtenu de la région Française.

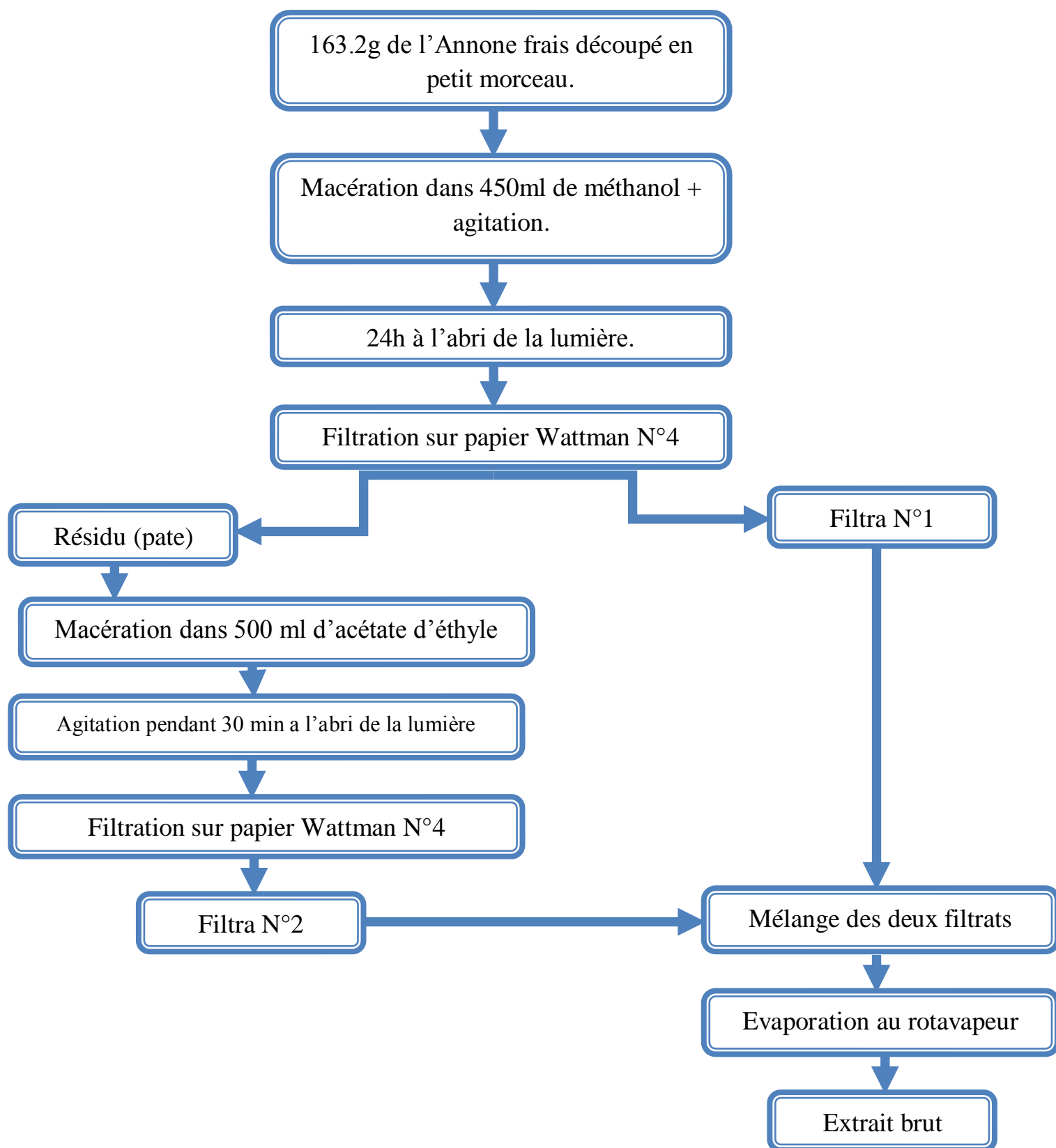
L'achat du fruit a été fait d'une manière aléatoire, il a été choisi sur la base de critères établis ; le fruit sélectionné est mur et sain.

Le fruit a été bien lavé à l'eau courante et coupé ensuite pour séparer les parties de fruit (peau, grains et pulpe).

### II.3. Extraction et dosage des polyphénols

#### a. Extraction

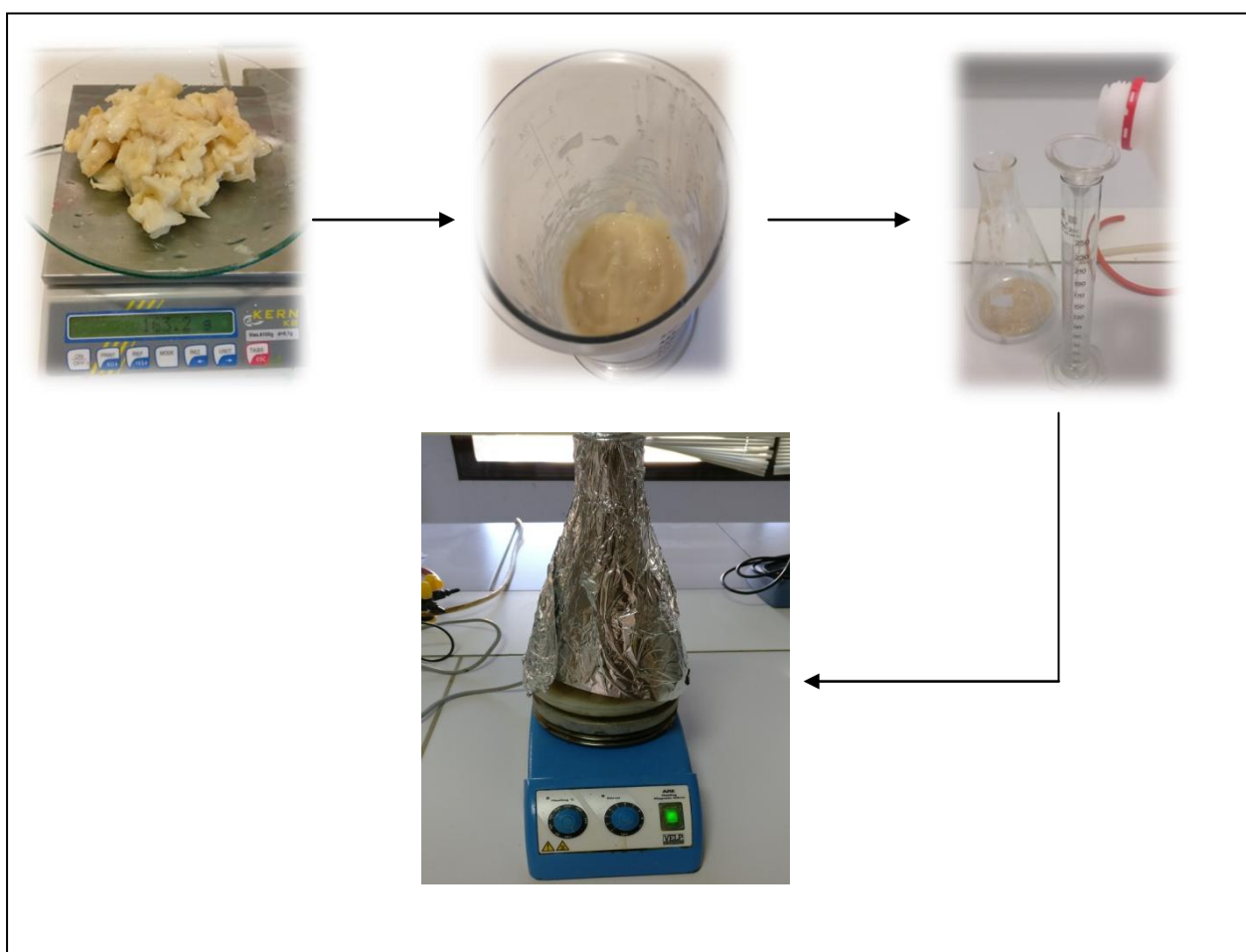
La méthode de **Ladoh Yemeda *et al.* (2014)** a été adoptée pour l'extraction des composés phénoliques totaux, et les étapes sont comme suit :



**Figure 09** : Diagramme représentant les étapes adoptées pour l'extraction des composés phénoliques totaux (Ladoh Yemeda *et al.*, 2014).

## b. Macération

L'extrait brut de l'échantillon étudié est obtenu par macération, ce type de macération est un simple contact entre la pâte d'annone et le solvant (méthanol) pendant 24h à l'abri de la lumière (**figure 09**). Dont on a mélangé 163.2 g de pâte d'annone avec 450 ml de méthanol ; le mélange a été mis sous agitateur magnétique à température ambiante pendant 30 min à l'abri de la lumière ; ensuite il a été laissé pendant 24h (macération). Après la macération, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier wattman N°4. Le premier filtra correspond à la fraction méthanoïque.



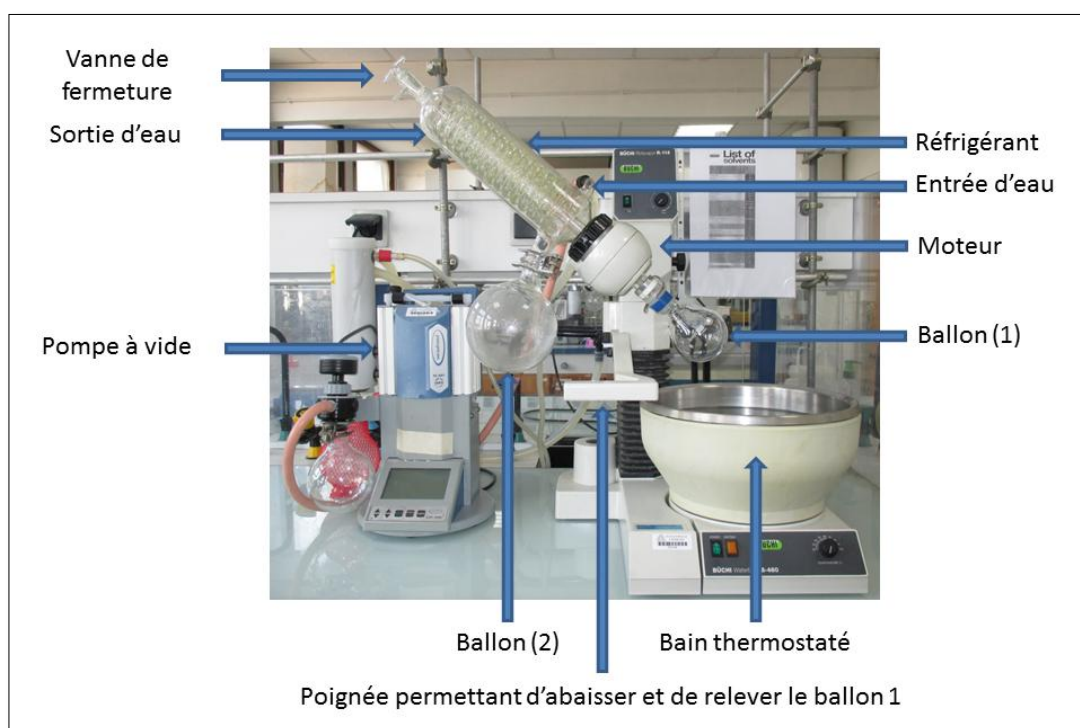
**Figure 10** : Etapes d'extraction de l'extrait de l'*Annona cherimola* par macération.

Après la première filtration, le résidu a été mélangé avec 500 ml d'acétate d'éthyle et ensuite il a été agité pendant 30 min à l'abri de la lumière dans une température ambiante. Après agitation une deuxième filtration a été faite par l'aide d'un papier wattman N°4 pour l'obtention d'un deuxième filtra qui a été ajouté au premier filtra pour l'obtention d'un filtra final qui passe à l'étape suivante.

### c. Evaporation

Après la dernière filtration, l'évaporation est la dernière étape pour l'obtention de l'extrait. Le rotavapeur utilisée dans notre étude est d'une marque BUCHI (Heating Bath B-491).

La solution est mise en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, pour augmenter la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression. Ensuite, la pression est diminuée grâce, généralement, à une trompe à eau ou à une pompe à vide et la solution est chauffée-en fonction du solvant à éliminer- pour compenser le caractère endothermique de la réaction. L'évaporateur rotatif est constitué de différentes parties (**figure 11**).



**Figure 11** : représentation de l'évaporateur rotatif.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Le rendement} = \frac{(P1 - P0) \times 100}{E}$$

Dont :

**P1** : Poids de la matière sèche après évaporation.

**P0** : Poids initial du ballon.

**E** : Poids de l'échantillon initial (liquide en gramme).

## II.4. Dosage des antioxydants

### II.4.1. Dosage des composés phénoliques

#### a. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en phénol totaux contenue dans l'extrait est réalisée par dosage au spectrophotomètre, cette méthode est décrite par Singleton et Rosi (1965) (**Ladoh Yemeda et al., 2014**). Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Follin-ciocalteu

- **Principe**

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction, le réactif de Follin-Ciocalteu, acide de couleur jaune, est utilisé comme oxydant, il est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ).

Lors de l'oxydation des polyphénols, le Follin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $MO_8O_{23}$ ) et ça en présence de carbonate de sodium.

L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des polyphénols présents dans l'extrait (**Ribereau-Gayon, 1968**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 0.2 ml d'extrait a été mélangé avec 1.5 ml de Folin-ciocalteu (10%) dissoute dans 20 ml d'eau distillé. Après 5 minutes, on ajoute 1.5 ml d'une solution de carbonate de sodium (6%) dissoute dans 20 ml d'eau distillé, le mélange est dit solution mère, ensuite des dilutions on été faites jusqu'à la troisième dilution.

Les dilutions ont été incubées à une température ambiante à l'obscurité pendant 2h.

Après incubation, l'absorbance a été lue à 725 nm au spectrophotomètre. Le témoin (Folin-ciocalteu et carbonate de sodium) est utilisé comme standard de référence.

## **b. Dosage des flavonoïdes**

### **• Principe**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement (CO), un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium) (Chung *et al.*, 2002).

L'AlCl<sub>3</sub> 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**

La teneur en flavonoïde de l'extrait a été déterminée selon la méthode de (Ibrahim et Hegazy, 2012). Un volume de 1g d'AlCl<sub>3</sub> (2%) a été additionné à 20 ml d'eau distillé, ensuite un volume de 0.5 ml d'extrait a été ajouté pour obtenir une SM ainsi que des dilutions ont été faites de puis la SM jusqu'à une troisième dilution. Les dilutions ont été placés à l'obscurité pendant 10 min. une absorbance a été mesuré ensuite à 430 nm au spectrophotomètre.

Les résultats ont été exprimés en (µg) équivalent de quercétine par 1g de matière sèche. Ces concentrations sont déterminées en se référant a la courbe d'étalonnage réalisée avec de la quercétine préparée dans le méthanol (200 µg/ml).

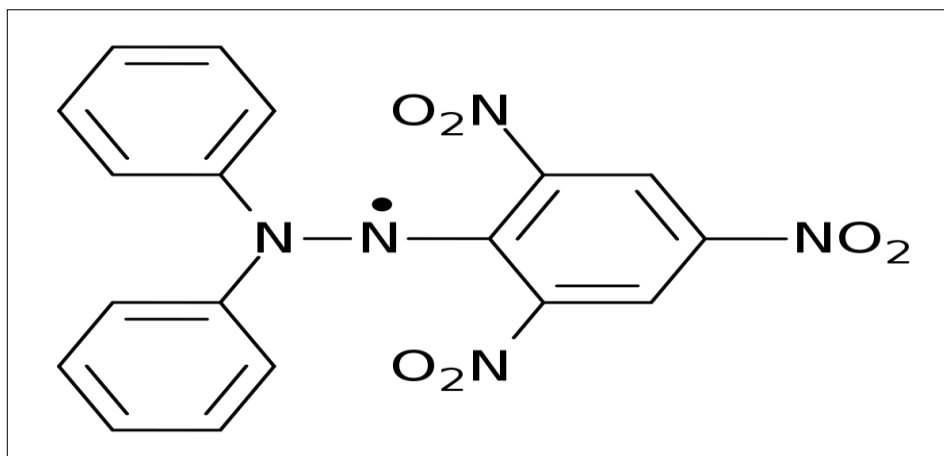
## **II.5.Mesure de l'activité antioxydante**

### **II.5.1.Évaluation du pouvoir anti radicalaire**

#### **a. Le test de piégeage du radical DPPH**

Le DPPH est un radical libre stable utilisé expérimentalement pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse à des internes ou externes (Akroum, 2011).

Le composé chimique DPPH est l'un des premiers radicaux libres pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (**figure 12**). Il possède un électron non apparié sur l'atome du pont formé par les deux azotes (**Propovici et al., 2009**).



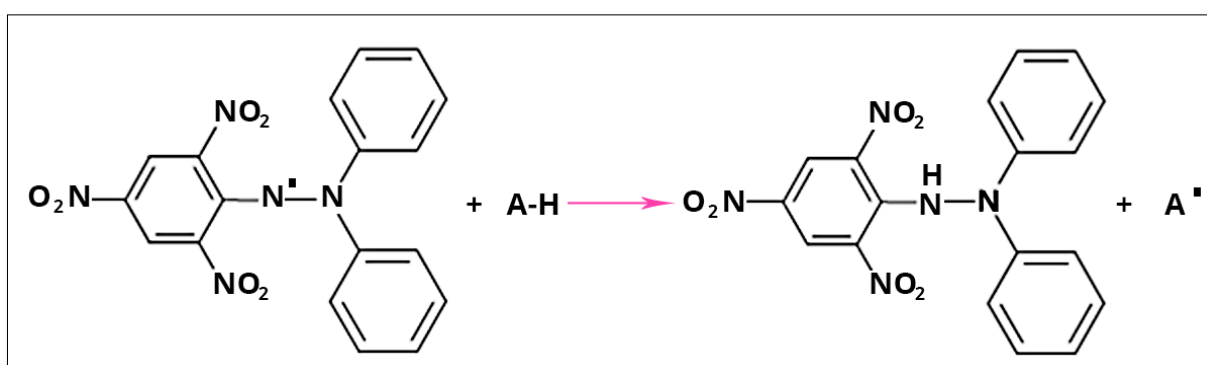
**Figure 12:** Structure chimique du radical libre DPPH (**Propovici et al., 2009**).

### • Principe

Le test de DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire de fruit frais, en fonction du temps, du radical DPPH par spectrophotomètre d'absorption UV-visible à 517 nm.

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette qui se réduit en DPPH<sub>2</sub>, faiblement coloré en jaune par captation d'un hydrogène de l'antioxydant (**figure 13**).

Le changement de la coloration est proportionnel à l'activité antioxydante ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Propovici et al., 2009**).



**Figure 13 :** Réaction de réduction du radical DPPH.

- **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Sung-Cheol *et al.*, 2004).

Un volume de 3.15 mg de poudre de DPPH a été mélangé avec 50 ml de méthanol. Un volume de 0.2 ml d'extrait a été ajouté avec 0.5 de solution de DPPH, des dilutions ont été faites jusqu'à la dixième solution. Après incubation à l'obscurité de toutes les dilutions pendant 30 min et à température ambiante, une lecture d'absorbance a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

Le pourcentage d'inhibition est donné selon la formule suivante (Harris et Aisen, 1973) :

$$\text{Activité anti radicalaire \%} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

**AC** : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif).

**AE** : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon).

## **b. Test de la réduction du fer FRAP**

- **Principe**

Le pouvoir réducteur de fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986) (Bougandoura et Bendimerad, 2013). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (Ou *et al.*, 2001).

- **Dosage**

Un millilitre d'extrait à différentes concentrations (de 0.007 à 2.5 mg/ml) est mélangé avec 2.5 ml d'une solution TP 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%.

L'ensemble est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 min, ensuite 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000

rpm pendant 10 min. un aliquote (2.5 ml) de surnageant est combinée avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> (chlorure ferrique) à 0.1 %.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS).

Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Singleton et Rossi, 1965**).

# **Chapitre III**

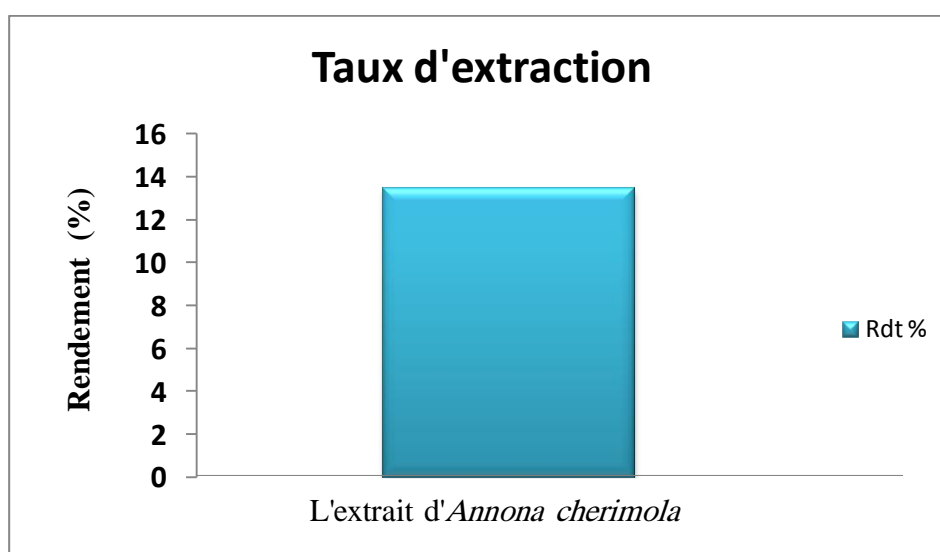
## **Résultats et discussion**

## Chapitre III : Résultats et discussion

### III.1. Taux d'extraction

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : la méthode d'extraction, la granulométrie des particules, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé.

La méthode d'extraction par macération en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction de l'échantillon a permis d'obtenir respectivement un taux d'extraction de **13.48%** montré dans la (figure 14).



**Figure 14** : Taux d'extraction des polyphénols de l'échantillon d'extrait d'annone.

L'extraction de l'*Annona cherimola* a donné un rendement de (13,48%).

**HAMIDI et LIMAM (2018)** par la même méthode d'extraction, ont trouvé que le taux d'extraction des composés phénoliques de citron a donné un rendement de (12,25%) et pour l'orange été de l'ordre de (11,32 %).

### III.2. Dosage des composés phénoliques totaux

Les annones sont une source importante en composés bioactifs dont les composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes,...) peuvent contribuer à l'activité antioxydante.

Le contenu phénolique a été déterminé via le test de Folin-ciocalteu et selon la méthode de (**BLOUIN et al., 1972**). D'après (**VIDAL et al., 1991**), le test de Folin-ciocalteu a été choisi pour doser les composés phénoliques pour les raisons suivantes :

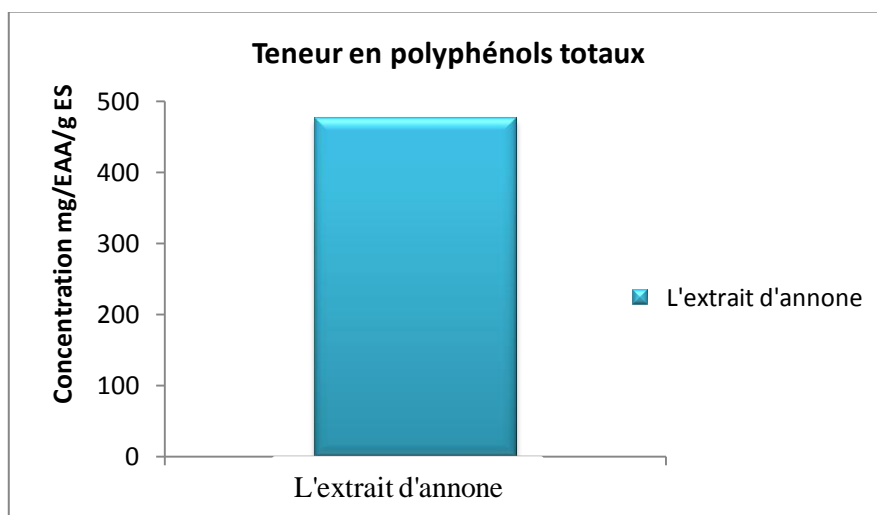
- C'est une méthode qui satisfait les critères de faisabilité et de reproductibilité.
- La disponibilité du réactif de Folin-ciocalteu.
- La méthode est bien standardisée.
- La grande longueur d'onde (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée.
- C'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche des antioxydants alimentaires à travers le monde.

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ( $y=0.0026x$  ;  $R^2= 0.991$ ) (**Annexe I-1**).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'acide gallique équivalents par gamme d'échantillon, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'Acide gallique.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait d'annone a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage.

Les concentrations des polyphénols totaux obtenus sont présentées dans la (**figure 15**).



**Figure 15** : Teneur en phénols totaux dans l'extrait d'annone.

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait d'annone montre un résultat de **475** mg GAE/g ES, après 24h d'incubation, correspondant à l'extrait.

**BENMILOUD (2018)**, a trouvée que l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* renferme une teneur en polyphénols de **343,90** mg EAG/g d'extrait après 24h d'incubation.

Les résultats de **HAMIDI ET LIMAM (2018)**, ont montrés que la teneur en polyphénols totaux dans l'écorce d'orange est de **83,5 mg GAE/g ES** et **91,33 mg GAE/g ES** pour l'écorce de citron, après 24h d'incubation.

Selon les résultats, la teneur en polyphénols totaux est significativement supérieure dans l'extrait d'annone, ces résultats sont en accord avec ceux démontré par d'autres travaux sur la teneur totale de polyphénols d'annone (**Gorinstein et al., 2001**) ; ceci peut être due à la nature du solvant utilisé, la méthode d'extraction et la température d'extraction, saison de la récolte et origine du fruit.

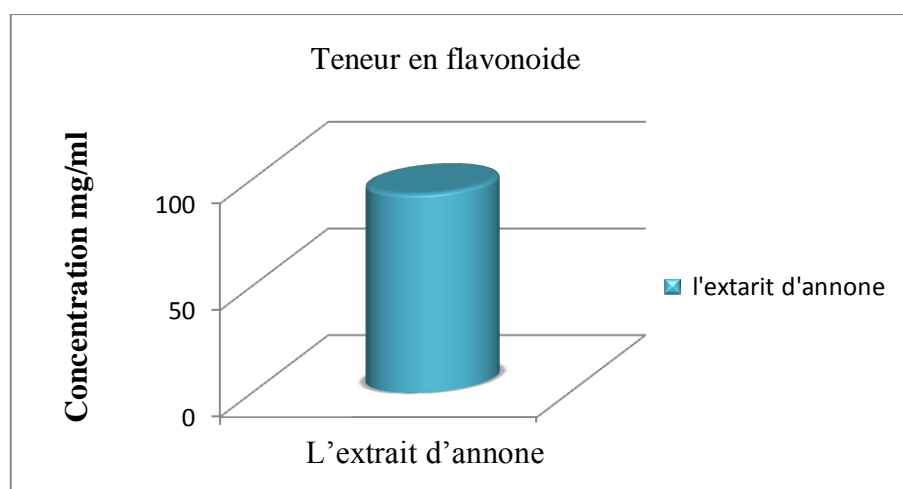
### III.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué avec la méthode spectrophotométrique qui est une méthode colorimétrique adaptée de (**Zhishen et al., 1999**).

Une couleur jaunâtre est formée dans l'extrait d'annone après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans l'extrait analysé. D'où on a calculé la teneur en flavonoïdes qui est exprimée en mg équivalent de quercétine pour 100 g de poids sec des poudres, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de quercétine.

Les concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine ( $y=0.0154x$  ;  $R^2 = 0.998$ ) (**Annexe I-2**).

Les concentrations des flavonoïdes obtenus sont présentées dans la (**figure 16**).



**Figure 16** : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait d'annone.

D'après l'histogramme illustré dans la (**figure 16**), nous avons observé que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique montre des résultats de **93.03 mg/ml**, correspondant à l'extrait.

**HAMIDI et LIMAM (2018)**, ont trouvé une teneur en flavonoïde de **246,25 mg/ml** dans l'écorce de citron et **81, 375 mg/ml** dans l'écorce d'orange.

**BENMILOUD (2018)**, a trouvée une teneur en flavonoïde de **305,65 mg EQ/g** dans l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum*.

**Ait ouali et Boukhanouf (2011)**, la meilleure teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *Rubus* est de **0,0027 mg équivalent quercétine /g de MS**.

### **III.4. Détermination du potentiel antioxydant d'extrait d'annone**

Pour évaluer l'effet antioxydant d'extrait d'annone, deux techniques ont été réalisées :

On a utilisé la technique de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) et la méthode du radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

#### **III.4.1. Méthode de FRAPP**

L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée en utilisant la méthode de FRAP ; cette dernière est simple, rapide et reproductible. Elle est universelle, et peut être appliquée aussi bien chez les plantes ainsi que dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al., 2008**). Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le Fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (**Karagozler et al., 2008**).

Dans notre travail nous avons opté pour tester l'extrait d'annone brut, la valeur obtenue a permis de tracer une courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

##### **- Acide ascorbique**

L'acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble, son rôle essentiel dans les compartiments intra et extracellulaire est mal connu. Il fait intervenir dans son mécanisme

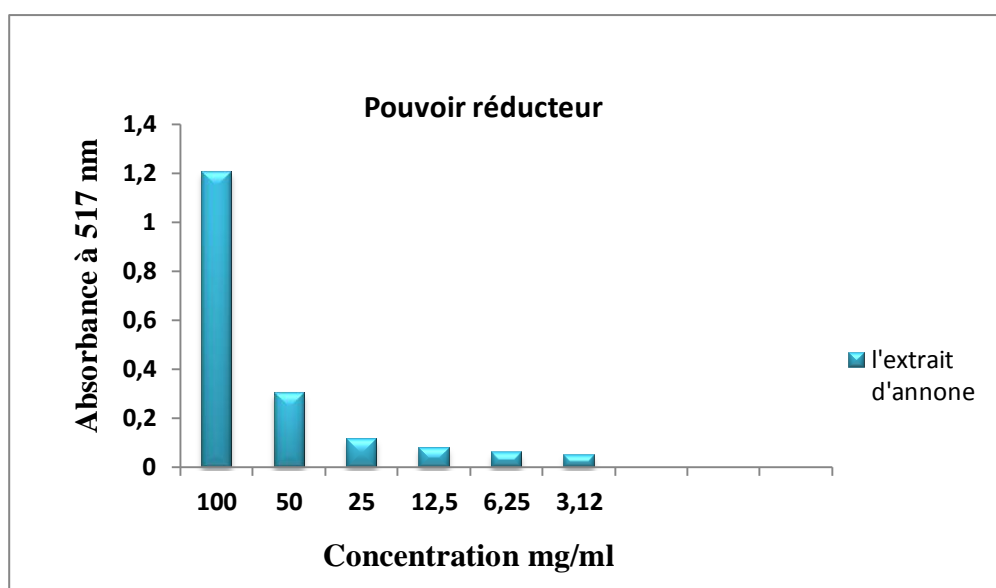
d'action, des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de l'acide ascorbique et sa forme oxydée (dehydroascorbate) (Pastre, 2005).

Les résultats représentés dans notre courbe ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de notre échantillon (Ozturk et al., 2007 ; Su et al., 2002 ; Liu et al., 2009).

D'après la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Annexe I-3) on mesure le pouvoir réducteur de l'extrait selon son absorbance.

Les valeurs présentées dans la (figure 17) montrent le pouvoir réducteur de l'extrait à différents concentrations.

Nous remarquons dans le graphe illustré dans la (figure 17) que la capacité à réduire le Fer de l'acide ascorbique est plus importante si nous la comparons avec les autres fractions qui possèdent une faible activité avec une densité optique qui ne dépasse pas 100 mg/ml, est elle reste inférieure à celle de l'acide ascorbique.



**Figure 17:** Pouvoir réducteur de l'extrait d'annone a différentes concentrations.

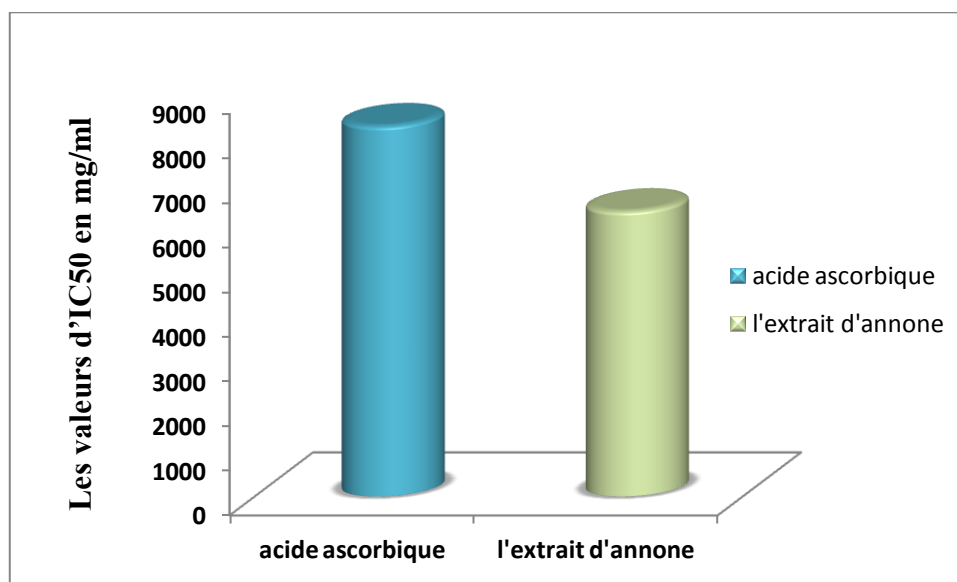
La capacité antioxydante totale de l'extrait d'annone étudié est exprimée en nombre d'équivalent d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y=0.116x$ ;  $R^2=0.942$ ). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g de l'extrait brut (mg EAA/g ES).

Les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction du fer (DO à 700 nm) est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et de l'extrait d'annone.

Notre extrait présente une activité antioxydante nettement inférieure à celle de la référence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de **0.063 mg/ml**.

**Moualek et al., (2016)** ont trouvés que dont les résultats de la réduction du fer (FRAP) ont montré une activité très élevée pour l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*.

Afin de comparer l'activité antioxydante de l'extrait d'annone par cette méthode, nous avons calculé l'IC 50 qui définit comme la concentration nécessaire pour réduire 50% du fer. Les résultats obtenus sont illustrés sous forme d'histogramme dans le (**figure 18**).



**Figure 18:** Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% du fer de l'extrait en mg/ml par rapport à l'acide ascorbique.

Nous remarquons que la capacité à réduire le fer est plus importante dans l'extrait d'annone (IC50 = 6397 mg/ml).

Selon **BENMILOUD (2018)**, l'extrait éthanolique d'*Elettaria cardamomum* a une capacité de réduire le fer qui est égale à 0,0112 mg/ml.

Des résultats ont été obtenus par **Sultana et al. (2010)**, révèlent qu'une IC50 de **0,2174 mg/ml** pour l'extrait méthanolique de fruit d'*Elettaria cardamomum*.

L'étude fait par **Souri et al. (2008)** ont montré que l'extrait méthanolique d'*Elettaria cardamomum* présente une IC50 égal **0,1672** mg/ml.

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Yang et al., 2009**).

### **III.4.2. Evaluation de pouvoir anti radicalaire par DPPH**

Le pouvoir antioxydant de notre extrait a été aussi estimé avec la méthode de DPPH. En effet, c'est celle qui est utilisée dans le monde entier (**Scherer et Godoy, 2009**) et la plus populaire pour le dépistage de l'activité anti-radicalaire d'un composé unique ou d'un mélange de composés. Cette méthode est considérée d'un point de vue méthodologique, comme l'une des plus faciles, plus précise et reproductible de l'activité antioxydante des jus de fruits, des extraits de plantes et des composés purs comme les flavonoïdes.

Le radical DPPH est l'un des substrats le plus utilisé généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al., 2008**).

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence de capteurs de RLS, et se réduit en 2,2'-diphényle-1-ucrydrazine (**Burits et Bucar, 2000**).

Après 30 min d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différentes concentrations), la coloration violette vire vers une coloration jaune. Ce changement de couleur est du à la réduction de DPPH, ce qui montre que l'échantillon a un effet Scavenger de radical DPPH.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH dans sa force non radicalaire. A partir de ces courbes, nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibitions obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur d'IC50 de l'extrait.

Nous avons opté pour tester l'extrait et les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe d'après la courbe d'acide ascorbique, les résultats représentés dans nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de notre échantillon (**Ozturk et al., 2007 ; Su et al., 2008 ; Liu et al., 2009**).

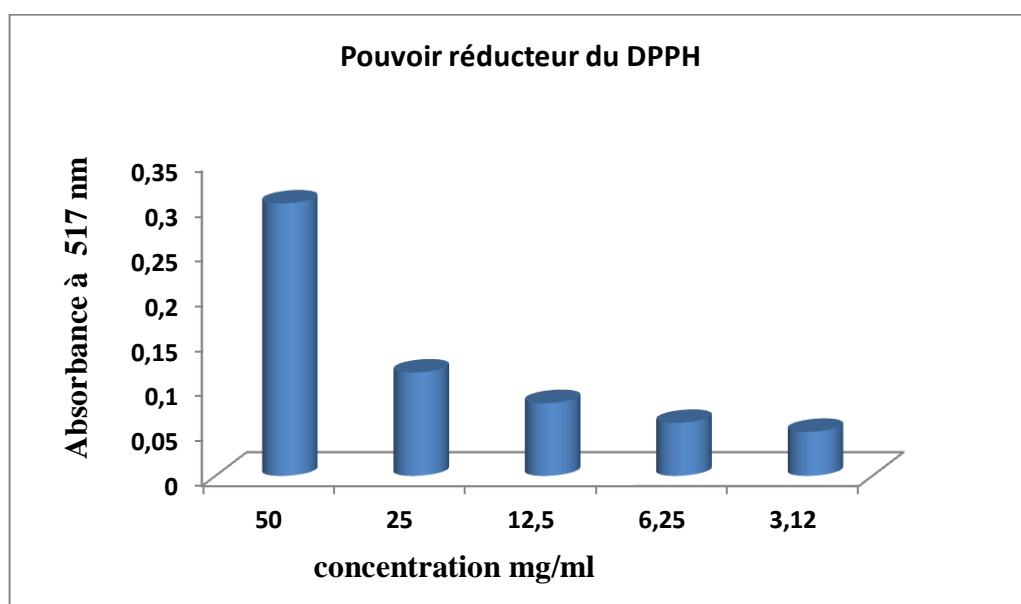
La capacité antioxydante totale de l'extrait étudié est exprimée en nombre d'équivalent d'Aa à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y=0.116x$ ;  $R^2=0.942$ ).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g de l'extrait pur.

D'après la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (**Annexe II-3**), on mesure le pouvoir réducteur de l'extrait selon son absorption.

Les valeurs présentées selon la **figure 19** ; montrent le pouvoir réducteur de l'extrait à différentes concentrations.

Nous remarquerons dans le graphe illustré que la capacité antioxydante de l'acide ascorbique est la plus importante si nous avons la comparé avec les autres fractions qui représente une faible activité avec des densités optiques qui ne dépasse pas les 100 mg/ml.



**Figure 19** : Pouvoir réducteur du DPPH de l'extrait d'annone.

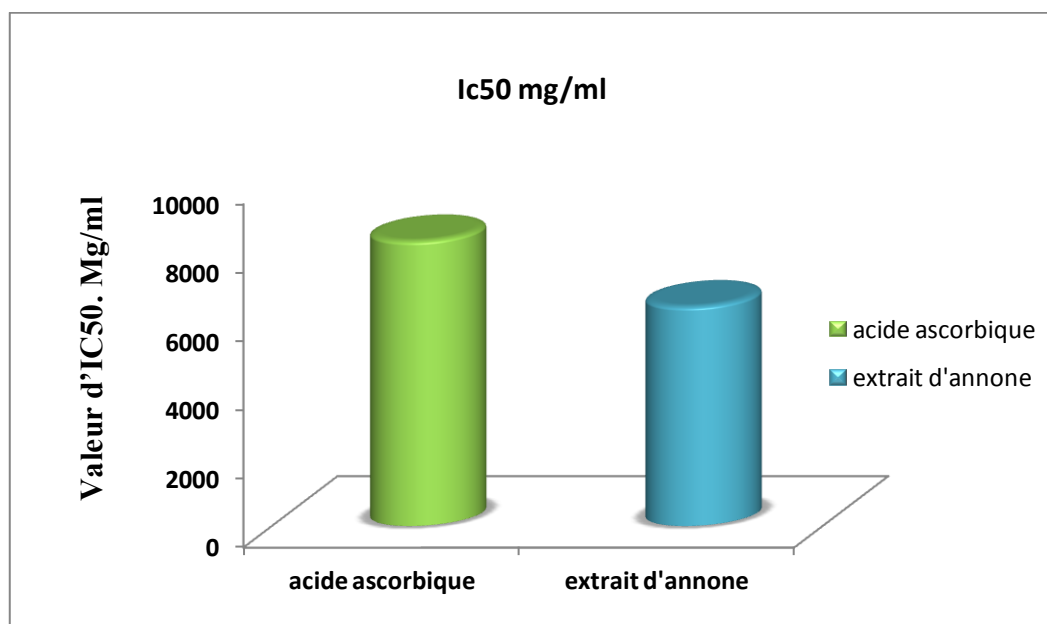
Les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction de fer (DO à 517 nm) est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et l'extrait de l'annone.

Tous l'extrait présent une activité antioxydante nettement inférieure à celle de la fréquence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0.063 mg/ml.

**Moualek et al., ( 2016 )**, ont réalisé une étude sur l'activité antioxydante (DPPH) de l'extrait aqueux des feuilles de *l'Arbutus unedo*. Ils ont montré que cette extrait a une IC50 de **7,956 mg / ml**.

Selon **Barros et al.,(2010)**, les résultats de la méthode de DPPH a montré une activité très élevée pour l'extrait de fruits des *A.unedo* avec une IC50 de **0.81 mg/ml**.

L'activité antioxydante évaluée pour l'extrait montre que le standard utilisé est exprimé en IC50 (Concentration inhibitrice médiane) ; c'est la concentration d'extrait qui neutralise 50% de radical libre (DPPH), plus l'IC50 est faible plus l'extrait est doté d'un potentiel antioxydant puissant. L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante exprimée en IC50 est représenté dans le la figure ci-dessous.



**Figure 20:** Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% de radicaux libre (DPPH) de l'extrait par rapport à l'acide ascorbique.

Selon ces résultats, il est à constater que cette activité antioxydante est significativement importante par rapport aux standard utilisé (acide ascorbique) qui a donné une IC50 égale **8307 mg/ml**.

L'activité anti-radicalaire au DPPH de l'extrait d'annone analysé est probablement due à leur composition en différents composés phénoliques. La réduction du DPPH n'est

généralement pas due à l'action d'un seul composé mais à l'interaction entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre.

Nos résultats sont en accord avec d'autres déjà publiés, qui ont montré que l'extrait d'annone représente la fraction la plus riche en polyphénols, laquelle a révélé un potentiel antioxydant puissant (**Bocco *et al.*, 1998 ; Gorinstein *et al.*, 2001**).

# Conclusion

## Conclusion

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités antioxydantes (pouvoir réducteur, activité anti radicalaire DPPH) et au dosage des antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes) contenus dans l'extrait d'*Annona cherimola*.

Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser les plus simples techniques analytiques en passant de l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale, la méthode d'extraction par macération en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction de l'extrait d'*Annona cherimola*.

Les principaux résultats obtenus indiquent que, la teneur en polyphénols totaux est élevée dans l'extrait d'annone.

Pour les flavonoïdes nous avons observé que l'extrait d'annone a une quantité un peu élevée.

La teneur en composés phénoliques est plus élevée que la teneur en flavonoïdes de l'extrait.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de notre extrait analysé a été réalisée par la détermination de son pouvoir de piégeage du radical du DPPH en déterminant son efficacité (IC50) suivant ce paramètre, l'extrait d'annone est puissant.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait analysé a été évaluée en utilisant la méthode de frappe, d'après la courbe d'acide ascorbique on mesure le pouvoir réducteur de l'extrait, les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, en déterminant son efficacité (IC50) suivant ce paramètre l'extrait est puissant.

Afin d'approfondir ce travail de recherche, nous proposons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de travailler sur un nombre plus élevé d'espèces.
- De purifier et d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante de ce fruit
- Evaluation de l'activité antioxydante de ce fruit *in vivo*.
- Recherche d'autres activités biologiques (antidiabétique, antimicrobienne etc).

# Références bibliographiques

## A

• **Acuna-Castroviejo D., Escames G., Leon J., Carazo A, et Khaldy H, (2003).** Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 527: 549- 557.

• **Ait ouali T et Boukhanouf T.** 2011. Etude de l'effet du solvant et de la température de l'échange sur le taux d'extraction des composés phénoliques et l'activité antioxydante de *Rubus ulmifolius* Scott. Mémoire d'ingénieur d'état en science alimentaire, université de Bejaïa. p : 30.

• **Akroum S, (2011).** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANTINE-ALGERIE.

• **Al-Gubory K.H, (2014)** Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reproductive BioMedicine Online*, 29(1): 17- 31.

• **Arnao M.B, et Hernandez-Ruiz J, (2006).** The physiological function of melatonin in plants. *Plant Signaling Behavior*, 1(3): 89- 95.

• **Arun Jyothi B., Venkatesh K., Chakrapani P, et Roja Rani A, (2011)** Phytochemical and Pharmacological potential of *Annona cherimola*-A Review. *International Journal of Phytomedicine*, 3 439-447.

• **Auberval N, (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat, Ecole doctorales des sciences, université de Strasbourg.

## B

• **Balasundram N., Sundram K, et Samman S, (2006).** Nutritional and Clinical Methods, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.

• **Belaïch R., Boujraf S, (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10, 38-42.

• **Belaïch R., Boujraf S., Housni A., Maaroufi M., Batta F., Magoul R, et Tizniti S,** (2015). Assessment of hemodialysis impact by polysulfone membrane on brain plasticity using BOLD-fMRI. *Neuroscience*, 288, 94-104.

• **BLOUIN J., LLORCA L., MONTREAU F.R., DUFOUR J.H.,** 1972. Etude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *Connaissance de la vigne et du vin*, 6, 405-413.

• **Benmiloud I** (2018). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la cardamome. Mémoire de master 2 en Nutrition et Pathologies, université Abd el-hamid ibn badis Mostaganem. P : 33-36.

• **Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R.** Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chem.* (2010); 120, 247–254

• **Bocco A., Cuvelier M.E., Richard H, et Berset C,** (1998). Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Pell and Seed Extracts. *J. Agric. Food Chem*, 46(6): 2123-23.

• **Bougandoura N, et Bendimerad N,** (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, 9, 14-15.

• **Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A, et Ljic R,** (2008). Phenolic as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, 111, P. 925-929.

• **Burits M, et Bucar F,** (2000). Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323-328.

## C

• **Chung C-T., Chao W-W., Lin C-F, et Chou S-T,** (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 2454–2458.

• **Chauvet, Michel,** 2018. *Encyclopédie des plantes alimentaires*. Paris, Belin. 880 p. (p. 62).

## D

•**Davies M.J., Fu S., Wang H, et Dean R.T,** (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11): 1151-1163.

•**Du J., Cullen J.J, et Buettner G.R,** (2012). Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1826(2): 443-457.

## E

•**Edeas M,** (2006). Les antioxydants. PepsiCo France 1 place de la Boule 92024 Nanterre cedex.

## F

•**Finkel T, et Holbrook N.J,** (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 408(6809):239-247.

•**FRIES J.F., MILLER S.R., SPITZ P.W., WILLIAMS C.A., HUBERT H.B., et BLOCH D.A,** (1989). Toward an epidemiology of gastropathy associated with non steroidal anti-inflammatory drug use, *Gastroenterology*, 96, 647 – 55.

## G

•**Garrido J, et Borges F,** (2013). Wine and grape polyphenols -A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2): 1844-1858.

•**Ghasemi K., Ghasemi Y, et Mohammed A.E,** (2009). Antioxydant Activity, Phénol and Flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm*, 22 (3): 277- 281.

•**Gorinstein S., Martin-belloso O, et Park Y.S,** (2001). Composition of some biochemical characteristics of different citrus fruit. *Food Chem*, 47(3): 115-309.

•**Gu F., Chauhan V, et Chauhan A,** (2015). Glutathione redox imbalance in brain disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 18(1): 89-95.

## H

•**Halliwell B**, 2007. Dietary polyphenols : Good , bad, or indifferent for your health? *Cardiovascular Research*.73:341-347.

•**Halliwell B, et Gutteridge J.M**, (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, third ed., Oxford University Press, Midsomer Norton, Avon, England.

•**Hamidi et Limam, (2018)**. Etude phytochimiques et pouvoir antioxydant de l'écorce d'orange et citron. Mémoire de master en nutrition et pathologies, université de mostaganem. P :44-55.

•**Hardeland R**, (2005). Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine*, 27(2): 119-130.

•**Harris D, et Aisen P**, (1973). Facilitation of Fe (II) autoxidation by Fe (III) complexing agents *Biochim. Biophys.Acta*. **329**: 156–158

•**Haslam E**, (1993). Polyphenol complexation. In: « Polyphenolic phenomena ». Ed. Scalbert A. INRA (Paris). Chap., 2: 23-31.

•**Hu Q, et Luo Y**, (2016). Polyphenol chitosan conjugates: Synthesis, characterization, and applications. *Carbohydrate Polymers*, 151: 624-639.

•**Hussain J., Khan AL., Rehman N., Zainullah., Khan F., Hussain ST, et Shinwari ZK**, (2009). Proximate and nutrient investigations of selected medicinal plants species of Pakistan. *Pak. J. Nutr.*, 8(5): 620-624.

## I

•**Ibrahim M.I, et Hegazy A.E**, (2012). Antioxydant activities of orange peel extract. *Departement of Food science and technology*, 18(5): 684-688.

## J

- **Jessica Le Ven**, Contribution à l'étude du lien entre Annonaceae et parkinsonisme : identification et quantification d'acétogénines par déréplication; métabolisation de phase I et approche de la distribution de l'annonacine, *Paris 11*, 3 février 2012.

## K

• **Karagözler A.A., Erdag B., Emek Y.G, et Uygum D.A,** (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*, *Food Chemistry*, 111, 400-407.

• **Kirk W. Pomper, Jeremiah D. Lowe, Sheri B. Crabtree et William Keller,** « Identification of annonaceous acetogenins in the ripe fruit of the North American pawpaw (*Asimina triloba*) », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, n° 18, 23 septembre 2009, p. 8339–8343.

• **Kumar S, et Pandey A.K,** (2013) Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Hindawi The Scientific World Journal*, (ID: 162750): 1-16.

## L

• **Ladoh Yemeda C.F., Dibong S.D., Nyegue M.A., Djembissi Talla R.P., Lenta Ndjakou B., Mpondo E., Yinyang J, et Wansi J.D,** (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récolte sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*. 84 :7636-7643.

• **Li H-B., Wong C-C., Cheng K-W, et Feng C,** (2008). Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*. 41(3), 385–390.

• **Lin M.F., Karin J.W., Crosby M.A., Matthews B.B., Yu C., Park S., Wan K.H., Schroeder A.J., Gramates L.S., St Pierre S.E., Roark M., Wiley K.L., Kulathinal R.J., Zhang P., Myrick K.V., Antone J.V., Celniker S.E., Gelbart W.M, et Kellis M,** (2007). Revisiting the protein coding gene catalog of *Drosophila melanogaster* using 12 fly genomes. *Genome Res*. 17(12): 1823--1836.

• **Litescu SC., Eremia S, et Radu G.L,** (2010). Methods for determination of antioxidant capacity in food and raw materials. *Bio-Farms for Nutraceuticals Advances in Experimental Medicine and Biology, US: Springer*, 698(18): 241-9.

• **Liu G.J., Nagarajah R., Banati R.B, et Bennett M.R,** (2009). Glutamate induces directed chemotaxis of microglia. *Eur J Neurosci* 29, 1108-1118, doi:EJN6659 [pii] 10.1111/j.1460-9568.2009.06659.x.

•**Lowes D.A., Webster N.R., Murphy M.P, et Galley H.F,** (2013). Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *British journal of Anaesthesia*, 110(3): 472-480.

## M

•**Maes M., Galecki P., Chang Y.S, et Berk M,** (2011). A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(3): 676-692.

•**Martins S., Mussatto S.I., Martinez A.G., Montanez S.J., Aguilar C.N, et Teixeira J.A,** (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation: A review. *Biotechnology Advances*, 29(3): 365-373.

•**Maurya P.K., Noto C., Rizzo L.B., Rios A.C., Nunes S.O.V., Barbosa D.S., Sethi S., Zeni M., Mansur R.B., Maes M, et Brietzke E,** (2016). The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 65: 134-144.

•**May J.M,** (2012). Vitamin C transport and its role in the central nervous system. *Sub-cellular Biochemistry*, 56: 85-103.

•**Mokkadem A.** (1999). Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. in *Revue Vie et Nature*. n° 7.p :24 – 26.

•**Molino S., Dossena M., Buonocore D., Ferrari F., Venturini L., Ricevuti G, et Verri M,** (2016). Polyphenols in dementia: From molecular basis to clinical trials. *Life Sciences*, 161: 69-77.

•**Monica R. Loizzo, Rosa Tundis, Marco Bonesi, Federica Menichini, Vincenzo Mastellone, Luigi Avallone, Francesco Menichini.** Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25 (2012) 179–184.

• **Moualek, I., Aiche, G. I., Guechaoui, N. M., Lahcene, S., & Houali, K.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (2016) ; 6(11), 937-944

## N

- **Nogueira JC., Diniz Mde F, et Lima EO,** (2008). In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Braz J Otorhinolaryngol*; 74(1):118-24.

## O

• **Ou B., Hampsch-Woodill M, et Prior R.L,** (2001). "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(10): 4619-4626.

• **Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M-E, et Topcu G,** (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.*103: 623-630.

## P

• **Pastre J.O.C,** (2005). Interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques .Thèse du doctorat. Université Toulouse, p :21 (116).

• **Patricia Garcia-Salas., Ana Maria Gomez-Caravaca., Aranzazu Morales-Soto., Antonio Segura-Carretero, et Alberto Fernandez-Gutierrez,** (2015). Identification and quantification of phenolic and other polar compounds in the edible part of *Annona cherimola* and its by-products by HPLC-DAD-ESI/TOF- MS. *Food Research International*, 78 246–257.

• **Paincimail J., Bonjean K., Cayeux K, et Defraigne J.O,** (2008). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, 233-239.

• **Pisoschi A.M, et Pop A**, (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97: 55-74.  
antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical

• **Popovici C., Saykova I, et Tylkowski B**, (2009). Evaluation de l'activité libre DPPH. *Revue du Génie Industriel*,4, 26-39.

## R

• **Rajendran P., Nandakumar N., Rengarajan T., Palaniswami R., Gnanadhas E.N., Lakshminarasaiah U., Gopas J., Nishigaki I**, (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinical Chemical Acta*, 436: 332-347.

• **Ramful D., Bahorun T., Bourdon E., Tarnus E, et Aruoma O.I**, (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278: 75-87.

• **Reuter S., Charlet J, et Juncker T**, (2009). Effect of curcumin on nuclear factor kappaB signaling pathways in human chronic myelogenous K562 leukemia cells. *Ann NY Acad Sci*; 1171:436-47.

• **Ribereau-Gayon P**, (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. In : *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod, 1-40.

## S

• **Scherer R, et Godoy H.T**, (2009). Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v.112, p.654-658, 2009.

• **Schorderet Michel, et Dayer J-M**, 1998. Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et de l'inflammation ; Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs (In *Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques*). Slatkine, Paris-Génève, p. 569-606.

• **Singh U., Devaraj S, et Jialal I**, (2005). Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*, 25: 151-175.

• **Singleton V, et Rossi J.A**, (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagent. *Am J Enol Viticulture*, 16: 144-158.

•**Siti H.N., Kamisah Y, et Kamsiah J, (2015).** The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease: a review. *Vascular Pharmacology*, 71: 40-56.

•**Souri, E., Amin, G., Farsam, H. (2008).** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 83-87.

•**Spector R, et Johanson C.E, (2014),** The nexus of vitamin, homeostasis and DNA synthesis and modification in mammalian brain. *Molecular Brain*, 7(3): 1-9.

•**Su B.N., Cuendet M., Farnsworth N.R., Fong H.H.S., Pezzuto J.M, et Kinghorn A.D, (2002).** Activity-guided fractionation of the seeds of *Ziziphus jujuba* using a cyclooxygenase-2 inhibitory assay. *Planta Med.*, 68( 12): 1125-1128.

•**Sultana, S., Ripa, F. A., Hamid, K. (2010).** Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13, 340.

•**Sung-cheol L., Seok-Moo J., So-Young K., Dong-Ryul K., Seong-Chun J., Nam K.C, et Ahn D.U, (2004).** Effet of Heat Treatment on the Antioxydant Activity of Extracts from Citrus Peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3389-339.

## T

•**Thanan R., Oikawa S., Hiraku Y., Ohnishi S., Ma N., Pinlaor S, et Murata M, (2014).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.

## U

•**Uys J.D., Mulholland P.J, et Townsend D.M, (2014).** Glutathione and redox signaling in substance abuse, biomed. *Pharmacother*, S0753-3322.

## V

• **VIDAL J.-P., CANTAGREL R., FAURE A., BOULESTEIX J.M.**, 1991. Comparaison de trois méthodes de dosage des composés phénoliques totaux dans les spiritueux. FV OIV n°904.

• **Vielma J.R., Bonilla E., Chacin-Bonilla L., Mora M., Medina-Leendertz S, et Bravo Y**, (2014). Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: a review. *Acta tropica*, 137: 31-38.

## W

• **Wang Y., Chun O.K, et Song W.O**, (2013). Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: a review of human studies. *Nutrients*, 5(8): 2969-3004.

• **Winterbourn C.C**, (2015) Are free radicals involved in thiol based redox signaling?, *Free Radical Biology and Medicine*, 80: 164-170.

• **Wu J.Q., Kosten T.R, et Zhang X.Y**, (2013), Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46: 200-206.

## X

• **Xavier SCHELDEMAN**, (2002). thèse de Doctorat Ph.D; Université de GENT, Belgique.

## Y

• **Yang G., Pan F, et Gan W.B**, (2009). Stably maintained dendritic spines are associated with lifelong memories. *Nature* 462, 920-924, doi:nature08577 [pii] 10.1038/nature08577.

## Z

• **Zeghal K.M et Sahnoun Z**, (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant Springer.

•**Zhao H.X., Zhang H.S, et Yang S.F,** (2014). Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Science and Human Wellness*, 3(3): 183-190.

•**Zhishen J., Mengcheng T, et Jianming W,** (1999). "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals" *J Food Chem*, Vol. (64),page : 555.

## **Site internet**

[fr.wiktionary.org](http://fr.wiktionary.org)

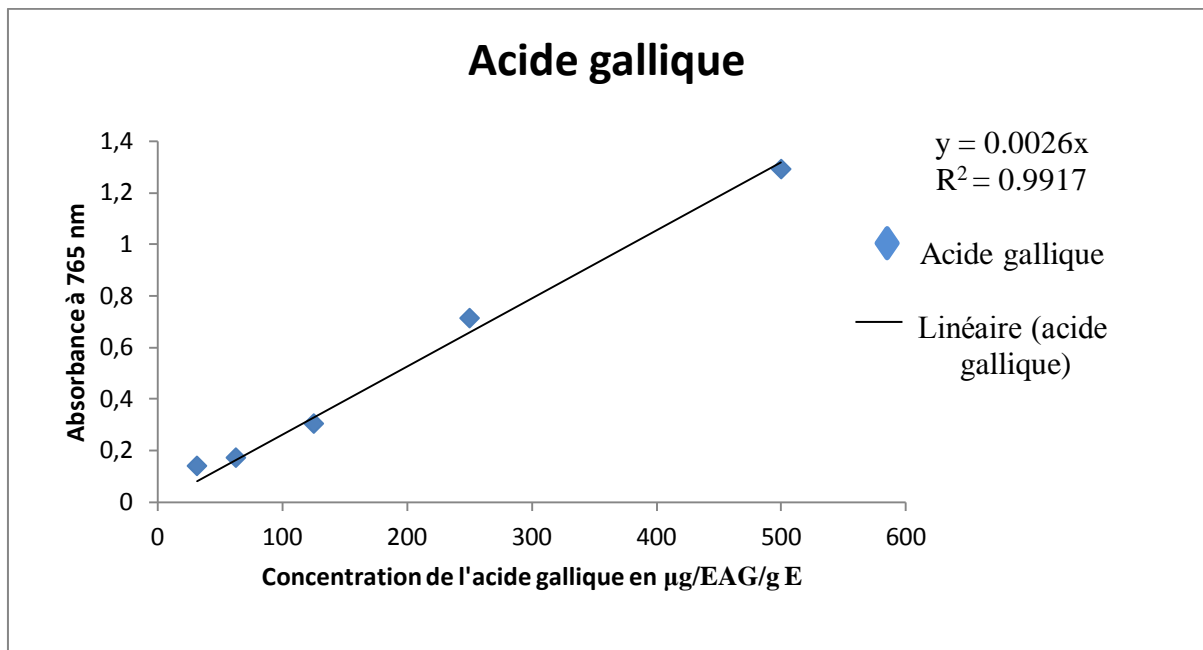
[leshaberges.ac-besancon.fr](http://leshaberges.ac-besancon.fr)

# Les annexes

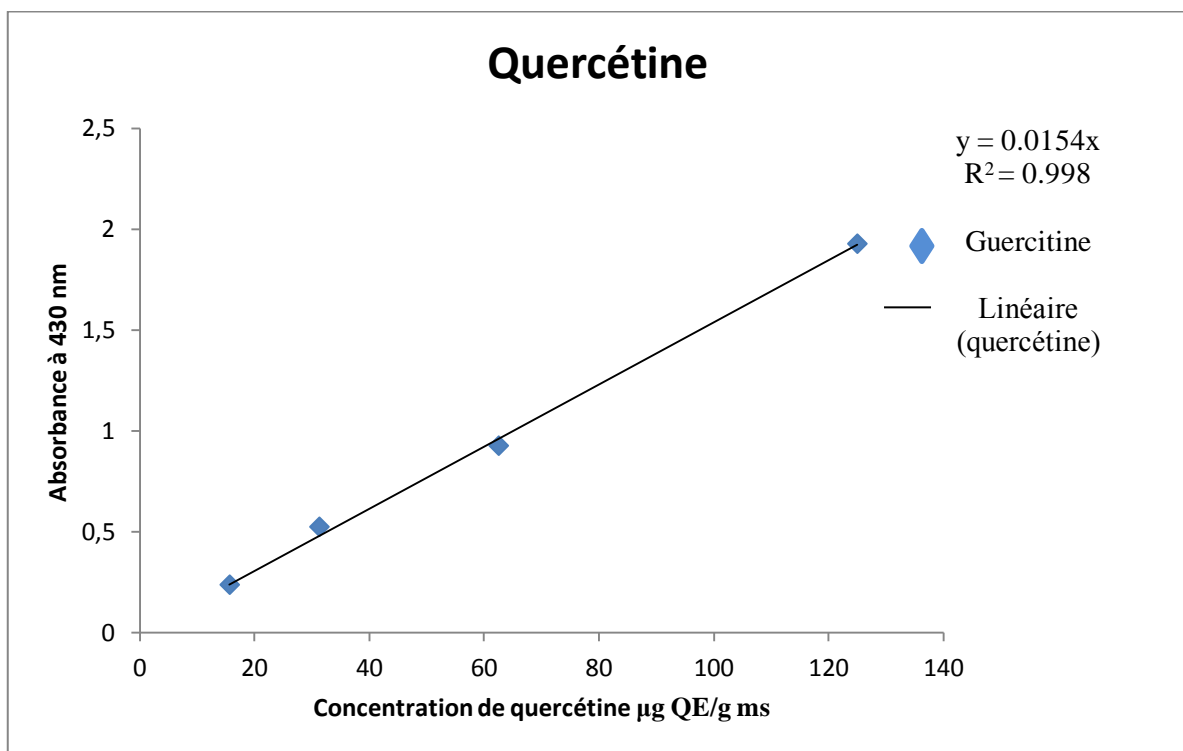
## Les annexes

### Annexe I: les courbes d'étalonnage

1. **Figure 1** : Courbe d'étalonnage (d'acide gallique) du dosage des polyphénols totaux.



2. **Figure 2** : courbe d'étalonnage de Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.



**Figure 3 :** courbe étalonnage de l'acide ascorbique.

